

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего  
образования  
«Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС»

На правах рукописи

Теплякова Татьяна Олеговна

МОДИФИКАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ И ПОВЫШЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ  
СВОЙСТВ СВЕРХУПРУГОГО СПЛАВА  
Ti-18Zr-15Nb МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Специальность 2.6.17  
Материаловедение

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель  
кандидат технических наук Конопацкий Антон Сергеевич

Москва, 2023

## СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1 Медицинские материалы для замены костной ткани.....	10
1.1.1 Керамические материалы.....	10
1.1.2 Углеродные наноструктурированные имплантаты.....	12
1.1.3 Полимерные имплантаты.....	13
1.1.4 Металлические материалы.....	14
1.1.5 Нержавеющая сталь.....	16
1.1.6 Сплавы на основе Co-Cr.....	18
1.1.7 Сплавы на основе магния.....	19
1.1.8 Титановые сплавы.....	21
1.2 Требования, предъявляемые к материалам для замены костной ткани.....	25
1.3 Титановые сплавы с памятью формы.....	26
1.3.1 Эффект памяти формы.....	26
1.3.2 Сплавы с памятью формы на основе титана.....	26
1.4 Функционализация поверхности для придания антибактериальных свойств.....	29
1.4.1 Механическое повреждение бактериальных клеток.....	29
1.4.2 Препятствие образованию биопленки.....	30
1.4.3 Высвобождение лекарственных препаратов для обеспечения антибактериальных свойств поверхности имплантатов.....	32
1.4.4 Применение благородных металлов для улучшения антибактериальных свойств имплантатов.....	33
1.4.4.1 Серебряные покрытия и наночастицы.....	34
1.4.4.2 Золотые покрытия и наночастицы.....	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	40
2.1 Объект исследования.....	40
2.2 Методика определения параметров предварительной обработки поверхности.....	40
2.3 Методика определения оптимальных параметров синтеза наночастиц серебра.....	40
2.4 Методика формирования диоксида титана атомно слоевым осаждением.....	41
2.5 Методика определения оптимальных параметров синтеза наночастиц золота.....	41
2.6 Методика формирования наночастиц на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb.....	41
2.6.1 Методика формирования AgNPs на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb.....	41

2.6.2	Методика формирования AgNPs на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb после атомно слоевого осаждения.....	42
2.6.3	Методика формирования AuNPs на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb .....	42
2.7	Методики исследования структуры и химического состояния наночастиц .....	44
2.8	Методика антибактериальных испытаний .....	46
2.9	Методика оценки биосовместимости .....	47
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ.....		48
3.1	Исследование влияния времени травления на микроструктуру поверхности.....	48
3.2	Исследование формирования наночастиц серебра на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb.....	51
3.2.1	Отработка метода синтеза наночастиц серебра.....	51
3.2.2	Исследование структуры поверхности материалов, модифицированных AgNPs .....	54
3.2.3	Исследование химического состояния поверхности материалов, модифицированных AgNPs.....	56
3.2.4	Исследование антибактериальных свойств .....	62
3.3	Исследование формирования наночастиц серебра на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb после атомно-слоевого осаждения.....	66
3.3.1	Исследование микроструктуры поверхности после атомно-слоевого осаждения TiO <sub>2</sub> .....	66
3.3.2	Исследование структуры поверхности материалов после АСО, модифицированных AgNPs.....	68
3.3.3	Исследование химического состояния поверхности материалов после АСО, модифицированных AgNPs.....	71
3.3.4	Исследование антибактериальных свойств .....	74
3.4	Исследование формирования наночастиц золота на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb .....	77
3.4.1	Исследование AuNPs спектрофотометрическим методом .....	77
3.4.2	Исследование микроструктуры наночастиц AuNPs.....	78
3.4.3	Исследование структуры поверхности, модифицированной AuNPs.....	80
3.4.4	Исследование химического состояния поверхности, модифицированной AuNPs .....	82
3.4.5	Исследование механических характеристик модифицированных образцов .....	87
3.4.6	Исследование антибактериальных свойств .....	89
3.4.7	Исследование биосовместимости модифицированных материалов .....	91
3.5	Перенос отработанных методик модификации поверхности на другие материалы. .	95
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ ПО РАБОТЕ .....		97
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....		99

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ЭДС – энергодисперсионная спектроскопия

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия

AuNPs – наночастицы золота

AgNPs – наночастицы серебра

Ag<sup>+</sup> – ион серебра

УФ – ультрафиолет

УЗ – ультразвук

РФЭС – рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия

ЭГ – этиленгликоль

ПЭГ – полиэтиленгликоль-400

АСО – атомно-слоевое осаждение

СПФ – сплавы с памятью формы

ОП – оптическая плотность

Ag/Ti – полированный образец, модифицированный наночастицами серебра

Ag/Ti(т) – образец после травления, модифицированный наночастицами серебра

Ag/АСО – образец со сформированным покрытием TiO<sub>2</sub> на поверхности, модифицированный наночастицами серебра

Ag/АСО(ф) – образец со сформированным покрытием TiO<sub>2</sub> на поверхности, модифицированный наночастицами серебра после предварительной функционализации поверхности

Au/Ti – образец, модифицированный наночастицами золота

Au/Ti(ф) - образец, модифицированный наночастицами золота после предварительной функционализации поверхности

Au/Ti+цист. - образец, модифицированный наночастицами золота, связанными с цистеином

Au/Ti(ф)+цист. - образец, модифицированный наночастицами золота, связанными с цистеином, после предварительной функционализации поверхности

Au/Ti+A - образец, модифицированный наночастицами золота, связанными с антибиотиком (гентамицином)

Au/Ti(ф)+A - образец, модифицированный наночастицами золота, связанными с антибиотиком (гентамицином) после предварительной функционализации поверхности

## ВВЕДЕНИЕ

Приоритетной задачей современной медицины является разработка методов и подходов, направленных на улучшение поверхностных свойств существующих биоматериалов, предназначенных для замещения поврежденных участков костной ткани. Материалы для медицинского применения обладают широким спектром свойств, таких как высокая коррозионная стойкость, низкий модуль упругости, высокая прочность, низкая плотность, биомеханическая совместимость, но нуждаются в повышении своих антибактериальных характеристик. Известно, что при имплантации высок риск возникновения воспаления на границе между имплантируемым материалом и костной тканью, подавление которого при помощи лекарственных препаратов может быть затруднено. Такого рода инфекции и их дальнейшее распространение способны привести к негативным последствиям, включая необходимость удаления установленной конструкции. Постоянная замена имплантатов наносит серьезный ущерб здоровью человека, а также экономически не выгодна и вызывает большие трудности с медицинской точки зрения.

Эффективным способом предотвращения воспалений при имплантации является нанесение защитных покрытий на поверхность материала. благородные металлы являются высокобиосовместимыми материалами из-за их исключительной химической инертности и стойкости в биологических средах, а некоторые из них обладают также и антибактериальными свойствами. Серебро уже на протяжении многих лет используется для предотвращения инфекций, в том числе в клинических условиях, а его активность подтверждена в отношении широкого спектра бактериальных микроорганизмов. Антибактериальный механизм серебра включает высвобождение ионов, поглощаемых клетками и последующий каскад внутриклеточных реакций, которые приводят к нарушению работы бактерии. Также распространенным для медицинского применения является использование золота и его сплавов. Более того, наночастицы золота многовалентны и существует возможность модифицировать их с помощью функциональных групп и лекарственных препаратов. Совместный эффект золота с антибактериальными препаратами способен обеспечить устойчивый антибактериальный эффект, при этом во много раз снизив концентрацию поступающих в организм лекарственных веществ.

При разработке антибактериального покрытия для имплантатов стоит принять во внимание особенности материала, из которого будет изготовлена металлическая конструкция. Новыми материалами, разработанными для имплантации, являются сплавы с памятью формы на основе титана: Ti-Zr, Ti-Nb, Ti-Ni, которые способны имитировать

сверхупругое механическое поведение костной ткани. Известен сплав Ti-18Zr-15Nb (ат. %), сочетающий улучшенную биосовместимость и уникальные механические характеристики с повышенным ресурсом обратимой деформации. Однако при выборе метода формирования антибактериального покрытия на поверхности данного сплава следует избегать процессов, требующих повышенной температуры (выше 250 °C), поскольку это может существенно повлиять на его функциональные свойства вследствие выделения охрупчивающей  $\omega$ -фазы.

Исходя из вышесказанного и анализа научной литературы была сформулирована цель работы:

Разработка низкотемпературного способа модификации поверхности для обеспечения антибактериальных свойств сверхупругого сплава Ti-18Zr-15Nb медицинского назначения.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

1. Отработать методику предварительной обработки поверхности сплава в растворе «Пираньи» и изучить влияние данной обработки на состав и структуру поверхности и приповерхностных слоев материала.
2. Разработать оптимальные параметры синтеза наночастиц серебра и золота на поверхности сверхупругого сплава Ti-18Zr-15Nb.
3. Изучить закономерности формирования наночастиц серебра и золота в среде синтеза, а также на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb после различной предварительной обработки: химического травления и атомно-слоевого осаждения.
4. Исследовать микроструктуру, химический состав и морфологию поверхности модифицированных материалов.
5. Исследовать антибактериальные свойства полученных материалов в отношении модельных грамотрицательных бактерий *E. Coli*.
6. Изучить биосовместимость и цитотоксичность модифицированных материалов в отношении клеток костной ткани - фибробластов.
7. Оценить влияние оптимального способа повышения антибактериальных свойств сплава на его механические свойства, в частности, сверхупругое поведение.

Научная новизна работы заключается в получении следующих новых результатов:

1. Установлено, что химическое травление сплава Ti-18Zr-15Nb в растворе «Пираньи» приводит к формированию пористого слоя на поверхности толщиной около 100 нм. Формирование наночастиц серебра размером 3–30 нм и золота размером 1–40 нм на

подложке из сплава с пористым слоем приводит к встраиванию частиц в пористый слой на глубину от 60 до 80 нм.

2. Выраженные антибактериальные свойства поверхности сплава, модифицированной в ходе предварительного химического травления и синтеза наночастиц серебра, достигаются за счет совместного эффекта: пористая поверхность материала обеспечивает более продолжительный ее контакт с бактериальными клетками, повышая эффективность воздействия наночастиц серебра.
3. Метод атомно-слоевого осаждения позволяет формировать на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb слой  $TiO_2$  толщиной менее 10 нм. Формирование на поверхности оксидного слоя достаточного для выраженного антибактериального эффекта, количества наночастиц серебра возможно путем предварительной функционализации поверхности раствором  $NaBH_4$ .
4. Наночастицы золота, модифицированные аминокислотой и антибиотиком, размером около 5 нм обеспечивают поверхности сплава более высокие антибактериальные свойства по сравнению с более крупными частицами золота (около 40 нм).
5. Модификация поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb не оказывает негативного воздействия на его характеристики сверхупругого поведения. Материал сохраняет высокую полную обратимую деформацию (около 4%), высокую сверхупругую обратимую деформацию (2,4%) и малую остаточную деформацию (~0,1%).

#### Практическая значимость

1. Разработан способ формирования тонкого пористого слоя на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb. Разработана методика синтеза антибактериальных наночастиц серебра, при которой частицы формируются не только на поверхности, но и встраиваются в пористую структуру. Этот подход позволяет достичь высоких антибактериальных свойств поверхности при малой величине выхода ионов серебра (0,0370 мг/л).
2. Показано, что метод атомно-слоевого осаждения позволяет получить на поверхности тонкую однокомпонентную оксидную пленку  $TiO_2$  вместо многокомпонентного естественного оксида, включающего все компоненты сплава.
3. Предложен способ предварительной функционализации гладкого оксидного слоя на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb, позволяющего формировать на ней достаточное количество наночастиц серебра для обеспечения выраженного антибактериального эффекта.
4. Разработан комплексный способ модификации поверхности сплава наночастицами золота и лекарственными препаратами. Показана эффективность подхода

- последовательной модификации поверхности сплава (формирование пористого слоя – формирование наночастиц золота - функционализация промежуточным аминокислотным соединением (цистеином) - привязка антибиотика (гентамицина) для достижения высоких антибактериальных характеристик.
5. Продемонстрирована низкая цитотоксичность покрытий на основе наночастиц золота и лекарственных препаратов с периодом угнетения остеобластов не более 5 дней и быстрым восстановлением их активности в последующий период.
  6. Разработанные методики повышения антибактериальных свойств сплава не снижают его функциональных механических свойств и могут быть применены для изделий различной формы.
  7. Показана применимость разработанных подходов к другим металлическим материалам для биомедицинского применения, в частности, для никелида титана.
  8. Разработан способ получения антибактериального покрытия на поверхности сплавов на основе титана медицинского назначения, зарегистрированный в виде патента РФ №2799364, дата регистрации 05.07.2023.

#### Положения, выносимые на защиту

1. Установлены режимы предварительной обработки поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb травлением в растворе «Пиранья», позволяющей добиться равномерной пористой структуры поверхности.
2. Установлены особенности формирования наночастиц серебра на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb, описаны их структура, химическое состояние поверхности, а также антибактериальные свойства.
3. Установлены особенности формирования наночастиц золота на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb, а также их дополнительной функционализации лекарственными веществами, приводящие в совокупности к проявлению устойчивого антибактериального эффекта.
4. Установлены особенности формирования слоя диоксида титана (в модификации анатаз) на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb, модифицированного наночастицами серебра, приводящие к повышению биосовместимости и антибактериального эффекта.

### Личный вклад автора

Автор провел аналитический обзор литературы по теме исследования, принимал участие в подготовке образцов, проведении основной части экспериментальных исследований, анализе и обработке полученных результатов и подготовке научных статей.

Степень достоверности полученных результатов подтверждается отсутствием противоречий полученных результатов с отечественными и зарубежными литературными источниками, обусловлена всесторонним подходом к решению поставленных задач и использованием современного оборудования.

### Апробация работы

Основные результаты работы были представлены на следующих научных конференциях:

1. Открытая школа-конференция стран СНГ «Ультрамелкозернистые и наноструктурные материалы – 2020», Уфа, Россия
2. Шестой междисциплинарный научный форум с международным участием. «Новые материалы и перспективные технологии- 2020», Москва, Россия
3. Международный симпозиум «Перспективные материалы и технологии», 2021, Минск, Беларусь.
4. IV Международная конференция «Сплавы с памятью формы», 2021, Москва, Россия.
5. 18 Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико-химия и технология неорганических материалов», 2021, Москва, Россия.
6. Бернштейновские чтения по термомеханической обработке металлических материалов, 2022, Москва, России

### Публикации

Основные результаты работы отражены в 11 печатных работах, включая 4 статьи, входящих в международные базы данных «Web of Science» и «Scopus», 1 патент РФ.

## ГЛАВА 1. АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Медицинские материалы для замены костной ткани

#### 1.1.1 Керамические материалы

Керамические материалы — это изделия, изготовленные из неметаллического неорганического материала, подверженные обжигу при высокой температуре для достижения желаемых механических и оптических свойств. Благоприятными для использования в медицине свойствами керамики являются такие свойства как биоинертность (например  $ZrO_2$  и  $Al_2O_3$ ), биосовместимость (к примеру гидроксиапатит  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  и трикальцийфосфат  $Ca_3(PO_4)_2$ ), а также высокая механическая прочность [1, 2, 3]. Данные материалы не вызывают негативных реакций со стороны человеческого организма – аллергии или отторжения. Стоит отметить, что керамические материалы легко стерилизовать, что делает их безопасными для здоровья пациента, а также данные материалы обладают визуальной привлекательностью. Возможность изготовить керамические материалы различных цветов и оттенков делает их особенно востребованными в эстетической медицине. Керамические материалы обладают высокой степенью теплопроводности и могут быть использованы для лечения повреждений, связанных с восстановлением костной ткани. Интерес к данным материалам начался еще в конце 60-х годов в качестве альтернативы металлам для повышения биосовместимости имплантируемого материала [4, 5, 6, 7].

В зависимости от реакции организма на данные материалы их можно разделить на биоинертные материалы, такие как оксид циркония ( $ZrO_2$ ) и оксид алюминия ( $Al_2O_3$ ) и биоактивные, которые в свою очередь подразделяют на биокерамику с низкой реакционной способностью (стекло на основе  $Na_2O-CaF_2-P_2O_5-SiO_2$ ), со средней реакционной способностью ( $Na_2O-CaO-P_2O_5-SiO_2$ ) и высокой реакционной способностью, которая полностью связывается с костной тканью (гидроксиапатит  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ , трикальцийфосфат  $Ca_3(PO_4)_2$ ) [1, 2, 8, 9, 10].

Биоинертная керамика практически не подвергается химическим изменениям в физиологических условиях живого организма и сохраняет свои физические и механические свойства. Биоинертная керамика включает в себя керамику высокой плотности, такую как корундовая керамика, керамика на основе диоксида циркония или оксида алюминия, и характеризуется коррозионной стойкостью, низким коэффициентом трения и приемлемыми механическими свойствами, такими как высокая прочность и износостойкость, и используется для создания ортопедических протезов и зубных имплантатов.

Методы и условия технологической подготовки для синтеза керамики определяют свойства имплантатов, а именно пористость и микроструктуру. Для создания биоинертной керамики применяют различные методы:

- 1) Традиционный метод спекания (итоговая керамика имеет структуру с крупными зёрнами и низкие прочностные характеристики);
- 2) Метод горячего прессования (по сравнению с предыдущим, этот метод позволяет производить высокопрочный материал с использованием мелкодисперсных порошков);
- 3) Плазмохимический метод (метод позволяет получить высокотемпературные фазы в метастабильном состоянии, например, твердые растворы с низкой растворимостью одного компонента в другом из-за высокой скорости охлаждения продуктов реакции);
- 4) Метод холодного прессования с последующим спеканием (применяется в случаях, когда невозможно получить продукт традиционным методом прессования с последующим спеканием);
- 5) Метод литья из термопластичных материалов (используется для формирования тонкостенных изделий сложной формы) [4].

Несмотря на очевидные преимущества керамических материалов с точки зрения биохимической совместимости с организмом по сравнению с металлами и полимерами, используемыми сегодня для реконструкции опорно-двигательного аппарата, существуют факторы, которые ограничивают использование биоинертной керамики при протезировании костей. Серьезным недостатком такой керамики является высокий модуль Юнга, по причине чего происходит экранирование механических нагрузок, что в свою очередь приводит к резорбции костной ткани, прилегающей к имплантату, и к потере последнего. Также, есть данные о сбоях в имплантации протезов из-за быстрого роста трещин на имплантатах. В настоящее время начались исследования новых керамических материалов, которые обладают высокой устойчивостью к распространению трещин, что может увеличить срок службы и надежность керамических имплантатов [11, 12].

Также поднимается вопрос об изменении поверхностных свойств керамических материалов с целью улучшения процесса остеоинтеграции имплантата с окружающей костной тканью. Исходя из того, что материалы являются инертными, необходимым аспектом их эффективного использования является придание материалу антибактериальных свойств для предотвращения адгезии и размножения патогенных микроорганизмов. Методы модификации включают изменение топографии поверхности и пористости в предполагаемой области контакта с костной тканью, распыление

биоактивных компонентов и так далее. Еще одним способом модификации керамики является создание композиционных материалов на ее основе с новыми свойствами. Сообщается о формировании инновационных поверхностей  $ZrO_2$ , функционализированных с помощью технологии формирования наночастиц золота или серебра [13]. Испытания на трение показали, что целостность обеих функционализированных поверхностей не была нарушена во время установки имплантата, и удалось достичь равномерного распределения частиц на поверхности  $ZrO_2$  [13]. Большое внимание уделяется новому направлению создания антибактериальной поверхности, сочетающей в себе функционализацию на нано- и микроуровне. Ожидается, что развитие исследований в этом направлении приведет к созданию класса медицинских керамических материалов со свойствами, превосходящими существующие аналоги [13].

### **1.1.2 Углеродные наноструктурированные имплантаты**

Углеродные наноструктурированные имплантаты — это материалы, состоящие из углеродных нанотрубок, графена или других форм углерода. Они используются в медицине для создания имплантатов, которые могут быть использованы в различных медицинских процедурах, таких как замена костей, лечение травм и травматических нарушений. Данные материалы максимально близки по биомеханическим характеристикам к кости человека, что исключает возможность процесса резорбции [14] после установки конструкции. Помимо этого, углеродные наноструктурированные материалы обладают необходимыми прочностными характеристиками, нетоксичны [14, 15, 16, 17], а также менее подвержены разрушению и поэтому их срок службы достаточно долгий и составляет 20–25 лет. Данные материалы активно изучались и использовались в прошлом веке для медицинских применений, однако на тот момент было недостаточно информации по улучшению механических свойств таких материалов и отсутствовала возможность их использования даже при умеренных нагрузках [17]. На данный момент растет интерес к углеродным материалам нового поколения, механические свойства которых кардинально отличаются. Открыты возможности для моделирования механических характеристик в соответствии с параметрами костной ткани, обеспечивая значительное увеличение продолжительности жизни такого имплантата [18].

В [19] был исследован материал, состоящий из жидкокристаллического полимера, армированного углеродным волокном (LCP/CF). Исходные механические свойства стержней имели среднюю прочность на сдвиг 180 МПа, прочность при изгибе 450 МПа и модуль упругости при изгибе 40 ГПа. Стержни имплантировали на 3, 6, 12, 24 и 52 недели

в бедренную кость девятнадцати кроликам весом в среднем 4,8 кг. Было установлено, что материалы сохраняли свои механические характеристики в течение 52 недель и только у трех кроликов было замечено несрастание тканей и разрушение поверхности имплантата.

Авторы [20] изучали углеродные материалы, армированные углеродным волокном. В однонаправленном композите получены высокая прочность (1200 МПа при продольном изгибе). В качестве альтернативы слои волокон были уложены в двух направлениях для придания большего количества изотропных свойств. Совместимость материала с костью была изучена путем имплантации образцов в отверстия, просверленные в бедренной кости крысы. В течение периода до 8 недель тонкий слой волокнистой ткани перекрывал промежуток между костью и имплантатом. К 10 неделям наблюдалось прилегание кости к имплантату, обеспечивающее прочную фиксацию.

Однако, стоит отметить, что большинство исследований углеродных материалов не проводилось систематически, а также отсутствует их промышленное массовое производство. Данные факты являются препятствующими в применении таких материалов в качестве имплантатов на данный момент.

### **1.1.3 Полимерные имплантаты**

Полимерные материалы являются широко используемыми в биомедицинских целях. Использование полимеров является более распространенным, чем, например, использование металлических имплантатов. К широкому спектру полимерных материалов относятся: полиэтилен, полиуретан, полиацеталь, полиметилметакрилат, полиэтилентерефталат, силиконовый каучук и другие [21]. В ряде случаев полимерные материалы не конкурируют с другими типами материалов и используются, как узкоспециализированные. Их перспективными свойствами выделяют: хорошую биосовместимость, лёгкость, гибкость. Полимерные изделия можно производить практически любой желаемой формы и изменять их физико-механические свойства, меняя состав.

Востребованными на данный момент являются полиэфирэфиркетоны, которые представляют собой относительно новое семейство высокотемпературных термопластичных полимеров [22]. Данные материалы часто используются для ортопедических и спинальных имплантатов.

Существует интерес к композитным материалам на основе полимеров и углеродных волокон [23, 24, 25]. Плотность таких материалов  $1,6-2,2 \text{ г/см}^3$ , что является близким к плотности костной ткани  $2 \text{ г/см}^3$  [26] Углеродное волокно представляет собой

высокопрочные изгибающиеся нити диаметром несколько микрон и графитовой структурой с ковалентными связями, но со слабыми взаимодействиями Ван-дер-Ваальса между слоями [27, 28]. В дополнение к хорошо известным структурным и механическим характеристикам [28] углеродные волокна обладают биосовместимыми свойствами, которые были клинически доказаны как в испытаниях на животных [29, 30] так и в лабораторных экспериментах [31].

Модификация полимерного носителя углеродным волокном демонстрирует перспективы использования таких материалов. Авторы [14] сравнивали композитный стрежень, модифицированный эпоксидной смолой и углеродным волокном, со сплавом титана. Результаты показали, что композит проявляет значительно улучшенную остеоинтеграцию. Одним из высокоэффективных биоактивных композитов, используемых в ортопедии и травматологии, является полиэфирэфиркетон, армированный углеродным волокном. Такие материалы имеют ряд преимуществ по сравнению с традиционными металлическими материалами. Их модуль упругости лучше соответствует модулю упругости кости. Кроме того, их усталостная прочность больше, чем у большинства металлических имплантатов [23]. Авторы [32] провели биомеханическое сравнение пластин из нержавеющей стали, титана и полиэфирэфиркетона, армированного углеродным волокном. Было показано, что биомеханические свойства композитов аналогичны свойствам металлических пластин и соответствуют их механическим характеристикам.

Тем не менее, стоит отметить, что для применения подобных материалов в широком спектре биомедицинских областей необходимы более подробные клинические испытания и сведения об их безопасности. Будучи биоинертными данные материалы подвержены возникновению инфекций и не способствуют достаточной остеоинтеграции [33]. Данный факт указывает на необходимость модификации поверхности таких материалов, которая способна повысить остеоинтеграцию имплантата, а также обеспечить антибактериальный эффект.

#### **1.1.4 Металлические материалы**

Широкое использование данных материалов началось еще в 19 веке, когда активно развивалась металлургическая промышленность [34]. С тех пор в ортопедической хирургии преобладают металлические материалы, играя важную роль при изготовлении временных (костные пластины, штифты, винты) и постоянных (полная замена суставов) устройств [35]. Также металлические материалы нашли широкое применение в стоматологической и ортодонтической практике [36]. Несмотря на большое количество металлических

материалов, которые могут быть произведены в промышленности, лишь немногие из них обладают биосовместимостью и способны обладать долгосрочным успехом в качестве имплантируемого материала. Распространены такие материалы как титан и его сплавы, нержавеющая сталь, сплавы на основе кобальт-хром, сплавы, содержащие тантал, ниобий, цирконий, магний и железо. Основные преимущества и недостатки металлических ортопедических имплантатов приведены в таблице 1. Основные направления клинического применения и текущее состояние данных материалов приведены в таблице 2.

Таблица 1 – Основные преимущества и недостатки металлических ортопедических имплантатов [37].

<b>Материал</b>	<b>Преимущества</b>	<b>Недостатки</b>
Нержавеющая сталь	Низкая стоимость, легкодоступность, приемлемая биосовместимость	Высокий модуль Юнга, низкая коррозионная стойкость, аллергическая реакция
Сплавы на основе Co-Cr	Лучшая износостойкость и коррозионная стойкость, усталостная прочность	Высокий модуль Юнга, высокая стоимость, биологическая токсичность
Сплавы на основе Ti	Биосовместимость, коррозионная стойкость, усталостная прочность, низкий модуль Юнга, легкий вес	Низкая износостойкость
Сплавы на основе Mg	Биосовместимость, биоразлагаемость, низкий модуль Юнга	Низкая коррозионная стойкость

Таблица 2 – Основные направления клинического применения и текущее состояние металлических ортопедических имплантатов [38-42].

<b>Материал</b>	<b>Клиническое применение</b>	<b>Текущее состояние</b>
Нержавеющая сталь	Временные конструкции (пластины для переломов, винты, тазобедренные гвозди), полное эндопротезирование тазобедренного сустава	Применяется
Сплавы на основе Co-Cr	Полная замена суставов, стоматологические отливки	Применяется
Сплавы на основе Ti	Ножка и чашечка эндопротезов тазобедренного, стационарные металлические устройства (гвозди, кардиостимуляторы)	Применяется
Сплавы на основе Mg	Биоразлагаемые ортопедические имплантаты	Испытания на животных

### 1.1.5 Нержавеющая сталь

Нержавеющая сталь – это общее название ряда сплавов на основе железа, содержащих высокий процент хрома и различное количество никеля [43]. Нержавеющие стали подразделяются на две группы: хромовые и хромоникелевые, в зависимости от химического состава. Альтернативно, они также могут быть сгруппированы в четыре семейства на основе характерной микроструктуры сплавов: мартенситная, ферритная, аустенитная или дуплексная (аустенитная плюс ферритная) [43]. За исключением дуплексного типа, каждая из трех других групп нержавеющей стали находит применение в медицине (таблица 3). Данный металл прост в производстве и имеет гораздо более низкую стоимость, чем другие металлы, используемые в медицинских имплантатах. Благодаря превосходной механической прочности, включая высокую прочность на растяжение, он имеет широкое применение в медицинской промышленности. Медицинские имплантаты, временно установленные для замены бедренных, коленных или плечевых суставов, а также провода датчиков, которые размещают в организме после операции на сердце человека, в основном изготовлены из нержавеющей стали [44].

