

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук

Научный доклад  
по теме научно-квалификационной работы (диссертации)

**Минерал-полимерные системы для аддитивных технологий изготовления  
биомедицинских изделий**

Направление подготовки \_\_\_\_\_ 18.06.01 Химическая технология \_\_\_\_\_

Направленность подготовки \_\_\_\_\_ Технология силикатных и тугоплавких  
\_\_\_\_\_ неметаллических материалов \_\_\_\_\_

Научная специальность \_\_\_\_\_ 05.17.11 Технология силикатных и тугоплавких  
\_\_\_\_\_ неметаллических материалов \_\_\_\_\_

Отрасль науки \_\_\_\_\_ технические науки \_\_\_\_\_

Аспирант: \_\_\_\_\_  \_\_\_\_\_ Зобков Юрий Валерьевич

Научный руководитель: \_\_\_\_\_  \_\_\_\_\_ Комлев Владимир Сергеевич  
Д.т.н., чл.-корр. РАН

Москва 2020 г.

## Оглавление

Введение.....	3
Основная часть .....	6
1. Поверхностная модификацию минеральной составляющей.....	6
1.1. Получение гранул фосфатов кальция.....	6
1.2. Исследование влияния фазового состава на микроструктуру гранул фосфатов кальция.....	7
2. Исследование процессов формирования микроструктуры композиционных материалов.....	9
2.1. Технология получения композиционных материалов на основе биополимер – фосфат кальция.....	9
2.2. Технологическая схема получения устойчивых гидрогелей ..	10
2.3. Выводы.....	11
3. Физико-химические исследования композиционных материалов	12
3.1. Сравнительное исследование фазового состава композиционных материалов.....	12
3.2. Сравнительное исследование механических свойств композиционных материалов.....	13
3.3. Исследование растворимости композиционных материалов в модельных жидкостях.....	15
3.4. Выводы.....	16
4. In vitro исследования цитосовместимости композиционных материалов .....	19
Выводы.....	19
Заключение .....	21

## Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения, заболевания опорно-двигательного аппарата - ведущий фактор инвалидизации во всём мире. На такие заболевания приходится наибольшая доля случаев хронического болевого синдрома (неонкологического генеза), они ограничивают подвижность и моторику, приводят к преждевременному прекращению трудовой деятельности, сокращают возможности для накопления материального благосостояния и выполнения социальных функций. Заболевания опорно-двигательного аппарата поражают все возрастные группы во всех регионах мира. Хотя распространенность таких заболеваний увеличивается с возрастом, ими страдают и более молодые люди, нередко в годы наибольшей экономической активности.

В клинической практике проблему восстановления костно-хрящевых дефектов решают за счёт использования прежде всего алло- и аутотрансплантатов, металлов или синтетических биосовместимых материалов. Однако у всех этих материалов имеется ряд ограничений.

Применение аллотрансплантатов требует проведения тестов гистосовместимости между донором и реципиентом, чтобы быть уверенным в том, что операция не приведёт к отказу, такие тесты включают: группу АВО, перекрестные реакции, используемые для установления наличия предварительно сенсibilизированных антител против HLA донора, а также тесты на диабет, сердечные заболевания, функцию почек, новообразования и инфекции донора, когда он является живым донором.

Для применения аутотрансплантатов, нет необходимости проведения предварительных исследований на совместимость, однако при такой имплантации возникают проблемы из-за увеличения объёма и времени хирургического вмешательства. Кроме того, такая операция приводит к сопутствующим костным дефектам у пациента.

Широкое применение в медицине в настоящее время имеют металлические имплантаты. Но их применение требует повторного хирургического вмешательства, для удаления имплантата в случае выздоровления пациента, либо возникновения индивидуальной непереносимости, остеопороза, остеолизиса, нестабильности фиксации имплантата.

Исходя из перечисленных ранее ограничений в применении традиционных материалов, был разработан подход, называемый «инженерией костной ткани» (ИКТ). ИКТ базируется на концепции регенерации, а не механического замещения костных дефектов. Множество как *in vitro*, так и *in vivo* исследований подтверждают, что при использовании определённых материалов и композиций, организм способен сам восстановить поврежденные участки.

