



Минобрнауки России
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт структурной макрокинетики
и проблем материаловедения им. А.Г. Мержанова
Российской академии наук (ИСМАН)

142432, Московская обл., г. Черноголовка, ул. Академика Осипьяна, д. 8
Тел.: 8 496 524 63 76; факс: 8 496 524 62 55; e-mail: director@ism.ac.ru

ОКПО 04860509, ОГРН 1035006109753, ИНН/КПП 5031005368/503101001

08.09.2021 № 12112-1255/406

на № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ИСМАН
профессор, чл.-корр. РАН

М.И. Алымов

«08» сентября 2021 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической ценности диссертации

Пономарева Виктора Андреевича

на тему: «Разработка биоактивных и бактерицидных покрытий, легированных функциональными элементами (Ca, P, B) и декорированных наночастицами Pt, Fe, Ag и Zn», представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.16.06 – Порошковая металлургия и композиционные материалы

Актуальность темы

Попадание бактериальной инфекции в зону установки имплантата может приводить к развитию периимплантита и отторжению имплантата. Наибольшую опасность представляют бактерии, объединенные в колонии и образующие высокоадгезивную пленку на поверхности материала. Эта пленка благоприятна для развития воспалительной реакции и невосприимчива для антибиотиков. Препятствовать образованию биопленки можно, обеспечив бактерицидные свойства материала и быструю интеграцию с костью. Основная доля имплантатов, особенно высоконагруженных, изготавливается из титана и его сплавов, который является биоинертным и не обладает бактерицидной активностью. Покрытия позволяют придать новые свойства поверхности без изменения свойств объемного материала. Разработка бактерицидных и биоактивных покрытий является рациональным способом решения проблемы бактериальной инфекции, что позволит минимизировать риск возникновения угрозы здоровью людей при установке имплантатов.

Большинство существующих бактерицидных покрытий характеризуются низкой эффективностью или токсичностью в отношении клеток костной ткани. Актуальной задачей является поиск альтернативных путей обеспечения бактерицидной активности, которые позволят сохранить и преумножить биосовместимость и биоактивность материала.

Актуальность диссертационной работы заключается в разработке новых составов биоактивных и бактерицидных покрытий с наночастицами металлов или дополнительным слоем на поверхности, которые уничтожают бактерии благодаря действию ионов, активных форм кислорода, микрогальванических пар или антисептических соединений и предназначены для нанесения на титановые имплантаты. Формирование у материала антибактериальных свойств за счет легирования бактерицидным компонентом часто сопряжено со снижением биосовместимости из-за высокой концентрации ионов бактерицида. Существует несколько антибактериальных механизмов, которые не связаны с действием ионов, часть из них, возможно обеспечить с помощью формирования наночастиц металлов в наносимых бактерицидных покрытиях. Также известно, что соединения бора могут обладать антисептическими свойствами, поэтому бор содержащие материалы могут стать альтернативой классическим бактерицидным компонентам. Разработка покрытий, декорированных наночастицами металлов или являющихся источником соединений на основе бора, является перспективным направлением для создания бактерицидных материалов.

Предложенные Пономаревым В.А. новые научные положения строго аргументированы, теоретически обоснованы и экспериментально подтверждены. Приведенные новые научные результаты являются достоверными и могут быть использованы для решения многих научных и прикладных задач. Диссертационная работа Пономарева В.А. на тему: «Разработка биоактивных и бактерицидных покрытий, легированных функциональными элементами (Ca, P, B) и декорированных наночастицами Pt, Fe, Ag и Zn» посвящена вышеуказанной проблематике, а её постановка отражает мировые тенденции в области разработки новых биоактивных и бактерицидных материалов. В представленной работе разработаны несколько типов покрытий, которые обеспечивают гибель бактерий за счет одного или комбинации антибактериальных механизмов. Впервые показано бактерицидное действие микрогальванических пар на поверхности без вклада других антибактериальных механизмов, разработано двухслойное бактерицидное покрытие, установлены закономерности выхода ионов металлов от комбинации их наночастиц на поверхности и зависимость количества образующихся

активных форм кислорода от типа наночастиц. Полученные знания позволяют комбинировать несколько антибактериальных механизмов и создать эффективный бактерицидный материал. Одной из особенностей работы является одновременное распыление двух композиционных мишеней, полученных методом самораспространяющегося высокотемпературного синтеза (СВС), и последующее ионное распыление мишени в одном технологическом цикле.