Несмотря на свои основные преимущества, нержавеющая сталь не столь часто применяется в медицинских имплантатах вследствие того, что подвержена коррозии в хлоридной среде, что приводит к высвобождению ионов металлов, таких как никель и хром, которые токсичны для человеческого организма [45]. В то время как безвредность железа для человеческого организма была засвидетельствована на протяжении всей истории, токсичность его ионов (а также других металлов) была изучена совсем недавно [46], и классифицирована в порядке убывания токсичности следующим образом: кобальт>ванадий> никель> хром> титан> железо. Так как никель токсичен для человеческого организма авторы [47] исследовали безникелевую аустенитную нержавеющую сталь, заменив никель азотом, что улучшило конструкционную стабильность и прочность стали. Результаты показали высокую прочность, лучшую коррозионную стойкость, износостойкость и биосовместимость, чем традиционная сталь, изготовленная с использованием никеля.

Таблица 3 – Типичные области применения категорий нержавеющей стали в медицине.

<b>Тип нержавеющей стали</b>	<b>Степень применения</b>	<b>Примеры</b>
Мартенситная	Стоматологические и хирургические инструменты	Костные выемки, зубные боры, зубные стамески, корневые элеваторы и щипцы, кровоостанавливающие средства, ретракторы, ортодонтические плоскогубцы и скальпели.
Ферритная	Ограниченное количество хирургических инструментов	Ручки для инструментов, направляющие штифтов и крепежных элементов
Аустенитная	Большое количество не имплантируемых медицинских устройств, многие кратковременные имплантаты, полное эндопротезирование тазобедренного сустава	Канюли, лотки для снятия слепков с зубов, направляющие штифты, полые изделия, иглы для подкожных инъекций, паровые стерилизаторы, шкафы для хранения и

		рабочие поверхности, а также торакальные ретракторы.
Дуплексная	Пока не применяется в области медицины	

Являясь перспективным сплавом для медицинских имплантатов благодаря своей низкой стоимости и удовлетворительным свойствам, способность разрушаться в жидкости человеческого организма ограничивает его применение [48, 49, 50] небольшими медицинскими имплантатами, в основном такими как проволоки. Данный материал может быть использован для изготовления временных медицинских имплантатов, но неэффективным является изготовление постоянных имплантатов из нержавеющей стали, пока не улучшены его коррозионные свойства и не повышены механические характеристики.

### 1.1.6 Сплавы на основе Co-Cr

Сплавы на основе кобальт-хром — это металлические сплавы, которые состоят из кобальта с хромом (27–30 масс. %), молибдена (5–7 масс. %), марганца, кремния (масс. 1%), железа (масс. 0,75%), никеля (масс. 0,5%), а остальное - углерод, азот, вольфрам, фосфор, сера и бор [51]. Сплав Co-Cr обладает высокой устойчивостью к коррозии благодаря образованию пассивной защитной пленки, состоящей из CrO. Он износостойкий, а также обладает высокой твердостью поверхности. Из-за более низкой остеоинтеграции по сравнению, например, с Ti сплавы Co-Cr используются для разработки протезов для замены суставов, таких как бедренный компонент при полной замене колена и бедренная головка при полной замене тазобедренного сустава [52]. Сплавы Co-Cr также используются в качестве винтов в системах травматологии из-за слабой интеграции с костными тканями, так как винты могут быть легко удалены после заживления перелома кости. [53, 54].

Авторы [54] провели исследование *in vivo*, в котором диски из сплава Co-Cr и Ti были имплантированы в подкожный слой мышечной ткани. Результаты продемонстрировали, что диски Co-Cr показали меньшее количество жизнеспособных *S. aureus*, чем диски Ti, и пришли к выводу, что диски, изготовленные из сплава Co-Cr, обладают антибактериальными свойствами, в сравнении с дисками титана.

В работе [55] было проведено исследование *in-vivo*, в котором различные металлические винты были имплантированы в суставы овец. Было установлено, что контакт винтов между Co-Cr и костью был намного ниже по сравнению с другими

материалами, и был сделан вывод о том, что сплав Co-Cr имеет наиболее низкую остеоинтеграцию среди других металлических биоматериалов.

Сплавы Co-Cr являются весьма дорогостоящими и более сложные в производстве, чем Ti или другие сплавы. В качестве легирующей добавки в этих сплавах может быть применен никель, что делает их токсичными для человеческого организма, так как работа пары трения «имплантат-кость» может привести к высвобождению ионов металлов в организме, что, в свою очередь, может спровоцировать различные аллергические реакции [56, 57].

Таким образом, кобальт-хромовые сплавы могут быть перспективным материалом в медицинских имплантатах благодаря их высокой коррозионной стойкости. Но дальнейшим исследованиям следует сосредоточиться на увеличении остеоинтеграции сплавов Co-Cr. Также необходимы исследования, направленные на получение безникелевого сплава Co-Cr, для уменьшения его токсичности и, как следствие, повышения его безопасности для человеческого организма.

### 1.1.7 Сплавы на основе магния

Магний является одним из наиболее распространенных элементов, обнаруженных в природе, так как 2,7% земной коры состоит из Mg, а также он содержится в минералах, таких как доломит, магнезит и т. д. [58]. Механические свойства Mg очень близки к свойствам коркового слоя кости человека. Плотность и модуль упругости Mg также очень похожи на таковые для кости (таблица 4), что делает его вполне подходящим для применения в качестве медицинских имплантатов [59].

Таблица 4 - Сходство между свойствами магния и свойствами кости человека.

Свойства	Человеческая кость	Магний
Плотность	1,8 – 2,1	1,7 – 2,0
Модуль упругости	4 – 20	41 – 45
Предел текучести	130 – 180	90 – 18

Поскольку магний является биоразлагаемым материалом, имплантаты на основе Mg разрушаются в организме и минимизируют необходимость второй операции. Это одно из существенных преимуществ использования биоразлагаемых имплантатов [60]. Также магний проявляет меньшую токсичность по отношению к организму человека [61].

Авторами в работе [62] было исследовано влияние имплантатов на основе Mg с помощью исследования *in-vivo* у крыс. Магниевый имплантат, легированный 5% Zn, 0,25%

Ca и 0,15% Mn был помещен в правую бедренную кость крыс. Результаты показали, что сплав обладает отличными механическими характеристиками, а также показали, что сплав демонстрирует однородную и умеренную деградацию с малым количеством выбросов газообразного водорода. Таким образом, он удовлетворяет условиям для использования в ортопедии.

В работе [63] исследовали остеосинтез биоразлагаемых магниевых пластин с помощью исследования *in-vivo* у свиней. В эксперименте магниевые имплантаты заменили кости свиней. Результаты показали, что имплантаты не влияют на процесс заживления костей, и побочных эффектов на соседних костях обнаружено не было. Имплантаты показали биосовместимость с тканями тела свиней, из чего был сделан вывод, что имплантаты на основе Mg подходят для внутренней фиксации кости.

Несмотря на такие привлекательные свойства, Mg обычно не используется для изготовления постоянных медицинских имплантатов. Это вытекает из свойств биорезорбируемых материалов. Сплавы на основе Mg обладают слабой коррозионной стойкостью [64]. Высокий электродный потенциал Mg делает его очень уязвимым к коррозии в среде жидкости человеческого организма. Данный факт спровоцирован тем, что во время литья и рафинирования некоторые примеси, такие как железо (Fe), медь (Cu) и никель (Ni), попадают в сплав и ускоряют коррозию, когда присутствуют в количествах более допустимого предела. Стандарты примесей элементов составляют 35–50 ppm для Fe, 20–50 ppm для Ni и 100–300 ppm для Cu в Mg [65]. Однако, если эти элементы присутствуют ниже этих пределов, то не существует предпосылок для ускорения коррозии [65].

Таким образом, Mg имеет отличный потенциал для будущего использования в качестве сплава для медицинских имплантатов, так как магний биоразлагается и разрушается внутри организма, не высвобождая токсичных элементов. Применение Mg может быть увеличено за счет снижения скорости коррозии. Это может быть достигнуто путем уменьшения примесей и их объединения с другими биоразлагаемыми элементами, чтобы его полное разложение произошло уже после того, как кость заживет. Использование таких материалов может устранить необходимость второй операции по удалению имплантатов из организма, что приведет к более безопасным и эффективным методам лечения.

### 1.1.8 Титановые сплавы

Помимо широко известного сплава чистого титана существует еще более 70 коммерчески доступных сплавов на основе титана, активно применяемых в основном в аэрокосмической промышленности, энергетике, химической инженерии и биомедицине. Классификация титановых сплавов определяется их легирующими элементами, которые могут стабилизировать либо  $\alpha$ -фазу (Al, O, N, C), либо высокотемпературную  $\beta$ -кубическую фазу (Mo, V, Nb, Ta, Fe, Cr и т. д.). В зависимости от объемной доли этих фаз титановые сплавы можно разделить на три основные категории [66]:

- 1) титановые сплавы  $\alpha$  и близкие к  $\alpha$  (одионочный твердый раствор  $\alpha$ -фазы и  $\alpha$ -фазы + менее 10%  $\beta$ -фазы);
- 2)  $\alpha+\beta$  титановые сплавы (обычно состоящие из  $\alpha$ -фазы + 10%–20%  $\beta$ -фазы);
- 3)  $\beta$  титановые сплавы (богатые  $\beta$ -фазой).

Множество систем бинарных, тройных и четвертичных сплавов на основе титана используются для различных медицинских применений. Некоторые примеры широко используемых титановых сплавов приведены в таблице 5.

Самый популярный сплав на основе Ti имеет фазовую структуру  $\alpha + \beta$  и является частью системы Ti-Al-V. Привлекательные свойства такие как, более низкий модуль упругости, превосходная биосовместимость и повышенная коррозионная стойкость по сравнению, например, с нержавеющей сталью и сплавами на основе кобальта, привели к раннему внедрению в производство изделий для медицины сплава Ti-6Al-4V [67]. В отличие от нержавеющей стали и сплавов на основе кобальта, для которых основной целью легирования является повышение коррозионной стойкости, при разработке титановых сплавов первоочередной задачей является улучшение механических свойств, поскольку титан уже сам по себе обладает превосходной коррозионной стойкостью.

Ti-6Al-4V является одним из наиболее часто используемых сплавов титана. Он состоит почти на 90% из титана (Ti), на 6% из алюминия (Al) и на 4% из ванадия (V). Он обладает многими благоприятными свойствами, которые необходимы для изготовления медицинского имплантата. Он обладает высокой коррозионной стойкостью благодаря образованию оксидного слоя на поверхности имплантата [68]. Данный материал демонстрирует превосходные механические характеристики, что делает его подходящим для имплантации. Сплав также обеспечивает передачу нагрузки на костную ткань в течение длительного времени, что важно при замене поврежденных твердых тканей протезами. Он подвергается остеоинтеграции и демонстрирует хорошую биосовместимость с человеческим организмом [69]. Стоматологи предпочитают имплантаты из Ti-6Al-4V для

замены пораженных зубов. Ti-6Al-4V также используется для изготовления искусственных тазобедренных суставов, искусственных коленных суставов, костных пластин, винтов для фиксации переломов, протезов клапанов сердца и кардиостимуляторов [70].

В своей работе [71] авторы исследовали Ti-6Al-4V, вставляя сплошную сердцевину в пористый каркас сплава. Результаты показали, что произошло увеличение предела текучести, предела прочности, снижение модуля Юнга и была достигнута благоприятная пористость. Эти изменения наблюдались из-за сжатия каркаса, что увеличивает деформацию компонентов и многоосное напряжение окружающей среды. Был сделан вывод, что вставка оказалась эффективным способом усиления механических свойств и сохранения благоприятной пористости.

В работе [72] исследовали коррозионные свойства сплава Ti-6Al-4V, изготовленного методом селективного лазерного сплавления, и сравнили его с литым сплавом Ti-6Al-4V. Коррозионные свойства были протестированы в растворах NaOH, NaCl, HSO и SBF. Результаты показали, что сплав, изготовленный методом СЛС, показал преобладающую коррозионную стойкость во всех растворах, за исключением NaOH. Таким образом, был сделан вывод, что такой материал обладает улучшенной коррозионной стойкостью, чем литой сплав, и, следовательно, может быть использован для изготовления медицинских имплантатов.

Однако, основным недостатком Ti-6Al-4V является выделение ионов ванадия и алюминия, которые оказывают токсическое воздействие на организм человека. Негативная иммунологическая реакция человеческого организма из-за присутствия алюминия и ванадия [73] ограничивает применение данного материала. Поэтому существует необходимость разработки титановых сплавов второго поколения – бета-сплавов [74, 75, 76]. Стабилизирующие  $\beta$  элементы, такие как Nb, Mo, Ta и Zr, используются в качестве легирующих элементов и считаются безопасными по сравнению с ванадием и алюминием. Поэтому существует ряд сплавов на основе титана, обладающих улучшенными характеристиками, благоприятными для медицинских применений, о который будет сказано в следующем разделе.

Таблица 5 - Некоторые примеры широко используемых в медицине титановых сплавов

<b>Система</b>	<b>Применение</b>	<b>Источник</b>
Ti-Zr	Стоматология	[77. 78]
Ti-Nb	Биомедицинские материалы	[79]
Ti-Mo	Биомедицина и стоматология	[80]

Ti-Ta	Биомедицинские материалы	[81]
Ti-V	Стоматология	[82]
Ti-Mn	Биомедицинские материалы	[83]
Ti-Si	Стоматология	[84]
Ti-Cr	Устройства для фиксации позвоночника	[85]
Ti-Al-V	Биомедицинские материалы	[86]
Ti-Al-Nb	Протезы тазобедренного сустава (ножка бедренной кости)	[87]
Ti-Al-Fe	Скелетные протезы	[86]
Ti-Nb-Zr	Биомедицинские материалы	[88]
Ti-Nb-Sn	Дентальные имплантаты, котные имплантаты	[89, 90]
Ti-Nb-Si	Биомедицинские материалы	[91]
Ti-Mo-Nb	Биомедицинские материалы	[92]
Ti-Ta-Nb	Биомедицинские материалы	[93]
Ti-Nb-Fe	Ортопедия	[94]
Ti-Fe-Sn	Биомедицинские материалы	[95]
Ti-Ta-Zr	Биомедицинские материалы	[96]
Ti-Ta-Sn	Биомедицинские материалы	[96]
Ti-Mn-Mo	Биомедицинские материалы	[97]
Ti-Ag-Cu	Стоматология	[98]
Ti-Si-Cu	Биомедицина	[99]
Ti-Cr-Cu	Зубные протезы	[99]
Ti-Zr-Cr-Al	Биомедицинские материалы	[100]
Ti-Mo-Zr-Cr	Биомедицинские материалы	[101]
Ti-Mo-Zr-Fe	Ортопедические сплавы для имплантации	[102]
Ti-Nb-Ta-Zr	Ортопедические сплавы для имплантации	[102]
Ti-Nb-Ta-Sn	Материалы для имплантатов	[103]
Ti-Nb-Ta-Mo	Материалы для имплантатов	[103]
Ti-Nb-Zr-Sn	Биомедицинские материалы с памятью формы	[104]
Ti-Mo-Nb-Zr	Ортопедические имплантаты	[105]
Ti-Ta-Nb-Zr	Имплантаты	[106]
Ti-Ta-Hf-Zr	Стенты	[107]

Ti-Zr-Hf-Fe	Имплантаты	[108]
Ti-Cr-Sn-Zr	Биомедицинские материалы	[109]
Ti-Nb-Mo-Sn	Биомедицинские материалы	[110]
Ti-Zr-Cr-Mo	Фиксация позвоночника	[111]

## 1.2 Требования, предъявляемые к материалам для замены костной ткани

Выбор биоматериала для замены костной ткани должен основываться на ряде критериев, основной из которых – это биосовместимость. Также значительную роль играет ряд других свойств, таких как, механическое поведение, коррозионная устойчивость и остеоинтеграция [112].

1 Биосовместимость. Материалы для имплантатов должны состоять из нетоксичных компонентов и не вызывать воспалительных и аллергических реакций. Основными факторами, влияющими на биосовместимость являются реакция организма на используемый материал и деградация материала в окружающей среде [113]. Использование материалов обладающих низкой биосовместимостью способно привести к тромбозу – свёртыванию крови и адгезии тромбоцитов к поверхности материалов.

2 Механические свойства. Твердость, прочность на растяжение и сжатие, модуль Юнга, износостойкость имеют большое значение при выборе материала для имплантата. Материал должен иметь модуль Юнга эквивалентный костному модулю [114]. Более высокий модуль Юнга имплантата может вызвать резорбцию костей вокруг конструкции. Поэтому для имплантации необходимо сочетание высокой прочности и низкого модуля упругости, чтобы избежать разрушения материала.

3 Высокая коррозионная устойчивость. В случае низкой коррозионной устойчивости материала может произойти высвобождение несовместимых ионов металлов [115, 116]. Поэтому для долговечной эксплуатации имплантата в организме человека необходима его коррозионная устойчивость.

4 Остеоинтеграция. Неспособность поверхности имплантата интегрироваться с окружающими его тканями может привести к движению имплантата и его ослаблению [117]. Процесс остеоинтеграции заключается в постоянном формировании и ремоделировании костных структур на имплантируемой подложке и представляет собой сложный динамический процесс. Авторы [118, 119, 120] выделяют шесть факторов, влияющих на процесс остеоинтеграции: характер материала, дизайн поверхности, каркас имплантата, состояние окружающей его ткани, метод установки и контроль функциональной нагрузки.

### **1.3 Титановые сплавы с памятью формы**

#### **1.3.1 Эффект памяти формы**

Эффект памяти формы — это свойство некоторых материалов (сплавов) возвращаться к своему исходному состоянию (полностью или частично) после деформации по структурным механизмам, которые существенно отличаются от механизмов нормальной упругой деформации. За реализацию данного эффекта отвечает обратимое термоупругое мартенситное превращение, а процесс возврата исходной формы связан с нагревом или приложением внешней нагрузки [121, 122]. С явлением эффекта памяти формы тесно связано явление сверхупругости – способность материала, который был подвергнут нагружению до напряжения, которое превышает фазовый предел текучести, полностью восстанавливать исходную форму после снятия нагрузки.

На протяжении многих лет в мире проводят операции по введению инородных тел в организм человека с целью лечения травм и переломов, а также для закрепления медицинских конструкций. Подобное вмешательство зачастую приводит к отторжению организмом имплантата. Причиной тому служат травмирование тканей и органов в процессе имплантации, общим угнетением организма, оказанием отрицательного воздействия на выполняемые функции. В связи с этим, имплантируемый материал должен обладать свойством приспособляемости к жидкостям, тканям и средам в организме человека. Применение сплавов с эффектом памяти формы на основе титана позволяет снизить риск подобных негативных последствий. Благодаря этому возникла возможность создания биоматериалов, способных легко адаптироваться к различным средам человеческого организма.

#### **1.3.2 Сплавы с памятью формы на основе титана**

##### ***Никелид титана***

Никелид титана (TiNi) обладает многими уникальными свойствами, что делает его одним из наиболее часто применяемых сплавов в медицине. Он имеет низкий модуль Юнга, близкий к значениям данной характеристики для человеческой кости. Сплав устойчив к коррозии из-за образования защитного слоя  $TiO_2$  на поверхности сплава [123]. Он может применяться в изготовлении брекетов для корректировки формы зубов благодаря эффекту памяти формы, который является одним из уникальных свойств сплава TiNi. Свойство сплава возвращаться к своей первоначальной форме после деформации востребовано в эндодонтологии, поскольку оно позволяет строить изогнутые корневые каналы [124]. Сплавы TiNi также используются для изготовления саморасширяющихся стентов. Эти

стенты используются для лечения атеросклероза в коронарных артериях, сонной артерии и периферических артериях [125]. В последнее время большая часть исследований в области металлических биоматериалов была инвестирована в применение нетрадиционной реконструктивной хирургии твердых тканей/органов, такой как применение никелида титана в качестве сосудистых стентов [126].

Авторы [127] исследовали биосовместимость *in vivo* и *in vitro* сплава на основе TiNi. Они изготовили пористый сплав TiNi с использованием метода высокотемпературного синтеза и провели исследование *in vivo* на крысах. Результаты показали, что пористый TiNi является биосовместимым для клеточных культур и имеет перспективы в использовании в биоинженерии тканей и применению в медицинских имплантатах [127].

В работе [128] авторы исследовали усталостное поведение пеноматериалов на основе TiNi. Испытания показали, что Ti-Ni способен выдерживать нагрузки, наблюдаемые в имплантируемых конструкциях без усталостного разрушения. Результаты показали, что механические свойства данных пеноматериалов подходят для медицинских применений. Было также отмечено, что модуль упругости сплава можно контролировать путем изменения уровня пористости. Был сделан вывод, что TiNi подходит в качестве имплантируемого материала.

Тем не менее, сплав TiNi имеет недостатки, которые связаны с токсичностью никеля. Длительное использование данного материала способно привести к высвобождению ионов металла в организм, что может вызвать аллергические реакции и заболевания. [129]. Еще одним недостатком является получение сплава, поскольку это весьма сложный и дорогостоящий процесс [130].

Сплав TiNi обладает множеством благоприятных свойств, расширяющих его применение в медицинской промышленности. Однако, сложность получения и токсичность данного материала являются важными факторами, которые нельзя игнорировать. Поэтому дальнейшие исследования TiNi необходимо направить на снижение токсичности материала и решение трудностей его производства.

### ***Сплавы на основе Ti-Zr***

Трех и четырехкомпонентные системы на основе титана привлекают все большее внимание за последние годы. Легирование такими элементами как молибден, ниобий, тантал, цирконий позволяют получать сплавы на основе титана, чьи механические характеристики сопоставимы, а иногда и превышают сплавы на основе никелида титана. Немаловажной особенностью является то, что данные переходные металлы являются биоинертными к тканям человеческого организма [131, 132].

В сплаве Ti-Zr-Nb возможно протекание обратимого термоупругого  $\beta \leftrightarrow \alpha''$  мартенситного превращения. При закалке возможно зафиксировать высокотемпературную фазу при комнатной температуре с последующим образованием из нее  $\alpha''$ -фазы в ходе обратимого мартенситного превращения. Пребывание сплава в предмартенситном состоянии также приводит к снижению модуля Юнга [133, 134].

В работе [135] показаны современные разработки высокоэнтропийных сплавов Ti-Nb-Ta-Zr-Mo. В исследовании проводилось получение сплавов разных составов с дальнейшим изучением их механических свойств, а также биосовместимости с тканями организма. В результатах представлены схемы роста остеобластов на поверхности исследованных сплавов в сравнении с легированной сталью. Установлено наилучшее сродство исследуемого материала к клеткам и тканям организма, а также показано, что показатели биосовместимости меняются в зависимости от модификации сплава.

В работах [136, 137] были проведены исследования по легированию титана такими элементами как Zr и Nb. Методом вакуумно-дугового переплава с последующими термообработками были получены сверхупругие сплавы на основе Ti-Zr. В качестве эталонного образца для сравнения механических свойств полученного сплава был использован сплав Ti-22Nb-6Zr. В результате исследований было установлено, что ресурс обратимой деформации сплавов на основе Ti-Zr превышает таковой сплава Ti-22Nb-6Zr в два раза. Полученные результаты свидетельствуют о потенциальном преимуществе титановых сплавов с цирконием с точки зрения функциональных усталостных характеристик. Стоит отметить, что после введения данных сплавов в организм человека не наблюдается раздражение со стороны тканей и аллергические реакции. По этой причине исследование данных материалов для медицинских применений является перспективным.

Особый интерес вызывает сплав Ti-18Zr-15Nb. Данный сплав в закаленном состоянии находится в состоянии ОЦК  $\beta$ -фазы [138]. При этом сплав демонстрирует низкий модуль упругости (30–50 ГПа) и превосходные характеристики сверхупругости [139]. Помимо этого, в работе [140] показано, что термомеханическая обработка данного сплава позволяет добиться достаточной коррозионной стойкости, сочетающейся с высокой усталостной долговечностью при испытаниях на функциональное циклирование в растворе Хэнкса.

## **1.4 Функционализация поверхности для придания антибактериальных свойств**

Приоритетной задачей современного здравоохранения является улучшения качества жизни пациентов. Ведется разработка имплантируемых материалов, которые способны максимально естественно функционировать в человеческом организме. Наиболее серьезными осложнениями таких операций являются инфекции и воспаления, частота возникновения и структура которых напрямую связаны со способом реконструкции поврежденных участков и покровных тканей. Например, у онкологических больных частота инфицирования эндопротезов колеблется от 10 до 66%, тогда как в целом по ортопедии этот показатель на порядок меньше (1,5–2,5%) [141].

Таким образом, имплантаты, являющиеся центром внимания научных разработок, нуждаются в дальнейшем улучшении не только своих терапевтических, диагностических и механических характеристик, а также улучшении влияния имплантата на состояние окружающих тканей. Перспективным подходом к решению данной проблемы является разработка покрытия для имплантатов, способных дать длительный антибактериальный эффект.

### **1.4.1 Механическое повреждение бактериальных клеток**

В последние годы ведется разработка новых методов по созданию антибактериальных поверхностей на основе наноматериалов. Наноматериалы, различные по размеру и структуре, предлагают новые направления для разработки высокоэффективных антибактериальных покрытий с повышенной биосовместимостью. Наноматериалы диаметром меньше среднего размера бактерий (0,5–2 мкм) могут проникать в клеточную мембрану бактерии, чтобы нарушить нормальную жизненную активность бактерий, достигая бактерицидного эффекта. Установлено, что такого типа поверхности способны сопротивляться распространенным видам бактерией, а также лекарственно-устойчивым бактериям и эффективно устранять биопленки [142, 143]. Например, графеновые материалы могут не только вызывать повреждение мембран бактериальных клеток путем окисления восстановленного глутатиона в бактериях, но и нарушать целостность бактериальных клеточных мембран, повреждая их острыми краями графеновых наностержней, что приводит к образованию пор и гибели клеток [144].

Были разработаны многочисленные нанопровода и нанолезвия для осуществления механических повреждений клеток [145, 146]. В недавнем исследовании [147] обнаружили, что массивы графеновых хлопьев, выращенных перпендикулярно поверхности способны эффективно предотвратить образование бактериальной биопленки. Обнаружено, что

открытые края вертикально выровненных графеновых хлопьев проникают в бактериальную мембрану и высвобождают содержимое цитозоля. Ориентация графена на поверхности является важным фактором для осуществления механических повреждений. Было продемонстрировано, что частицы высотой 60–100 нм эффективны в уничтожении бактерий, оставаясь при этом полностью безвредными для клеток млекопитающих.

Авторы [148] подготовили покрытие с рисунком наностержней ZnO на ортопедических имплантатах на основе Ti, которое демонстрирует интенсивную бактерицидную активность против *S. aureus in vitro* и *in vivo*. Согласно исследованию, такие покрытия вызвали механическое повреждение клеток, что в значительной степени поспособствовало уничтожению бактерий.

В работе [149] разработали три массива наностержней с оболочкой из Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Было обнаружено, что антибактериальная активность зависит от морфологии конца наностержня, а не его длины. Острые наностержни способны механически повреждать бактерии и продемонстрировали бактерицидную эффективность порядка 96%.