В последние годы, в связи со “взрывным” развитием в мире материально-технической базы аддитивного производства, появился запрос со стороны медиков на применение такого производства в области прототипирования. Уже сейчас существует практика изготовления металлических и керамических имплантатов методами трёхмерной печати. Преимущество применения аддитивных технологий в регенеративной медицине становится особенно очевидным при его использовании в сочетании с современными методами медицинской диагностики. Трёхмерная модель органа или фрагмента ткани пациента может быть получена, например, на рентгеновском томографе, и затем оперативно изготовлена ее точная копия или конструкция, пригодная для имплантации без дополнительной подгонки. В процессе изготовления имплантата в его конструкцию можно дополнительно ввести или убрать определенные детали, создать требуемую архитектуру, в том числе и с градиентной пористостью. При этом весь процесс от начала получения томограммы до окончания изготовления матрикса может занять всего несколько часов.

Целью данной работы было создание минерал-полимерных композиционных материалов, адаптированных к технологии аддитивного производства и отвечающих принципам ИКТ.

В данной работе были предложены композиционные материалы в системе фосфат кальция (ФК) / биополимер (желатин, альгинат натрия). Изготовление трёхмерных конструкций производили на опытном 3d-принтере, разработанном совместно с Институтом проблем лазерных и информационных технологий РАН.

Исследования производили методами сканирующей электронной микроскопии (СЭМ, Tescan Vega SBU II), рентгеновской дифракции (РФА, Shimadzu XRD-6000), ИК-Фурье спектроскопией (Thermo Nicolet Avatar-330), испытания на прочность при сжатии (Instron ElectroPuls E3000).

## Основная часть

### *1. Поверхностная модификацию минеральной составляющей*

Из всех синтетических материалов, которые принципиально могут использоваться для ИКТ, наибольших перспектив ожидают от керамики на основе фосфатов кальция – аналога по химическому и фазовому составам минеральной компоненты костной ткани.

#### *1.1. Получение гранул фосфатов кальция*

За основу были выбраны наиболее перспективные фосфаты кальция гидроксиапатит (ГА), трикальцийфосфат (ТКФ) и октакальциевый фосфат (ОКФ) которые были получены методом гетерофазного синтеза с механохимической активацией. В качестве источника  $\text{Ca}^{2+}$  использовали прокаленный при  $950\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение одного часа порошок  $\text{CaO}$ , а в качестве источника  $\text{PO}_4^{3-}$  –  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , а в качестве источника  $\text{CO}_3^{2-}$  –  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ . Технология изготовления керамических гранул ФК заключается в диспергировании жидкой фазы на капли с последующей термической обработкой. В качестве связующего агента использовали биополимер (желатин), который способствует сцеплению частиц порошка. Порошок ФК смешивали с раствором желатина в дистиллированной воде. Концентрация суспензии варьировалась от 1,8 до 3,0 мл раствора желатина на 1 г порошка. После этого суспензию вводили в нейтральную среду объемом 500 мл, в качестве которой использовалось растительное масло, при температуре от 15 до  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , и перемешивали лопастной мешалкой при скорости от 200 до 1500 об/мин. Перемешивание формирует капли, которые далее превращаются в твердые частицы и выпадают в осадок. После отстаивания, осадок в виде сферических гранул отфильтровывали на воронке Бюхнера, отмывали от масла этиловым спиртом, сушили и подвергали термической обработке при

температурах от 1000 до 1200 °С в зависимости от ФК с выдержкой при этих температурах 120 минут.

### *1.2. Исследование влияния фазового состава на микроструктуру гранул фосфатов кальция*

Проведено сравнительное исследование влияния фазового состава исходных веществ на микроструктуру гранул ФК. По данным сканирующей электронной микроскопии гранулы ТКФ имеют однородную структуру с кристаллами изометрической формы. С увеличением содержания ТКФ в композитах отмечается их значительный рост до ~ 25 мкм (рис. 1).