Актуальность диссертационной работы подтверждается ее выполнением в рамках календарных планов программы повышения конкурентоспособности НИТУ «МИСиС» среди ведущих мировых научно-образовательных центров исследований для проведения научного исследования по направлению «Разработка перспективных функциональных неорганических материалов и покрытий с участием ведущих учёных» (Грант № К2-2020–004), а также двух проектов Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) №19–38–90249 от 23.08.2019 и №19–58–45016 от 07.10.2019.

Структура и основное содержание работы

Диссертационная работа состоит из введения, 6 глав, общих выводов, списка использованных источников и 3 приложений. Диссертация выполнена на 209 страницах, содержит 25 таблиц и 68 рисунков. Список использованной литературы состоит из 291 наименования.

Введение содержит общую характеристику работы: актуальность, поставленные цели и запланированные задачи, научную и практическую значимость полученных результатов, а также положения, выносимые на защиту.

Первая глава представляет собой аналитический обзор научно-технической литературы, в котором приведены общие сведения о материалах, применяемых для изготовления имплантатов, обоснована необходимость нанесения покрытий, рассмотрены распространённые способы придания материалам бактерицидных свойств и проанализированы известные механизмы бактерицидной активности наночастиц металлов. На основании детального анализа выбран титановый сплав в качестве модифицируемого материала, подобраны составы покрытий и методы их нанесения. Предложена модификация поверхности покрытий методом ионной имплантации с целью создания наночастиц на поверхности и определены предполагаемые механизмы антибактериальной активности, которые материал должен обеспечивать. Качество литературного обзора свидетельствует о высокой эрудиции соискателя, его детальном знакомстве с отечественной и иностранной литературой по тематике диссертации и навыках поиска, обработки и систематизации информации.

Во второй главе описаны используемые в работе исходные материалы и их основные характеристики, методы модификации поверхности, включающие в себя (а) магнетронное распыление композиционных мишеней, полученных методом самораспространяющегося высокотемпературного синтеза, (б) ионное распыление, (в) плазменное электролитическое оксидирование и (г) ионную имплантацию, а также приведены подробные режимы нанесения покрытий. Автором описаны методики экспериментальных исследований фазового и химического состава, структуры и свойств полученных материалов, в том числе, растровая и просвечивающая электронные микроскопии, рентгеноструктурный фазовый анализ, спектроскопия комбинационного рассеяния, инфракрасная Фурье спектроскопия, рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия, спектроскопия зеркального отражения, атомно-силовая микроскопия, метод зонда Кельвина, масс-спектроскопия с индуктивно связанной плазмой. Приведены методы изучения механических, электрохимических свойств, смачиваемости и сопротивления покрытий. Кроме того, подробно описаны методики оценки биоактивности образцов *in vivo* и количества активных форм кислорода.

Третья глава посвящена введению металлов Ag, Zn, Pt и Fe в покрытие TiCaPCON методом ионной имплантации с целью формирования наночастиц и изучению их влияния на кинетику выхода ионов, распределение потенциала по поверхности и генерацию активных форм кислорода. Обнаружено, что имплантация Ag приводит к формированию оксидированных наночастиц, которые выпускают только 0,11 ppb ионов. Исследования кинетики выхода ионов показали, что наночастицы двух разнородных металлов на поверхности покрытия оказывают влияние на кинетику выхода ионов каждого из металлов. Автор предположил несколько механизмов взаимного влияния наночастиц на выход ионов, в том числе, эффект катодной защиты. Установлено, что имплантация Pt с образованием наночастиц размером до 30 нм и последующая имплантация Fe обеспечивают фотокаталитические свойства покрытий TiCaPCON под действием ультрафиолетового излучения. Это приводит к генерации до 2970 нмоль/см² активных форм кислорода после 3-12 часов выдержки в физиологическом растворе. Показано, что на поверхности проводящих покрытий TiCaPCON после двух этапов имплантации Pt и Fe наночастицы имеют заряд на 30 мВ положительнее, чем окружающая поверхность. После выдержки в физиологическом растворе соотношение зарядов изменяется на противоположное, а разница составляет 60 мВ. Таким образом, автор утверждает о разработке покрытия с микрогальванической парой на поверхности.

