

**Санкт-Петербургский политехнический университет
Петра Великого
Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций**

На правах рукописи

МАТРЕНИЧЕВ ВСЕВОЛОД ВИТАЛЬЕВИЧ

**Электропроводящие нановолокнистые материалы для клеточных
технологий**

Направление подготовки 03.06.01 Физика и астрономия

Код и наименование

Направленность 03.06.01_12 «Биофизика»

Код и наименование

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД

об основных результатах научно-квалификационной работы (диссертации)

Автор работы: Матреничев В.В.
Научный руководитель:
д.ф.-м.н., доц., Юдин В. Е.

Санкт Петербург – 2020

Научно-квалификационная работа выполнена в Высшей школе биомедицинских систем и технологий Института биомедицинских систем и биотехнологий на базе научно-исследовательской лаборатории «Полимерные материалы для тканевой инженерии и трансплантологии» федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»

Директор ВШ/Зав.каф. : – *Власова Ольга Леонардовна* –,
д.ф.-м.н., доц.

Научный руководитель: – *Юдин Владимир Евгеньевич* –,
д.ф.-м.н., доц.

Рецензент: – *Москалюк Ольга Андреевна* –,
к.т.н., доц. кафедры инженерного
материаловедения и метрологии
СПбГУПТД

С научным докладом можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого» и на сайте Электронной библиотеки СПбПУ по адресу: <http://elib.spbstu.ru>

Введение

Актуальность темы исследования

Разработка новых материалов биомедицинского назначения, в частности, матриц для тканевой инженерии, является актуальной проблемой современных научных исследований. В настоящее время среди основных подходов к решению этой задачи различают три основных направления: синтез новых химических соединений, которые обладают требуемыми свойствами, химическая или физическая модификация уже существующих материалов с целью изменения их свойств, и создание композитных материалов, содержащих в своем составе несколько уже существующих веществ. В результате полученный материал приобретает новые свойства, требования к которым зависят от области применения конкретного материала. Применение всех трех методов одинаково востребовано как исследовательскими группами, так и производителями биомедицинских материалов.

Материалы для тканевой инженерии должны обладать биосовместимостью, биорезорбируемостью, отсутствием негативного влияния на живые ткани как самих материалов, так и продуктов их разложения. Кроме того, для пролиферативной активности клеток на поверхности матрицы и в ее объеме, необходимо протекание обменных процессов. Это возможно лишь при наличии в материале системы пор, не препятствующих диффузии ионов и аминокислот, а также стволовых и соматических клеток.

При получении полимерных матриц для тканевой инженерии в настоящее время широко применяется метод электроформования. Данный метод позволяет получать материалы, которые с одной стороны обладают требуемыми физико-химическими свойствами, а с другой – уникальной нановолокнистой и высокопористой структурой, которые близки по своему строению к нативным тканям организма млекопитающих. В настоящее время методом электроформования получено большое количество материалов с

использованием различных полимеров, а также композитов, содержащих металлы и керамику.

Существует два основных вида электроформования: из раствора и из расплава вещества. Растворный метод не требует высоких температур, что расширяет круг материалов, из которых можно получить нановолокна. На сегодняшний день получены матрицы на основе нановолокон для пролиферации клеток, получены имплантаты для костной и сосудистой тканей, оболочки для лекарственных препаратов, а также раневые покрытия. Матрицы для клеточной пролиферации могут быть получены как из биodeградируемых полимеров, так и из материалов, устойчивых к воздействию биологической среды. Пористая структура подобных матриц способствует клеточной пролиферации, росту тканей, их иннервации и васкуляризации. Использование композитных материалов на основе полимеров и наноуполннителей, либо нескольких полимеров, расширяет дополнительно возможности и спектр свойств нетканых материалов.

Несмотря на большое количество работ в этом направлении, на сегодняшний день недостаточно данных, описывающих способы получения и свойства электропроводящих композиционных нановолокон и материалов на их основе, которые могут быть использованы в тканевой инженерии. Вместе с тем, для регенерации нервных тканей, аксонов периферических нервов электропроводящие полимерные матрицы представляют особый интерес.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время получение материалов методом электроформования активно исследуется многими научными группами. Известны работы, в которых представлены методы получения и результаты исследования свойств матриц для биомедицинского назначения на основе полиамидов, полиамидокислот и ацетата целлюлозы [1-6]. Однако, до сих пор крайне недостаточно данных о влиянии одностенных углеродных нанотрубок на свойства композитных растворов, а также нановолокон, полученных методом электроформования. Помимо этого, недостаточно данных, показывающих

эффективность использования таких природных нанодобавок как прополис и канифоль на антибактериальные свойства нетканых материалов. Отсутствуют данные о получении нетканых нановолокнистых материалов на основе жесткоцепных ароматических полиимидов. Исследование в этих областях не только сможет расширить круг нетканых материалов биомедицинского назначения, но и позволит лучше понять характер взаимодействия нанонаполнителей и полимера в растворе в процессе электроформования.

Объектами исследования являлись нановолокна и материалы на их основе из:

1. Алифатического сополиамида (СПА) - сополимера ϵ -капролактама (-NH-(CH₂)₅-CO-) и гексаметилендиаминдипината (-NH(CH₂)₆NHCO(CH₂)₄CO-), который обладает высокой биосовместимостью [7,8]. Растворителем СПА является спиртоводная смесь, что делает процесс формования волокон и пленок экологически безопасными.
2. Полиимида (ПИ) ароматического строения на основе ДФ-оТД, а также его прекурсора – полиамидокислоты (ПАК) и ее растворы в ДМАА, ДМСО и смеси апротонных растворителей с бензолом.
3. Для модификации свойств композиционных нановолокон в качестве наполнителей использовали углеродные нанотрубки (ОСУНТ), полипиррол (ППи).

Цели и задачи

Целью данной работы являлось разработка методов получения композиционных нановолокон на основе полимеров алифатического и ароматического строения, а также наполнителей в виде неорганических и органических наночастиц, исследование их структуры, прочностных, деформационных и электропроводящих свойств, а также их биосовместимости.

Для этого необходимо решить следующие задачи:

1. Исследовать реологические свойства растворов СПА в водно-спиртовой смеси, растворов ПАК в смеси ДМАА/бензол.
2. Исследовать реологические и электропроводящие свойства композитных растворов СПА, содержащих в качестве наполнителя ОСУНТ.

3. Определить связь между реологическими, электропроводящими, тензиометрическими свойствами композитных растворов исследуемых полимеров (СПА, ПИ) и параметрами процесса электроформования.
4. Исследовать структуру, физико-механические и электропроводящие свойства полученных методом электроформования полимерных и композитных материалов.
5. Исследовать биосовместимость и цитотоксичность полученных методом электроформования для тканевой инженерии матриц, исследовать пролиферативную активность клеток, на разработанных матрицах с учётом их электропроводящих свойств.

Научная новизна

- Показано, что введение даже небольшого количества ОСУНТ, 0,5 мас. %, в раствор СПА существенно изменяет характер зависимости композитного раствора от скорости сдвига. Композитный раствор является неньютоновской жидкостью в отличие от раствора СПА.
- Предложена модель кластерной структуры ОСУНТ в растворе СПА, а также ее трансформация под действием сдвигового поля, которая обеспечивает формирование оптимальных прочностных, деформационных и электропроводящих свойств матриц на основе композиционных волокон.
- Определена оптимальная концентрация ОСУНТ, 1,0 мас. %, в растворе СПА, и параметры электроформования, при которых процесс получения композиционных нановолокон характеризуется высокой скоростью и стабильностью.
- Показано, что введение ОСУНТ в раствор СПА повышает механические характеристики матрицы, увеличивает её удельную проводимость. Установлено, что материал является биосовместимым, его структура способствует клеточной пролиферации.
- Методом *in situ* полимеризации пиррола получен электропроводящий материал на основе композиционных нановолокон из СПА и ППи.

Полученный материал обладает поверхностным сопротивлением $300-600 \pm 20$ Ом/квadrat, что говорит о высокой электропроводимости материала. Установлено, что наличие нанослоя ППи на поверхности матрицы СПА повышает её механические свойства и гидрофильность.