Изучено влияние степени замещений  $\text{CO}_3^{2-}$  на  $\text{PO}_4^{3-}$  и  $\text{OH}^-$  от 0,6 до 9,0 масс. %, на микроструктуру керамических КГА гранул (рис. 2, а). Микроструктура КГА гранул со степенью замещения карбонат групп 0,6 масс. % представлена изометрическими образованиями. С увеличением содержания карбонат-групп до 3 и 6, 9 масс. % кристаллы имеют однородную игольчатую (рис. 2, б) и призматическую форму, соответственно (рис. 2, в).

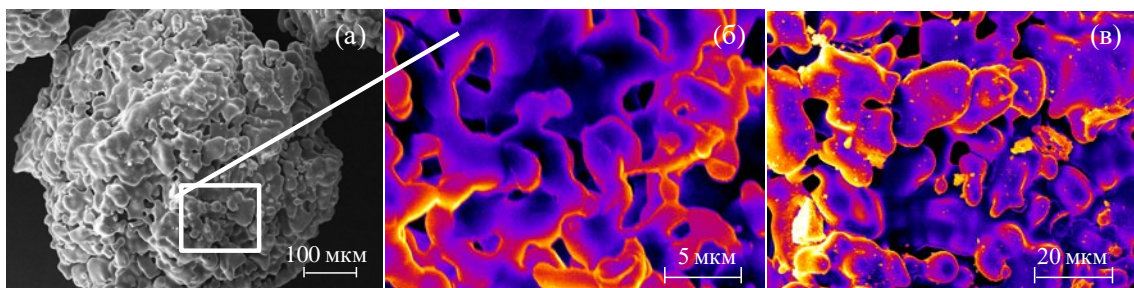


Рисунок 1 Фотографии микроструктуры гранул: а - общий вид гранулы ТКФ, б, в - микроструктура поверхности гранул состава ТКФ

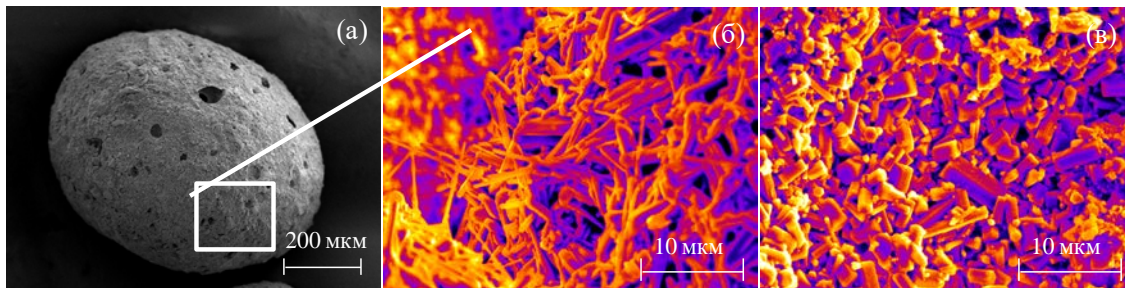


Рисунок 2 Фотографии микроструктуры гранул КГА: а - общий вид гранулы КГА, б, в - микроструктура поверхности гранул КГА со степенью замещения карбонат групп 3 и 9 масс. %, соответственно.



## 2. Исследование процессов формирования микроструктуры композиционных материалов

Для применения композиционных материалов в трёхмерной печати, необходимо получить стабильный гель, в котором дисперсная фаза (гранулы фосфатов кальция) не будет седиментировать в жидкой дисперсионной среде (растворе биополимеров).

### 2.1. Технология получения композиционных материалов на основе биополимер – фосфат кальция

В сухой чистый стакан заливается дистиллированная вода, которая перемешивается стеклянной верхнеприводной мешалкой на высоких оборотах (от 2500 до 3000 об/мин) и нагревается до  $t = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , после чего в жидкую среду помещается биополимер (альгинат натрия). В таблице 1 представлен количественный расчет для получения гелей заданных концентраций.