В четвертой главе представлены результаты получения оптимальных по критериям пористости и элементного состава покрытий TiO_2 и модификациях их поверхности наночастицами Pt и Ag с целью повышения фотокаталитической активности материала под действием ультрафиолетового излучения и обеспечения выхода ионов серебра. Разработано покрытие из оксида титана с кальцием и фосфором в составе, состоящее из смеси анатаз/рутил и имеющее поры до 2,3 мкм, на поверхности которого находятся наночастицы Ag размером до 6 нм и наночастицы Pt с максимальным размером 20 нм. Установлено, что покрытие TiO_2 с наночастицами Ag после УФ генерирует до 4565 нмоль/см², а с наночастицами Pt до 3960 нмоль/см². Ионы серебра выходят из покрытия в течение двух суток с максимальной концентрацией 0,5 ppm. Кроме того, показано, что до и после имплантации покрытия TiO_2 успешно образуют на своей поверхности фазу подобную апатиту при проведении экспериментов в растворе, имитирующем внутреннюю среду человека.

В пятой главе посвящена введению бора в покрытие TiCaPCON, изучению его влияния на фазовый состав и свойства, а также нанесению оксида бора в качестве второго растворимого слоя. Разработаны покрытия TiCaPCON-B, нанесенные методом одновременного магнетронного распыления двух СВС мишеней, и установлены зависимости фазового состава от концентрации бора в покрытии. Обнаружено, что введение бора приводит к появлению фаз TiB_2 , BN и BN_xO_y , уменьшению размера зерен карбонитрида титана до 2-6 нм и обеспечивает устойчивый выход до 150 ppb ионов бора. Разработаны двухслойные покрытия $\text{BO}_x/\text{TiCaPCON-B}$ с рыхлым верхним слоем толщиной 120 нм, состоящим из комбинации оксидов бора различной стехиометрии.

В шестой главе приведены результаты биологических испытаний разработанных покрытий, проведен их анализ и обсуждение. Обнаружено, что покрытия TiCaPCON с наночастицами Ag на поверхности, которые обеспечивают выход 0,11 ppb ионов серебра в первые 3 часа, уничтожают 95% колоний кишечной палочки и являются благоприятными для пролиферации и дифференцировки клеток костной ткани. Установлено, что бактерицидный эффект покрытий TiCaPCON-Pt,Fe напрямую зависит от количества активных форм кислорода и приводит к гибели 80-99,9% бактерий, а покрытия не являются токсичными в отношении лимфоцитов. Дополнительный антибактериальный тест позволил продемонстрировать 98% бактерицидное действие разницы потенциалов на поверхности, имплантированных Pt и Fe, покрытий. Два различных антибактериальных теста показали, что повышение фотокаталитической активности TiO_2 покрытий с помощью наночастиц Ag и Pt, приводит к уничтожению бактерий на их поверхности.

Покрyтия являются цитосовместимыми. Прoдемонстрирован антибактериальный эффект слоя оксида бора на поверхности $\text{BO}_x/\text{TiCaPCON-B}$ покpытий, а также биосовместимость и биоактивность покpытия TiCaPCON-B .