Контактные бактерицидные покрытия способны убивать патогены, чтобы сдерживать развитие бактериальных инфекций. В настоящий момент достигнут большой прогресс в исследованиях таких покрытий в ортопедических имплантатах. Однако, в их фактическом клиническом использовании все еще присутствует много ограничений. С одной стороны, контактные покрытия могут убивать только бактерии на поверхности изделия, то есть вступают с ней в прямой контакт. Накопление убитых бактерий и остаточных внутриклеточных компонентов может привести к негативным последствиям. Когда между функциональной антибактериальной поверхностью и бактериями образуется барьер, бактерицидный эффект ослабевает [150]. С другой стороны, механическое повреждение клеток эффективно в случае бактерий с лекарственной устойчивостью. Кроме того, для лекарственных антибактериальных покрытий требуется более длительное время действия или высокая концентрация, чтобы его компоненты оказывали хороший антибактериальный эффект. Помимо этого, бактерицидные агенты (а также продукты потенциальной деградации) могут вызвать некоторые побочные эффекты на нормальных клетках и тканях, разрушая их защитный барьер.

#### **1.4.2 Препятствие образованию биопленки**

Первопричиной воспалений часто является адгезия клеток, первоначальная бактериальная колонизация и, как следствие, последующее образование биопленки. Исследования показали, что бактериальная адгезия на поверхности ортопедических имплантатов зависит от многих факторов и тесно связана с

поверхностными гидрофильными и гидрофобными свойствами, энергией поверхности и электропроводностью материалов. Биопленки формируются на поверхности материала из-за адсорбции биомолекул, таких как белки, что приводит к бактериальной адгезии, в конечном итоге образуя биопленки. Таким образом, выбор поверхности имплантата и другие ее физико-химические характеристики являются одной из важных стратегий развития антибактериального покрытия [151].

Среди стратегий создания покрытия, предотвращающего образование биопленки наиболее распространенным способом, является нанесение на поверхность слоя полиэтиленгликоля (ПЭГ). Гидрофильные группы ПЭГ способны активно адсорбировать большое количество воды, тем самым образуя стабильный увлажняющий слой, который будет препятствовать адгезии белков и микроорганизмов [152]. Гидрофильность ПЭГ и динамическое движение цепей ПЭГ затрудняют бактериям и другим микроорганизмам прилипание к поверхности покрытия. С увеличением количества ПЭГ повышается реактивность поверхностной гидратации, а также постепенно повышается ее устойчивость к бактериальной адгезии, что делает ПЭГ наиболее широко используемым материалом, предотвращающем образование бактериальной пленки на поверхности ортопедических имплантатов. Например, PEGMA500-Phosmet и PEGMA2000-Phosmer были сформированы на поверхности титанового сплава Ti6Al4V (Ti) [153] с использованием средства между фосфатными группами и гидроксипатитом. Было доказано, что скорость адгезии *Staphylococcus epidermidis* на поверхности полимерных покрытий составляет менее 1%, что характеризует материал как устойчивый к адгезии бактерий. Кроме того, PEGMA500-Phosmet показывает лучшие реакции на клетки остеобластов мышей, чем PEGMA2000-Phosmer и не модифицированный сплав титана. Таким образом, покрытие обладает отличным потенциалом применения в области ортопедической имплантации.

В [154] авторы синтезировали полимерные покрытия (PLL-g-PEG) на титановых поверхностях и обнаружили, что они снизили адгезию *золотистого стафилококка* на 89–93% по сравнению с титановыми поверхностями без покрытия. Однако несмотря на то, что ПЭГ, обладающий гидрофильными свойствами, может достичь хорошего бактериального эффекта, устойчивого к адгезии, он имеет некоторые неотъемлемые дефекты, например, он подвержен окислительной деградации в водной среде [155]. В работе [156] были изготовлены цвиттер-ионные полимерные покрытия на поверхности гидроксипатитовых материалов на основе ионов кальция. Было обнаружено, что покрытие значительно уменьшает количество бактериальных колоний на поверхности материала.

Покрытиями, обладающими стабильной структурой и высокой эффективностью предотвращения образования бактериальной биопленки, являются полисахариды [157].

Также данные материалы обладают рядом высоких биологических свойств, таких как биосовместимость, биоразлагаемость, не токсичность и не аллергенность. Анионные полисахариды, такие как гиалуроновая кислота, могут ингибировать бактериальную адгезию через электростатические отталкивающие взаимодействия, так как большинство бактерий имеют отрицательно заряженные поверхности при физиологическом pH. Многие факторы, такие как адсорбция полисахаридов, а также белки, участвующие в процессе адгезии, могут влиять на ингибирующее действие полисахаридов и их бактериальную адгезию.

### **1.4.3 Высвобождение лекарственных препаратов для обеспечения антибактериальных свойств поверхности имплантатов**

Другая стратегия бактерицидных покрытий заключается в загрузке антибактериальных агентов, например антибиотиков, в покрытие на поверхности имплантата, а затем их выпуска в контролируемом режиме, для повышения эффективности антибактериальных свойств. Покрытия такого типа могут высвобождать биоактивные агенты в терапевтических дозах для уничтожения бактерий вблизи или на расстоянии от поверхности. С покрытием в качестве носителя антибактериальное средство может постепенно высвобождаться в физиологическую среду путем диффузии и растворения или деградации молекул в покрытии, а также разрыва связей между покрытием и антибактериальным агентом, тем самым достигая бактерицидных эффектов с помощью локализованного высококонцентрационного антибактериального агента [158, 159]. Поскольку начальные 24 часа являются наиболее критичным периодом для образования биопленки, в большинстве случаев успешная устойчивость к колонизации биопленки может быть достигнута, когда антибактериальное средство высвобождается в течение короткого периода времени. Это может быть более эффективным в лечении инфекций, связанных с ортопедическими имплантатами, по сравнению с покрытиями, использующими режим контактного антибактериального эффекта.

Антибиотики, которые играют важную роль в профилактике и лечении инфекций, связанных с ортопедическими имплантатами и образованием биопленки, такие как пенициллин, хлортетрациклин и стрептомицин были использованы в качестве антибактериальных средств в антибактериальных покрытиях [160]. Установлено, что такой новый тип поверхности имеет огромный потенциал для предотвращения разрушительных последствий инфекций, вызванных в ходе имплантации.

Уместно отметить, что пероральное и внутривенное введение антибиотиков может иметь много потенциальных недостатков, включая относительно низкий уровень концентрации препарата в целевом месте и возможные побочные эффекты. Высокая эффективность может быть достигнута, когда антибиотики вводятся в места имплантации в высоких местных дозах, не вызывая системной токсичности.

Авторы [161] загрузили антибиотики на титановые имплантаты с пористыми гидроксиапатитовыми покрытиями. Тестирование *in vivo* показало, что гидроксиапатитовые покрытия с антибиотиками значительно лучше предотвращают инфекцию, чем те, которые не были загружены антибиотиками, но все еще существует много нерешенных вопросов, связанных с оптимальной концентрацией и методологией включения антибиотиков в покрытия [162]. Авторы [163] разработали титановые нанотрубчатые массивы, которые загружали гентамицином. Они исследовали кинетику высвобождения гентамицина из этих нанотрубок, а также их влияние на адгезию *Staphylococcus epidermis*. Такое покрытие эффективно уменьшает бактериальную адгезию на поверхности без ущерба для биосовместимости. Гентамицин полностью высвобождается путем замачивания в фосфатном буферном растворе в течение 50–150 минут.

Использование антибиотиков в бактерицидных покрытиях является перспективным, однако решающее значение в этом вопросе имеет выбор антибиотика, а также формирование покрытия, при помощи которого он будет доставлен.

#### **1.4.4 Применение благородных металлов для улучшения антибактериальных свойств имплантатов**

Инфекции, которые связаны с использованием имплантатов, часто вызывают серьезные клинические проблемы [164]. Инфекции в основном возникают из-за загрязнения бактериями, прилипающими к поверхности имплантата, которые вводятся во время операции и не эффективно устраняются с помощью лечения антибиотиками. Грамположительные бактерии, а именно *S. epidermidis*, *S. aureus* и *P. acnes* являются основными микроорганизмами, вызывающими инфекции в ортопедических имплантатах [165]. Штаммы этих и других патогенов развили устойчивость к стандартным профилактическим антибиотикам. Кроме того, неконтролируемый рост бактерий на различных материалах имплантатов может привести к образованию бактериальных биопленок, которые затрудняют или сделают неэффективным лечение

антибиотиками, даже для лекарственно-восприимчивых бактерий [166, 167]. Проблема в том, что бактерии в виде биопленки обладают повышенной устойчивостью к действию иммунной системы, антибиотикам и дезинфицирующим средствам. Кроме того, рост бактериальных биопленок может быть ускорен при наличии высоких терапевтических концентраций антибиотиков [168], вследствие ослабления иммунной системы, при котором бактериальные клетки могут колонизировать новые участки. Эти причины стимулировали разработку альтернативных антибактериальных средств для медицинских имплантатов.

#### 1.4.4.1 Серебряные покрытия и наночастицы

Серебро традиционно используется в качестве антибактериального средства для предотвращения инфекций в клинических условиях. По этой причине данный материал занимает лидирующие позиции в области модификации поверхности медицинских имплантатов. Серебро рассматривается во многих различных формах, включая имплантацию в исходные поверхности и образование покрытий на основе металлического Ag, соли серебра, его соединений или наночастиц.

Биологическая активность серебра подтверждена против широкого спектра микроорганизмов, некоторые примеры бактерий представлены в таблице 6. Исследования [169] установили, что важно, чтобы наносеребро в нетоксичной концентрации увеличивало бактерицидную активность остеокластов человека по отношению к внутриклеточному метициллин-резистентному *S. aureus*, который является основной причиной инфекции в костных имплантатах.

Таблица 6 Примеры антибактериальной активности наночастиц серебра различных форм и размеров [141].

<b>Форма</b>	<b>Размер, нм</b>	<b>Антибактериальная активность</b>	<b>Минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл или зона ингибирования, мм</b>
Сфера	12 ± 4	<i>E. coli</i>	20 (MIC <sub>100</sub> , 10 <sup>4</sup> CFU)

Сфера	10, 20, 80	<i>C. trachomatis</i>	6.25 (MIC <sub>80</sub> , 2.510 <sup>3</sup> CFU)
Сфера	70	<i>M. tuberculosis</i> , <i>M. smegmatis</i> , <i>E. coli</i> , <i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i> : 6.5 <i>B. cereus</i> : 12.5 <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. smegmatis</i> : > 12.5 (MIC <sub>100</sub> , 10 <sup>2</sup> CFU)
Сфера/овал	8–12/1-5	Грамм (-) бактерии: <i>A. baumannii</i> , <i>E. coli</i> Грамм (+) бактерии: <i>S. aureus</i> , <i>S. mutants</i> Микобактерии: <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i>	<i>M. tuberculosis</i> and <i>M. bovis</i> : 2.6, 1.3 – 2.1 <i>E. coli</i> : >100, 23.2 (овал) <i>A. baumannii</i> : >100 (сфера), 69.3 (овал) <i>S. aureus</i> , <i>S. mutants</i> : > 100 (MIC <sub>90</sub> , 2.45·10 <sup>2</sup> CFU)
Сфера	15-90	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> :	0,8–3,
Треугольник	30-200	<i>E. coli</i> :	0,7-0,14
Сфера	4-60	<i>E. coli</i> :	1–12,5 (MIC <sub>100</sub> , 105 - 107 КОЕ)
Стержни	3–6	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> :	6.25–12,5 (MIC <sub>93</sub> , 105–106 КОЕ)
Куб	55 ± 10	<i>E. coli</i> :	37,5
Проволока	60 ± 10	<i>E. coli</i> :	100
Сфера	200-400	<i>E. coli</i> :	75

Основной антибактериальный механизм действия серебра — это высвобождение ионов Ag, за которым следует поглощение клеток и каскад внутриклеточных реакций,

которые приводят к нарушению ДНК. Также серебром могут быть стимулированы активные формы кислорода, которые в свою очередь снижают антиоксидантную защиту и приводят к нарушению дыхательной цепи в клетках. Помимо этого, частицы наноразмерного серебра могут напрямую взаимодействовать с клеточными мембранами и, следовательно, проникать в клетки, вызывая их гибель. Согласно вышесказанному, использование наночастиц серебра (AgNPs) более эффективно, чем металлические серебряные покрытия и соединения серебра [170]. Действительно, наночастицы характеризуются высокой площадью поверхности и предоставляют больше возможностей для точного контроля выбросов ионов серебра. Одним из основных факторов, влияющих на антибактериальное действие наночастиц, является их размер и форма [171]. С точки зрения размера, небольшие частицы, как правило, повышают антибактериальные свойства, так как на поверхности доступно больше атомов для взаимодействия с бактериями или высвобождения большего количества ионов серебра. С другой стороны, можно получить наночастицы различных форм, включая наноплиты, наносферы, наностержни, нанопризмы и нанокубы (рисунок 1).

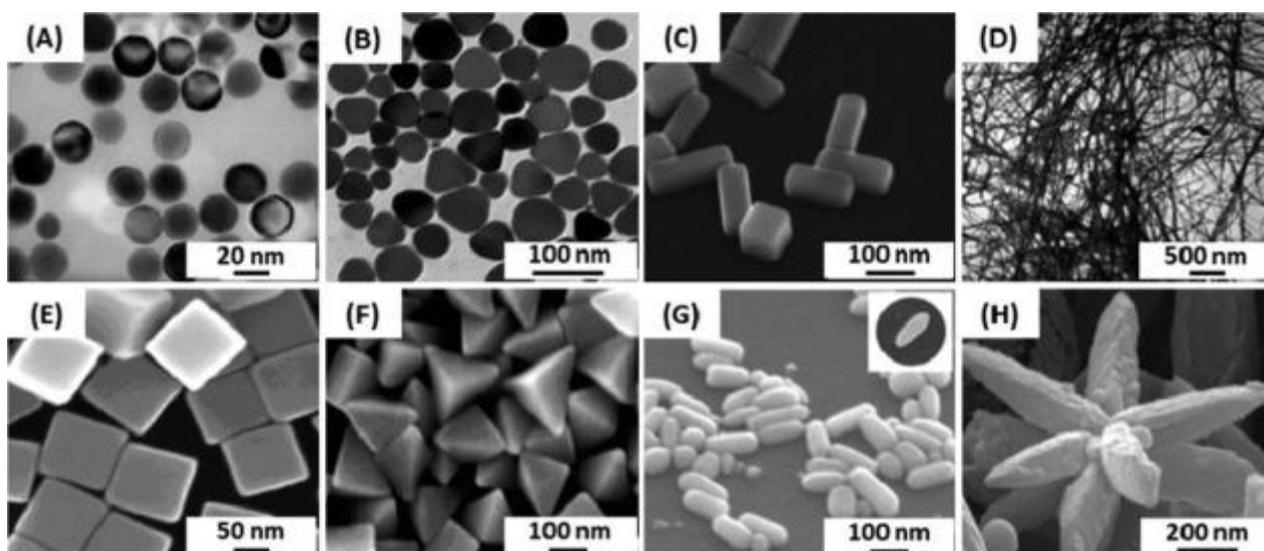


Рисунок 1 – ПЭМ - изображения наночастиц серебра различной формы: А) сферы, В) овалы, С)призмы, D) нити и СЭМ – изображения: Е) кубы, F) пирамиды, G) овалы и H) цветы [172]

Кроме того, на антибактериальный эффект влияют не только размер, форма, химия и кристалличность наночастиц, но и химия водной среды, а именно рН раствора, окислительно-восстановительное состояние, ионная сила и состав. Также важно отметить, что AgNPs демонстрируют отличную активность не только против планктонных бактерий,

но и против бактериальных биопленок, поскольку бактерии в этой форме в 1000 раз более устойчивы к антибиотикам [173].

Авторы [174] разработали пористые титановые имплантаты, покрытые серебром. После 6-недельного теста на долговечность были достигнуты сильные и устойчивые антибактериальные свойства как против планктонных, так и против адгезионных бактерий *S. aureus*. Предполагается, что одно из антимикробных свойств было связано с высвобождением ионов  $Ag^+$ .

Также успешным способом реализации антибактериального эффекта является включение наночастиц  $Ag$  в полимерные покрытия для подготовки нанокомпозитных антибактериальных покрытий. В работе [175] разработали покрытие, состоящее из гидроксиапатита,  $AgNPs$  и полидопамина на титановом имплантате. С помощью полидопамина им удалось предотвратить быстрое высвобождение ионов серебра, и в результате была установлена эффективность - 91,7%, 89,5% и 92% против *S. aureus*, *Sepidermidis* и *E.coli* соответственно.

Еще одним преимуществом  $AgNPs$  является их значительный потенциал для усиления бактерицидного действия большого количества современных антибиотиков [176]. Синергетический эффект  $AgNPs$  и антибиотиков может преодолеть микробную устойчивость к этим препаратам, а также уменьшить требуемое количество препарата.

#### **1.4.4.2 Золотые покрытия и наночастицы**

Благодаря высокой биосовместимости, химической инертности и коррозионной стойкости в биологических средах металлическое золото и его сплавы на протяжении веков использовались в качестве имплантатов не только для стоматологических применений, но и в реконструктивной хирургии [177]. Как и в случае с серебром, более эффективным является использование наночастиц золота ( $AuNPs$ ). [178, 179, 180]. Оба катиона золота  $Au(I)$  и  $Au(III)$ , очень токсичны для бактерий [181], но их высвобождение с поверхности золота включает в себя окислительный процесс. Поскольку металлический  $Au$  гораздо более электрохимически устойчив к окислению, чем  $Ag$ , образование ионного  $Au$  в водных растворах может быть термодинамически невыгодно [182].

Однако, наночастицы золота поливалентны и способны связывать многие типы лигандов, поэтому существует возможность модифицировать их функциональными группами и лекарственными препаратами [183, 184].  $AuNPs$  с различными поверхностными лигандами могут быть еще более эффективными противомикробными агентами. В работе [185] наночастицы золота были биологически синтезированы с использованием

непатогенного гриба *Trichoderma viride* при комнатной температуре и связаны с ванкомицином. Данный метод модификации продемонстрировал значительную антибактериальную активность в отношении штамма *Escherichia coli*. В работе [186] был исследован антибактериальный эффект комбинации AuNPs и антибиотиков. Для функционализации использовались левофлоксацин, цефотаксим, цефтриаксон и ципрофлоксацин. Наноструктуры продемонстрировали отличную бактерицидную активность и уменьшили количество грамположительных и грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и золотистый стафилококк) по сравнению со свободными лекарственными средствами.

В случае AuNPs влияние формы на антибактериальный эффект менее изучено, однако присутствует информация об использовании нанокубов, наноцветов, сфер и частиц звездообразной формы в качестве антибактериальных агентов [187]. Другие основные факторы, которые могут определять бактерицидный эффект AuNPs, включают в себя поверхностный заряд, характер реакции и уровень агрегации.

В литературе присутствует множество публикаций, посвященных бактерицидным свойствам AuNPs, полученных в основном различными химическими методами. Некоторые примеры, демонстрирующие антибактериальную активность AuNPs приведены в таблице 7.

Таблица 7 - Примеры антибактериальной активности наночастиц золота с различными формами и размерами, полученных методами химического восстановления [141].

<b>Форма</b>	<b>Размер, нм</b>	<b>Антибактериальная активность</b>	<b>Минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл или зона ингибирования, мм</b>
Сфера или полусфера	14, 39, 77	<i>S. mutants</i>	14, 39 нм: 12,3 мкг/мл; 77 нм: 49,3 мкг/мл
Сфера	6-40	<i>E. coli</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> ,	<i>E. coli</i> : 2,93-2,96 мкг/мл, 22-25 мм; <i>S. aureus</i> : 3,92-8,61 мкг/мл, 31–35 мм; <i>B. subtilis</i> : 7,56-8,61 мкг/мл;
Овал	15,2±1,2	<i>S. aureus</i>	500 мкг/мл
Звезды/ цветы	33,3 ± 3,8 26,0 ± 2,6 40,6 ± 2,2	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	500 мкг/мл

Сфера/овал	22 ± 3	E. coli, B. Calmette-Guérin.	5 мкг/мл
------------	--------	------------------------------	----------

### **Выводы по разделу**

*Анализ литературы демонстрирует наличие широкого спектра материалов, используемых для медицинских применений. Популярными материалам, используемыми в качестве медицинских имплантатов являются металлические материалы, а в последнее время фокус среди множества данных материалов направлен на сплавы, обладающие эффектом памяти формы. Новые сплавы системы Ti-Zr-Nb обладают улучшенными механическими характеристиками, повышенной биосовместимостью и полностью состоят из нетоксичных материалов. Исходя из этого объектом исследования в данной работе был выбран сплав Ti-18Zr-15Nb.*

*Однако, как было сказано в обзоре литературы, по-прежнему нерешенной остается задача антибактериальной модификации поверхности. Помимо превосходных характеристик самого имплантируемого материала важным фактором, влияющим на успешный исход имплантации, является отсутствие бактериальных инфекций после установки конструкции. Исходя из этого данная работа направлена на разработку методик антибактериальной модификации поверхности материала для медицинских применений.*

## **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1 Объект исследования**

В качестве объекта исследования был выбран сверхупругий сплав Ti-18Zr-15Nb (ат. %). Сплав был выплавлен в вакуумно-дуговой печи с нерасходуемым вольфрамовым электродом. Для исследований были использованы цилиндрические образцы диаметром 10 мм и высотой 2 мм. Поверхность образцов была предварительно подготовлена с использованием шлифовки на абразивной бумаге с уменьшением зернистости от 320 до 4000 Р и полировке с применением алмазной суспензии (1мкм) на полировальной ткани. Далее все образцы были промыты в ультразвуковой ванне, заполненной изопропиловым спиртом. Часть образцов была обработана в течение 90 минут в растворе «Пираньи» (98 %  $H_2SO_4$  и 30 %  $H_2O_2$  в соотношении 3:1) при комнатной температуре. После обработки в растворе «Пираньи» образцы были промыты в дистиллированной воде в течение 15 минут и обработаны изопропиловым спиртом перед нанесением покрытий.

### **2.2 Методика определения параметров предварительной обработки поверхности**

Оптимальные параметры предварительной обработки сплава в агрессивной среде раствора «Пираньи» были установлены путем травления образца сплава Ti-18Zr-15Nb, а также образцов его основных компонентов – титана (Ti), циркония (Zr) и ниобия (Nb) различные промежутки времени, а именно –30, 60, 90, 100, 110 и 120 минут.

### **2.3 Методика определения оптимальных параметров синтеза наночастиц серебра**

Отработка метода синтеза наночастиц серебра была проведена при помощи сравнительного анализа полиольных сред. Этиленгликоль (ЭГ) и полиэтиленгликоль (ПЭГ) были выбраны в качестве сред синтеза для формирования наночастиц серебра. Нитрат серебра ( $AgNO_3$ ) был применен в качестве источника серебра. Синтез был проведен в течение 1 и 10 минут с добавлением  $AgNO_3$  в количестве 100 мг, растворенного в 5 мл дистиллированной воды, в среду, после чего все образцы были промыты в дистиллированной воде с использованием ультразвуковой ванны 15 минут и высушены на воздухе.

## **2.4 Методика формирования диоксида титана атомно слоевым осаждением**

Осаждение тонких пленок диоксида титана  $\text{TiO}_2$  было проведено методом атомно-слоевого осаждения (АСО) с использованием термостатного реактора низкого давления (1,5 Мбар) Sunale R-150 Picosun OY ALD. Для роста пленки  $\text{TiO}_2$  был применен этоксид титана  $\text{Ti}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$  при температуре  $150^\circ\text{C}$  и вода ( $\text{H}_2\text{O}$ ) при температуре  $22^\circ\text{C}$ . Каждый цикл реакции был осуществлен в следующем порядке: импульс этоксида титана (0,1 с), импульс продувки (4,0 с), импульс воды (0,2 с) и импульс продувки (4,0 с). Данный цикл был реализован 300 раз. Температура подложки поддерживалась на уровне  $250^\circ\text{C}$ . В качестве носителя и продувочного газа был использован азот чистотой 99,999%.

## **2.5 Методика определения оптимальных параметров синтеза наночастиц золота.**

Наночастицы золота были сформированы в дистиллированной воде путем химического восстановления золотохлористоводородной кислоты ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) с использованием борогидрида натрия ( $\text{NaBH}_4$ ) в качестве восстановителя. Оптимальные параметры синтеза были подобраны путем изменения концентрации  $\text{NaBH}_4$  в среде: к 32 мл  $\text{H}_2\text{O}$  было добавлено 1,5 мг  $\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{NaBH}_4$  с концентрациями  $46,8 \cdot 10^{-3}$  мг/мл;  $23,4 \cdot 10^{-3}$  мг/мл;  $11,7 \cdot 10^{-3}$  мг/мл;  $4,6 \cdot 10^{-3}$  мг/мл соответственно. Синтез был проведен при постоянной температуре и постоянном перемешивании в течение 20 минут при комнатной температуре.

## **2.6 Методика формирования наночастиц на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb**

### **2.6.1 Методика формирования AgNPs на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb**

AgNPs были сформированы на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb методом полиольного синтеза. Ёмкость для синтеза, содержащую ПЭГ-400 (50 мл), размещали на магнитной мешалке. Далее образец погружали в среду синтеза и добавляли в нее свежеприготовленный раствор нитрата серебра (100 мг  $\text{AgNO}_3$  в 5 мл  $\text{H}_2\text{O}$ ). Данная система была помещена в шкаф с ультрафиолетовым (УФ) излучением на 8 минут, после чего синтез был проведен еще в течение 10 минут без УФ-излучения. По окончании синтеза образцы были извлечены и промыты в ультразвуковой ванне в дистиллированной воде 15 минут и высушены на воздухе.

### **2.6.2 Методика формирования AgNPs на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb после атомно слоевого осаждения**

AgNPs были сформированы на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb, после предварительного формирования слоя TiO<sub>2</sub> на поверхности, методом химического восстановления AgNO<sub>3</sub> с использованием NaBH<sub>4</sub> в качестве восстановителя по двум режимам синтеза. Для первого режима раствор NaBH<sub>4</sub> (концентрация 0,076 мг/мл) был охлажден до 1°C, затем 10 мл раствора AgNO<sub>3</sub> (0,255 мг/мл) было добавлено в среду по каплям в течение 10 минут. Был получен ярко-желтый цвет раствора, который указывал на образование коллоидных наночастиц Ag. Образец был погружен в полученный раствор на 12 ч при постоянном перемешивании. После этого образец был промыт в дистиллированной воде и высушен на воздухе. Для второго режима синтеза капля раствора NaBH<sub>4</sub> (2 мг/мл) была помещена на поверхность образца до полного высыхания. Затем образец был погружен в 50 мл раствора AgNO<sub>3</sub> (1 мг/мл) на 20 минут, промыт дистиллированной водой и высушен на воздухе.

### **2.6.3 Методика формирования AuNPs на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb**

AuNPs были сформированы на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb методом химического восстановления HAuCl<sub>4</sub>\*4H<sub>2</sub>O с использованием NaBH<sub>4</sub> в качестве восстановителя. Образцы были погружены в 32 мл H<sub>2</sub>O, затем 1,5 мг HAuCl<sub>4</sub>\*4H<sub>2</sub>O и 0,25 мл NaBH<sub>4</sub> (1,5 мг/мл) было добавлено в среду синтеза. Часть образцов была предварительно функционализована в растворе NaBH<sub>4</sub> (1,5 мг/мл) в течение 3 мин под воздействием ультразвуковой обработки, после чего были полностью погружены в раствор, состоящий из 32 мл H<sub>2</sub>O и 1,5 мг HAuCl<sub>4</sub>\*4H<sub>2</sub>O. Синтез был проведен в течение 20 минут при постоянном перемешивании, далее все образцы были промыты в дистиллированной воде и высушены на воздухе. На рисунке 2 представлена схема синтеза AuNPs.