Таблица 1. Соотношение компонентов (на 100 мл раствора)

Масса, г						
Концентрация, % (для 2-х полимеров соотношение по массе)	1	2	3	70/30	80/20	90/10
Название реагента:						
Дистиллированная вода	99	98	97	97,14	97,5	97,78
Альгинат Натрия	1	2	3	2	2	2
Желатин	-	-	-	0,86	0,5	0,22

Перемешивание и подогрев продолжают до получения однородного раствора. В качестве наполнителя были выбраны гранулы: ТКФ, КГА, ОКФ и смесь из трёх фосфатов в соотношении (ТКФ : КГА : ОКФ – 40 % : 40 % : 20 %, соответственно). Гранулы ФК вводились в раствор биополимера при

непрерывном перемешивании. Получены композиционные материалы со следующим содержанием ФК: 5; 7,5; 10 масс. %.

## *2.2. Технологическая схема получения устойчивых гидрогелей*

Методом модельного формирования были получены образцы цилиндрической формы ( $d = 4 \pm 0,25$  мм,  $h = 8 \pm 0,40$  мм) композиционных материалов. После формирования образцов проводили временную фиксацию структуры по средствам заморозки двумя методами: резкое охлаждение (при температуре  $-50$  °С в течении 40-45 минут) и медленного охлаждения в 4 этапа:

1.      $30$  °С       →     $1$  °С       – 30 минут
2.      $1$  °С         →     $-1$  °С      – 60 минут
3.      $-1$  °С        →     $-20$  °С     – 45 минут
4.      $-20$  °С      →     $-50$  °С     – 15 минут.

Затем проводили сублимационную сушку образцов при вакууме в рабочей камере  $6 \cdot 10^{-5}$  атм., температура конденсирующей поверхности  $-50$  °С в течение 10-12 часов.

Высушенные образцы сшивали 10 % водным раствором хлорида кальция в шейкере-инкубаторе на протяжении 2 часов (материал/раствор = 100 г/ 30 мл). Затем их отмывали от остатка солей в дистиллированной деионизированной воде в шейкере-инкубаторе на протяжении 3 часов с заменой воды каждый час. После чего образцы вновь высушивали в лиофильной камере для сохранения структуры.

На полученных образцах были проведены исследования направленные на определение влияние режима охлаждения, фазового состава и соотношения компонентов исходной композиции на микроструктуру конечного материала.

### *2.3. Выводы*

Установлено, что оптимальная структура материала образуется при медленном (4-х стадийном) охлаждении.

Оптимальная концентрация альгината в исходном растворе равна 2 масс. %. При данной концентрации раствор обладает оптимальной вязкостью и относительно высокими прочностными характеристиками.

### 3. Физико-химические исследования композиционных материалов

В ходе выполнения работы было проведено сравнительное исследование фазового состава и выявлены прочностные характеристики образцов композиционных материалов на основе биополимер – фосфат кальция в зависимости от фазового состава.

#### 3.1. Сравнительное исследование фазового состава композиционных материалов

Исследование фазового состава композиционных материалов проводилось методом рентгенофазового анализа (РФА). Показано, что фазовый состав ФК при введении в композиционный материал не меняется. Рентгенограммы исходных гранул фосфатов кальция и композиционных материалов, в состав которых входили эти фосфаты кальция, представлены на рис. 3.