- Методом электроформования из раствора ПАК, прекурсора ароматического полиимида ДФ-оТД, в смеси апротонного растворителя и бензола получены нановолокна из ПАК. Методом термической имидизации нановолокон из ПАК, получены нановолокна ароматического ПИ, диаметр которых варьируется от 50 до 700 нм, а температура их разложения в инертной среде выше 500°C .

Теоретическая и практическая значимость работы

Исследование реологических, тензиометрических, электропроводящих свойств композитных растворов СПА, содержащих ОСУНТ, а также параметров процесса электроформования позволило получить материалы на основе композиционных нановолокон, которые обладают оптимальной структурой и свойствами, обеспечивающими их эффективное использование в качестве электропроводящих матриц для тканевой инженерии.

Предложена модель кластерной структуры ОСУНТ в растворе СПА, ее трансформация под действием сдвиговых напряжений, что позволило прогнозировать структуру и свойства композиционных нановолокон.

Методом полимеризации пиррола на поверхности нановолокон СПА получены электропроводящие композиционные нановолокна. Композиционный материал на основе нановолокон из СПА и ППи обладает низким поверхностным сопротивлением $300-600 \pm 20$ Ом/квadrat. Установлено также, что наличие нанослоя ППи на поверхности матрицы СПА повышает её механические свойства и гидрофильность.

Полученные методом электроформования композиционные материалы на основе нановолокон СПА и ОСУНТ, а также СПА и ППи являются биосовместимыми и могут быть использованы в тканевой инженерии в качестве матриц для культивирования клеток. Предполагается, что материал на

основе электропроводящих нановолокон будет способствовать пролиферации клеток, чувствительных к электрическому полю, например, нейронов и миоцитов.

Материал на основе нановолокон ароматического ПИ может применяться в качестве разделительных мембран, при фильтрации и сорбции технологических жидкостей и газов при высоких, до 500°C, температурах. Сохранение эластических свойств полученного материала при температурах, вплоть до температуры жидкого азота, отсутствие цитотоксичности позволяет его рекомендовать также для использования в технологии хранения клеточных культур.

Методология и методы исследования

Комплексный и системный подход к получению материалов биомедицинского назначения методом электроформования, исследование их структуры и свойств, а также анализ современного состояния тканевой инженерии как научной области, является основой методологии диссертационной работы. Для всестороннего изучения свойств материалов были использованы следующие методы: реология растворов, тензиометрический анализ, исследование электропроводности растворов и нетканого материала, сканирующая электронная микроскопия, оптическая микроскопия, инфракрасная спектроскопия, термогравиметрический анализ, методы исследования механических характеристик, краевого угла смачиваемости и поверхностной энергии. Для исследования биосовместимости и цитотоксичности полученных материалов *in vitro*, был проведен МТТ-тест.

Положения, выносимые на защиту:

1. Введение даже небольшого количества ОСУНТ, 0,5 мас. %, в раствор СПА существенно изменяет характер зависимости композитного раствора от скорости сдвига. Композитный раствор является неньютоновской жидкостью в отличие от раствора СПА.
2. Предложена модель кластерной структуры ОСУНТ в растворе СПА, а также ее трансформация под действием сдвигового поля, что, в конечном

счёте, повышает упругие свойства композиционной матрицы и увеличивает её удельную электропроводность.

3. Определена оптимальная концентрация ОСУНТ, 1,0 мас. %, в растворе СПА, и параметры электроформования, при которых процесс получения композиционных нановолокон характеризуется высокой скоростью и стабильностью.
4. Методом *in situ* полимеризации пиррола на поверхности нановолокон из СПА получен электропроводящий материал на основе композиционных нановолокон. Наличие нанослоя ППи на поверхности матрицы СПА повышает её упругие свойства и гидрофильность.
5. Методом электроформования из раствора ПАК, прекурсора ароматического полиимидаДФ-оТД, в смеси апротонного растворителя и бензола получены нановолокна из ПАК. Термическая имидизация нановолокон из ПАК приводит к получению нановолокон из ароматического ПИ, диаметр которых составляет 50-700 нм, температура разложения в инертной среде выше 500°C.

Достоверность результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается их согласованностью, использованием комплекса современных взаимодополняющих физико-химических методов исследования, анализа и статистической обработки полученных результатов и сравнение полученных данных с имеющимися на данный момент литературными источниками.

Апробация результатов диссертационного исследования

Основные результаты диссертационной работы были представлены на школке-конференции с международным участием для молодых ученых «Макромолекулярные нанообъекты и полимерные нанокомпозиты» (г. Москва, 2015, 2018 г.), международной конференции «The International Symposium on Biopolymers (ISBP)» (г. Мадрид, Испания, 2016 г.), научно-практической конференции с международным участием «Неделя науки СПбПУ» (г. Санкт-Петербург 2015, 2016, 2019 г.), международной конференции для молодых

ученых «Modern problems of polymer science», (г. Санкт-Петербург 2015, 2016 г.), XIV Международной конференции «Физика диэлектриков (Диэлектрики-2017)» (г. Санкт-Петербург, 2017 г.), 9-ой международной конференции «Workshop on Interfaces: New Frontiers in Biomaterials» (г. Сантьяго-де-Компостела, Испания, 2018 г.).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых журналах входящих в базу данных Web of Science и SCOPUS, из которых 5 статей в журналах из перечня ВАК, 10 тезисов докладов, получен 1 патент.

Содержание работы

Во введении обоснована актуальность темы работы, сформулированы цели и задачи исследования, показана научная новизна и практическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту, а также приведена информация об апробации результатов диссертационного исследования.

В первой главе показаны история развития и современное состояние тканевой инженерии как научной дисциплины, подробно рассмотрены электропроводящие матрицы биомедицинского назначения, применение полиимидов при создании тканеинженерных препаратов. Отдельное внимание уделено композиционным материалам, армированным таким наполнителями, как углеродные нанотрубки и частицы природного происхождения. При рассмотрении методов получения тканеинженерных препаратов, наибольшее внимание уделено электроформованию из растворов. Показаны основы метода, его физический принцип, свойства получаемых материалов. Основной упор сделан на нетканых материалах биомедицинского назначения, полученных методом электроформования, показан широкий спектр их применения в настоящее время.

Во второй главе приведено описание полимерных материалов и наполнителей для получения композиционных нановолокон методом электроформования.

Для электроформования композиционных электропроводящих нановолокон использовали алифатический сополиамид (СПА) - сополимер ϵ -капролактама (-NH-(CH₂)₅-CO-) и гексаметилендиаминадипината (-NH(CH₂)₆NHCO(CH₂)₄CO-) (ОАО «Анид», Россия). В качестве растворителя при приготовлении растворов использовалась водно-спиртовая смесь в соотношении 20 об. % воды и 80 об. % этилового спирта. В качестве наполнителя при приготовлении композитного раствора использовались карбоксилированные одностенные углеродные нанотрубки (ООО «Углерод ЧГ», Россия) в виде водной пасты, где концентрация ОСУНТ составляла 2,5 мас. %. Диаметр нанотрубок $1,4 \pm 0,3$ нм, длина 1-5 мкм. Для изучения структуры СПА и ОСУНТ использовали рентгеноструктурный анализ, сканирующую электронную и просвечивающую электронную микроскопию. Методом рентгеноструктурного анализа показано, что пленки СПА обладает изотропной структурой, преимущественная ориентация макромолекул отсутствует. Для исследования влияния ОСУНТ на свойства раствора и нетканого материала, готовили растворы СПА концентрацией 18 мас. %, содержащие различную концентрацию ОСУНТ – 0,5, 1 и 2 мас.% относительно массы полимера. Изучение динамической вязкости растворов проводили с помощью реологического исследования. При обработке результатов использовали эмпирическое правило Кокса-Мерца и формулу Кросса. Методом кондуктометрии проводили измерения электропроводности растворов. Методом висячей капли определяли значение поверхностного натяжения. Материалы были получены методом электроформования на установке «Nanon-01A» (МЕСС, Япония). Для исследования структуры и свойств полученных нетканых материалов использовались электронная микроскопия, ИК-спектроскопия, механические испытания при растяжении пленочного образца, измерение краевого угла смачивания и свободной поверхностной энергии, определение электропроводности четырехточечным методом в соответствии с тестовой методикой ААТСС 76-2005. Удельная пористость нетканого матрицы определялась методом низкотемпературной абсорбции азота (метод Бренауэра-Эммета-Тейлора). Оценка цитотоксичности

материалов проводилась при помощи МТТ-теста, а оценка бактерицидных свойств проводилась с использованием стафилококковых бактерий *Staphylococcus aureus*, ATCC 12598.