Часть образцов были выдержаны в водном растворе цистеина (C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S, концентрация 1 мг/мл) в течение 24 часов, который действует как связующий компонент между наночастицами золота и лекарственными препаратами. Затем N-гидроксисукцинимид (1,6 мг/мл) и EDC (2,4 мг/мл) были растворены в воде и образцы были погружены в данный раствор на 15 минут. Далее образцы были промыты и погружены в 1 мл раствора гентамицина (40 мг/мл) с добавлением 1 мл буферного раствора (pH = 7,4). Полученные образцы были промыты в дистиллированной воде и высушены на воздухе. Описанная выше последовательность графически представлена на рисунке 3.

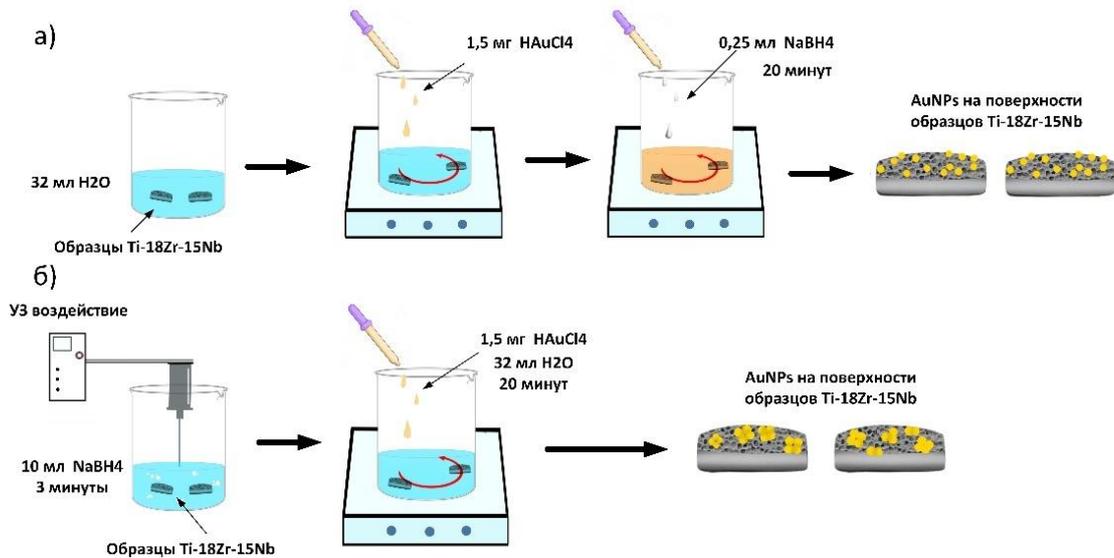


Рисунок 2 - Схема синтеза AuNPs на поверхности образцов

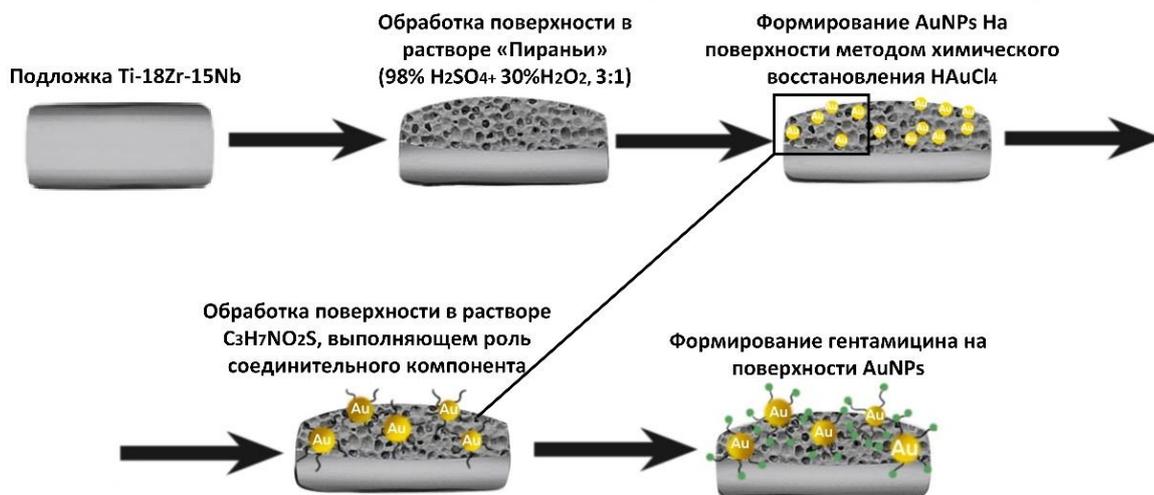


Рисунок 3 – Схема последовательности функционализации поверхности образцов лекарственным средством

## **2.7 Методики исследования структуры и химического состояния наночастиц**

### *Спектрофотометрический метод*

Исследование кинетики образования наночастиц в различных средах, а также оценка загрузки и выхода гентамицина с поверхности были проведены спектрофотометрическим методом на спектрофотометре UV-VIS-NIR «Cary-5000» фирмы Varian, Австралия, с использованием программного обеспечения Ocean Optics.

### *Сканирующая электронная микроскопия*

Изучение микроструктуры поверхности образцов, а также изучение размера образовавшихся AgNPs было проведено методом сканирующей электронной микроскопии на установке JEOL 7600F (Япония), который оснащен энергодисперсионным микроанализатором (ЭДС, Oxford Instruments). Размер НЧ был определен с помощью программного обеспечения ImageJ.

### *Просвечивающая электронная микроскопия*

Изучение размера образовавшихся AuNPs, а также изучение структуры покрытия TiO<sub>2</sub> было проведено методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС) на электронном микроскопе Tecnai Osiris 200 кВ (FEI, Хиллсборо, Орегон, США). Обработка изображений была проведена с использованием программного обеспечения Digital Micrograph (Gatan Inc., Плезантон, Калифорния, США).

### *Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия*

Изучение химического состояния поверхности после формирования наночастиц было проведено методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС) на рентгеновском фотоэлектронном спектрометре PHI5500VersaProbeII. Для расшифровки спектров было использовано программное обеспечение CasaXPS. Спектры были откалиброваны с использованием C1s - 285,0 эВ и аппроксимированы с использованием фона в стиле Shirley. Для снятия концентрационных профилей по глубине с поверхности образцов было применено травление ионами Ag<sup>+</sup> с ускоряющим напряжением 1–2 кв. и скоростью травления 1,8–5,6 нм/мин. Площадь распыления составляла 2x2 мм<sup>2</sup>.

Распыление было проведено до тех пор, пока не было достигнуто кислородное плато, которое указывает на то, что объем сплава достигнут.

#### *Механические испытания*

Образцы для механических испытаний были подвергнуты холодной прокатке со степенью деформации 30% и последеформационному отжигу при температуре 550 °С в течение 30 мин в атмосфере аргона и закалкой в воду.

Исследования механических характеристик материала проводили на установке INSTRON 5966. В ходе проведения механических испытаний на растяжение образцы растягивали до величины деформации 0,5%, после снимали нагрузку до достижения нулевых значений напряжения и повторяли цикл с увеличением деформации на 0,5% в каждом цикле, до разрушения образца.

#### *Выход ионов серебра*

Выход ионов серебра был измерен с помощью атомно-эмиссионного спектрометра ICP iCAP 6300. Для этого образцы погружали в 50 мл дистиллированной воды и выдерживали в течение 24 ч на лабораторном шейкере. Пробы отбирали через заданные интервалы времени. Объем каждой пробы составлял 2 мл.

#### *Измерение параметра шероховатости*

Измерение шероховатости образцов с модифицированной поверхностью было проведено с помощью оптического профилометра Veeco WYKO. Необходимые параметры были определены автоматически при помощи программного обеспечения Wyko Vision 32.

#### *Измерения параметра смачиваемости*

Для определения параметра смачиваемости была использована система KRÜSS Easy Drop DSA 20. Значения углов были получены методом сидячей капли. Каплю воды, диаметром 3 мм помещали на поверхность образцов с помощью иглы. Необходимые для вычислений параметры были определены автоматически по изображениям упавшей капли, затем устанавливали угол смачивания кромки между твердой поверхностью и жидкостью в точке контакта трех фаз.

## 2.8 Методика антибактериальных испытаний

Антибактериальные свойства AgNPs были оценены с помощью анализа ингибирования роста клеток в отношении грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* (*E.coli*, дикие) [188.]. В качестве контрольных образцов использовались полированные диски Ti-18Zr-15Nb. Для этого 50 мкл среды Лурия Бертани (LB: дрожжевой экстракт, триптон, NaCl), содержащей бактерии в концентрации 400 клеток/мл, было нанесено на тестируемые образцы и затем инкубировано в чашке Петри при 37°C в течение 24 часов. Чтобы предотвратить испарение LB-среды, по периметру чашки Петри было налито небольшое количество дистиллированной воды. Через 24 ч была собрана аликвота в количестве 50 мкл исходной LB-среды с клетками и затем разбавлена до  $10^{10}$  раз. Далее по 15 мкл каждой бактериальной дисперсии было равномерно распределено по чашкам с агаром и инкубировано при 37°C в течение 24 ч. Количество колониеобразующих единиц КОЕ (ед/мл) было посчитано с помощью программного обеспечения ImageJ [189].

Антибактериальные свойства AuNPs были оценены с помощью анализа ингибирования роста клеток в отношении грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* (*E.coli*, дикие). В качестве контрольных образцов использовались полированные диски Ti-18Zr-15Nb. Образцы были помещены в 24-луночный планшет, заполненный водой для поддержания влажности, и на поверхность образца было добавлено 100 мкл суспензии *E.coli* в бульоне LB (приблизительно  $1 \times 10^2$  КОЕ/образец), затем систему инкубировали в аэробных условиях при 37°C в течение 24 ч. После инкубации суспензия бактерий с каждого образца была собрана и помещена на твердую пластину LB в чашке Петри. Затем планшеты были инкубированы в анаэробных условиях при температуре 37°C в течение 24 ч. количество колониеобразующих единиц КОЕ (ед/мл) было посчитано с помощью программного обеспечения ImageJ.

Концентрация бактерий в данных образцах была также определена спектрофотометрически на основе калибровочных кривых *E. coli*. Для измерения оптической плотности (ОП) суспензия бактерий после инкубации на металлических образцах была помещена в 96-луночный планшет, и ОП была измерена при  $\lambda = 600$  нм [190]. Колонии были оценены по 3 контрольным точкам для каждого из режимов синтеза.

## 2.9 Методика оценки биосовместимости

Оценка цитотоксичности образцов, модифицированных AuNPs была проведена при помощи клеточной культуры мышинных остеобластоподобных клеток MC3T3. Клетки культивировали в среде DMEM/F12 (Gibco, Thermo Fisher Scientific) с содержанием 5% CO<sub>2</sub> при температуре 37°C. Затем в среду было добавлено 10% термоинактивированной фетальной бычьей сыворотки (FBS, PAA), 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина. Стандартное количество остеобластов (5 × 10<sup>3</sup> клеток/см) было высеяно на поверхность модифицированных образцов, которые далее были помещены в 24-луночные планшеты для культивирования клеток. Клетки были зафиксированы через 1, 3, 5 и 7 дней 3,7% формальдегидом и окрашены 4',6-диамидин-2'-фенилиндолидигидрохлоридом (DAPI) (Sigma). Количество клеточных культур было определено с помощью микроскопа AxioPlan (Zeiss), оснащенного объективом ×40. Для определения площади одиночных клеток и расположения активного цитоскелета было проведено окрашивание клеток Alexa488-фаллоидином и моноклональным паксиллиновым антителом (клон 349, лаборатория трансдукции BD).

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1 Исследование влияния времени травления на микроструктуру поверхности

В таблице 8 представлены значения изменения масс образцов, полученные в ходе проведения предварительной обработки растворе «Пираньи». На рисунке 4 приведен график зависимости изменения масс образцов от времени травления.

Таблица 8 – Значения изменения массы сплава

Сплав	Время травления, мин					
	30	60	90	100	110	120
	Масса, г					
Ti	0,007	0,007	0,009	0,009	0,01	0,01
Zr	0,003	0,003	0,003	0,004	0,004	0,005
Nb	0	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Ti-18Zr-15Nb	0	0,001	0,003	0,003	0,003	0,003

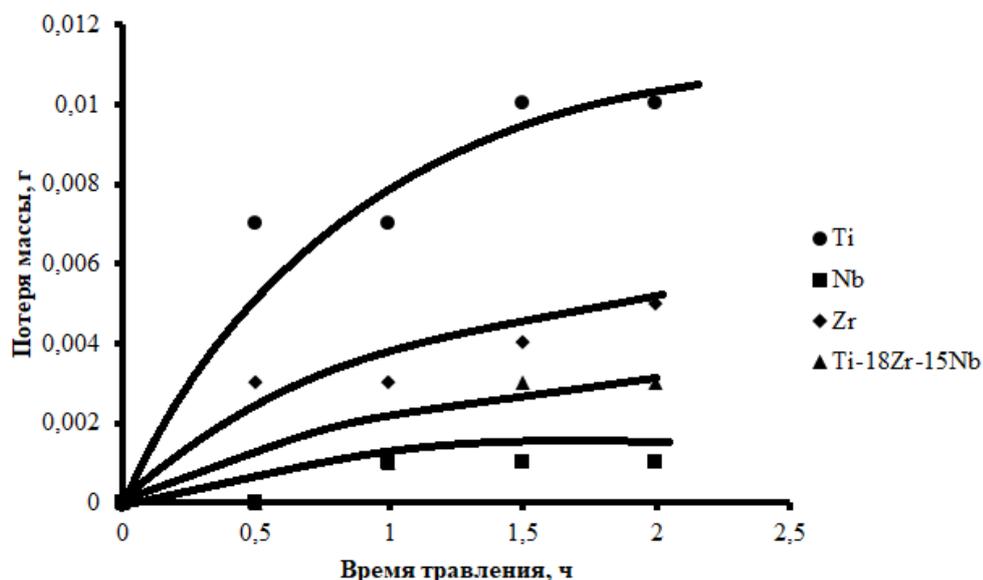


Рисунок 4 – Зависимость изменения массы образцов от времени травления

По полученным данным установлено, что изменение массы образцов со временем травления выходит на плато через 90 минут. Исходя из этого, данное время было выбрано оптимальным для предварительной обработки поверхности в агрессивной среде. Установлено, что скорость травления основных компонентов сплава в среде «Пираньи» различна и классифицируется в порядке убывания следующим образом: титан, цирконий, ниобий. Изменение массы ниобия в ходе травления практически не происходит.

Для образцов Ti-18Zr-15Nb после 90, 100 и 110 минут травления в растворе «Пираньи» были проведены исследования микроструктуры. Результаты приведены на рисунке 5–7.

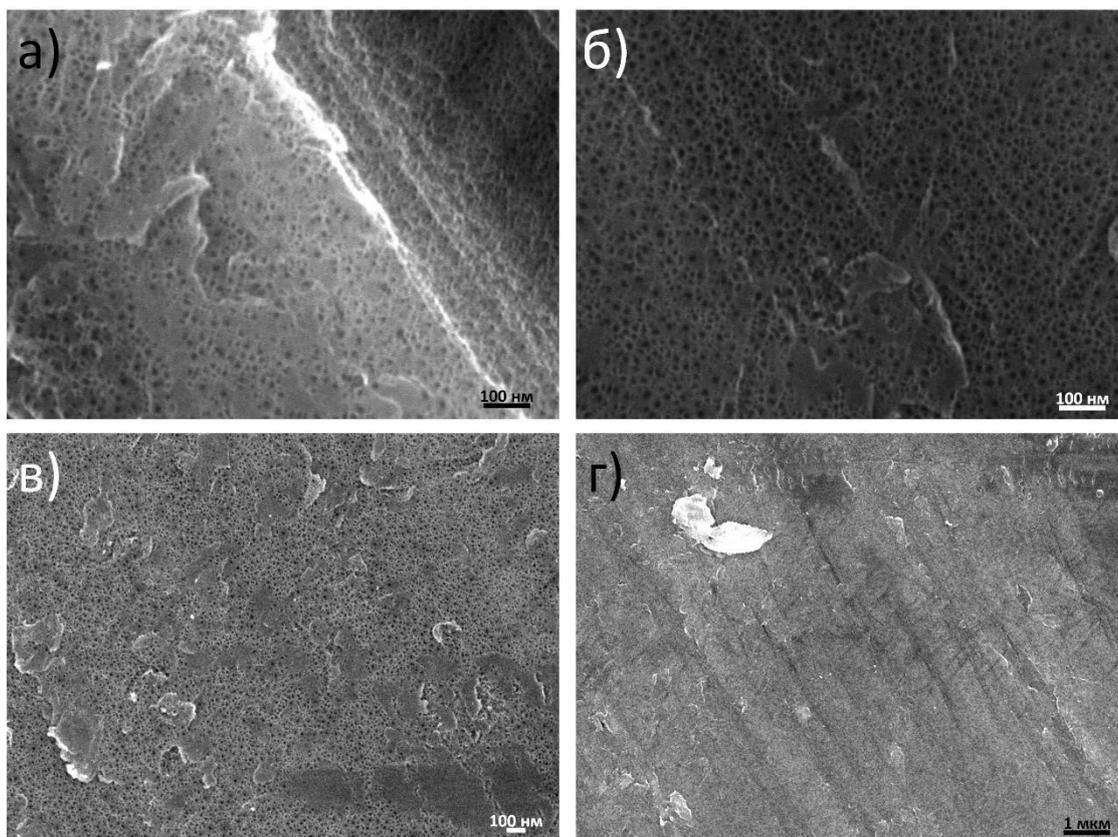


Рисунок 5 – Микроструктура поверхности образца Ti-18Zr-15Nb после травления 90 минут

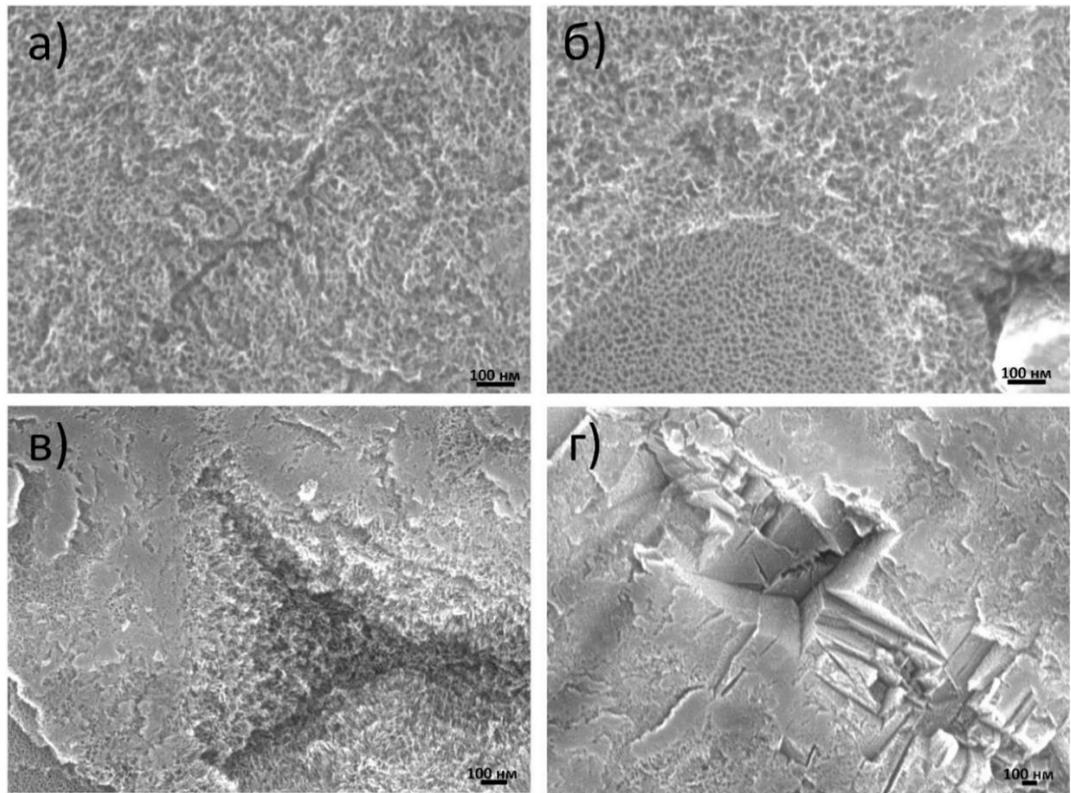


Рисунок 6 – Микроструктура поверхности образца Ti-18Zr-15Nb после травления 100 минут

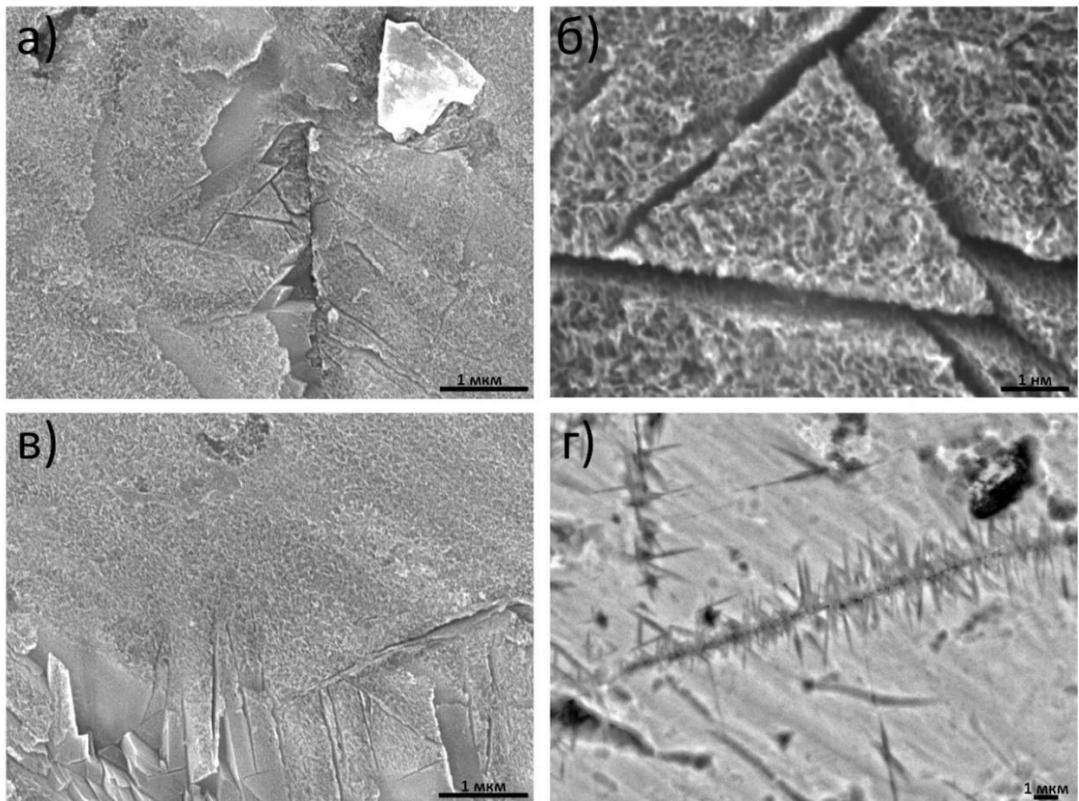


Рисунок 7 – Микроструктура поверхности образца Ti-18Zr-15Nb после травления 110 минут

Травление в течение 90 минут (рисунок 5) обеспечивает формирование на поверхности равномерной пористой структуры, в отличие от поверхности образцов, которые были подвержены травлению в течение 100 и 110 минут и имеют более разнородную микроструктуру. На рисунке 6 после 100 минут выдержки в растворе «Пираньи» наблюдается губчатая структура, поры менее равномерны, а поверхность более развита. На рисунке 7 хорошо различимы структурные границы раздела, в глубине трещин и полос структура образца разнородна.

Результаты СЭМ позволили установить, что на поверхности сплава после обработки в среде «Пираньи» в течение 90 минут формируется равномерная пористая структура (рисунок 8а). Средний размер пор составил порядка 8 нм (рисунок 8б).

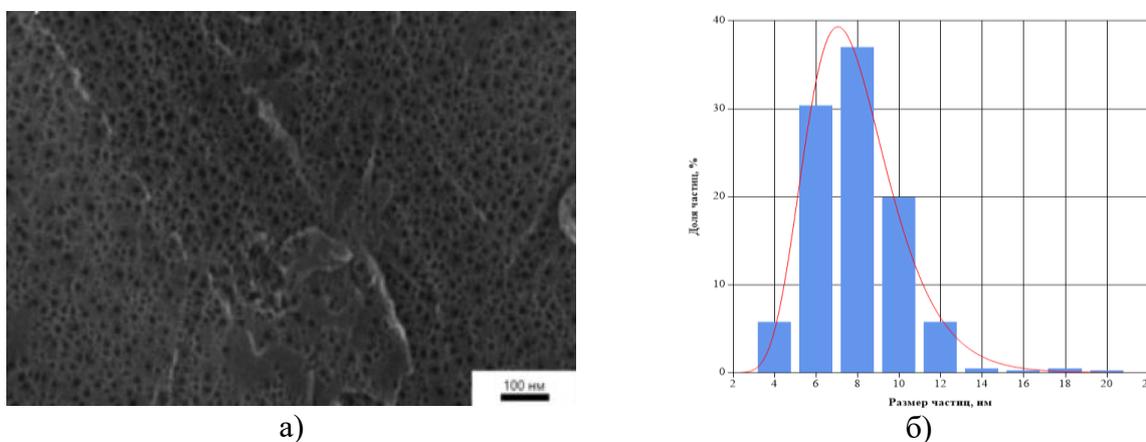


Рисунок 8 - а) СЭМ-изображение образца Ti-18Zr-15Nb после обработки травлением в растворе «Пираньи»; б) гистограмма распределения пор по размерам

Установлено, что для предварительной обработки образцов в растворе «Пираньи» оптимальным временем травления является 90 минут. При данном времени обработки на поверхности можно отметить равномерную пористую структуру. Данное время было выбрано для дальнейших исследований.

## 3.2 Исследование формирования наночастиц серебра на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb

### 3.2.1 Отработка метода синтеза наночастиц серебра

Для подбора оптимальных параметров синтеза AgNPs была проведена серия экспериментов с использованием различных сред: этиленгликоль и полиэтиленгликоль. Время синтеза составляло 1 и 10 минут для каждого образца. Спектрофотометрический

анализ позволил установить особенности формирования наночастиц серебра. На рисунке 9 представлены результаты спектрофотометрических исследований.

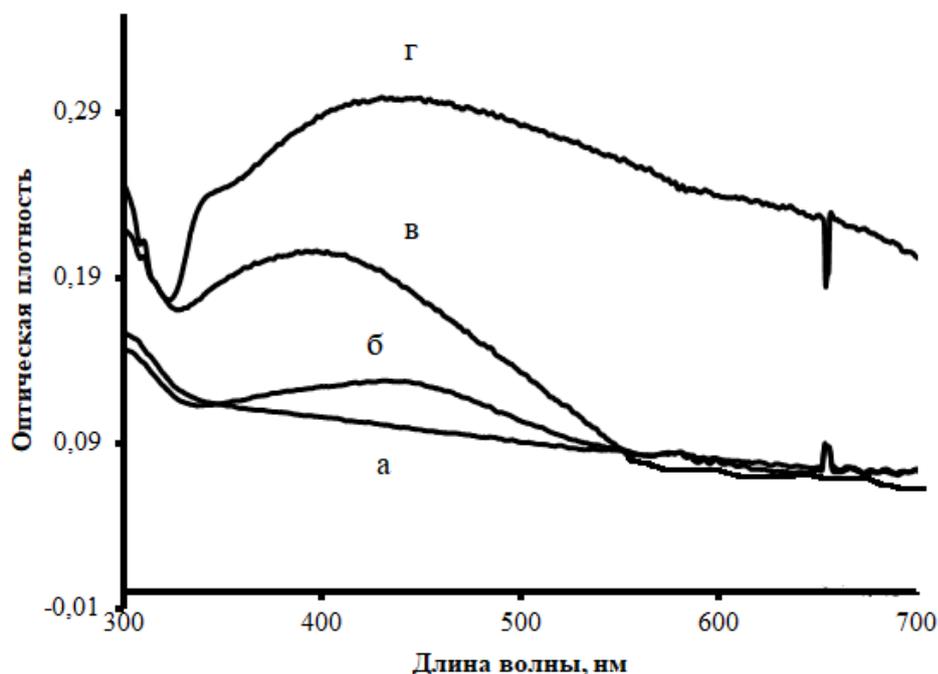


Рисунок 9 - Спектры исследуемых образцов: а) ЭГ/1 минута; б) ЭГ/10 минут; в) ПЭГ-400/1 минута; г) ПЭГ-400/10 минут

Установлено, что при использовании в качестве среды синтеза этиленгликоля (время синтеза 1 минута) в исследуемом диапазоне волн отсутствует пик поглощения, что свидетельствует о недостаточном восстановлении AgNPs и малой эффективности восстановителя. Однако, при времени синтеза 10 минут ярко выраженный пик поглощения наблюдается на длине волны 450 нм, а положение пика говорит о формировании частиц с большими размерами. Данные результаты позволяют сделать вывод о том, что стабилизирующий эффект ЭГ является недостаточным, а скорость роста наночастиц высокой.