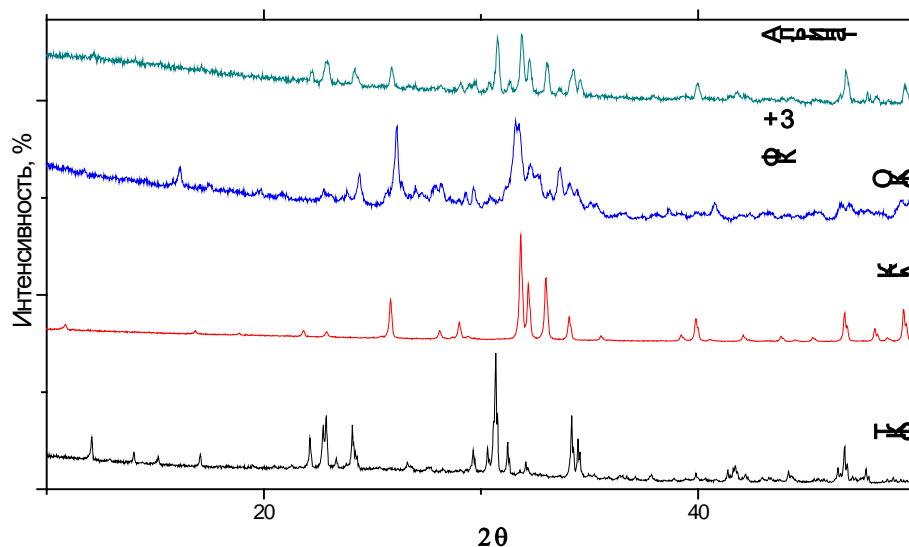


Рисунок 3. Рентгенограммы гранул ТКФ, КГА, ОКФ и материала на основе альгинат + 3 ФК (снизу – вверх соответственно)

Снижение интенсивности пиков обусловлено тем, что изменяются условия съемки дифрактограмм, поскольку меняется плотность материала из-за наличия в составе биополимера.

### *3.2. Сравнительное исследование механических свойств композиционных материалов*

Сравнительное исследование механических свойств композиционных материалов на основе биополимер – фосфат кальция проводилось на электродинамической испытательной системе ElectroPuls E3000. В результате исследования была определена прочность материалов при сжатии.

#### *3.2.1. Сравнительное исследование механических свойств материалов с различной концентрацией альгината и соотношением альгинат/желатин*

Определено, что при повышении концентрации альгината в исходном растворе прочность материала монотонно возрастает (табл. 2). Однако, высокая вязкость 3-х % раствора альгината накладывает ограничения при работе с ним. В связи с этим для дальнейших исследований был выбран 2-х % раствор аальгината натрия.

Таблица 2. Прочность при сжатии материалов на основе альгинат и альгинат/желатин с различной концентрацией (МПа)

Состав:	Прочность при сжатии, МПа
Альгинат 1 масс. %	0,114
Альгинат 2 масс. %	0,149
Альгинат 3 масс. %	0,194
Альгинат/Желатин (70/30)	0,229
Альгинат/Желатин (80/20)	0,205
Альгинат/Желатин (90/10)	0,195

Результаты исследования прочности материалов с добавлением желатина в 2-х % раствор альгината показали, что с увеличением концентрации желатина прочность так же повышается (табл. 2).

*3.2.2. Сравнительное исследование механических свойств материалов с различным соотношением альгинат/желатин и фосфат кальция*

Таблица 3. Прочность при сжатии материалов на основе альгинат и альгинат/желатин с различной концентрацией (МПа)

Состав:	Концентрация:		
	5 масс. %	7,5 масс. %	10 масс. %
Альгинат + ТКФ	0,226	0,316	0,406
Альгинат/Желатин + ТКФ	0,255	0,332	0,459

На основании данных таблицы 3 можно сказать, что прочность монотонно возрастает с увеличением концентрации фосфата кальция, и

материалы на основе альгинат/желатин имеют прочность выше, чем у материалов на чистом альгинате.

### *3.2.3. Сравнительное исследование механических свойств материалов с различными фосфатами кальция*

В ходе исследований материалов на основе биополимер – фосфат кальция, были выявлены их прочностные характеристики. В таблице 4 представлены данные по прочности при сжатии от концентрации и вида фосфата кальция в материале.

Таблица 4. Прочность при сжатии от концентрации и вида фосфата кальция в материале (МПа)

Концентрация: Состав:	5 масс. %	7,5 масс. %	10 масс. %
	Альгинат + ТКФ	0,226	0,316
Альгинат + КГА	0,509	0,662	0,865
Альгинат + ОКФ	0,584	0,742	0,929
Альгинат + 3 ФК	0,335	0,442	0,568

### *3.3. Исследование растворимости композиционных материалов в модельных жидкостях*

Для исследования растворимости материалов в системе биополимер-фосфат кальция в жидкостях, моделирующих внеклеточную жидкость организма человека, были выбраны буферные растворы со значениями рН = 4,5; 7,4; 9,18. Буферным раствором принято называть такой раствор, рН

которого не претерпевает каких-либо существенных изменений при добавлении небольших количеств кислоты или основания. Выбор буферных растворов был основан на свойствах, необходимых нам для имитации тех или иных условий организма человека.