В третьей главе представлены результаты исследования свойств растворов СПА, наполненных ОСУНТ, и высокопористых нетканых материалов на основе нановолокон, полученных из этих растворов. При приготовлении растворов для электроформования, одним из важных параметров является его вязкость. Необходимо подобрать оптимальную концентрацию полимера в растворе, при которой возникнет взаимное проникновение клубков макромолекул друг в друга, что придаст раствору волокнообразующие свойства. Такого проникновения можно добиться при переходе от разбавленных растворов к полуразбавленным при определенной концентрации, которая называется «концентрацией перекрытия» полимерных клубков (C^*). С целью определения C^* было проведено исследование зависимости наибольшей ньютоновской вязкости раствора СПА от концентрации полимера. Анализ данных показал, что для водно-спиртового раствора СПА значение $C^* \sim 16$ мас.%. Из этого следует, что при концентрации СПА в растворе выше этого значения будет наблюдаться «перекрытие» полимерных клубков, что приведет к стабильности полимерной струи в процессе формования волокон. Основываясь на этом исследовании и на более ранних работах по изучению стабильности растворов СПА, для приготовления композитных растворов была выбрана концентрация 18 мас. %.

Влияние ОСУНТ на вязкость раствора является также важным аспектом при выборе оптимальной концентрации наполнителя и параметров процесса электроформования. Было проведено реологическое исследование зависимости динамической вязкости растворов СПА с различным содержанием ОСУНТ от скорости деформации (Рис. 1)

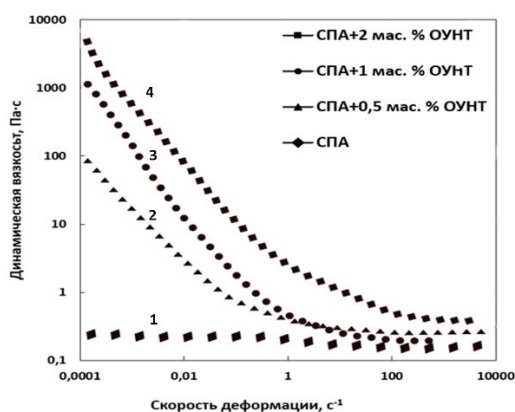


Рис. 1. Зависимости динамической вязкости от скорости деформации раствора СПА концентрацией 18 мас.% (1), а также композитных растворов СПА, содержащих 0,5, 1,0 и 2,0 мас.% ОСУНТ (2, 3, 4).

Показано, что при введении ОСУНТ меняется характер поведения раствора при изменении скорости сдвига. Раствор СПА является ньютоновской жидкостью, тогда как для раствора СПА с ОСУНТ характер зависимости вязкости от скорости сдвига имеет немонотонный характер. Вязкость раствора существенно увеличивается с увеличением содержания в растворе СПА частиц ОСУНТ. Значения вязкости таких растворов при скоростях сдвига выше 10 с^{-1} , асимптотически приближаются к значению динамической вязкости раствора СПА без наночастиц. Была предложена модель формирования кластерной структуры ОСУНТ в растворе СПА (Рис. 2). В исходной суспензии наночастицы ОСУНТ расположены хаотично друг относительно друга, тогда как после введения их в раствор полимера, его перемешивания, а также воздействия ультразвука, расстояние между ОСУНТ увеличивается. В поле сдвиговых напряжений происходит ориентация ОСУНТ и образование микрокластеров с анизотропной внутренней структурой и их ориентация в направлении сдвигового поля. Дальнейшее повышение содержания ОСУНТ от 1,0 до 2,0 мас. % приводит к увеличению количества микрокластеров, при сохранении среднего расстояния между ними. Дальнейшее повышение концентрации ОСУНТ, выше 2 мас.% будет приводить к уменьшению анизотропии кластерной структуры, образованию изотропного макрокластера, в котором частицы располагаются как в продольном, так и в поперечном

направлениях. Образование макрокластера значительно увеличивает вязкость раствора, препятствуя волокну образованию при процессе электроформования.

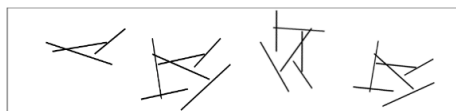


Схема 1. Микрокластеры ОСУНТ в суспензии.



Схема 2. Частицы ОСУНТ в растворе полимера.

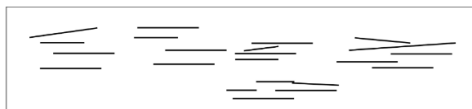


Схема 3. Концентрация ОСУНТ 1 мас. %. После воздействия сдвигового поля. Микрокластерная структура, оптимальная для формирования композитных нановолокон.

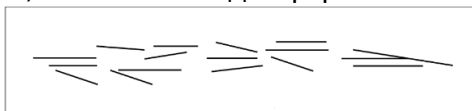


Схема 4. Концентрация ОСУНТ от 1,0 до 2 мас. %.



Схема 5. Концентрация ОСУНТ 2, 0 мас. %. Образование макрокластера.

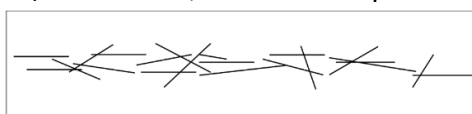


Схема 6. Концентрации ОСУНТ выше 2 мас. %

Рисунок 2. Схема изменения кластерной структуры ОСУНТ в композитном растворе СПА

Введение ОСУНТ влияет и на зависимость напряжения сдвига от скорости деформации. С увеличением скорости сдвига величина напряжения сдвига увеличивается. Рост сдвиговых напряжений приводит к ориентации ОСУНТ и, как следствие, снижению вязкости композитного раствора. Наблюдается псевдопластическое поведение раствора. При стремлении скорости деформации к 0 напряжение сдвига раствора СПА с ОСУНТ стремится к постоянной величине ~ 1 Па (Рис. 3).

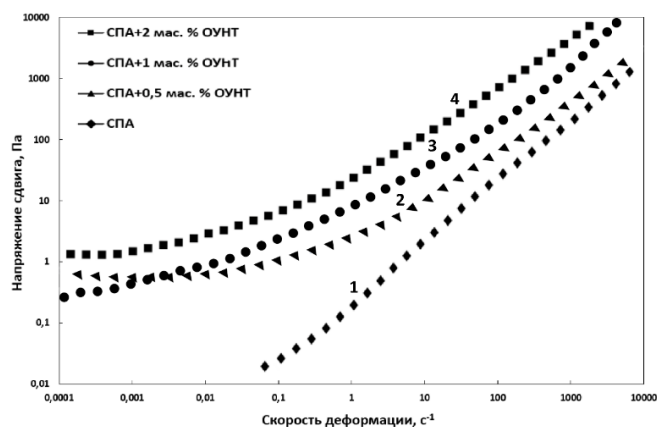


Рисунок 3. Зависимости напряжения сдвига от скорости деформации раствора СПА концентрацией 18 мас.% (1), а также композитных растворов СПА, содержащих 0,5, 1,0 и 2,0 мас.% ОСУНТ (2, 3, 4).

Исходя из анализа данных реологии, а также предложенной схемы трансформации кластерной структуры ОСУНТ в растворе СПА, можно заключить, что для формирования ориентированной структуры композиционных нановолокон, содержание наполнителя не должно превышать величину 2 мас. %.

Исследование электропроводности композитного раствора от концентрации ОСУНТ показало (Рис. 4), при концентрации 2 мас. % происходит существенное увеличение проводимости. Это значение концентрации ОСУНТ соответствует величине порога перколяции. Это подтверждает предположение о формировании при этой величине концентрации макрокластера.