При использовании ПЭГ-400 в качестве среды синтеза достаточно выраженный пик наблюдается уже после 1 минуты синтеза и расположен на длине волны 415 нм, соответствующей наночастицам с меньшими размерами. При 10 минутах синтеза пик смещается в сторону больших значений, но тем не менее, не превосходящих значения длины волны при синтезе в среде ЭГ. Такая особенность свидетельствует о высокой восстановительной и стабилизирующей способности ПЭГ-400.

На рисунке 10 представлены электронные изображения образцов, полученных для каждого из режимов синтеза.

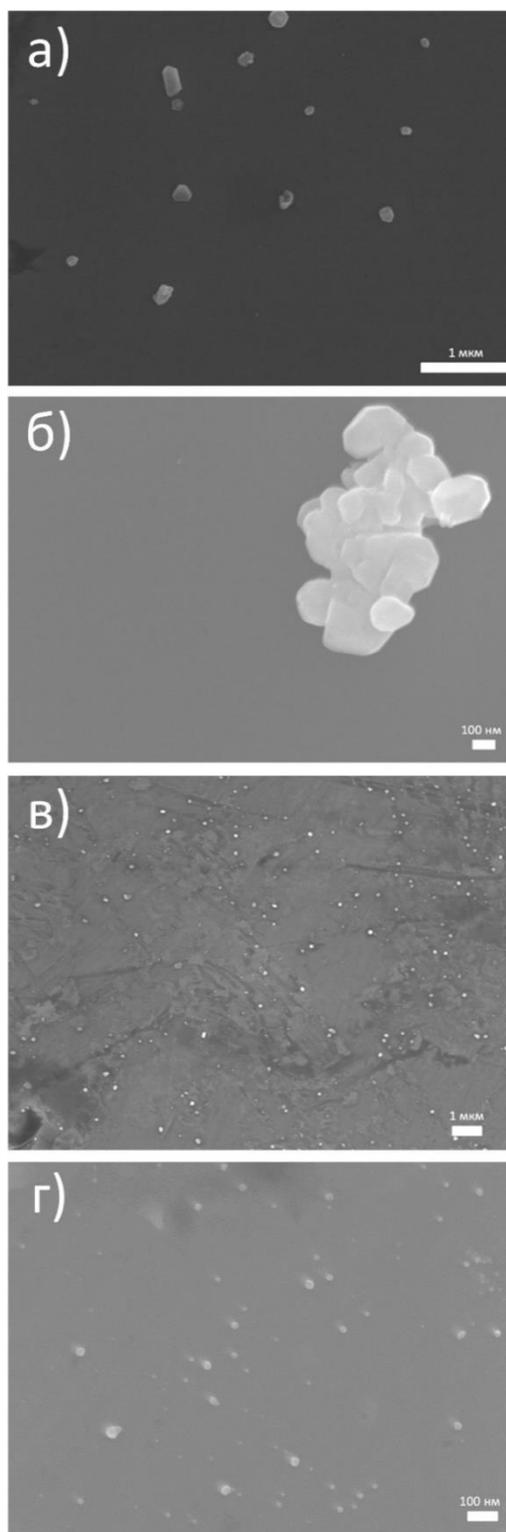


Рисунок 10 – Микроструктура поверхности образцов: а) ЭГ/1 минута; б) ЭГ/10 минут; в) ПЭГ-400/1 минута; г) ПЭГ-400/10 минут

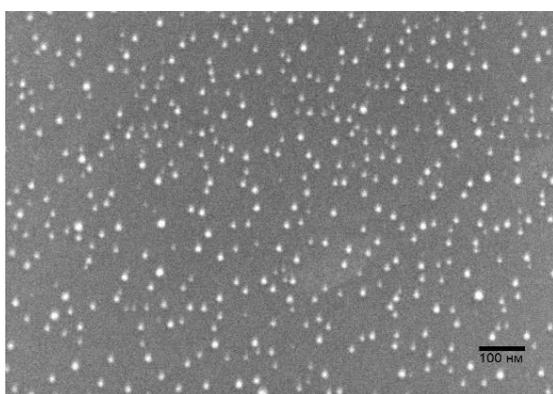
В результате синтеза при каждом из режимов наночастицы серебра были сформированы на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb. Наночастицы, после формирования в среде ПЭГ-400, равномерно распределены по поверхности и их размер не превышает 100 нм. После формирования наночастиц в среде ЭГ на поверхности помимо нанометровых

наночастиц можно наблюдать наличие агломератов более крупных AgNPs. При том, что спектрофотометрический анализ установил отсутствие пика при ЭГ/1мин, наночастицы Ag на поверхности сплава при этом режиме были сформированы. Можно предположить, что поверхность образца выступает в качестве затравки и процесс формирования наночастиц Ag значительно облегчается.

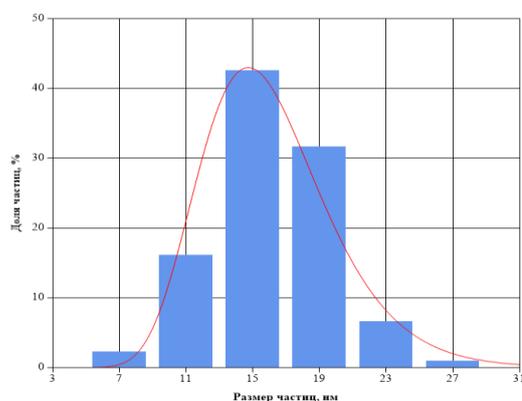
Исходя из вышесказанного, средней синтеза, для формирования AgNPs на поверхности сплава был выбран полиэтиленгликоль-400, обладающий более выраженными стабилизирующими свойствами. Наночастицы серебра были сформированы на поверхности по режиму, описанному в методике: образец был погружен в 50 мл ПЭГ-400, далее добавлено 100 мг AgNO<sub>3</sub> (в 5 мл H<sub>2</sub>O), синтез был проведен 8 минут под воздействием УФ и 10 минут без воздействия УФ. При этом AgNPs были сформированы на двух типах поверхностей – полированной и пористой (обработанной в растворе «Пирани»), образцы обозначены Ag/Ti и Ag/Ti(т) соответственно.

### 3.2.2 Исследование структуры поверхности материалов, модифицированных AgNPs

По результатам СЭМ-анализа поверхности, после модификации AgNPs установлено формирование равномерно распределенных наночастиц серебра. Микрофотография поверхности образца Ag/Ti после модификации AgNPs представлена на рисунке 11а. Для материала без обработки в агрессивной среде раствора «Пирани» размер частиц составил от 5 до 30 нм. Средний размер составил 18±2 нм (рисунок 11б). Из этого следует, что покрытие достаточно однородное, а разброс размерных характеристик сравнительно небольшой.



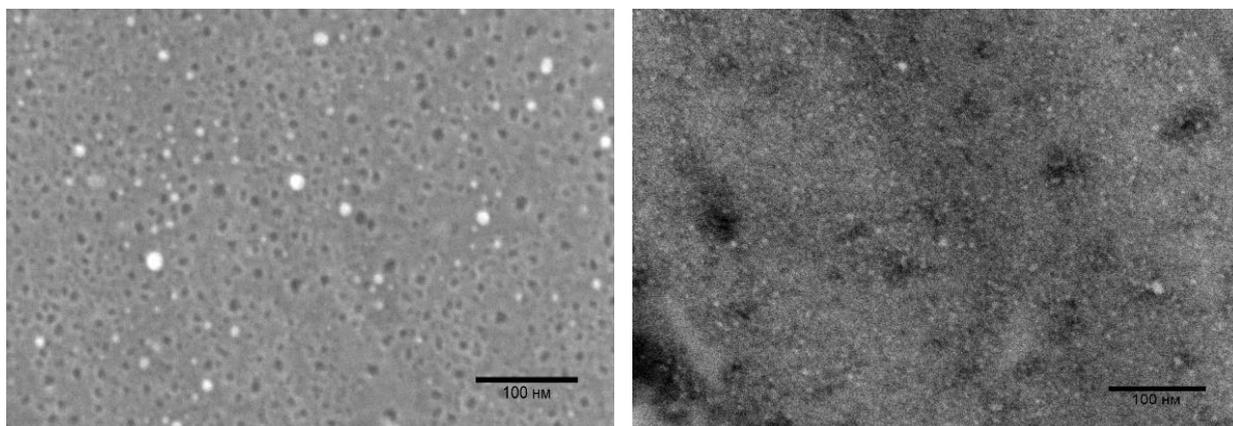
а)



б)

Рисунок 11 - а) Микроструктура образца Ag/Ti; б) гистограмма распределения частиц по размерам

На образцах Ag/Ti(т) после травления «Пиранией» также сформированы наночастицы серебра (рисунок 12а). Размер частиц лежит в диапазоне 3–30 нм, что аналогично поверхности без травления. Средний размер таких частиц составляет  $13 \pm 2$  нм. Согласно СЭМ-изображению в обратно-отраженных электронах (рисунок 12б) AgNPs на таком типе поверхности формируются не только на поверхности, но и внутри пор.



а)

б)

Рисунок 12 - а) Микроструктура образца Ag/Ti(т); б) микрофотография поверхности в обратно-отражённых электронах

Методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии был изучен химический состав поверхности образцов после модификации поверхности. На рисунке 13 представлены ЭДС-спектры для образцов Ag/Ti и Ag/Ti(т). На спектрах присутствуют пики, характерные для серебра, а также установлено, что его содержание не превышает 1%.

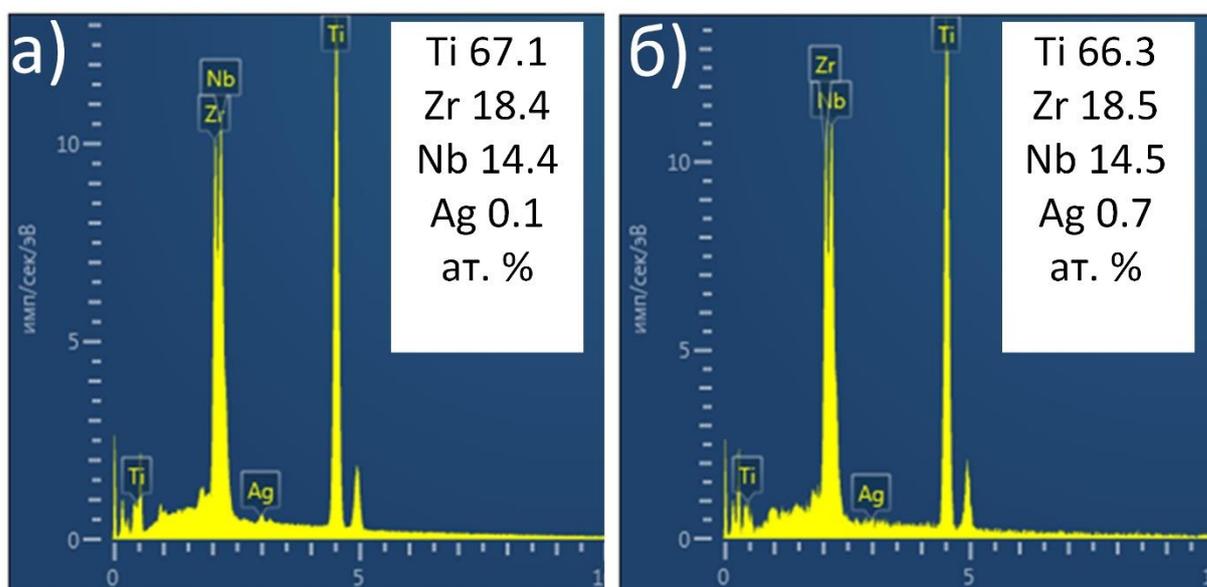


Рисунок 13 – Энергодисперсионный анализ образцов: а) Ag/Ti(т); б) Ag/Ti  
 Данные о содержании элементов на поверхности представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Содержание элементов на поверхности образцов.

Образец	Содержание элемента, Ат.%			
	Ti	Zr	Nb	Ag
Ag/Ti	67,1	18,4	14,4	0,1
Ag/Ti(т)	66,3	18,5	14,5	0,7

Исходя из данных таблицы 9, установлено, что содержание серебра на поверхности образца Ag/Ti(т) в 2 раза превышает содержание серебра на поверхности образца Ag/Ti, что подтверждает тот факт, что AgNPs могут встраиваться в поры поверхности, сформированные после травления, а также указывает на то, что развитая поверхность более склонна к формированию на ней наночастиц серебра.

### 3.2.3 Исследование химического состояния поверхности материалов, модифицированных AgNPs

Методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии было изучено химическое состояние поверхности сплава. Для образцов, после формирования наночастиц серебра на поверхности присутствуют характерные пики расположенными при энергии 368,1 – 368,3 эВ и 374,1 – 374,3 эВ, которые соответствуют металлическому серебру (Ag 3d 5/2 и Ag 3d 3/2) (рисунок 14). Значение спин-орбитального расщепления энергии 6,0 эВ между Ag 3d 5/2 и Ag 3d 3/2, характерно для Ag<sup>0</sup>. Содержание Ag на поверхности образца Ag/Ti составляет 2,1 %, на поверхности образца Ag/Ti(т) – 7,6 %. Результаты исследования методом РФЭС подтверждают данные ЭДС анализа: более развитая структура поверхности способствует образованию большего количества наночастиц серебра.

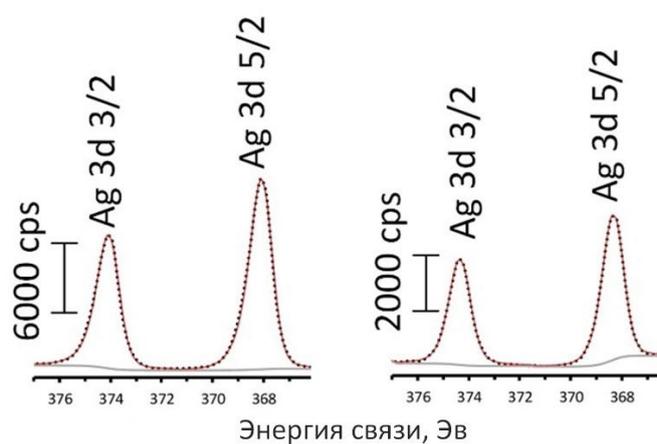
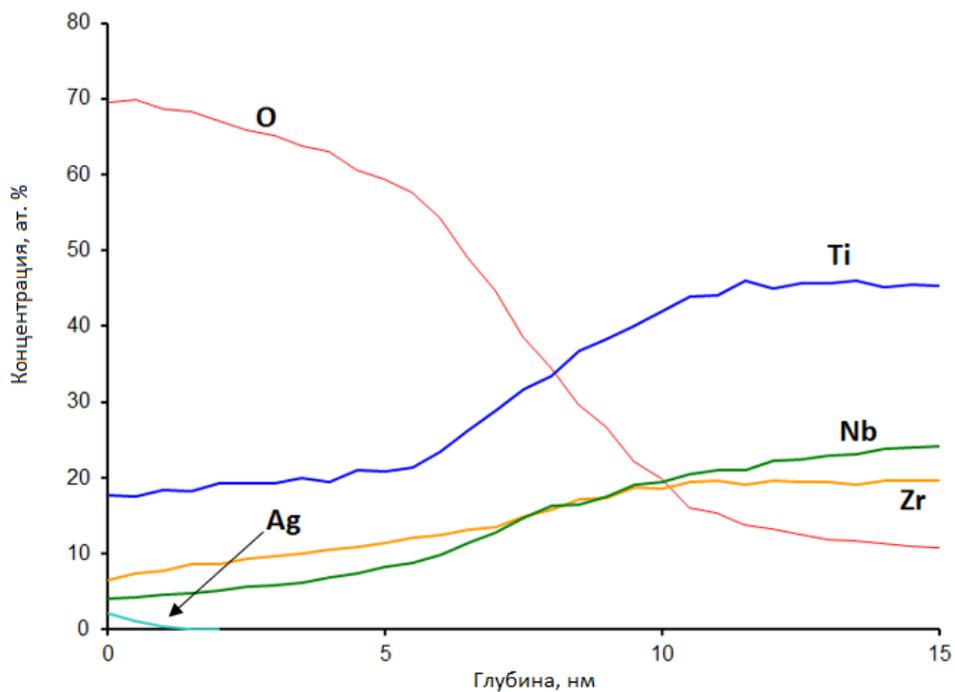
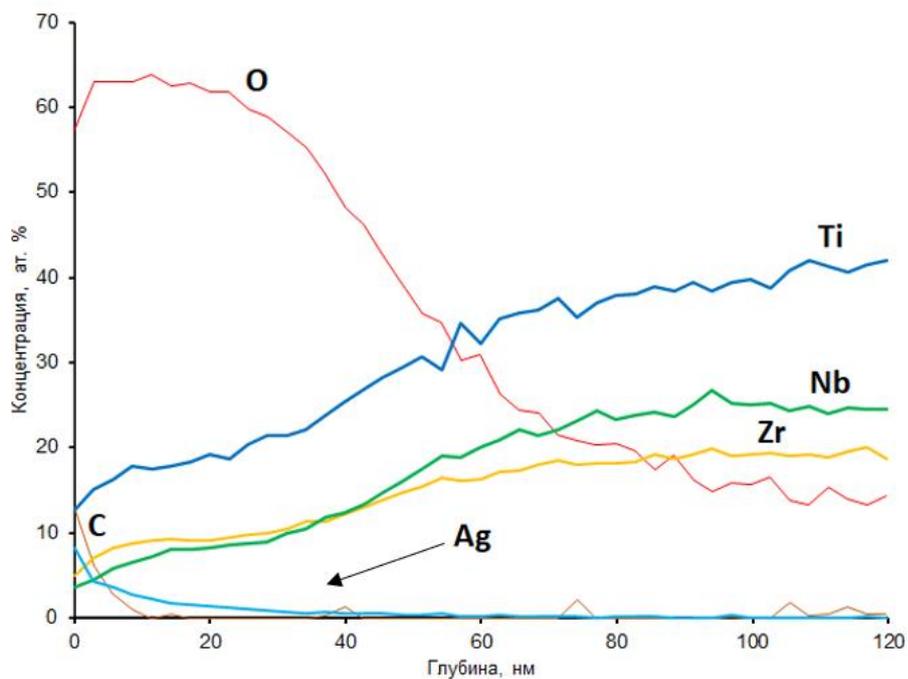


Рисунок 14 – РФЭС-спектры Ag 3d для: а) Ag/Ti(т); б) Ag/Ti

Для оценки глубины залегания наночастиц серебра было проведено травление поверхности ионами аргона и получены концентрационные профили распределения наночастиц серебра по глубине для каждого образца (рисунок 15). Для поверхности Ag/Ti травление ионами аргона приводит к быстрому удалению Ag с поверхности. Сигнал Ag на профиле для образца Ag/Ti(т) уменьшается постепенно, достигая нуля на глубине 60 нм (рисунок 15б). Данный результат позволяет сделать вывод о том, что AgNPs на поверхности пористого образца формируются как на поверхности, так и в пористых подслоях. После более длительного травления ионами аргона изменения основных компонентов сплава и кислорода малы, соответственно достигнута подложка сплава. Данные результаты позволяют оценить толщину оксидного слоя как 10 – 12 нм для образца Ag/Ti и глубину пористого слоя как 100 нм для образца Ag/Ti(т).



а)



б)

Рисунок 15 – Концентрационные профили распределения AgNPs и основных компонентов сплава по глубине для образцов: а) Ag/Ti; б) Ag/Ti(t)

Спектры РФЭС основных компонентов сплава (рисунок 16) показали, что Ti, Zr и Nb находятся на поверхности в форме своих высших оксидов. Спектр Ti<sub>2p</sub> для всех проанализированных образцов имеет два основных пика при 458,6–458,8 и 464,4–464,5 эВ

( $\Delta E=5,8$ ), что характерно для  $TiO_2$ . Спектр  $Zr3d$  имеет пики на энергиях при 182,4-182,6 и 184,8-185,0 эВ ( $\Delta E=2,4$  эВ), что соответствует образованию  $ZrO_2$ . Спектр  $Nb3d$  имеет сигнал на энергиях 207,2-207,6 и 210,0-210,3 эВ ( $\Delta E=2,8$ ), что соответствует образованию  $Nb_2O_5$ . Значения величин энергий и спин-орбитальных расщеплений представлены в таблице 10.

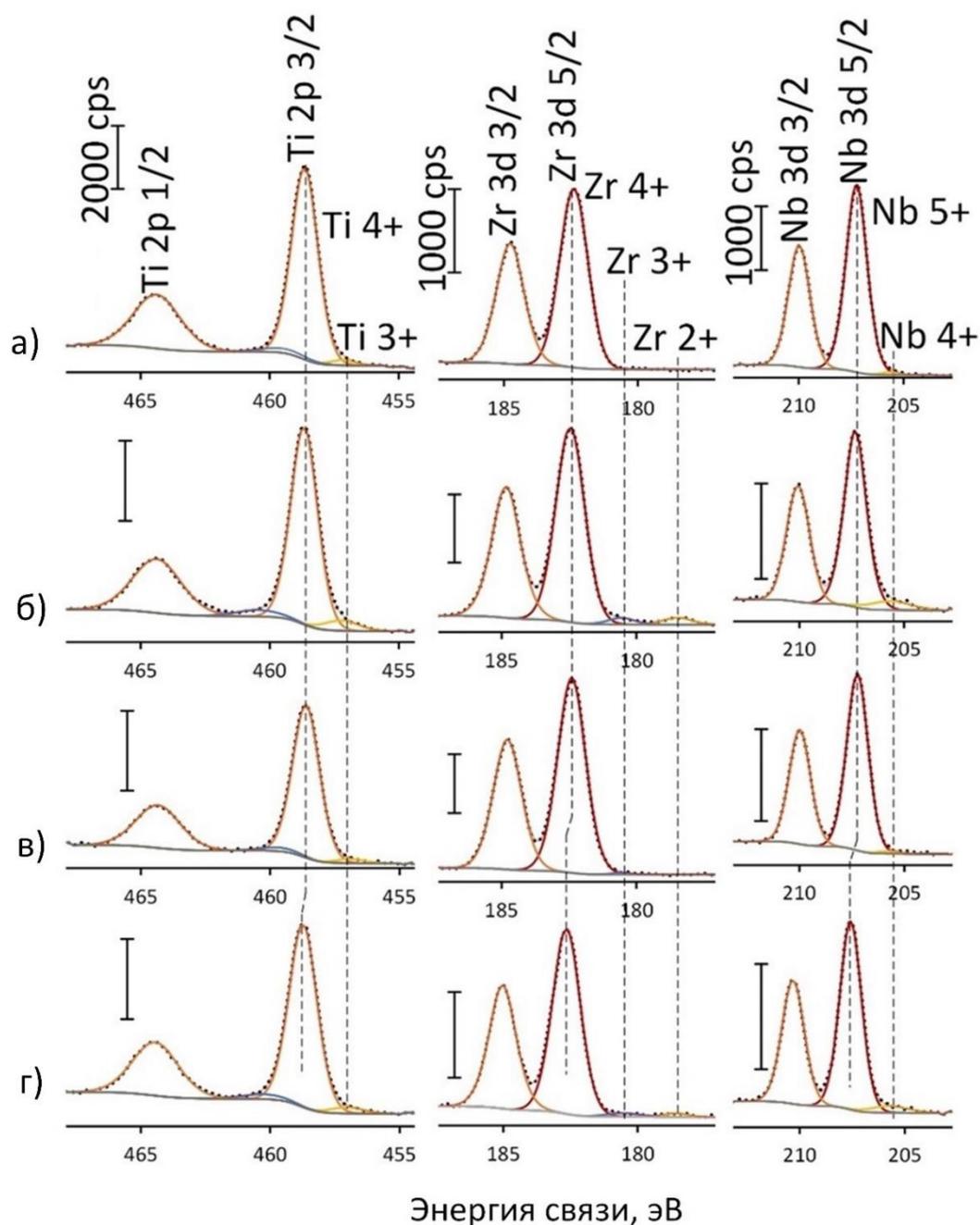


Рисунок 16 - Спектры РФЭС основных компонентов сплава для:  
 а) пористой поверхности; б) полированной поверхности; в) образца Ag/Ti;  
 г) образца Ag/Ti(т)

Таблица 10 - Значения величин энергий и спин-орбитальных расщеплений основных компонентов сплава

Образец	Ti2p 3/2, эВ	Ti2p 1/2, эВ	$\Delta E$ , эВ	Zr3d 5/2, эВ	Zr3d 3/2, эВ	$\Delta E$ , эВ	Nb3d 5/2, эВ	Nb3d 3/2, эВ	$\Delta E$ , эВ
Ag/Ti	458,8	464,5	5,7	182,6	185,0	2,4	207,6	210,3	2,7
Ag/Ti(т)	458,6	464,4	5,8	182,5	184,9	2,4	207,3	210,1	2,8
Полированный	458,6	464,4	5,8	182,4	184,8	2,4	207,3	210,0	2,7
Пористый	458,6	464,4	5,8	182,4	184,8	2,4	207,2	210,0	2,8

При сравнении материала с гладкой поверхностью и материала с пористой поверхностью (рисунок 16 а, б) установлено, что основные оксидные компоненты не меняются после обработки сплава в агрессивной среде «Пираньи». Пики с малой интенсивностью, соответствующие  $Ti^{3+}$ ,  $Zr^{3+}$ ,  $Zr^{2+}$  и  $Nb^{4+}$ , указывают на присутствие небольшого количества субоксидов в оксидной пленке. Для образца Ag/Ti(т) (рисунок 16 г) установлены более высокие значения энергии для пиков Ti2p, Zr3d и Nb3d по сравнению с поверхностью других образцов, что указывает на более окисленное состояние поверхности.

Сравнение соотношения основных компонентов сплава Ti/Nb и Ti/Zr до и после травления ионами аргона, представленных в таблице 11, показывает химическое состояние поверхностного и подповерхностного слоев материала. Установлено, что поверхность сплава обогащена титаном и состоит по большей части из его оксида. Сравнение значений соотношений основных компонентов сплава на образцах Ag/Ti и Ag/Ti(т) до и после травления ионами аргона демонстрирует, что титан в большей мере подвержен травлению, далее цирконий и ниобий соответственно. Данные результаты подтверждаются значениями энергий образования высших оксидов данных материалов.  $Nb_2O_5$  обладает наименьшей энергией образования ( $-1771 \cdot 10^{-3}$  кДж/моль) по сравнению с  $TiO_2$  ( $-889 \cdot 10^{-3}$  кДж/моль) и  $ZrO_2$  ( $-1037 \cdot 10^{-3}$  кДж/моль). Полученные результаты исследования подтверждают исследования изменения массы основных компонентов сплава в ходе обработки в среде «Пираньи».