### *3.4. Выводы*

Было установлено, что при увеличении концентрации фосфата кальция в 2 раза в материале прочность монотонно возрастает более чем в 1,5 раза;

Прочность материалов с КГА и ОКФ более чем в 2 раза выше прочности материалов с содержанием ТКФ, что можно объяснить анизотропией структуры материала;

Прочность материалов с 3-мя ФК ниже, чем у материалов с КГА и ОКФ, но больше чем у материалов ТКФ. Это можно объяснить наличием в этих материалах всех видов фосфатов кальция, таким образом, прочность материала равна среднему арифметическому значению механической прочности материалов с различными видами фосфатов кальция.

Проведено исследование растворимости гранул ТКФ, ОКФ и КГА в изотоническом растворе. Показано, что максимальными значениями потери массы обладают гранулы ОКФ (15 масс. % на 28 сутки в изотоническом растворе), минимальные значения потери массы у гранул КГА (10 масс. % на 28 сутки в изотоническом растворе).

Проведено исследование растворимости пористых матриксов на основе 1, 2, 3%-ного альгината натрия и на основе смеси полимеров альгинат натрия/желатин в соотношениях 70/30, 80/20 и 90/10 масс. %. Показано, что для образцов на основе альгината натрия максимальные значения потери массы достигают образцы на основе 1%-ного альгината натрия (25 % на 7 сутки в изотоническом растворе). Потеря массы образцов на основе альгината натрия/желатина в соотношении 70/30 составила 40 %.



Проведено исследование растворимости материалов в системе биополимер – фосфат кальция (ТКФ, ОКФ, КГА) в изотоническом растворе, моделирующем жидкости организма человека. Показано, что максимальные значения потери массы получены на образцах на основе 2 %-ного альгината натрия с гранулами КГА (5 масс. %) и составляют 48-50% на 7 сутки выдержки в изотоническом растворе.

Проведено исследование растворимости композиционного материала на основе 2 %-ного альгината натрия с наполнителем из 3-х фосфатов кальция: ТКФ, КГА и ОКФ и получены значения потери массы 11 % при концентрации фосфатов 5 масс. % на 7 сутки выдержки в изотоническом растворе.

Проведено исследование растворимости материалов в системе биополимер – фосфат кальция (ТКФ, ОКФ, КГА) в буферных растворах, моделирующих жидкости организма человека. Для оценки растворимости использованы три буферных раствора: ацетатный (рН=4,5), нейтральный (рН=7,4) и боратный (рН=9,18). Показано, что при выдержке материалов в кислом и нейтральном буферных растворах происходит набор массы за счет кристаллизации частиц на полимерной составляющей. Максимальные значения набора массы происходят на образцах на основе альгината натрия/желатина (соотношение 70/30) и составляет 140 % на 7 сутки выдержки в нейтральном буфере. С введением гранул фосфата набор массы образцов при выдержке в буферных растворах уменьшается и максимальное значение составляет 60 % для образцов на основе 2%-ного альгината натрия с гранулами ТКФ (5 масс. %). Выявлено, что в щелочном буферном растворе (рН=9,18) существенного изменения массы композиционных материалов не наблюдается (набор массы от 1 до 3 %).

Исследована микроструктура материалов в системе биополимер – фосфат кальция (ТКФ, ОКФ, КГА) после выдержки в буферных растворах, моделирующих жидкости организма человека. Показано, что в случае кислого (рН=4,5) и нейтрального (рН=7,4) растворов происходит кристаллизация

частиц на поверхности полимерной составляющей. Частицы, осажденные на композиционном материале с введенными гранулами ТКФ, прозрачные, игольчатой формы; частицы, осажденные на композиционном материале в течение 5 суток в нейтральном буфере – серого цвета и сферической формы. Структура композиционных материалов, выдержанных в щелочном растворе не меняется.