Завершают диссертационную работу общие выводы, которые содержат основные результаты и позволяют объективно оценить значимость проведенных исследований

Научная новизна диссертационной работы

В диссертационной работе впервые получены следующие наиболее важные научные результаты:

1) Показано, что сильный бактерицидный эффект покpытий TiCaPCON-Ag,Zn в отношении бактерий кишечной палочки и золотистого стафилококка при сохранении цитосовместимости достигается при очень низкой концентрации ионов Ag ($0,11 \text{ млрд}^{-1}$) и Zn (15 млрд^{-1}).

2) Установлена зависимость скорости выхода металлических ионов с поверхности покpытий TiCaPCON , имплантированных элементами Zn , Ag , Pt и Fe или их комбинацией, от типа и сочетания наночастиц на поверхности, которые выполняют роль активных анодов или катодов, ускоряя или замедляя выход ионов.

3) Методом Кельвин-зондовой силовой микроскопии показано, что между наночастицами (Pt , Fe) и покpытием TiCaPCON в физиологическом растворе образуется разность потенциалов. Исключив возможный вклад бактерицидных ионов и активных форм кислорода, впервые показано, что бактерии могут погибать за счет непосредственного микрогальванического взаимодействия с поверхностью.

4) Методом плазменного электролитического оксидирования получены новые составы цитосовместимых, биоактивных и бактерицидных покpытий на основе TiO_2 , легированные Ca , P и декорированные наночастицами Ag и Pt . Показано, что способность покpытий к минерализации в растворе, имитирующем внутреннюю среду организма, связана с быстрым выходом ионов Ca и P . Отличные бактерицидные свойства покpытий Ag/TiO_2 объясняются синергетическим эффектом от воздействия ионов серебра и активных форм кислорода на клетки.

5) Получены новые составы борсодержащих покpытий с высокой цитосовместимостью и бактерицидной активностью в отношении бактерий кишечной палочки, которые обеспечиваются за счет введения бора в состав покpытия и формирования слоя оксида бора на поверхности.

Практическая значимость работы заключается в разработанном покpытии $\text{BO}_x/\text{TiCaPCON-B}$ обладающим антибактериальной активностью и предназначенным для

нанесения на поверхность титановых имплантатов, что подтверждено патентом РФ №2697720 от 24.01.2019 «Многокомпонентный двухслойный биоактивный материал с контролируемым антибактериальным эффектом». Разработана технология нанесения двухслойных покрытий VOx/TiCaPCON-B и зарегистрирована технологическая инструкция на процесс нанесения многофункциональных наноструктурных двухслойных покрытий в системе $\text{Ti-Ca-P-C-O-N-B/B-O}$ (ТИ 52-11301236-2021).

В Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» проведены биологические испытания титановых имплантатов с покрытием TiCaPCON-Ag,Zn и титановых имплантатов с покрытием VOx/TiCaPCON-B . Показано, что имплантаты с покрытием TiCaPCON-Ag,Zn обладают 100% антибактериальным эффектом в отношении *E. coli* K-261 и *S. aureus* ATCC 25923, а имплантаты с покрытием VOx/TiCaPCON-B обладают 100% антибактериальным эффектом в отношении *E. coli* K-261.

В Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина» проведены биологические испытания титановых имплантатов с покрытием TiCaPCON-Ag,Zn и титановых имплантатов с покрытием $\text{TiCaPCON-11\% B}$. Показано, что покрытия обладают высоким уровнем биосовместимости, а покрытия обладают высоким уровнем биосовместимости и биоактивности.

Степень обоснованности и достоверности научных положений

Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, достаточно обоснованы и экспериментально проверены. Достоверность и обоснованность результатов диссертационной работы подтверждаются большим объемом экспериментальных данных, их корректной статистической обработкой, применением широкого спектра современного экспериментального и исследовательского оборудования и глубоким анализом полученных результатов в полном соответствии с современными концепциями материаловедения.

Соответствие работы требованиям, предъявляемым к диссертациям, публикации и апробация

Выполнены все требования, предъявляемые к диссертациям. Проведен подробный анализ литературных данных, относящихся к тематике диссертации, правильно установлены цели и задачи исследования, получены новые составы бактерицидных покрытий и предложены оригинальные методики их нанесения. Экспериментальные результаты представлены четко, как в виде графиков и фотографий, так и текста, их

описывающего. Работа написана ясным языком, хорошо иллюстрирована. Диссертация и автореферат содержат необходимые разделы и соответствуют друг другу.