Таблица 11 - Соотношения основных компонентов сплава до и после травления ионами аргона.

Тип поверхности		Соотношение компонентов		
		Ti/Zr	Ti/Nb	Zr/Nb
До травления Ar	Ag/Ti	2,8	3,8	1,4
	Ag/Ti(т)	2,5	2,8	1,1
После травления Ar	Ag/Ti	2,4	1,9	0,8
	Ag/Ti(т)	2,3	1,7	0,8

Также установлено, что по мере увеличения глубины анализа во время профилирования сигналы высших оксидов Ti2p, Zr3d и Nb3d смещаются в сторону более низких значений энергии связи, указывая на то, что происходит переход от высших оксидов к субоксидам (рисунок 17). Скорость перехода оксид – субоксид – металл различна для разных компонентов сплава и соответствует установленному порядку: Nb – Zr – Ti. Стоит отметить, что скорость данного перехода тем медленнее, чем выше стойкость материала к травлению.

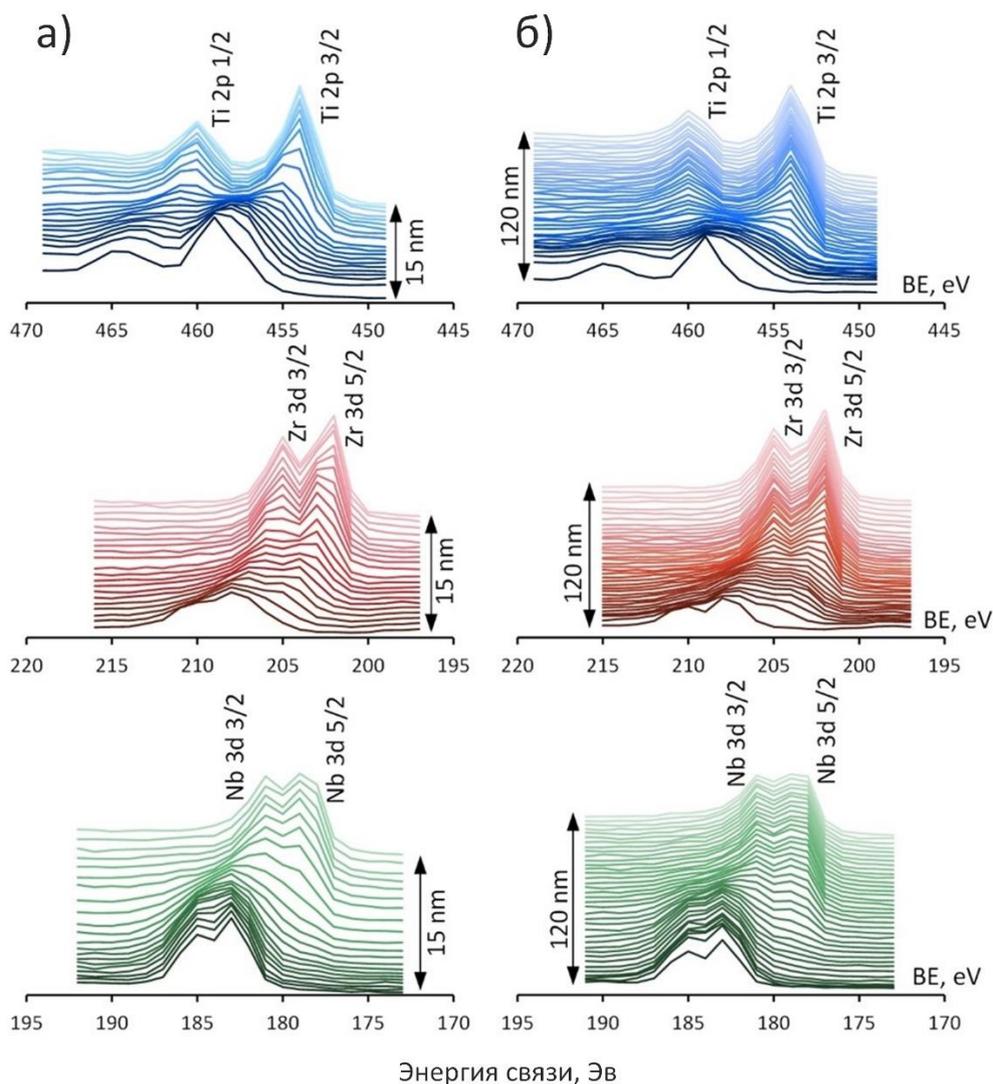


Рисунок 17 – РФЭС- спектры основных компонентов сплава, изменяющиеся по глубине для образцов а) Ag/Ti; б) Ag/Ti(t)

Представленные результаты позволяют дать оценку структуре поверхности сплава, которая схематично представлена на рисунке 18. Для образца Ag/Ti толщина оксидной пленки составляет 10 нм, наночастицы сформированы исключительно на поверхности. Для

образца Ag/Ti(т) залегание AgNPs происходит на глубину 60 нм, пористый слой составляет 100 нм. Пористый слой, образующийся в следствии обработки в агрессивной среде раствора «Пираньи», влияет на процесс формирования AgNPs на поверхности сплава. Более развитая структура способствует формированию большего количества наночастиц серебра, как на поверхности, так и на глубину ее пористого слоя, не оказывая при этом влияния на их размер.

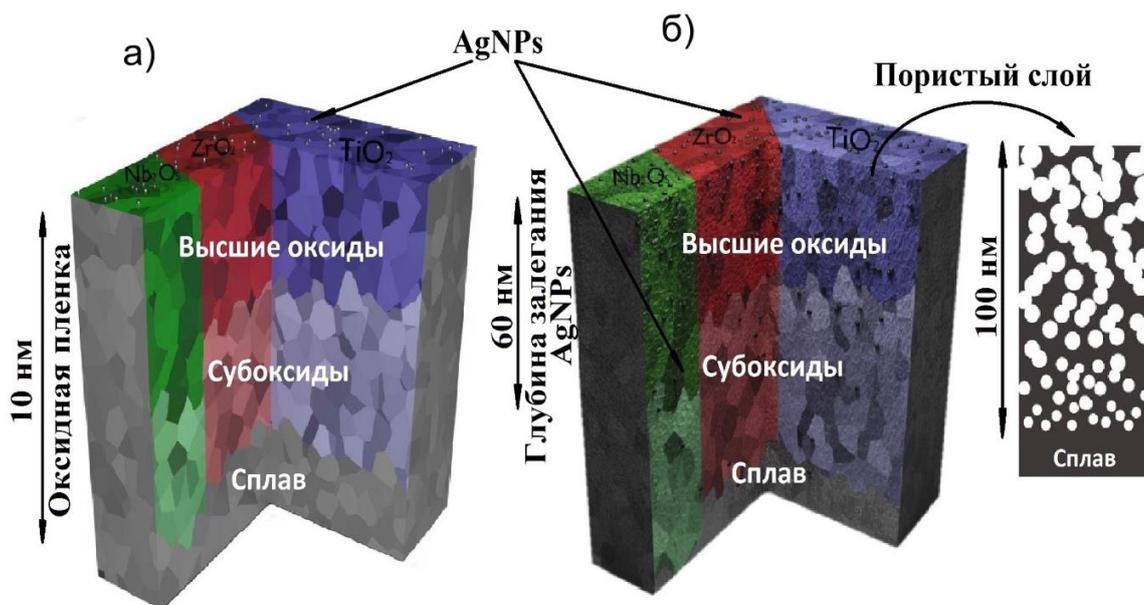


Рисунок 18 – Схема структуры поверхности образца: а) Ag/Ti; б) Ag/Ti(т)

### 3.2.4 Исследование антибактериальных свойств

Результаты антибактериальных испытаний по отношению к бактериальным клеткам *E. Coli* представлены на рисунке 19.

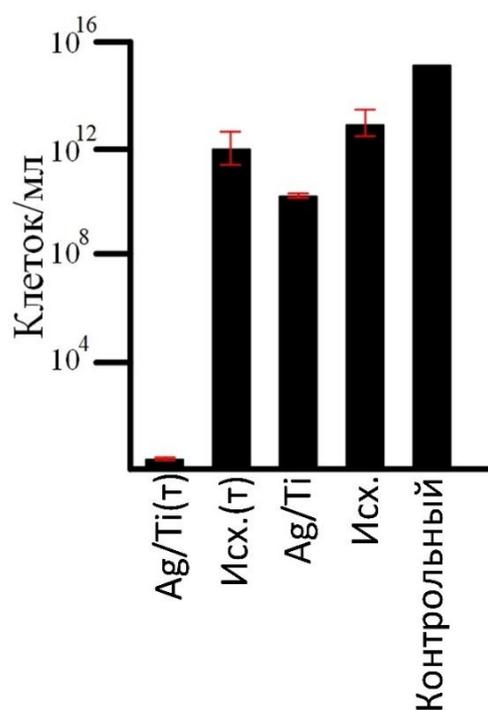


Рисунок 19 – Антибактериальная активность исследованных образцов по отношению к бактериальной культуре *E.Coli*

Установлено, что образец Ag/Ti(т) обладает выраженными антибактериальными свойствами. Рост бактерий, после контакта с поверхностью данного образца, полностью подавлен, в отличие от остальных образцов контрольной группы. При контакте с поверхностью образца Ag/Ti был установлен слабовыраженный антибактериальный эффект. Основным механизмом антибактериального эффекта при применении AgNPs является взаимодействие ионов серебра с бактериальными клетками. Исходя из этого был проведен анализ выхода ионов серебра с поверхности. Было установлено, что концентрация ионов Ag в случае образца Ag/Ti составила 0,0114 мг/л, а в случае образца Ag/Ti(т) – 0,0370 мг/л. Наблюдаемая трехкратная разница хорошо объясняет различную бактериальную активность образцов, содержащих AgNPs. Такая концентрация ионов серебра в растворе является достаточной для проявления антибактериальных свойств, однако является довольно низкой и безопасной для организма человека. Другим важным фактором, который необходимо учитывать при оценке антибактериальных характеристик поверхности, является смачиваемость поверхности, которая косвенно может характеризовать адгезию клеток к этой поверхности. Исходя из этого была установлена величина краевого угла смачивания поверхности для каждого из образцов. Для образца Ag/Ti(т) этот угол составил  $27,5^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ , для образца Ag/Ti –  $36,5^{\circ} \pm 1,5^{\circ}$ . Установлено, что образец, после предварительной обработки травлением обладает более высокой смачиваемостью и

следовательно, бактериальные клетки способны находиться в более длительном контакте с поверхностью образца Ag/Ti(t).

СЭМ-изображения поверхности образцов после проведения антибактериальных испытаний представлены на рисунке 20. Из представленных данных видно, что в случае образца Ag/Ti(t) на поверхности отсутствуют клетки бактерий, что подтверждает высокую эффективность выбранного метода модификации. В случае остальных образцов поверхность плотно покрыта клетками *E.coli* – овальные, продолговатые элементы на поверхности с более темным контрастом. Стоит отметить, что более высокая концентрация клеток наблюдается в случае образца после травления, не модифицированного AgNPs, что подтверждает, эффективность пористого слоя для задержания клеток на поверхности.

Представленные выше данные позволяют сделать вывод об антибактериальном механизме полученных материалов. В случае образца Ag/Ti(t) пористая поверхность может задерживать на себе большее количество клеток, что приводит к их более плотному контакту с наночастицами серебра и, следовательно, повышает эффективность воздействия его ионов. Также такая поверхность способна механически повреждать внешнюю оболочку клетки, что дополнительно повышает антибактериальные характеристики материала.

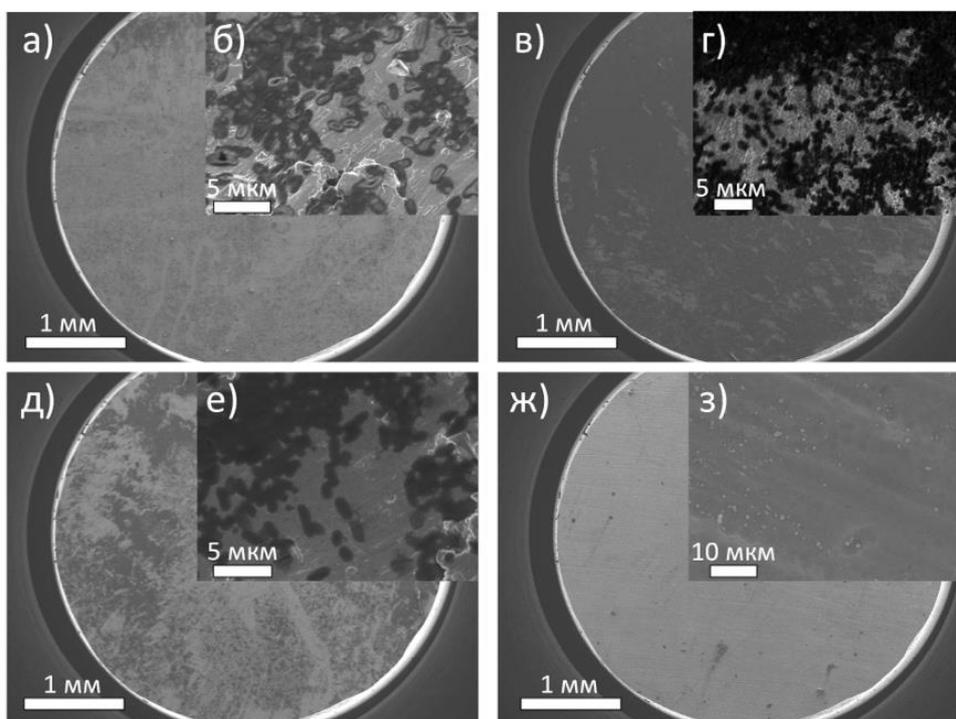


Рисунок 20 – СЭМ-изображения поверхности исследуемых материалов после антибактериальных испытаний: а-б) образец полированный; в-г) образец после травления; д-е) образец Ag/Ti; ж-з) образец Ag/Ti(t)

### **Выводы по разделу**

*Наночастицы серебра со средним размером до 20 нм, полученные на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb методом полиольного синтеза, равномерно распределены по поверхности сплава, также некоторые AgNPs формируются внутри пористой структуры на глубину до 60 нм. Травление в агрессивной среде обеспечивает увеличение содержания Ag на поверхности с 2,1 (образец Ag/Ti) до 7,6 ат. % (образец Ag/Ti(m)). Образец с пористой поверхностью, модифицированный AgNPs полностью подавляет рост бактериальных клеток E.coli, проявляя устойчивый антибактериальный эффект.*

### 3.3 Исследование формирования наночастиц серебра на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb после атомно-слоевого осаждения

#### 3.3.1 Исследование микроструктуры поверхности после атомно-слоевого осаждения TiO<sub>2</sub>

На рисунке 21 представлен анализ структуры покрытия TiO<sub>2</sub>.

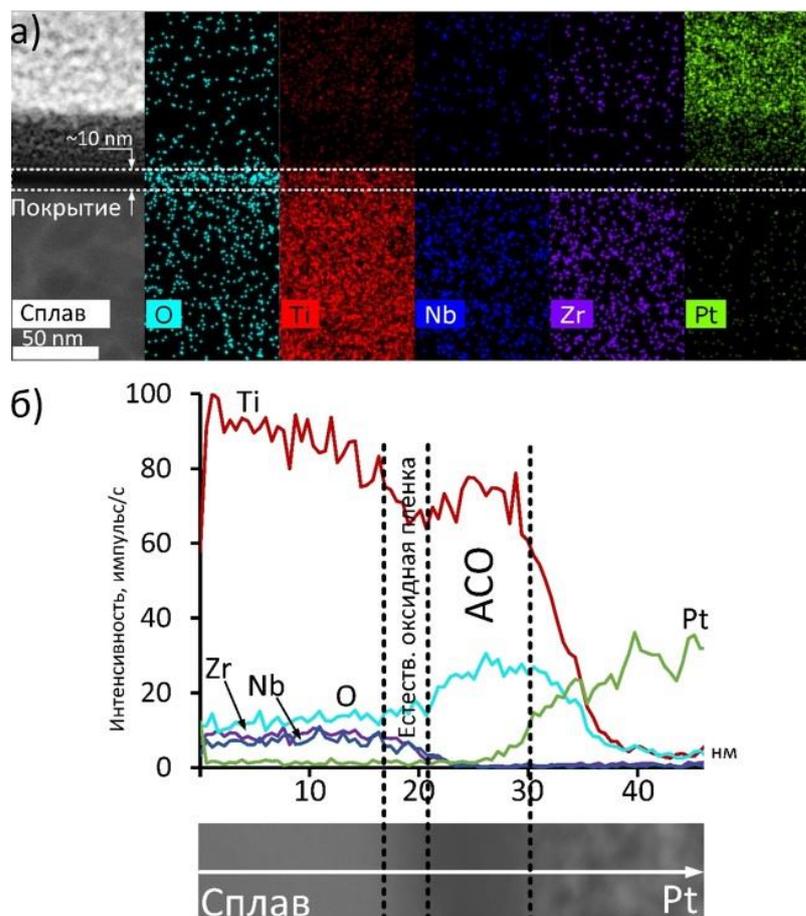


Рисунок 21 - Структура поперечного сечения покрытия TiO<sub>2</sub> ACO: а) СПЭМ-изображение и соответствующие карты распределения элементов; б) профиль распределения элементов и соответствующее СПЭМ изображение

По полученным данным установлено, что толщина покрытия ACO составляет 10 нм. Карты распределения элементов демонстрируют наличие большого количества кислорода и титана в данной области, также видно, что цирконий и ниобий полностью отсутствуют. Полученные результаты подтверждают, что данный слой состоит исключительно из оксида титана.

Профили распределения элементов по глубине покрытия представлены на рисунке 21б. Концентрации Ti и O быстро возрастают в области поверхности, что связано с появлением покрытия  $\text{TiO}_2$  АСО. Однако, первоначально в области перехода от сплава к покрытию наблюдается незначительное уменьшение концентрации титана, а значения концентраций ниобия и циркония остаются неизменными. Данный переход свидетельствует о наличии естественной оксидной пленки толщиной порядка 2–4 нм, состоящей из оксидов основных компонентов сплава. Далее, ближе к поверхности концентрации Ti и O быстро возрастают, а Zr и Nb резко снижаются, что связано с появлением покрытия  $\text{TiO}_2$  АСО.

Изучение кристаллической структуры покрытия  $\text{TiO}_2$  было проведено на основе ПЭМ-изображений высокого разрешения и соответствующих Фурье-преобразований, представленных на рисунке 22.

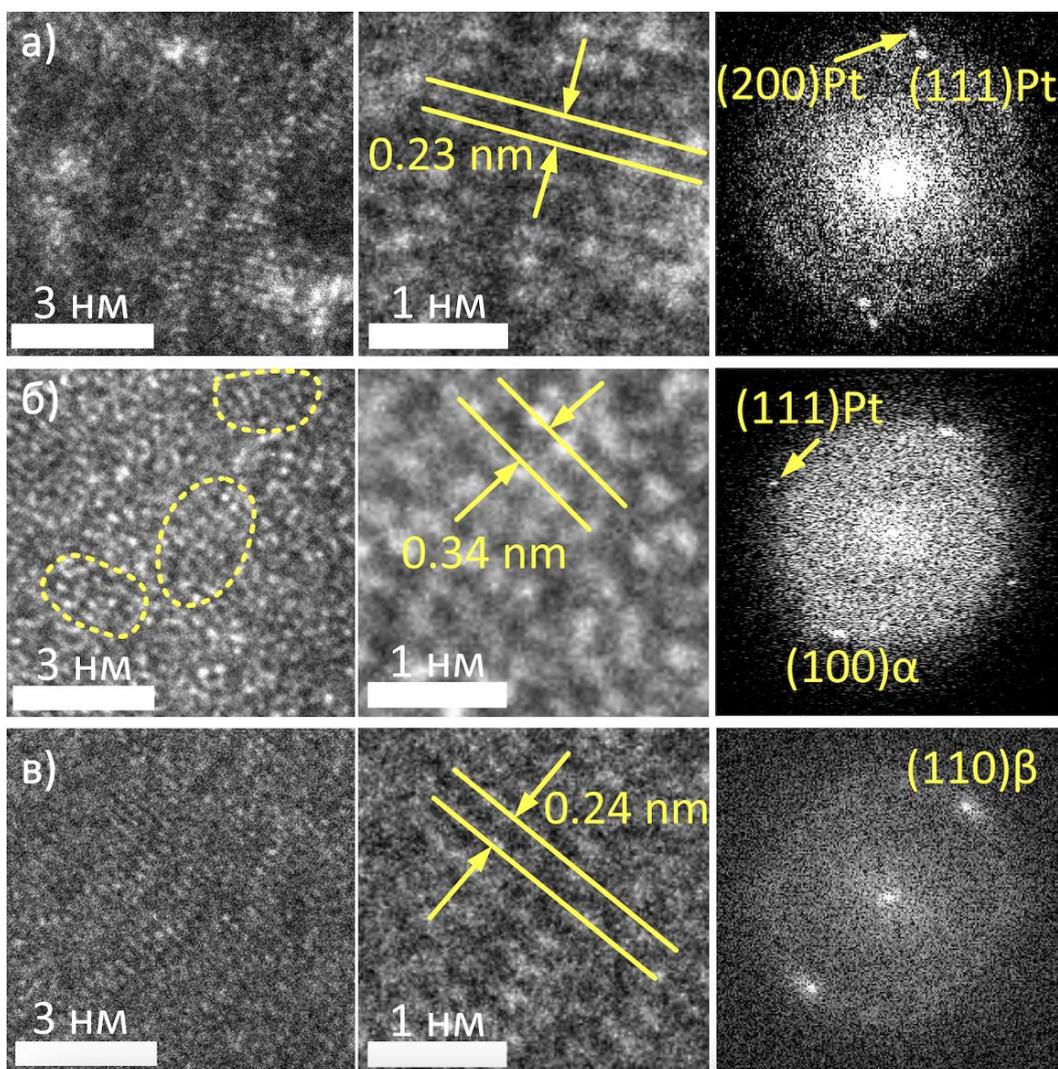


Рисунок 22 – ПЭМ изображения высокого разрешения и соответствующие Фурье-преобразования: а) защитного слоя платины; б) слоя АСО; в) подложки сплава

На изображениях ПЭМ высокого разрешения приведена кристаллическая структура исходной  $\beta$ -фазы (110) с межплоскостным расстоянием 0,239 нм, металлической Pt (111) и (200) с межплоскостным расстоянием 0,227 нм и 0,197 нм соответственно (платина была нанесена в качестве защитного слоя покрытия при подготовке ламели) и АСО покрытия. Установлено, что покрытие АСО представлено по большей части аморфной структурой, однако существуют упорядоченные области с межплоскостным расстоянием 0,34 нм, что соответствует характерному межплоскостному расстоянию  $\text{TiO}_2$  в модификации анатаза с  $d=0,352$  нм. На границе сплава с покрытием АСО наблюдается  $\alpha$ -фаза (100) с межплоскостным расстоянием 0,256 нм. Это связано с тем, что повышенное содержание кислорода в приповерхностном слое стабилизирует  $\alpha$ -фазу, и способствует превращению  $\beta \rightarrow \alpha$ -фазы в приповерхностной области во время процесса атомно-слоевого осаждения.

### **3.3.2 Исследование структуры поверхности материалов после АСО, модифицированных AgNPs**

На рисунках 23, 24 приведены результаты сканирующей электронной микроскопии после формирования AgNPs по двум режимам, описанным в методике: 1) образец был погружен в раствор  $\text{NaBH}_4$  (концентрация 0,076 мг/мл) при температуре 1°C, затем к нему было добавлено 10 мл раствора  $\text{AgNO}_3$  (0,255 мг/мл), образец был погружен в полученный раствор на 12 ч при постоянном перемешивании, полученные образцы обозначены как Ag/АСО; 2) была проведена предварительная функционализация поверхности образца с использованием  $\text{NaBH}_4$  (2 мг/мл), далее образец был погружен в 50 мл раствора  $\text{AgNO}_3$  (1 мг/мл) на 20 минут, полученные образцы обозначены как Ag/АСО(ф).