#### **4. *In vitro* исследования цитосовместимости композиционных материалов**

Для *in vitro* оценки цитосовместимости опытных образцов биоматериалов в системе биополимер - фосфат кальция были выбраны 13 различных составов материала, из них 5 образцов – это разные виды полимера – альгината натрия: 1% и 2%, изготовленного по технологиям I (медленное охлаждение) и II (быстрое охлаждение) (всего 4 образца, соответственно) и композит альгината натрия (технология I) с желатином (соотношение 80/20); 3 образца гранулированной кальций-фосфатной керамики (КГА, ТКФ и ОКФ) и 5 образцов были представлены композиционными материалами (альгинат натрия – кальцийфосфатная керамика).

Оценка цитосовместимости была выполнена в Федеральном государственном учреждении «Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена Росмедтехнологий» (МНИОИ им. П. А. Герцена).

#### ***Выводы***

На модели двух клеточных линий - иммортализованных фибробластов человека штамм 1608 hTERT и остеосаркомы человека линии MG-63 с помощью МТТ-теста проведены эксперименты *in vitro* по оценке цитосовместимости 13 образцов материалов состава альгинат натрия (1% и 2%, изготовленного по технологиям I и II, 4 образца), альгинат натрия с желатином (1 образец), фосфаты кальция (ОКФ, 1 образец; ТКФ, 1 образец; КГА, 1 образец) и 5 образцов композиционных материалов состава альгината натрия с фосфатами кальция на их основе (Альгинат + ОКФ, 1 образец; Альгинат + КГА, 1 образец; Альгинат + ТКФ, 1 образец; Альгинат + ОКФ, КГА, ТКФ, 1 образец; Альгинат /Желатин + ТКФ, 1 образец).

2. По результатам оценки жизнеспособности культур ФЧ и MG-63 в экспериментах по длительному культивированию клеток на образцах опытных материалов (1, 3, 7, 10, 14, 17 и 21 сутки) отобраны 3 образца

композиционных материалов составов Альгинат + КГА, Альгинат + ТКФ, Альгинат/Желатин + ТКФ, характеризующиеся цитосовместимостью и наличием выраженных или умеренных матричных для клеток свойств поверхности.

3. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований, направленных на оптимизацию данных композиционных материалов с целью формирования методом прототипирования трехмерных конструкторов, предназначенных для замещения костных дефектов сложной конфигурации.

## Заключение

Было изучено состояние проблемы в данном научном секторе по информационным источникам и подготовлен аналитический обзор. В соответствии с данными научной литературы разработка функционально-ориентированных материалов, в том числе композиционных материалов, предназначенных для замещения костно-хрящевых дефектов, является активно развивающейся областью науки. Ряд исследований в этой сфере находится в активной стадии. В перспективе предполагается использовать некоторые из этих материалов для адресной доставки лекарственных средств в костно-хрящевой дефект. В то же время исследования, касающиеся 3D-печати таких композиционных материалов и в соответствии с геометрией костных дефектов (технология прототипирования) являются пока единичными, не оформившимися в отдельное научное направление. Тем не менее, анализ отдельных публикаций свидетельствует о том, что данное направление станет в ближайшем будущем одним из магистральных в инженерии костной ткани. В целом же аналитический обзор литературы явился фундаментом для выбора методов, подходов, средств для обоснования и формулировки научных задач, и способов их решения.

В план экспериментальных исследований входила разработка состава композиционного материала на основе альгината и фосфатов кальция (ОКФ, ТКФ, КГА), адаптированная к 3D-печати; изучение химических свойств материалов и их цитосовместимость с клетками *in vitro*, то есть поведение в биологической системе и реакция на них в этой системе.

Проведены экспериментальные исследования, направленные на поверхностную модификацию неорганической составляющей (фосфаты кальция) с использованием жидкостей, имитирующих жидкости организма, как основа для создания функционально ориентированных материалов. Осуществлено исследование процессов формирования микроструктуры

композиционных материалов в широком интервале составов на основе биополимер - фосфат кальция посредством фиксации структуры при варьируемых условиях. Проведено сравнительное исследование структуры, фазового состава и механических свойств, композиционных материалов на основе биополимер - фосфат кальция. Представлены результаты исследования растворимости композиционных материалов на основе биополимер - фосфат кальция в жидкостях, моделирующих внеклеточные жидкости организма.