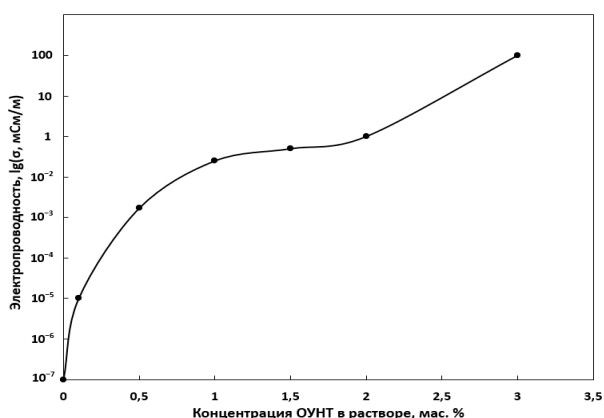


Рисунок 4. Зависимость электропроводности композитных растворов СПА от содержания ОСУНТ.

Поверхностное натяжение является еще одним важным параметром, влияющим на процесс электроформования. Согласно литературным данным, для большинства полимерных растворов этот диапазон составляет от 20 до 60 мН/м

[9]. При значении концентрации ОСУНТ выше 1 мас.% происходит уменьшение поверхностного натяжения (Рис. 5). Это связано с образованием макрокластера, который в свою очередь ослабляет взаимодействие между молекулами СПА в растворе. Оптимальным значением поверхностного натяжения обладают растворы, содержащие не более 1 мас. % ОСУНТ. Растворы с концентрацией выше 2,0 мас. % имеют низкие значения поверхностного натяжения, что препятствует образованию нановолокон.

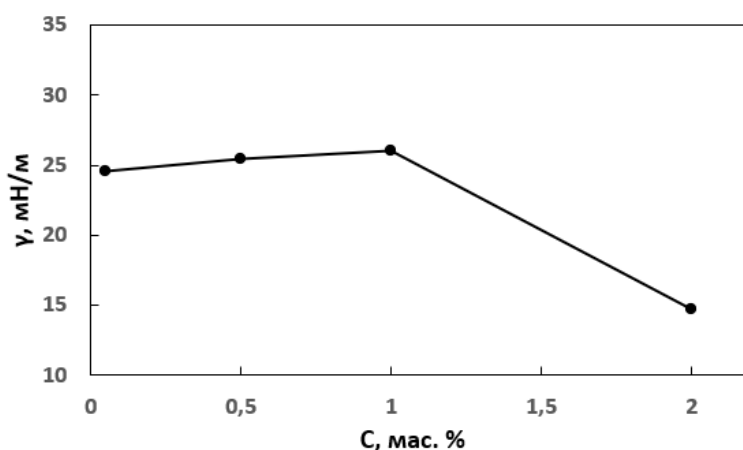


Рисунок 5. Зависимость поверхностного натяжения композитного раствора СПА от концентрации ОСУНТ

Основываясь на исследовании свойств растворов СПА с ОСУНТ, для электроформования были выбраны водно-спиртовые растворы СПА, содержащие 0,5, 1,0 и 2,0 мас. % ОСУНТ по отношению к массе полимера. Были выбраны следующие параметры процесса электроформования:

- величина электрического напряжения – 20-22кВ;
- скорость подачи раствора – 1-2 мл/ч;
- расстояние между подающим и принимающим электродами – 15 см;
- температура в камере установки для электроформования - 20°C;
- тип приемного электрода – металлическая пластина, покрытая алюминиевой фольгой.

Морфология волокон характеризуется гладкой поверхностью с отсутствием дефектов в виде утолщений волокон либо капель полимера, характерно наличие высокоразвитой пористой структуры (Рис. 6). Разброс значения диаметра для нановолокон СПА составляет 100-700 нм, средний диаметр 412 ± 154 нм. При

введении в материал ОСУНТ происходит изменение в распределении диаметра волокон (Рис. 6е). Разброс диаметра составляет 100-900 нм, при этом наибольшее число значений приходится на область 400-600 нм. Средний диаметр увеличивается до 567 ± 239 нм.

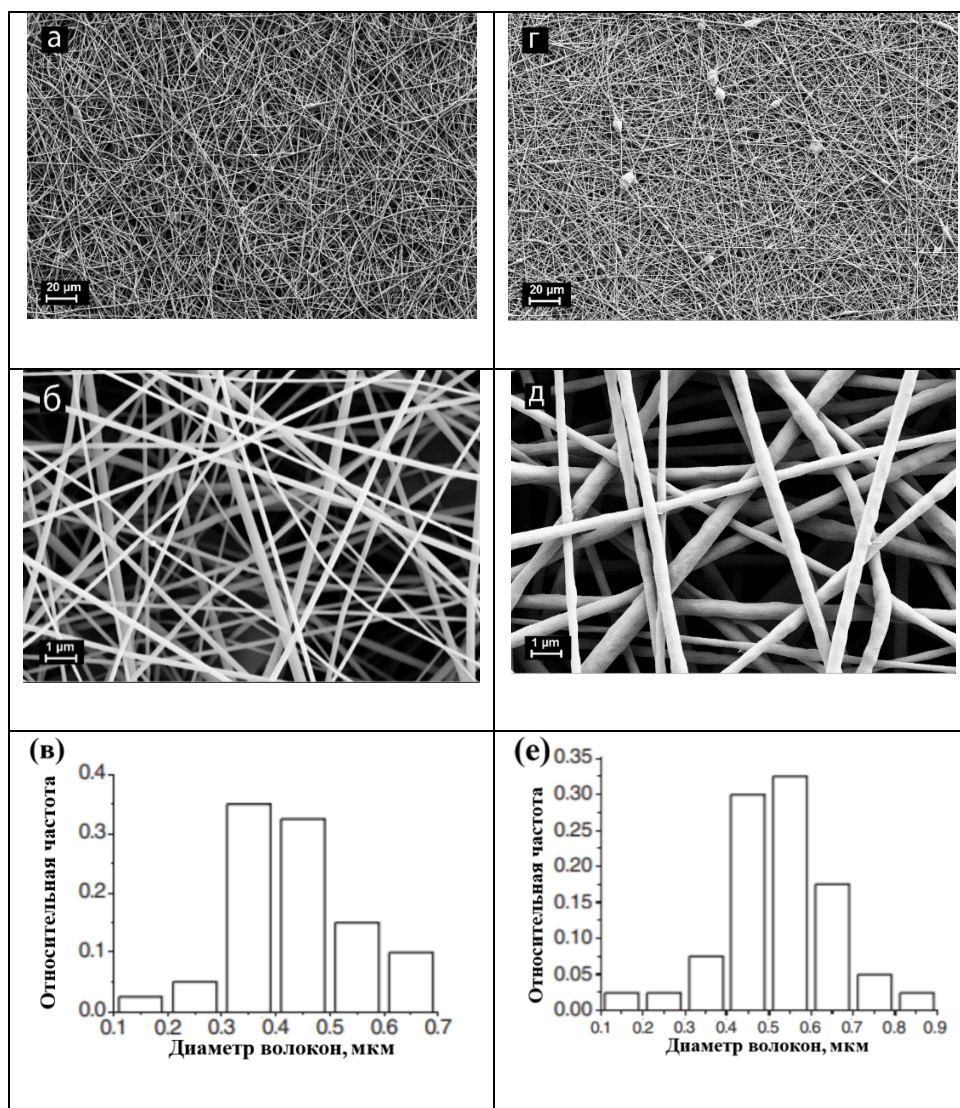


Рисунок 6. Микрофотографии поверхности нановолокон СПА, распределение их диаметра (а-в) и композитных нановолокон, содержащих 0,5 мас. % ОСУНТ (г-е)

При увеличении концентрации ОСУНТ отдельные волокна характеризуются наличием шероховатости и утолщений. Помимо этого, волокна перестают быть вытянутыми, что может быть вызвано наличием агломератов ОСУНТ большого размера (Рис. 7).