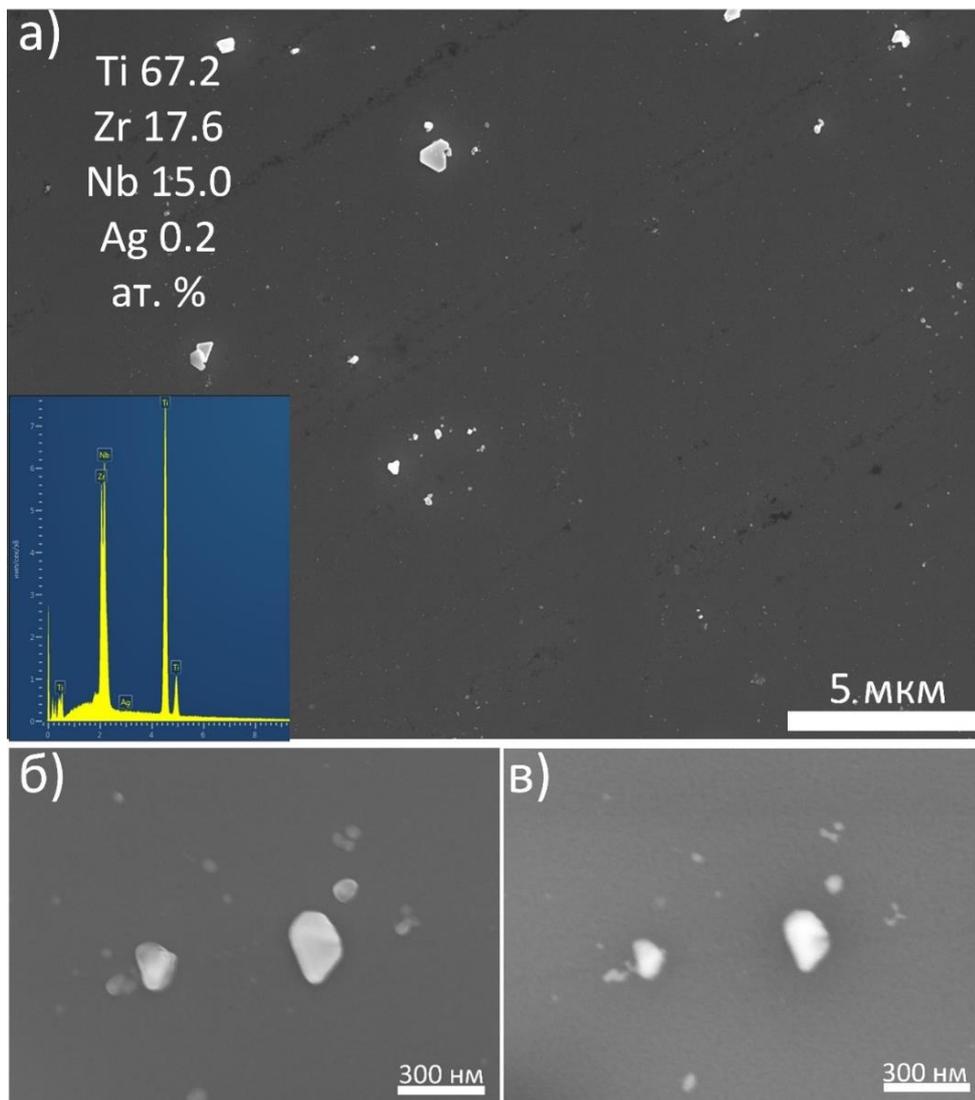


Рисунок 23 – а, б) СЭМ-изображения модифицированной поверхности образца Ag/АСО во вторичных электронах и соответствующий ЭДС-спектр; в) СЭМ-изображение модифицированной поверхности образца Ag/АСО в обратноотраженных электронах;

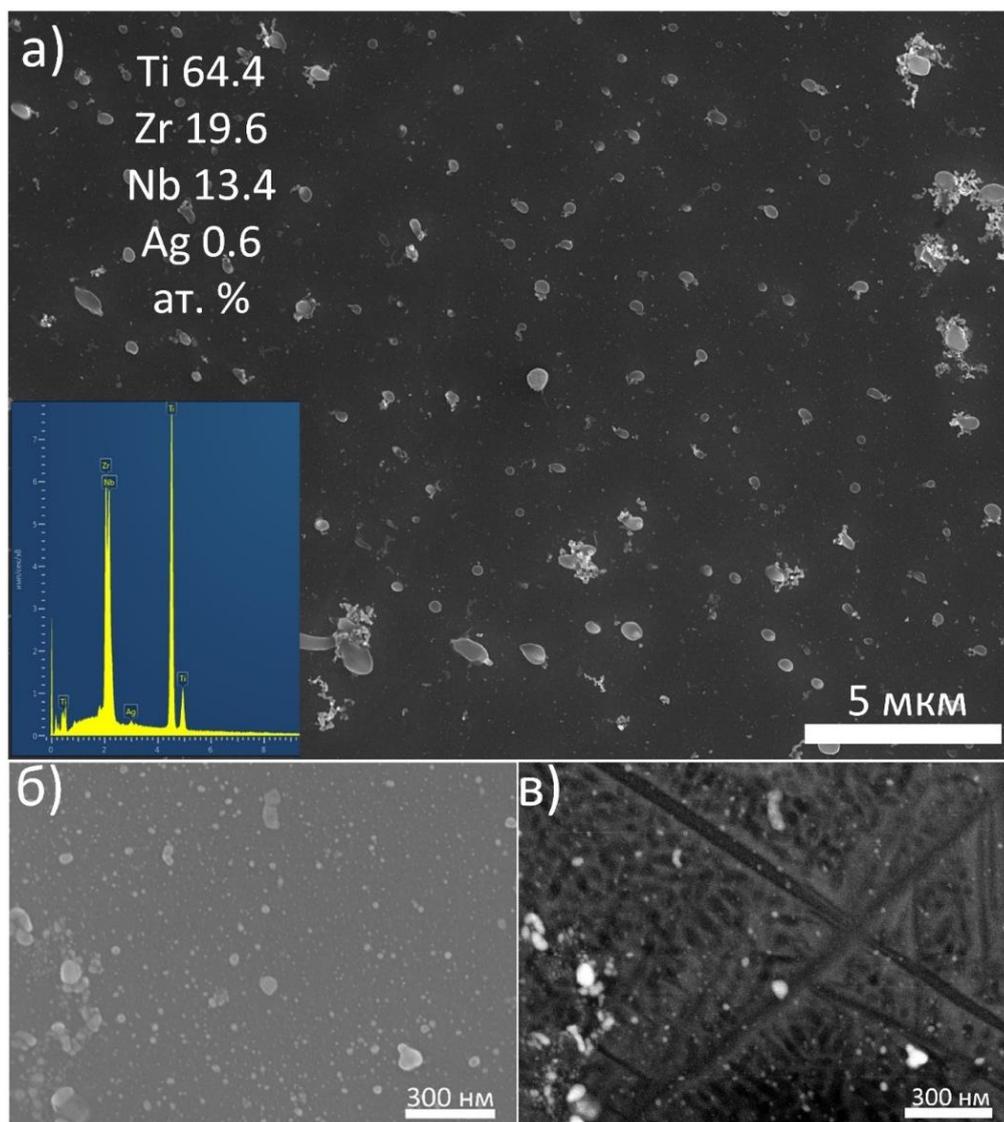


Рисунок 24 – а, б) СЭМ-изображения модифицированной поверхности образца Ag/АСО(ф) во вторичных электронах и соответствующий ЭДС-спектр; в) СЭМ-изображение модифицированной поверхности образца Ag/АСО(ф) в обратноотраженных электронах;

Установлено, что поверхность образца Ag/АСО покрыта небольшим количеством AgNPs (рисунок 23). Разброс их размерных характеристик достаточно велик и размеры варьируются в диапазоне от нескольких нанометров до субмикронных масштабов. Большинство наночастиц имеют размеры 40–60 нм. Энергодисперсионный анализ позволил установить, что концентрация Ag на поверхности составляет порядка 0,2 ат. %. Из чего можно сделать вывод, что коллоидные AgNPs обладают слабым средством к покрытию TiO<sub>2</sub>, сформированному методом атомно-слоевого осаждения. Напротив, для образца Ag/АСО(ф) электронное изображение при меньшем увеличении (рисунок 24а) демонстрирует наличие значительного количества субмикронных AgNPs, равномерно

распределенных по покрытию  $\text{TiO}_2$ . Исследование образца при большем увеличении (рисунок 24б) выявляет множество мелких AgNPs, плотно заполняющих поверхность. Следует отметить, что в режиме обратно-отраженных электронов (рисунок 24в) заметное количество наночастиц исчезает с изображения, указывая на то, что данные наночастицы находятся исключительно на поверхности образца. AgNPs, полученные этим методом, гораздо более монодисперсны по сравнению с образцом Ag/ACO, большинство наночастиц имеют размеры менее 20 нм. Концентрация серебра на поверхности увеличивается и достигает 0,6 ат. %.

### **3.3.3 Исследование химического состояния поверхности материалов после ACO, модифицированных AgNPs**

Методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии была проведена оценка химического состояния поверхности образцов до и после формирования наночастиц серебра. Серебро на поверхности находится в металлическом состоянии, о чем свидетельствует дублет  $\text{Ag}3d_{5/2}$  и  $\text{Ag}3d_{3/2}$ , расположенный на 374,0 эВ и 368,0 эВ, со значением спин-орбитального расщепления 6,0 эВ (рисунок 25а). Спектры кислорода (рисунок 25 в) соответствуют трем компонентам: связь O-Ti, расположенная при 529,8 эВ (ACO) и 530,1 эВ (Ag/ACO(ф)), поверхностные гидроксильные группы —  $532,0 \pm 0,2$  эВ и небольшое количество соединений O-C —  $534,0 \pm 0,2$  эВ. Спектр  $\text{Ti}2p$  (рисунок 25 г) разложен на две компоненты:  $\text{Ti}2p_{3/2}$ , расположенный на 464,2 эВ для ACO и 464,6 эВ для Ag/ACO(ф) и  $\text{Ti}2p_{1/2}$  на энергии 458,5 эВ для ACO и 458,9 эВ для Ag/ACO(ф). Величина спин-орбитального расщепления  $\Delta E$  для этих компонентов равна 5,7 эВ, что характерно для оксида титана -  $\text{TiO}_2$ . На спектре  $\text{Ti}2p$  для образца, модифицированного наночастицами серебра присутствует сдвиг в сторону более высоких энергий, что может быть связано с переносом заряда от оксида к AgNPs. Это означает, что взаимодействие между пленкой  $\text{TiO}_2$  и AgNPs может происходить в форме химической связи, благоприятной для более прочного закрепления AgNPs на поверхности.

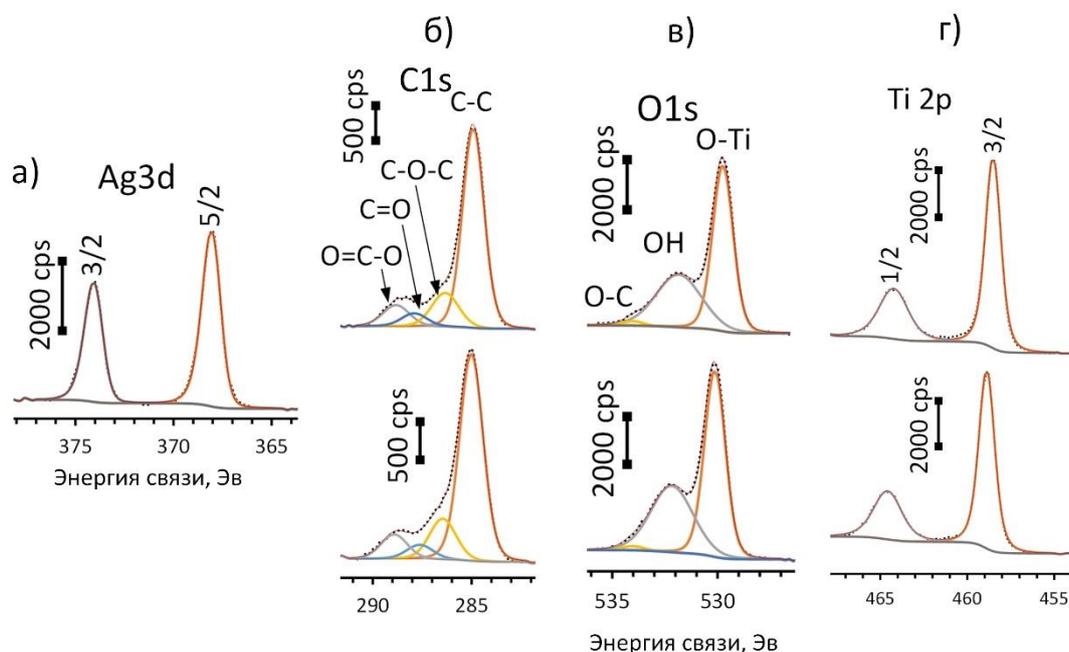


Рисунок 25 - РФЭС-спектры а) Ag3d, б) C1s; в) O1s; г) Ti2p до и после формирования наночастиц серебра:

На рисунке 26 а представлен анализ распределения элементов по глубине, снятый в ходе травления поверхности ионами аргона. Установлено, что после травления ионами  $\text{Ar}^+$  сигнал от серебра быстро уменьшается и достигает нуля после 2 мин распыления (глубина  $\sim 17$  нм). Это свидетельствует о том, что AgNPs расположены исключительно на поверхности материала, встраивание наночастиц в слой АСО не происходит. В течение первых 1,5 мин распыления (удаляется приблизительно 13 нм поверхностного слоя) содержание кислорода резко снижается. Это указывает на то, что за это время покрытие из оксида титана полностью удаляется с поверхности и появляется субоксидный слой. Далее содержание кислорода уменьшается постепенно и достигает плато после 7 минут распыления. В то же время концентрация Zr и Nb резко возрастает через 1–1,5 минуты распыления, что также указывает на то, что нанесенное покрытие было удалено. Последующее увеличение их концентрации демонстрирует, что содержание субоксидов ( $\text{Zr}^{2+}$ ,  $\text{Zr}^{3+}$ ,  $\text{Nb}^{5+}$ ,  $\text{Nb}^{4+}$ ) уменьшается и происходит переход к металлическому состоянию. На рисунке 26 г показан переход от пленки  $\text{TiO}_2$ , полученной методом атомно-слоевого осаждения, к объемному сплаву с помощью серии РФЭС-спектров для Ti, Zr и Nb, записанных при различном времени распыления  $\text{Ar}^+$ . Каждый РФЭС-спектр был зарегистрирован после 30 секунд равномерного распыления слоя  $\text{Ar}^+$ . Переход от пленки  $\text{TiO}_2$  к объему сплава сопровождается большим сдвигом пика  $\text{Ti}2p_{3/2}$  с  $\sim 459$  эВ, соответствующего  $\text{Ti}^{4+}$ , до  $\sim 454$  эВ, соответствующего  $\text{Ti}^0$  после 1,5–2 минут распыления,

что соответствует глубине около 13–17 нм и хорошо соответствуют данным, полученным на концентрационном профиле распределения элементов по глубине. В случае Zr и Nb сигналы появляются сразу после удаления пленки  $\text{TiO}_2$  и подтверждают их присутствие в основном в металлическом состоянии. После 1,5 минут распыления их сигналы остаются слабозаметными, но как при удалении еще нескольких слоев поверхности, наблюдаются хорошо выраженные дублеты  $\text{Zr}3d$  и  $\text{Nb}3d$  с положением  $\text{Zr}3d\ 5/2$  при 179,0 эВ и  $\text{Nb}3d\ 5/2$  при 202,0 эВ, которые типичны для  $\text{Zr}^0$  и  $\text{Nb}^0$ .

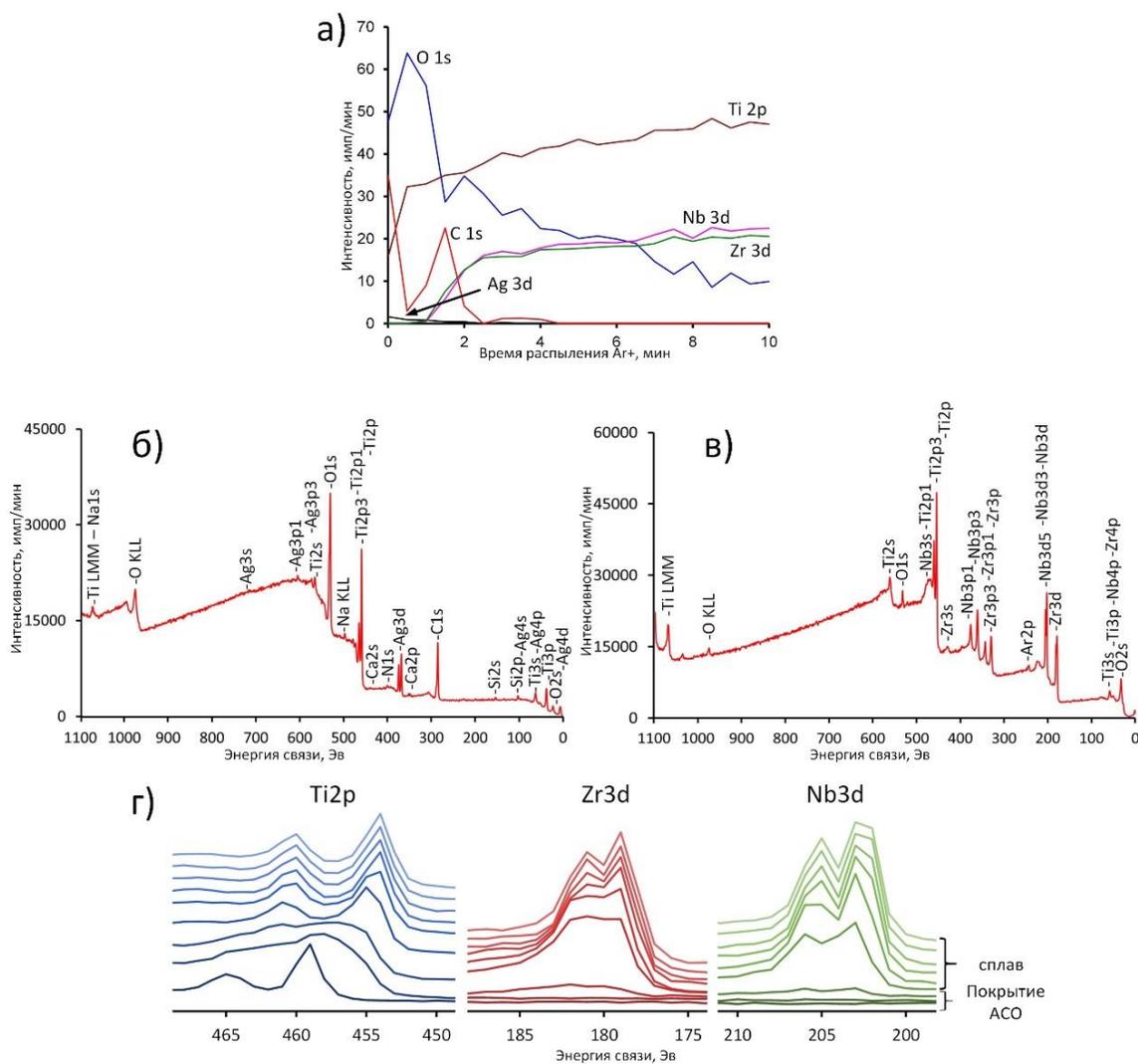


Рисунок 26 – а) Концентрационный профиль распределения элементов по глубине для образца  $\text{Ag}/\text{АСО}(\text{ф})$ ; обзорные РФЭС-спектры для образца  $\text{Ag}/\text{АСО}(\text{ф})$ , снятые б) до и в) после распыления  $\text{Ag}^+$ ; г) РФЭС-спектры Ti, Zr и Nb, снятые при различном времени травления  $\text{Ag}^+$

В таблице 12 представлен химический состав поверхности исследуемых материалов до и после травления  $\text{Ag}^+$ .

Таблица 12 – химический состав поверхности, ат. %

Образец	C	O	Ti	Zr	Nb	Ag	N	Si	Ca
АСО	38.3	46.4	13.0	-	-	-	0.9	0.8	0.5
Ag/АСО	39.8	44.8	12.8	-	-	0.4	1.0	1.1	0.1
Ag/АСО(ф)	37.7	45.4	12.3	-	-	1.6	1.0	1.7	0.3
После травления Ag <sup>+</sup>									
АСО	-	12.4	47.8	18.7	21.1	-	-	-	-
Ag/АСО(ф)	-	11.6	48.3	19.2	20.9	-	-	-	-

Данные о химическом составе поверхности подтверждают, что поверхность образца после АСО представлена исключительно оксидом титана, что указывает на то, что покрытие было успешно сформировано на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb. Установлено, что содержание серебра в случае образца Ag/АСО довольно низкое по сравнению с образцом Ag/АСО(ф), что хорошо согласуется с результатами ЭДС анализа. После травления Ag<sup>+</sup> в течение 10 минут образовавшееся покрытие, а также поверхностные загрязнения удаляются, и появляется приповерхностный слой сплава. Некоторая доля кислорода все еще присутствует, что указывает на то, что подповерхностные слои содержат некоторое количество субоксидов, и соотношение между основными компонентами сплава отличается по сравнению с объемом сплава

Было установлено, что технология АСО позволяет избежать образования оксидов легирующих элементов на поверхности материала, что является благоприятным для дальнейшей модификации поверхности сплавов Ti-Zr-Nb, так как естественный оксидный слой этого сплава довольно сложный и содержит смесь оксидов основных элементов.

### 3.3.4 Исследование антибактериальных свойств

Результаты антибактериальных испытаний образцов представлены на рисунке 27.

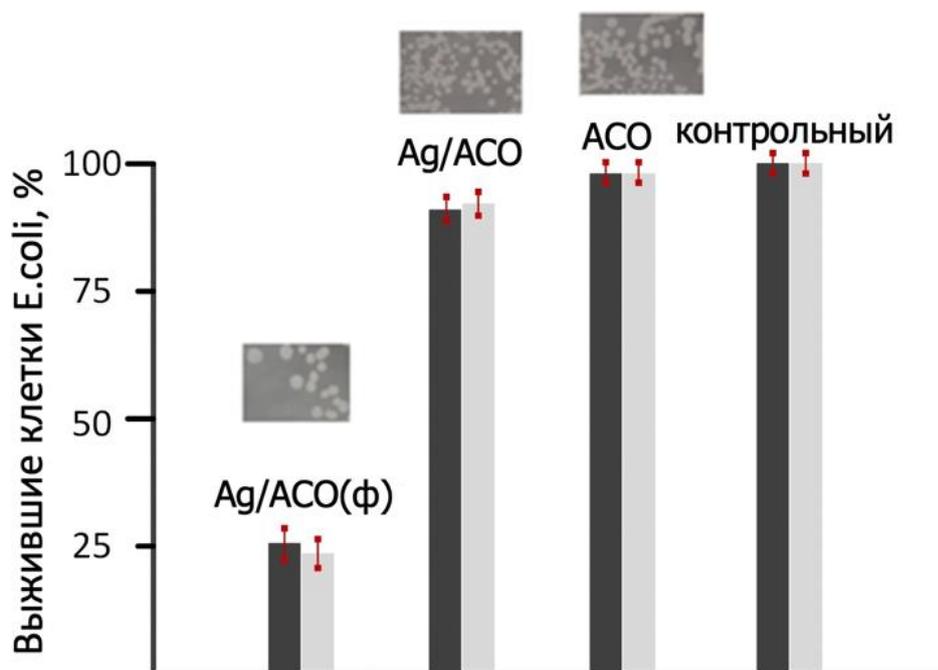


Рисунок 27 - Результаты антибактериальных тестов исследованных образцов. Темные полосы – результаты оптической микроскопии, светлые полосы - результаты спектрофотометрии

Как видно из приведенных данных, образец Ag/ACO(ф) проявляет самые высокие антибактериальные свойства, демонстрируя подавление роста бактериальных клеток E.coli более чем на 75%. Образец Ag/ACO демонстрирует гораздо менее выраженный эффект при подавлении роста клеток всего на 10%, а образец ACO показывает практически те же результаты, что и контрольный. Можно сделать вывод, что антибактериальный эффект исследуемых материалов обусловлен исключительно присутствием на их поверхности частиц серебра.

Согласно анализу высвобождения ионов Ag для Ag/ACO(ф), их концентрация достигла 0,0268 мг/л, в то время как для Ag/ACO это значение составило всего 0,0089 мг/л. Это различие объясняет наблюдаемый разрыв в антибактериальном эффекте между данными образцами. Разрушение клеточной стенки E.coli происходит легче при условии большей концентрации Ag<sup>+</sup> в среде, прилипающих к этой стенке или проходящих через нее.

### **Выводы по разделу**

*Технология атомно-слоевого осаждения была использована для получения пленки TiO<sub>2</sub> толщиной 10 нм на поверхности сплава. Модификация данной поверхности наночастицами серебра, которые предварительно были погружены в восстановитель*

*(раствор  $\text{NaBH}_4$ ) и затем перенесены в среду для синтеза, демонстрирует значительно более высокую концентрацию Ag по сравнению AgNPs, после осаждения из коллоидного раствора. Такая поверхность проявляет устойчивый антибактериальный эффект против клеток *E.coli*, выраженный в подавлении роста клеток более чем на 75% по сравнению с 10% для образца с более низким содержанием Ag.*

### **3.4 Исследование формирования наночастиц золота на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb**

#### **3.4.1 Исследование AuNPs спектрофотометрическим методом**

На рисунке 28 представлены УФ-видимые спектры коллоидных наночастиц золота, полученных при различных концентрациях  $\text{NaBH}_4$  в среде синтеза. Установлено, что спектры поглощения, соответствующие растворам при концентрациях  $\text{NaBH}_4$   $46,8 \cdot 10^{-3}$  мг/мл и  $23,4 \cdot 10^{-3}$  мг/мл, обладают достаточно широкими пиками на длине волны 530 и 528 нм соответственно, что указывает на образование AuNPs относительно больших размеров. Растворы светло и темно-фиолетового цвета также указывают на образование агрегатов AuNPs. Для раствора, полученного при концентрации  $4,6 \cdot 10^{-3}$  мг/мл  $\text{NaBH}_4$  (светло-оранжевого цвета), можно наблюдать выраженный пик при 522 нм. Это указывает на более низкую скорость восстановления AuNPs из-за снижения содержания  $\text{NaBH}_4$  в среде. Довольно узкий пик, соответствующий ярко-оранжевому раствору, полученному при концентрации  $11,7 \cdot 10^{-3}$  мг/мл  $\text{NaBH}_4$ , расположен на длине волны 517 нм, что указывает на образование достаточного количества мелкодисперсных наночастиц золота со средним размером 5 нм. Можно заметить, что с увеличением концентрации  $\text{NaBH}_4$  в среде синтеза увеличивается размер наночастиц и изменяется цвет раствора. Это связано с эффектом поверхностного плазмонного резонанса AuNPs. Следует отметить, что растворы с концентрациями  $46,8 \cdot 10^{-3}$  мг/мл и  $23,4 \cdot 10^{-3}$  мг/мл  $\text{NaBH}_4$ , не были стабильными, и осадок появлялся в течение двух недель, в то время как раствор, полученный при  $\text{NaBH}_4$  в концентрации  $11,7 \cdot 10^{-3}$  мг/мл, был стабилен более 3 месяцев.

Для формирования AuNPs на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb был выбран режим синтеза с концентрацией  $11,7 \cdot 10^{-3}$  мг/мл  $\text{NaBH}_4$ , так как достаточно большое количество мелких AuNPs может быть легче распределено по поверхности подложки и будет являться более благоприятным для биомедицинского применения.

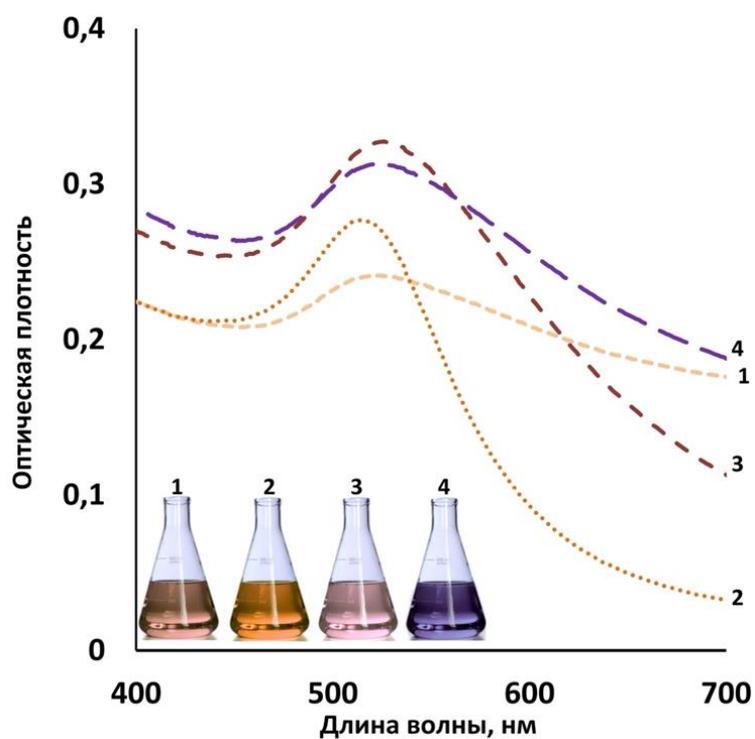


Рисунок 28– Спектры наночастиц золота, полученные при различных концентрациях  $\text{NaBH}_4$  в среде синтеза (1 -  $46,8 \cdot 10^{-3}$  мг/мл; 2 -  $23,4 \cdot 10^{-3}$  мг/мл; 3 -  $11,7 \cdot 10^{-3}$  мг/мл; 4 -  $4,6 \cdot 10^{-3}$  мг/мл)

### 3.4.2 Исследование микроструктуры наночастиц AuNPs

На рисунке 29 показаны результаты ПЭМ-анализа наночастиц золота, полученные в соответствии с выбранным режимом синтеза.