По материалам диссертации опубликовано 17 публикаций, в том числе 4 статьи в реферируемых научных журналах, входящих в Перечень журналов рекомендованных ВАК, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, 12 тезисов докладов в сборниках научных трудов конференций, 1 патент РФ.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные в диссертации результаты доведены автором до уровня, который позволяет рекомендовать их для практического использования на инновационных предприятиях, специализирующихся в области разработки, серийного производства и реализации имплантируемых медицинских изделий из новых высокофункциональных материалов для травматологии и ортопедии. К их числу относятся АО «Имплант МТ», АО «КИМПФ», ООО НПП «МИЦ», ООО «РУСИМПЛАНТ», ООО «КОНМЕТ», ООО НПО "Медицинские инструменты", ООО «Остеомед-М» и др.

Замечания по диссертационной работе

К замечаниям по содержанию диссертации следует отнести следующее:

- 1). Не приведено изображение исходного покрытия TiCaPCON до модификации наночастицами.
- 2). Работа направлена на разработку покрытий для титановых имплантатов, но, исходя из методики, для большинства исследований покрытия наносили на кремниевую подложку. С чем это связано и как потом можно интерполировать полученные результаты на материалы применяемых на сегодня имплантатов (на основе титановых сплавов).
- 3). Вероятно, что слой оксида бора быстро растворится с поверхности и не обеспечит длительного бактерицидного эффекта. Изучалась ли длительность антибактериального эффекта двухслойного покрытия из оксида бора?
- 4). Размер шрифта на рисунках 3.20–3.24 и 3.28 затрудняет чтение значений оси абсцисс

Сделанные замечания не снижают теоретической и практической значимости выполненных исследований, а полученные в диссертации результаты соответствуют поставленным целям.

Заключение

Диссертационная работа Пономарева В.А. «Разработка биоактивных и бактерицидных покрытий, легированных функциональными элементами (Ca, P, B) и декорированных наночастицами Pt, Fe, Ag и Zn» представляет собой законченное научное исследование, содержащее решение актуальной научно-практической задачи в области

материаловедения – создание биоактивного материала, обладающего бактерицидными свойствами. Работа выполнена на высоком профессиональном уровне. Полученные результаты обладают научной новизной и имеют высокое фундаментальное и практическое значение. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертационной работы и отражает основные результаты.

Диссертационная работа по актуальности поставленных задач, научной новизне, объему, уровню опубликованных работ, практической значимости, достоверности полученных результатов и степени обоснованности выводов соответствует пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Пономарев Виктор Андреевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.16.06 – Порошковая металлургия и композиционные материалы.

Отзыв составлен и принят на основании анализа диссертации, автореферата и публикаций соискателя, обсуждения доклада Пономарева В.А. на заседании тематического семинара ИСМАН «Материалообразующие процессы горения и взрыва» 14 июля 2021 года, протокол № 4/2021.

Председатель семинара,
главный научный сотрудник
лаборатории жидкофазных СВС-процессов
и литых материалов ИСМАН,
доктор технических наук, профессор



Юхвид
Владимир Исаакович

Рецензент: зам. директора по науке ИСМАН,
доктор технических наук по специальности
01.04.17 химическая физика, горение и взрыв,
физика экстремальных состояний вещества



Санин
Владимир Николаевич

Ученый секретарь ИСМАН
кандидат технических наук



Петров
Евгений Владимирович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт структурной макрокинетики и проблем материаловедения им. А.Г. Мержанова Российской академии наук (ИСМАН),

142432, Московская обл., г. Черноголовка, ул. Академика Осипьяна, д. 8.

Тел.: 8 (49652) 46-376, Факс: 8 (49652) 46-222, E-mail: isman@ism.ac.ru,