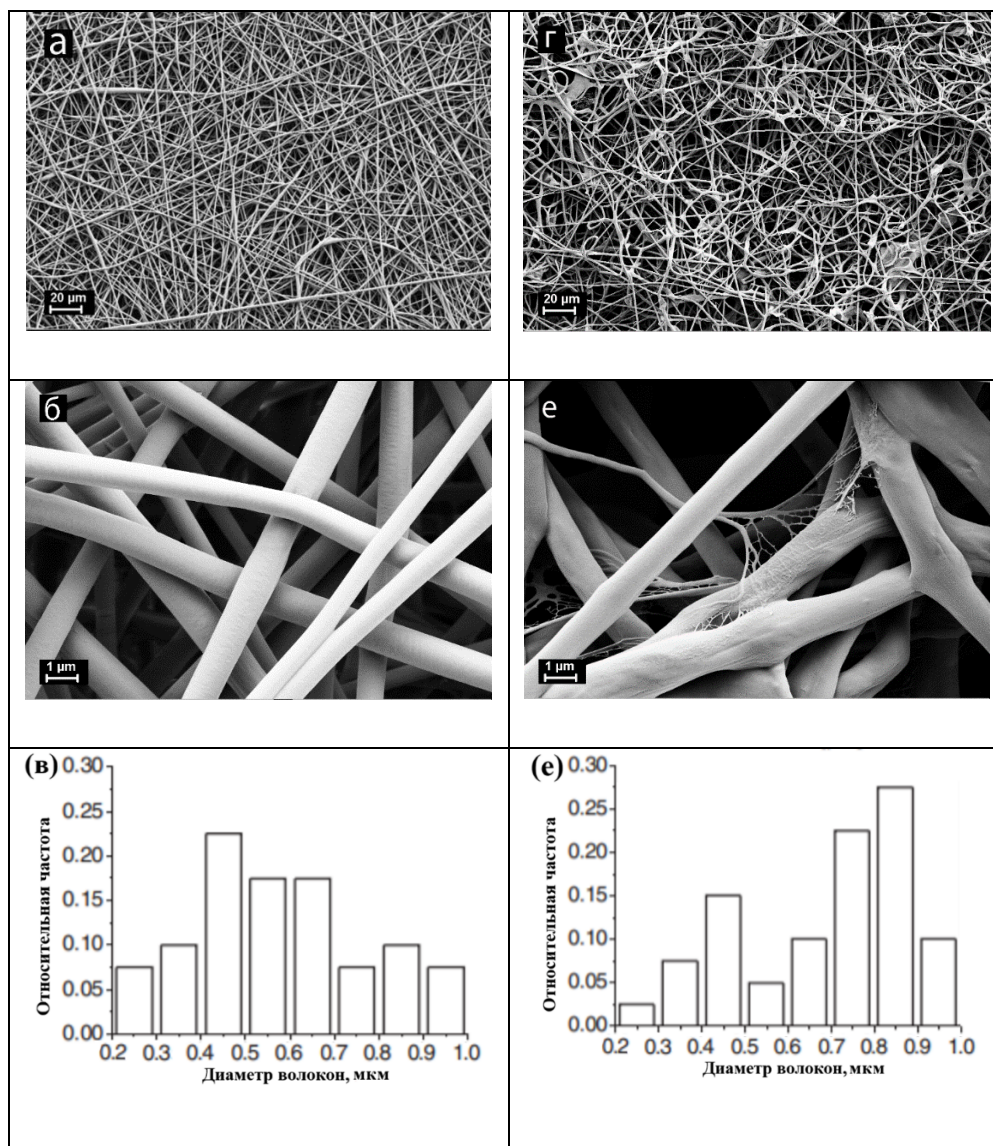


Рисунок 7. Микрофотографии поверхности композитных нановолокон СПА+1 мас. % ОСУНТ и распределение их диаметра (а-в) и композитных нановолокон СПА+2 мас. % ОСУНТ (г-е)

Для материала на основе СПА+1 мас. % ОСУНТ средний диаметр волокон составляет 646 ± 421 нм. Для матрицы на основе СПА+2 мас. % ОСУНТ тенденция к увеличению диаметра волокон сохраняется, средний диаметр составляет 785 ± 632 нм. Увеличение диаметра волокон происходит из-за увеличения динамической вязкости композитного раствора.

Средний размер пор и удельная поверхность служат важным инструментом анализа для определения эксплуатационных характеристик матрицы, в частности, для пролиферативной активности клеток. В таблице 1 представлены данные для СПА матриц, наполненных ОСУНТ и полученных методом электроформования. Эти материалы обладают высоким значением удельной

поверхности, а размер пор должен способствовать клеточной пролиферации [10].

Таблица 1. Удельная поверхность и средний диаметр пор композитных матриц на основе нановолокон из СПА и ОСУНТ

Матрица	Средний диаметр пор, мкм	Удельная поверхность, м ² /г
СПА	5,78±2,43	175,05±47,76
СПА+0,5 мас. % ОСУНТ	5,65±2,78	173,70±49,22
СПА+1 мас. % ОСУНТ	5,31±3,85	164,48±59,54
СПА+2 мас. % ОСУНТ	4,69±3,76	160,78±55,12

Исследование механических свойств нетканых материалов показало (Таблица 2), что при введении ОСУНТ концентрацией ниже 1 мас. % происходит увеличение прочности и модуля упругости матрицы. Однако, при дальнейшем увеличении концентрации ОСУНТ происходит снижение механических характеристик. Происходит частичная агломерация ОСУНТ, что снижает их степень анизотропии и увеличивает Ван-дер-Ваальсовое взаимодействие между нанотрубками. Это приводит к неравномерному распределению ОСУНТ в волокне и ослаблению взаимодействия СПА и наполнителя, что, вероятно, способствует снижению деформации до разрыва полученного композиционного материала.

Таблица 2. Механические характеристики пористых пленочных материалов на основе композиционных нановолокон из СПА и ОСУНТ.

Содержание ОСУНТ, %	Модуль упругости, МПа	Прочность, МПа	Деформация до разрыва, %
0%	54,51±7,15	7,09±0,56	259,02±15,06
0,5 %	87,64 ±12,34	8,09±1,32	141,95±15,45

1 %	85,71±9,03	5,81±0,77	113,23±13,03
2%	57,27±11,67	4,01±0,65	98,44±11,06

Исследование краевого угла смачивания и свободной поверхностной энергии (СПЭ) показало, что поверхности матриц на основе как СПА, так и СПА+ОСУНТ являются гидрофильными, с увеличением концентрации ОСУНТ происходит уменьшение угла смачивания и увеличение СПЭ, что согласно литературным данным может усиливать биосовместимость материала и адгезионную способность клеток на полученной матрице [11].

Исследование электропроводящих свойств композитных матриц показало, что материалы на основе СПА и СПА, содержащие 0,5 мас. % ОСУНТ являются диэлектриками. Значение удельной электропроводности для них составляет $1,87 \cdot 10^{-10}$ См/м. Однако, при повышении концентрации ОСУНТ, материал начинает проявлять проводящие свойства. Матрица, содержащая 2 мас.% ОСУНТ имеет удельную электропроводность $2,12 \cdot 10^{-5}$ См/м. Полученные значения удельной электропроводности для матриц на основе нановолокон из СПА, содержащих 1,0 - 2,0 мас. % ОСУНТ, делает возможным их применение в областях тканевой инженерии, требующих наличие у материала электрической проводимости.

Четвертая глава посвящена получению электропроводящих композитных нановолокон на основе СПА, покрытых полипирролом (ППи) и исследование свойств нетканого материала на их основе. Для придания нетканому пористому материалу электропроводящих свойств на матрицу сополиамида был нанесен электропроводящий ППи. Цепь ППи состоит из десятков и сотен мономерных единиц, которые формируют систему полисопряжения. Атомы азота цепи обратимо окисляются/восстанавливаются. При окислении в цепи формируются носители заряда и возникают парамагнитные центры в виде некомпенсированных электронных спинов. Для создания композитного

материала СПА-ППи был выбран способ *in-situ* полимеризации пиррола: погружение матрицы СПА в реакционную среду с последующей инициацией полимеризации и нанесением ППи на поверхность нановолокон. Синтез ППи проводился в водной среде без использования токсичных реагентов. Это позволяет получить биосовместимую полимерную матрицу для биомедицинского применения. После покрытия СПА нановолокон ППи развитая пористая структура матрицы сохраняется (Рис. 8). При этом поверхность композитных нановолокон становится шероховатой, становятся различимы сферические частицы полипиррола, диаметр которых составляет ~ 100 нм и агрегаты частиц ППи размером до 500 нм. ППи образует сплошной слой на поверхности нановолокон. Это типичная морфология слоя ППи, образовавшегося на матрице в результате *in-situ* полимеризации.