Приведены результаты разработки двух технологий изготовления таких материалов (I и II) и исследованы физико-химические характеристики линейки композиционных материалов и их составляющих.

В частности, было показано, что прочностные характеристики кальцийфосфатной составляющей композита определяются концентрацией фосфора, видом фосфата кальция и технологией изготовления композита. На основании проведенных исследований были отобраны образцы и технологии их изготовления, соответствующие заявленным условиям и пригодные для дальнейших исследований.

Далее были исследованы разные методические приемы получения и охлаждения раствора альгината (1, 2 и 3%) и его композита с фосфатами кальция. Была отработана технология медленного охлаждения составов, что обеспечило формирование пористой (ячеистой) структуры композитов без нарушения фазового состава последних. Разработанная технология позволила получать материалы с взаимосвязанными порами и тонкими стенками этих пор как предпосылку к регулируемой и высокой скорости резорбции этих материалов в биологических системах.

Было проведено исследование растворимости линейки разработанных композитных материалов системы альгинат-фосфаты кальция и их составляющих в жидкостях, моделирующих жидкости организма. Было установлено, что по скорости резорбции (по потере массы) три кальцийфосфатных материала формируют ряд ОКФ> ТКФ> КГА.

Исследована растворимость линейки пористых матриц на основе 1%-3% альгината и его смеси с желатином (70/30-90/10) и установлено, что наибольшая резорбция наблюдается у матрикса на основе 1% альгината и его сочетания с желатином в соотношении 70/30. Далее была исследована растворимость композитных материалов на основе 1%-3% альгината и фосфатов кальция (ОКФ, КГА, ТКФ). Показано, что наибольшей скоростью растворения обладает композит на основе 2% альгината с гранулами КГА (5%).

Исследована микроструктура линейки композитных материалов в системе биополимер – фосфаты кальция после выдержки в растворах, моделирующих жидкости организма, и подтверждено, что при кислом и нейтральном микроокружении происходит кристаллизация неорганических частиц с формированием структур игольчатой формы (кислый буфер) или сферической формы (нейтральный буфер).

Таким образом, для биологических испытаний была предоставлена линейка из композитных материалов и их составляющих, полученных по двум технологиям, и охарактеризованная по физико-химическим свойствам (прочностным характеристикам, пористости, топографии поверхности, скорости резорбции).

В биологических исследованиях *in vitro* охарактеризовано 13 образцов композитных материалов и их составляющих. На модели двух клеточных линий ФЧ и МG-63 с помощью МТТ-теста изучена цитосовместимость этих материалов, их матриксные (для клеток) свойства и способность поддерживать пролиферацию указанных адгезивных культур.

По результатам оценки жизнеспособности культур ФЧ и МG-63 в экспериментах по длительному (до 21 суток) культивированию клеток на образцах материалов отобраны 3 композиционных материала составов: альгинат натрия/КГА, альгинат натрия/желатин/ТКФ, характеризующиеся цито-совместимостью и наличием выраженных или умеренных матриксных

для клеток свойств поверхности. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований, направленных на оптимизацию данных композиционных материалов с целью формирования методом прототипирования трехмерных конструктов, предназначенных для замещения костных дефектов сложной конфигурации.



## Апробация работы

Материалы научной квалификационной работы были представлены на следующих конференциях: XIII Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов». Москва. 2016; XIV Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов». Москва. 2017; XVI Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов». Москва. 2019; IV Национальный конгресс по регенеративной медицине. Москва. 2019; International Conference on Biofabrication 2019, Columbus, Ohio, США, 2019; The 4th International Symposium on “Physics, Engineering and Technologies for Bio-Medicine”, Москва, 2019.

## Публикации

По результатам проведенных исследований опубликовано 34 работы, в том числе 21 публикация в рецензируемых изданиях, входящих в РИНЦ, 10 публикаций в рецензируемых изданиях, учитываемых в реферативно-библиографической базе научного цитирования Scopus, 12 публикаций в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий ВАК, получен 1 патент РФ и поданы 2 заявки на патент РФ.