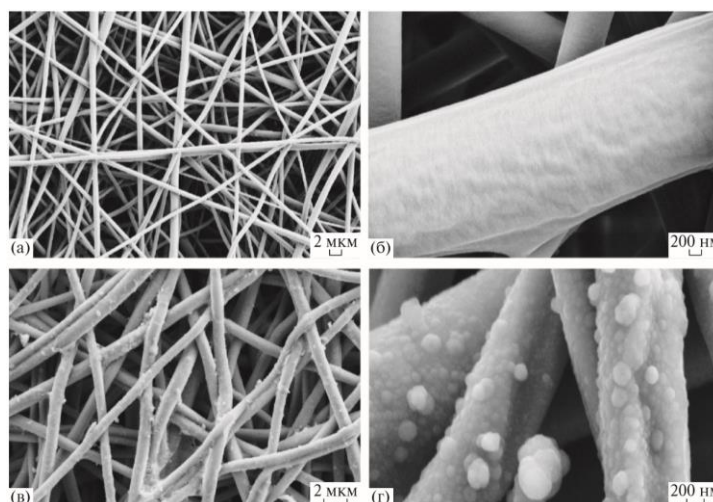


Рисунок 8. Микрофотографии матрицы сополиамида, полученная методом электроформования (а,б) и композитных нановолокна сополиамид-полипиррол (в,г)

После тщательной промывки водой и высушивания композит СПА/ППи содержит 6% ППи, что соответствует 89% выхода реакции полимеризации. Композиционный материал состоит из гибридных нановолокон со структурой типа “волокно в оболочке”, где слой ППи покрывает поверхность волокон СПА. Структура типа “волокно в оболочке” практически не уменьшает межволоконные пространства и удельную площадь поверхности волокон, что необходимо для жизнедеятельности клеток. Одновременно протяженный слой ППи создает перколяционную сетку, которая повышает электропроводность

композита при низком содержании проводящей компоненты. В то же время высокая адгезия слоя ППи к поверхности волокна СПА обеспечивает долговременную стабильность гибридного композиционного материала.

Для контроля состава композиционных нановолокон СПА/ППи было проведено спектральное исследование образцов (Рис. 9).

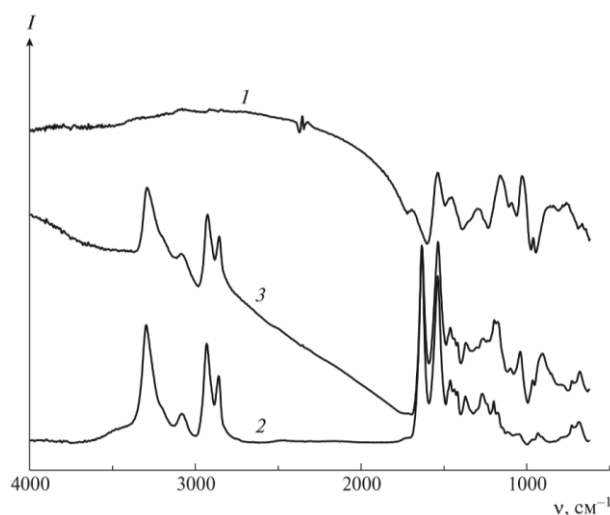


Рисунок 9. ИК-спектры полипиррола (1), сополиамида (2) и композитного матриала сополиамид-полипиррол (3)

Наличие полосы поляронной структуры 1090 cm^{-1} является свидетельством того, что ППи находится в окисленной электропроводящей форме в составе композитной матрицы. Кроме того, в отличие от чистого СПА композит имеет более интенсивное поглощение в области водородных связей, что может свидетельствовать о гидрофилизации материала. Однако полосы деформационных колебаний ППи, а именно $\text{C}-\text{H}$ и $\text{C}-\text{N} - 1030\text{ cm}^{-1}$, а также полосы СПА 1632 cm^{-1} поглощения группы $\text{C}=\text{O}$ и 3300 cm^{-1} валентных колебаний группы $\text{N}-\text{H}$ в композите СПА/ППи претерпевают небольшое смещение. Это является следствием химического взаимодействия между молекулами двух полимеров.

Для определения влияния модификации матрицы на основе нановолокон СПА полипирролом на поверхностные свойства волокон и эффективность взаимодействия матрицы с биологическими жидкостями и клеточными культурами был измерен краевой угол смачивания композитного материала и

рассчитана свободная поверхностная энергия. После модификации нановолокон СПА полипирролом краевой угол смачивания снижается почти до 0° . Композитные нановолокна становятся еще более гидрофильными. Основными причинами такого значительного уменьшения угла смачивания являются изменение морфологии поверхности и увеличение полярных групп на поверхности нановолокон. С уменьшением краевого угла смачивания происходит увеличение свободной поверхностной энергии матрицы.

Для оценки электропроводности полученного композитного материала и формы ППи на поверхности нановолокон СПА было измерено его поверхностное сопротивление. Для матрицы СПА без модификации ППи, значение поверхностного сопротивления превысило максимально возможное измеряемое значение метода – 600 МОм/квадрат. Поверхностное электрическое сопротивление композитной матрицы СПА/ППи заметно снижается. После модификации ППи значение сопротивления составляет 300-600 Ом/квадрат. Несмотря на развитую пористую структуру и толщину слоя ППи несколько сотен нанометров, композитная матрица СПА/ППи при содержании ППи около 6% от всей массы композита имеет поверхностное сопротивление всего на несколько порядков выше, чем образец чистого ППи. Это говорит о низком пороге перколяции – материал начинает обладать электропроводящими свойствами при низком содержании ППи в композите. Низкий перколяционный порог в свою очередь свидетельствует о наличии сплошной протяженной структуры ППи на поверхности нановолокон.

После модификации поверхности нановолокон ППи прочность матрицы практически не изменилась (Таблица 3). Однако, произошло увеличение модуля упругости почти на 40%. При этом на 30% уменьшилось значение деформации до разрыва. Исходя из этих данных, можно сделать вывод о том, что слой ППи на поверхности волокон СПА увеличивает жесткость матрицы, поскольку созданный на поверхности нановолокон слой ППи является слабдеформируемым и, таким образом, повышает упругие свойства композиционного материала.

Таблица 3. Механические характеристики полимерных матриц на основе нановолокон СПА и композитных нановолокон СПА-ППи

Матрица	Прочность, МПа	Модуль Юнга, МПа	Деформация при растяжении, %
СПА	3,85±1,16	25,14±4,55	143,50±39,24
СПА-ППи	3,56±1,19	41,25±9,26	99,91±26,92

В пятой главе представлены результаты получения нетканых материалов на основе нановолокон жесткоцепного ароматического полиимида ДФ-оТД, полученного в результате реакции поликонденсации о-толидина (ТД) и 3,3',4,4'-дифенилтетракарбоновой кислоты (ДФ) в ДМАА (N,N-Диметилацетамид). Была подобрана оптимальная смесь апротонных растворителей и концентрация ПАК в растворе, при которых раствор обладал наилучшими волокнообразующими свойствами. Исследования структуры растворов ПАК методом рассеяния поляризованного света показали, что добавление бензола к раствору ПАК в ДМАА приводит к разрыву водородных связей между растворителем и функциональными группами полимера, а также разрушению ассоциативной надмолекулярной структуры и ее упорядочиванию. Это ускоряет удаление растворителей в процессе электроформования и улучшает волокнообразующие свойства раствора. Было показано, что при соотношении ДМАА:бензол = 40 : 60 об.% наблюдается наибольшая однородность раствора и максимальный размер упорядоченных областей.

Для определения оптимальных параметров электроформования растворов ПАК было проведено исследование реологических и тензиометрических свойств раствора (Рис. 10). Исследование зависимости эффективной вязкости растворов с различной концентрацией ПАК от скорости сдвига γ показало, что это неньютоновские жидкости и при увеличении γ в диапазоне 10^{-3} – 1.0 с^{-1} эффективная вязкость растворов значительно уменьшается.

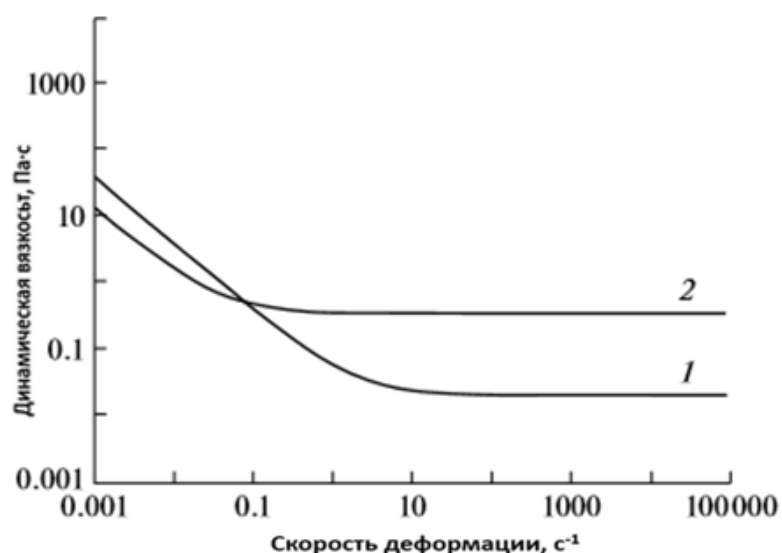


Рисунок 10. Зависимость динамической вязкости η от скорости деформации $\dot{\gamma}$ для растворов ПАК с концентрацией 8 (1) и 15 мас.% (2).

Снижение величины вязкости раствора ПАК при увеличении скорости сдвига связано с тем, что растворы ПАК демонстрируют псевдопластичное поведение, обусловленное структурированием раствора в результате взаимодействия функциональных групп ПАК. Величина предела текучести для растворов с концентрацией 8 и 15 мас. % составляет 0.03 и 0.07 Па, соответственно. Эти небольшие значения способствуют легкому разрушению исходной физической сетки под действием сдвиговой деформации.

Величина поверхностного натяжения для всех исследуемых растворов находится в допустимом пределе, при котором раствор не теряет своих волокнообразующих свойств (Таблица 4).

Таблица 4. Значения величины поверхностного натяжения растворов ПАК с разной концентрацией

Концентрация ПАК в растворе, мас.%	Поверхностное натяжение, 10^{-3} мН/м
8	$27,6 \pm 1,8$
15	$32,8 \pm 1,2$
17	$34,4 \pm 1,1$

Изучение морфологии матриц, полученных из растворов ПАК методом электроформования показало, что при формовании раствора с концентрацией 8 мас. % на приемном электроде образуются сферические частицы размером от

300 нм до 3 мкм, нановолокна при этом отсутствуют. При повышении концентрации раствора до 14 мас. % появляются как сферические частицы, так и нановолокна диаметром 50–80 нм. Структура, состоящая из нановолокон диаметром 100–300 нм, формируется при содержании в растворе 15 мас. % ПАК (Рис. 11).

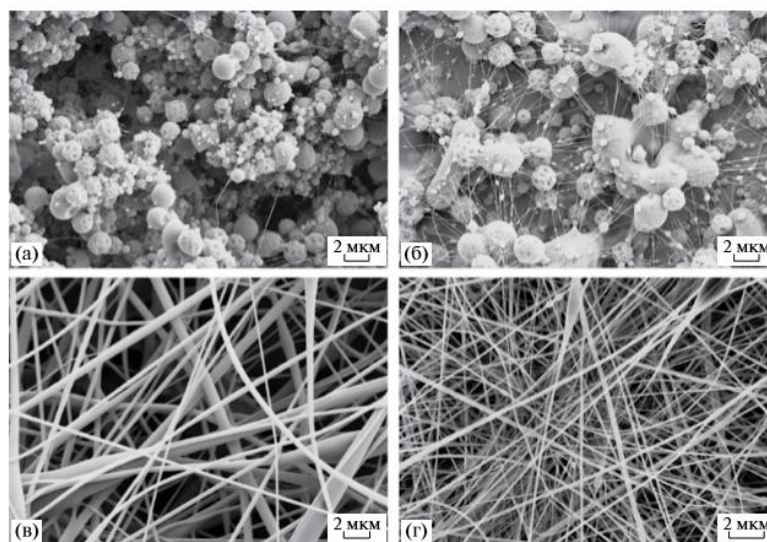


Рисунок 11. Микрофотографии нановолокнистых материалов, полученных из растворов ПАК с концентрацией 8 (а), 14 (б) и 15 мас.% (в), а также материала на основе полиимида ДФ–ТД (г).

После ступенчатой термической обработке полученных матриц из ПАК волокон в интервале температур 100–420°C были получены нановолокна ароматического ПИ. Этот материал обладает гомогенной структурой, не содержит дефектов в виде сфер, диаметр волокон составляет 100–200 нм (Рис. 11г). Механические характеристики материала на основе нановолокон ароматического ПИ близки к матрице на основе нановолокон СПА: модуль упругости составил 71.5 ± 8.3 МПа, предел прочности 7.0 ± 0.9 МПа, деформация до разрыва 32.2 ± 8.5 %.

В шестой главе приведены результаты исследования биосовместимости полученных нетканых материалов. Вопрос о влиянии УНТ на элементы внутри – и внеклеточного матрикса до сих пор остается дискуссионным. В некоторых работах приведены данные о токсичном эффекте УНТ на ткани организма [12], в то время как ряд работ доказывает отсутствие негативного влияния на живые

клетки [13]. Культивируемые на материалах СПА-ОУНТ клетки обладают высокой пролиферативной активностью (Рис. 12). После 5 дней культивирования количество мертвых клеток составило 8%. Это является свидетельством отсутствия негативного влияния ОУНТ на жизнеспособность клеток.

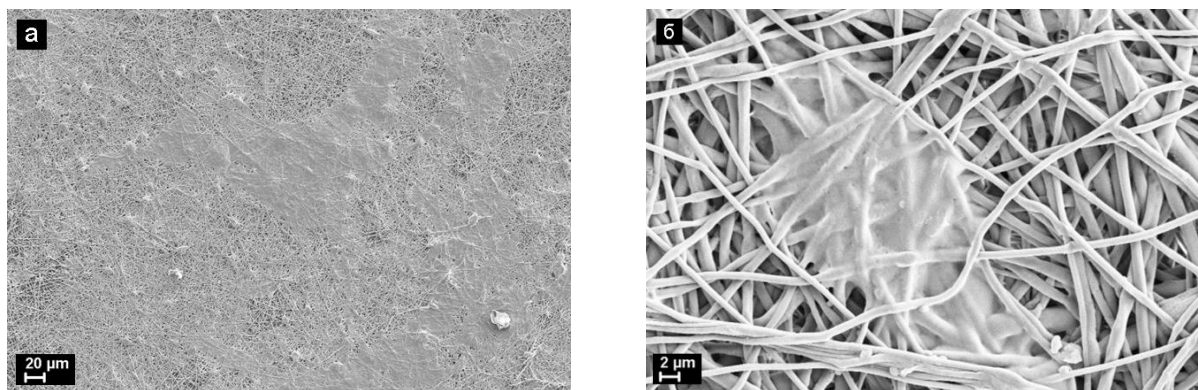


Рисунок 12. Микрофотографии тканеинженерного препарата на основе пленочного пористого материала из композиционных нановолокон СПА с добавлением ОУНТ 0,5 мас.% после трех суток культивирования клеток под малым увеличением (а) и под большим увеличением (б)

Отсутствие цитотоксического эффекта было показано и для других материалов, полученных методом электроформования. В таблице 5 приведены данные о количестве мертвых клеток на 5 день культивирования дермальных фибробластов человека.

Таблица 5. Количество мертвых клеток в ходе культивирования дермальных фибробластов человека

Образец	Мертвые клетки, %
СПА+ 1 мас.% ОУНТ	8
СПА + ППи	4
ПИ	1
АЦ+П	2
АЦ+К	7

Помимо этого, с использованием культуры дермальных фибробластов человека было показано, что все полученные материалы не вызывают цитотоксического действия на культуру клеток. Результаты МТТ-теста представлены на рисунке 13.

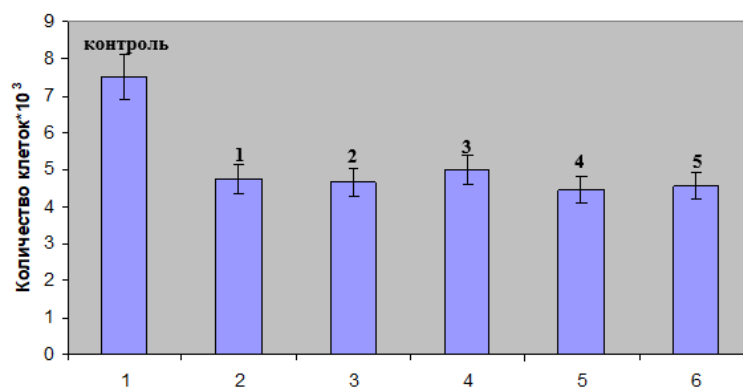


Рис13. Количество клеток после культивирования их на пленочных материалах из нановолокон на основе СПА (1), СПА+1 мас. % ОСУНТ (2), СПА+2 мас. % ОСУНТ (3) СПА+ППи (4), ПИ (5) после культивирования в пяти суток

Исследования показали, что количество погибших клеток для всех матриц составляет не более 5%. Низкий процент погибших клеток свидетельствует об отсутствии токсического влияния материалов на них. Также показано, что клетки сохраняют высокую пролиферативную активность на всех образцах в течение 5 дней исследования.

Заключение

1. Показано, что введение ОСУНТ в раствор СПА существенно изменяет характер зависимости вязкости композитного раствора от скорости сдвига. Композитный раствор является неньютоновской жидкостью в отличие от раствора СПА.
2. Предложена модель кластерной структуры ОСУНТ в растворе СПА, а также ее трансформация под действием сдвигового поля. Определена оптимальная концентрация ОСУНТ, 1,0 мас. %, в растворе СПА, и параметры электроформования, при которых процесс получения композиционных нановолокон характеризуется высокой скоростью и стабильностью.
3. Методом *in situ* полимеризации пиррола на поверхности нановолокон из СПА получен электропроводящий материал на основе композиционных нановолокон из СПА и ППи. Наличие нанослоя ППи на поверхности нановолокон СПА повышает механические свойства и гидрофильность

матрицы, а также её электропроводящие свойства до величины $2,1 \cdot 10^{-5}$ См/м.

4. Методом электроформования из раствора ПАК, прекурсора ароматического полиимидаДФ-оТД, в смеси апротонных растворителей и бензола получены нановолокна из ПАК. Ступенчатая термическая обработка нановолокон из ПАК в интервале температур 100-420°C приводит к получению нановолокон из ароматического ПИ, диаметр которых составляет 50-700 нм, температура разложения в инертной среде выше 500°C.
5. Показано отсутствие для полученных материалов цитотоксичности для клеточной культуры фибробластов кожи человека.

Список опубликованных работ

Статьи:

1. Матреничев, В. В., Шишов, М. А., Попрядухин, П. В., Сапурина, И. Ю., Иванькова, Е. М., Добровольская, И. П., Юдин, В. Е. Получение электропроводящих композиционных материалов на основе полимерных нановолокон и полипиррола //Журнал прикладной химии. – 2017. – Т. 90. – №. 10. – С. 1365-1370.
2. Сапурина, И. Ю., Матреничев, В. В., Власова, Е. Н., Шишов, М. А., Иванькова, Е. М., Добровольская, И. П., Юдин, В. Е. Синтез и свойства электропроводящего материала на основе гибридных нановолокон алифатического сополиамида и полипиррола //Высокомолекулярные соединения. Серия Б. – 2020. – Т. 62. – №. 2. – С. 129-138.
3. Матреничев, В. В., Попрядухин, П. В., Крюков, А. Е., Смирнова, Н. В., Иванькова, Е. М., Добровольская, И. П., Юдин, В. Е. Свойства пленочных материалов на основе композиционных нановолокон из алифатического сополиамида и углеродных нанотрубок для тканевой инженерии //Высокомолекулярные соединения. Серия А. – 2018. – Т. 60. – №. 2. – С. 162-168.
4. Матреничев, В. В., Склизкова, В. П., Добровольская, И. П., Юдин, В. Е., Светличный, В. М., Иванькова, Е. М. Получение нановолокон из ароматического полиимида и материалов на их основе для клеточных технологий//Высокомолекулярные соединения. – 2018. – Т. 60. – №. 4. – С. 296-303.
5. Смирнова Н.В., Сапурина И.Ю., Шишов М.А., Колбе К.А., Иванькова Е.М., Матреничев В.В., Юдин В.Е. Композитные матрицы на основе сополиамида и полипиррола для тканевой инженерии//Журнал технической физики. – 2020. – Т. 90. - №. 10. – С. 1644-1650.

Патент:

6. Пат. 2612280 РФ, МПК (2006.01) D 01 F 6/00, B 82 B 3/00, B 29 C 47/00. Способ получения материала на основе нановолокон из ароматического полиимида/ Добровольская И.П., Попрядухин П.В., Склизкова В.П., Юдин В.Е., Матреничев В.В., Светличный В.М.; заявл. 02.12.2015; опубл. 06.03.2017, Бюлл. № 7. – 5 с.

Список литературы

1. Wang H. et al. Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite scaffolds for bone tissue engineering //Biomaterials. – 2007. – Т. 28. – №. 22. – С. 3338-3348
2. Shakespeare P. G. The role of skin substitutes in the treatment of burn injuries //Clinics in dermatology. – 2005. – Т. 23. – №. 4. – С. 413-418.
3. Esmaeili A., Ebrahimzadeh M. Preparation of polyamide nanocapsules of Aloe vera L. delivery with in vivo studies //AAPS PharmSciTech. – 2015. – Т. 16. – №. 2. – С. 242-249.
4. Hassler C., Boretius T., Stieglitz T. Polymers for neural implants //Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics. – 2011. – Т. 49. – №. 1. – С. 18-33.
5. Zhao Q., Whittaker A. K., Zhao X. S. Polymer electrode materials for sodium-ion batteries //Materials. – 2018. – Т. 11. – №. 12. – С. 2567.
6. Bousalem S. et al. Synthesis, characterization and potential biomedical applications of N-succinimidyl ester functionalized, polypyrrole-coated polystyrene latex particles //Colloid and Polymer Science. – 2004. – Т. 282. – №. 12. – С. 1301-1307.
7. Dobrovolskaya I. P., Popryadukhin P. V., Yudin V. E., Ivan'kova E. M., Elokhovskiy V. Yu., Weishauptova Z., Balik K. Structure and properties of porous films based on aliphatic copolyamide developed for cellular technologies.// Journal of Material Science: Materials in medicine. 2015. V.26. P.4
8. И.П. Добровольская, П.В. Попрядухин, В.Е. Юдин, К. Balik, Z. Weishauptova, M. Zaloudkova Нановолокна на основе алифатического сополиамида, полученные методом электроформования Журнал прикладной химии. – 2011. – Т. 84 – №10. – С. 1713-1716.
9. Doshi J., Reneker D. H. Electrospinning process and applications of electrospun fibers //Journal of electrostatics. – 1995. – Т. 35. – №. 2-3. – С. 151-160.
10. Cheung H. Y. et al. A critical review on polymer-based bio-engineered materials for scaffold development //Composites Part B: Engineering. – 2007. – Т. 38. – №. 3. – С. 291-300.
11. Neupane M. P. et al. Hydrothermal Fabrication of Iodine Doped Titanium Oxide Films on Ti Substrate //Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology. – World Academy of Science, Engineering and Technology, 2012. – №. 70.
12. Warheit D. B. et al. Comparative pulmonary toxicity assessment of single-wall carbon nanotubes in rats //Toxicological sciences. – 2004. – Т. 77. – №. 1. – С. 117-125.

13. Lam C. W. et al. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation //Toxicological sciences. – 2004. – T. 77. – №. 1. – С. 126-134.