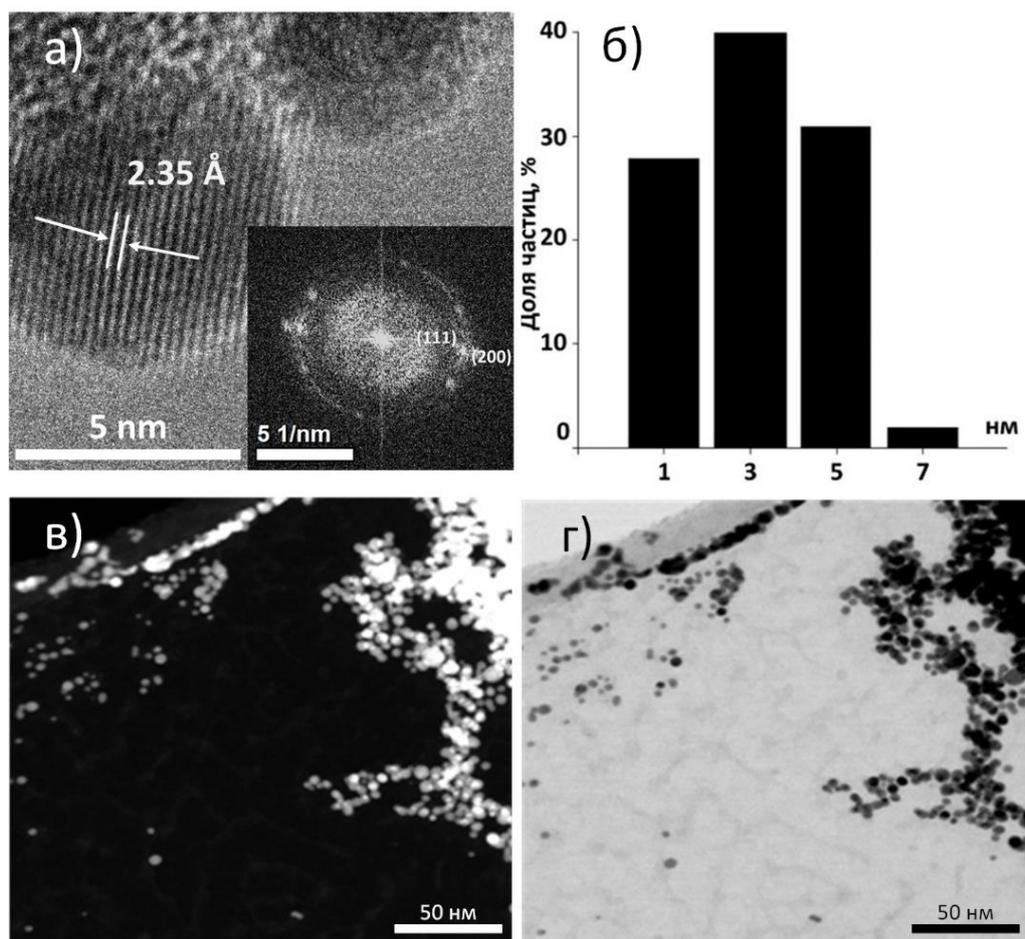


Рисунок 29 – а) изображение AuNPs, полученное с помощью ПЭМ высокого разрешения, и соответствующее Фурье-преобразование; б) гистограмма распределения AuNPs по размерам; в) темнопольное и г) светлопольное ПРЭМ изображения AuNPs

По результатам ПЭМ высокого разрешения установлено, что наночастицы золота находятся в металлическом состоянии (рисунок 29а). Межплоскостное расстояние  $d = 2,35$  Å для полученных частиц, соответствует (111) Au. Соответствующее Фурье-преобразование также показывают отражение, соответствующее  $2.03$  Å, соответствует (200) Au. Стоит отметить, что все наблюдаемые частицы находятся в монокристаллическом состоянии. Темнопольное и светлопольное ПРЭМ изображения (рисунок 29 в, г) позволили установить средний размер наночастиц, который составил 3 нм. На рисунке 30 изображено элементное картирование, которое дополнительно подтверждает, что наблюдаемые наночастицы представляют собой AuNPs в металлическом состоянии без каких-либо промежуточных соединений и примесей.

Представленные результаты демонстрируют, что наночастицы золота с узким распределением по размерам успешно формируются на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb при выбранном режиме синтеза, а также хорошо коррелируют с полученными результатам спектrophотометрических исследований.

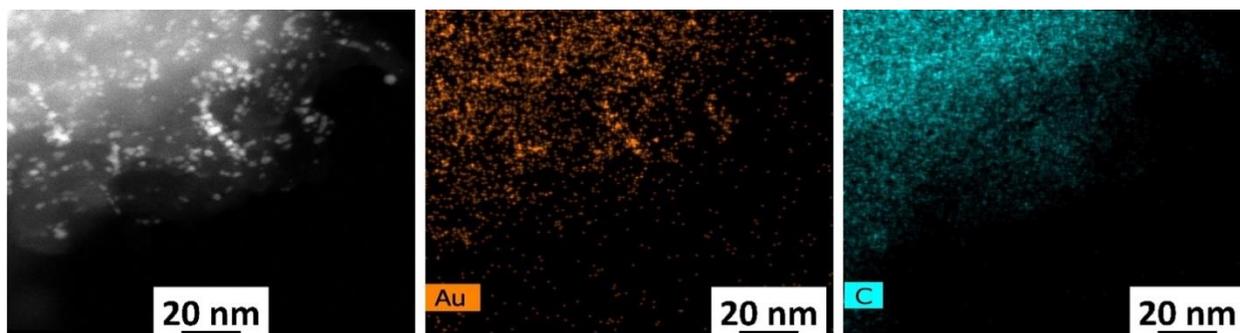


Рисунок 30 – Элементное картирование AuNPs

### 3.4.3 Исследование структуры поверхности, модифицированной AuNPs

Вышеописанные результаты позволили сделать вывод об оптимальном режиме синтеза для формирования AuNPs на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb. Наночастицы были сформированы двумя способами, описанными в методике: 1) образец был погружен в 32 мл H<sub>2</sub>O, затем было добавлено 1,5 мг HAuCl<sub>4</sub>\*4H<sub>2</sub>O и 0,25 мл NaBH<sub>4</sub>(1,5 мг/мл), синтез проводили в течение 20 минут; 2) образец был предварительно функционализирован в 10 мл NaBH<sub>4</sub>(1,5 мг/мл) под УЗ воздействием, далее образец погрузили в 32 мл H<sub>2</sub>O и добавили 1,5 мг HAuCl<sub>4</sub>\*4H<sub>2</sub>O, синтез был проведен в течение 20 минут. Часть образцов были выдержаны в водном растворе C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>S (1 мг/мл) в течение 24 часов. Затем N-гидроксисукцинимид (1,6 мг/мл) и EDC (2,4 мг/мл) были растворены в воде и образцы были погружены в данный раствор на 15 минут, далее образцы были погружены в 1 мл раствора гентамицина (40 мг/мл) с добавлением 1 мл буферного раствора (pH = 7,4). Полученные образцы обозначены Au/Ti, Au/Ti(ф), Au/Ti+цист., Au/Ti(ф)+цист., Au/Ti+A и Au/Ti(ф)+A соответственно.

На рисунке 31 (а-в) представлены СЭМ-изображения поверхности образца Au/Ti после формирования наночастиц золота. Установлено, что поверхность сплава усеяна мелкими частицами Au. Их структура и распределение по размерам хорошо коррелируют с частицами, которые были получены в коллоидном растворе. Изображение, полученное в режиме обратно-отраженных электронов (рисунок 31 в), демонстрирует AuNPs, образовавшиеся в приповерхностном слое сплава, что указывает на то, что наночастицы золота образуются внутри пористого слоя из раствора. Согласно ЭДС-анализу, концентрация золота на поверхности не превышает 0,4 ат. %.

На рисунке 31 (г-е) представлены СЭМ-изображения поверхности образца Au/Ti(ф) после формирования AuNPs. Для данной поверхности наблюдается отличная от предыдущей структура. Диапазон распределения AuNPs по размерам значительно

расширяется: от нескольких нм до 100 нм. Кластеры наночастиц плотно заполняют поверхность сплава, повторяя структуру крупных пор и, в основном, перекрывая все поры меньшего размера. ЭДС-анализ показывает, что концентрация золота значительно возрастает, и достигает 18,2 ат. %.

Такое различие в структуре поверхности и содержании AuNPs объясняется методом синтеза. Предварительная функционализация подложки в растворе  $\text{NaBH}_4$  приводит к тому, что процесс восстановления Au после погружения этой подложки в раствор  $\text{HAuCl}_4$  проходит преимущественно на поверхности и подповерхностном пористом слое, а не в растворе по сравнению с процессом восстановления наночастиц на поверхности образца Au/Ti. Такая локализация процесса восстановления в меньшем объеме приводит к локальному увеличению соотношения  $\text{NaBH}_4/\text{HAuCl}_4$ , что, как следствие, приводит к образованию более крупных AuNPs.

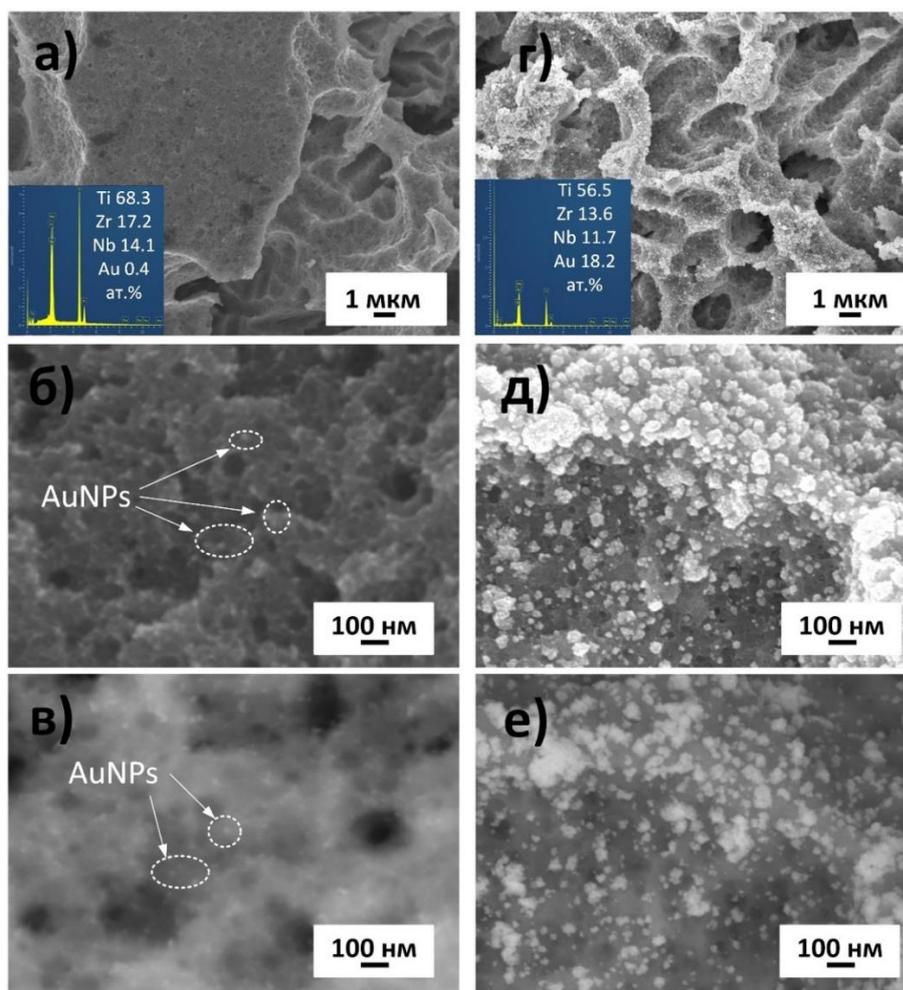


Рисунок 31 – СЭМ-изображения поверхности образца Au/Ti а-б) во вторичных электронах; в) в обратно отраженных электронах и поверхности образца Au/Ti(φ) г-д) во вторичных электронах; е) в обратно отраженных электронах и соответствующие ЭДС

спектры

На рисунке 32 представлено поперечное сечение приповерхностного слоя образца Au/Ti(ф). Установлено, что толщина пористого слоя (на изображении кажущегося более темным) составляет около 100–120 нм. AuNPs могут формироваться как на поверхности, так и глубоко (до 80 нм) в подповерхностном пористом слое. Более темный контраст пористого слоя указывает на то, что он состоит в основном из компонентов сплава в окисленном состоянии. Действительно, полученные результаты ЭДС (рисунок 32 б) показывают, что в пористом слое присутствует значительная часть кислорода.

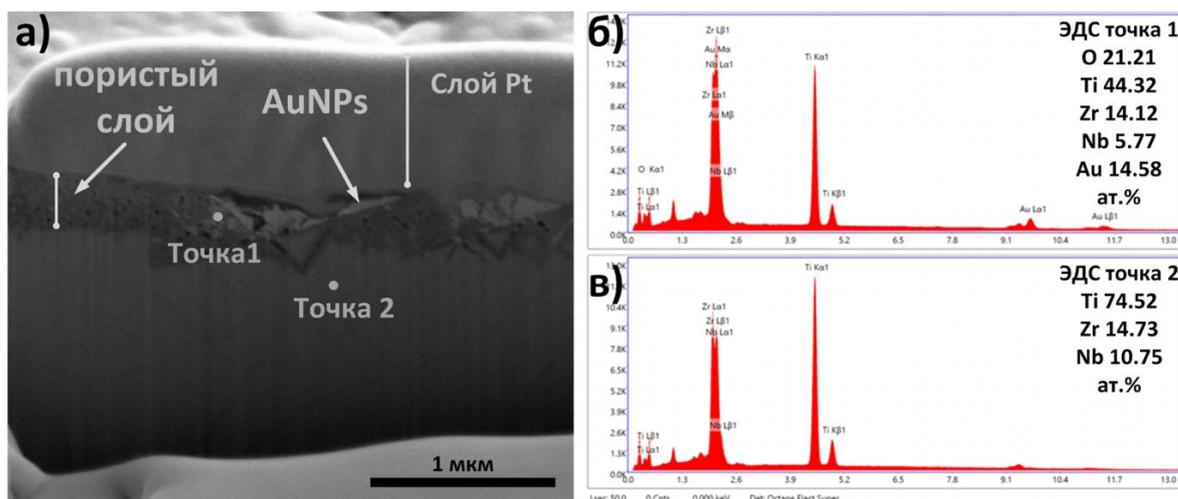


Рисунок 32 – а) поперечное сечение приповерхностного слоя образца Au/Ti(ф); б-в) ЭДС спектры соответствующих областей

### 3.4.4 Исследование химического состояния поверхности, модифицированной AuNPs

На рисунке 33(г-и), 34 представлены РФЭС-спектры основных компонентов сплава для образцов Au/Ti и Au/Ti(ф). Спектры представлены соответствующими сигналами Ti2p (458,4–458,8 и 464,2–464,6 эВ при спин-орбитальном расщеплении  $\Delta E=6,0$  эВ), Zr3d (182,4–182,5 и 184,8–184,9 эВ при спин-орбитальном расщеплении  $\Delta E=2,5$  эВ) и Nb3d (207,2–207,3 и 210,0–210,1 с  $\Delta E=2,8$  эВ). Это указывает на то, что основные компоненты сплава находятся на поверхности в виде их высших оксидов: TiO<sub>2</sub>, ZrO<sub>2</sub>, Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Химическое состояние основных компонентов сплава не изменяется при модификации образцов аминокислотой, а также после функционализации гентамицином (рисунок 34). Интенсивности сигналов основных компонентов сплава для образца Au/Ti заметно выше, чем для образца Au/Ti(ф) из-за различных концентраций AuNPs на поверхности (рисунок 35в). Это связано с тем, что в образце Au/Ti(ф) большое количество золота на поверхности частично экранирует сигнал от основных компонентов сплава.

Пики РФЭС, расположенные при 83,3–83,6 эВ и 86,9–87,2 эВ, соответствуют Au4f7/2 и Au4f5/2 (рисунок 33 а,б). Небольшой сдвиг в сторону более высоких значений энергии может быть связан с эффектом зарядки или незначительным окислением поверхности AuNPs. Тем не менее, в обоих образцах Au находится в металлическом состоянии, о чем свидетельствует спин-орбитальное расщепление в 3,6 эВ, наблюдаемое для обоих дублетов Au4f. Следует отметить, что интенсивность сигнала для Au4f в образце Au/Ti(ф) намного выше, чем в образце Au/Ti, что подтверждает наличие большего количества AuNPs на поверхности (рисунок 35). Интенсивность РФЭС-спектров Au4f заметно снижается после привязки цистеина, а далее гентамицина.

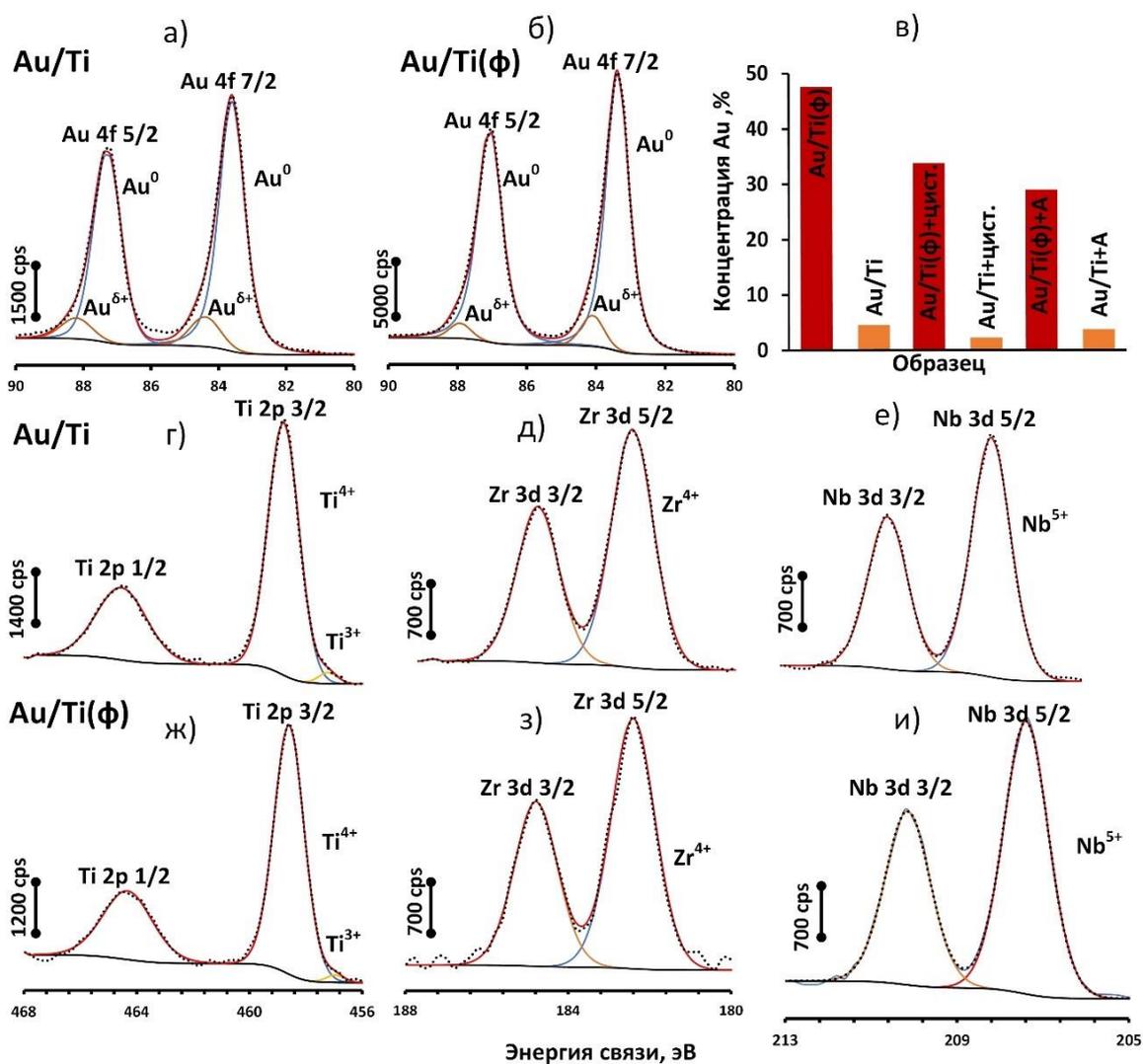


Рисунок 33 - РФЭС-спектры Au 4f, Ti 2p, Zr 3d и Nb 3d для образцов Au/Ti и Au/Ti(φ), концентрация Au на каждом этапе функционализации поверхности

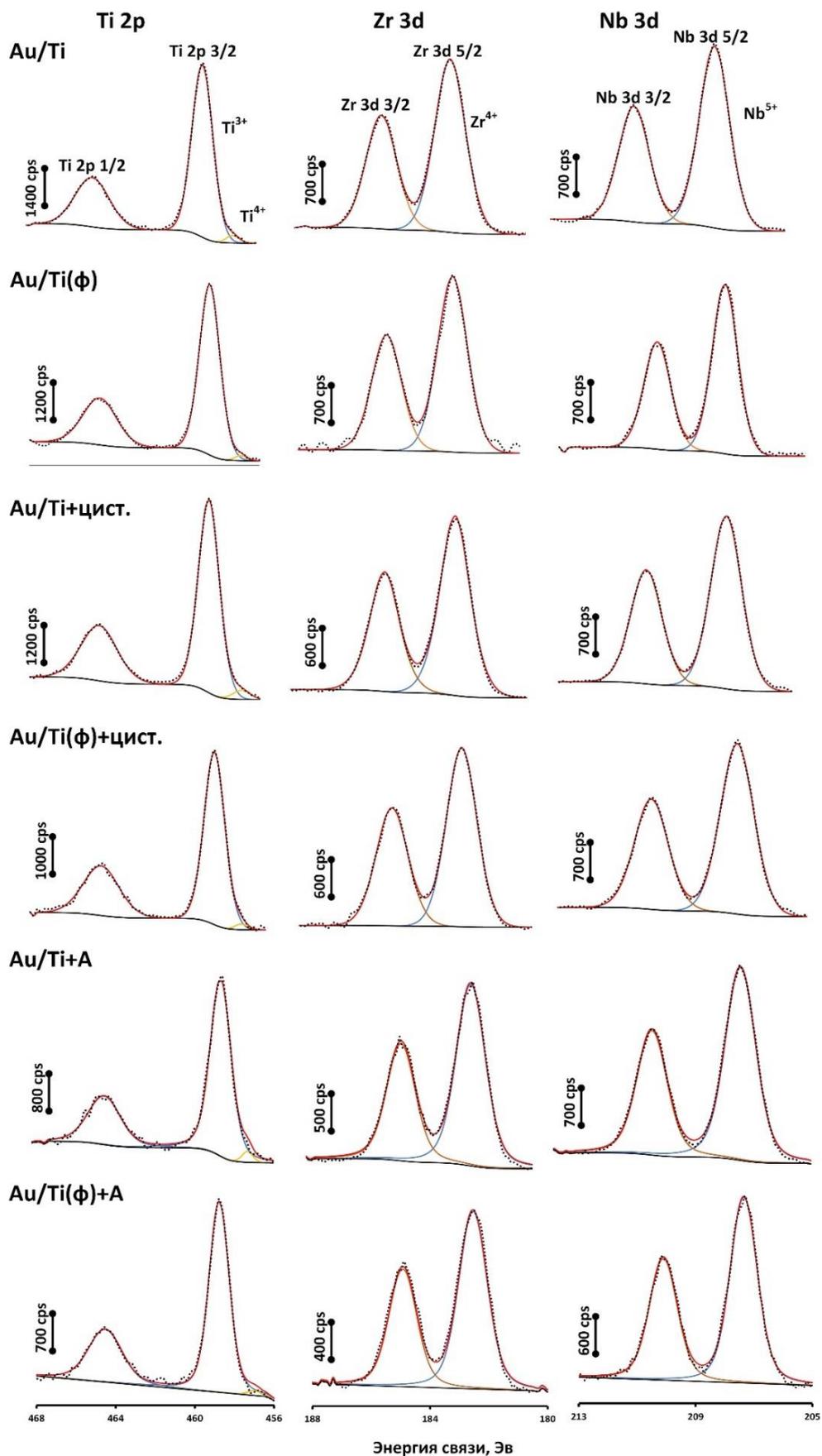


Рисунок 34 - РФЭС-спектры Ti 2p, Zr 3d и Nb 3d исследованных образцов на каждом этапе функционализации поверхности

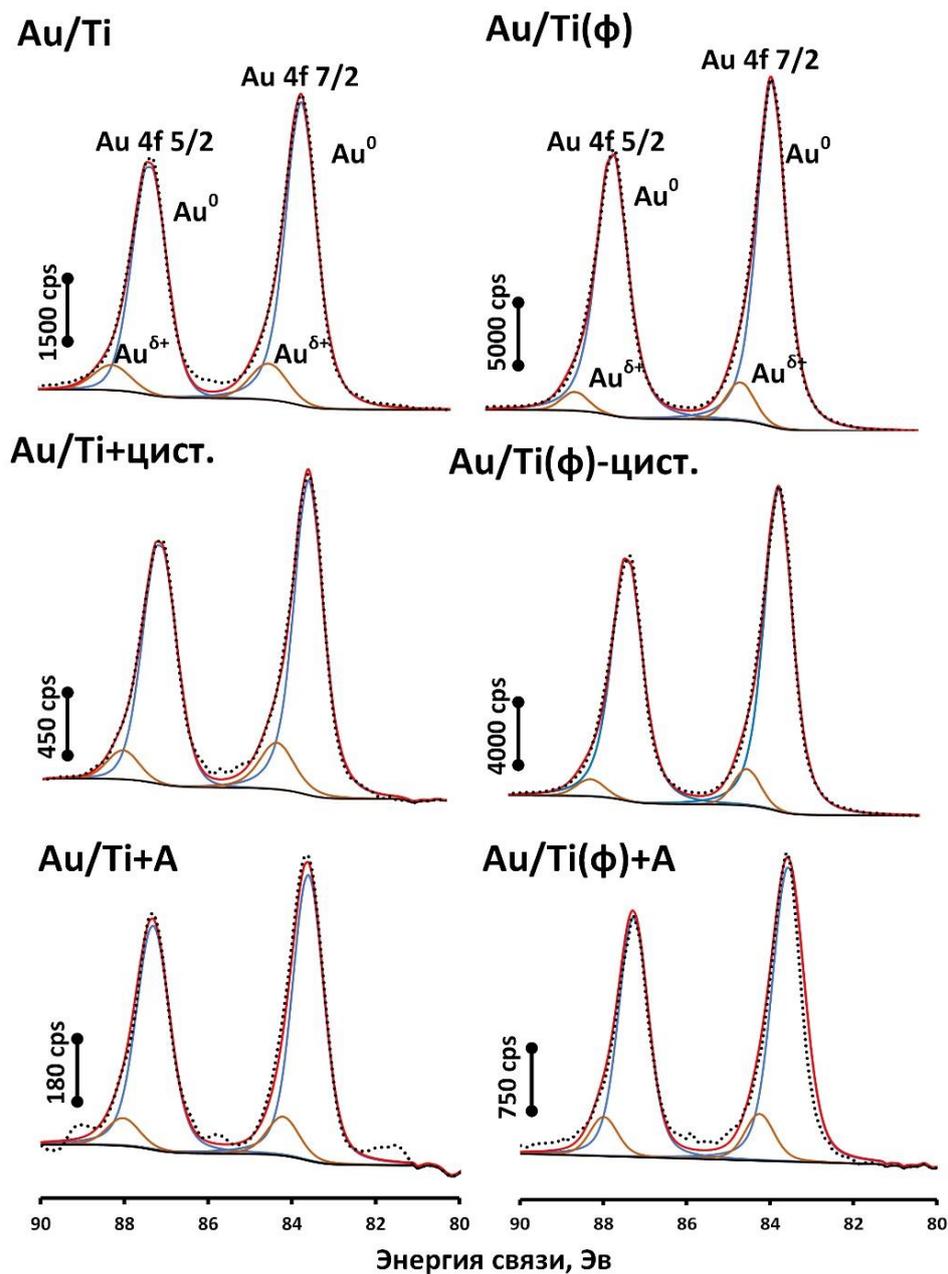


Рисунок 35 – РФЭС-спектры Au 4f исследованных образцов на каждом этапе функционализации поверхности

На рисунке 36 представлены РФЭС спектры N1s для всех исследованных образцов. Образцы Au/Ti и Au/Ti(φ) демонстрируют пики при 400–400,2 эВ, что может быть связано со связями C-N из-за загрязнения поверхности. После формирования связи золото- цистеин на спектрах появляются две новые составляющие сигнала N1s при значениях 401,7–401,9 эВ и 399,4–399,6 эВ. Это указывает на то, что L-цистеин адсорбируется на поверхности по меньшей мере в двух состояниях: протонированный аминный азот (NH<sub>3</sub>) и аминный азот (NH<sub>2</sub>).

Сигналы N1s образцов после того, как гентамицин присоединяется к цистеину, демонстрируют, что содержание азота увеличивается с 0,7% до 1,8% (Au/Ti+A) и с 1,4% до 2,3% (Au/Ti/(ф)+A), и на больших значения энергий появляется пик высокой интенсивности. Установлено, что интенсивность пика NH<sub>3</sub> значительно возрастает с образованием на поверхности связи золото-цистеин-гентамицин.

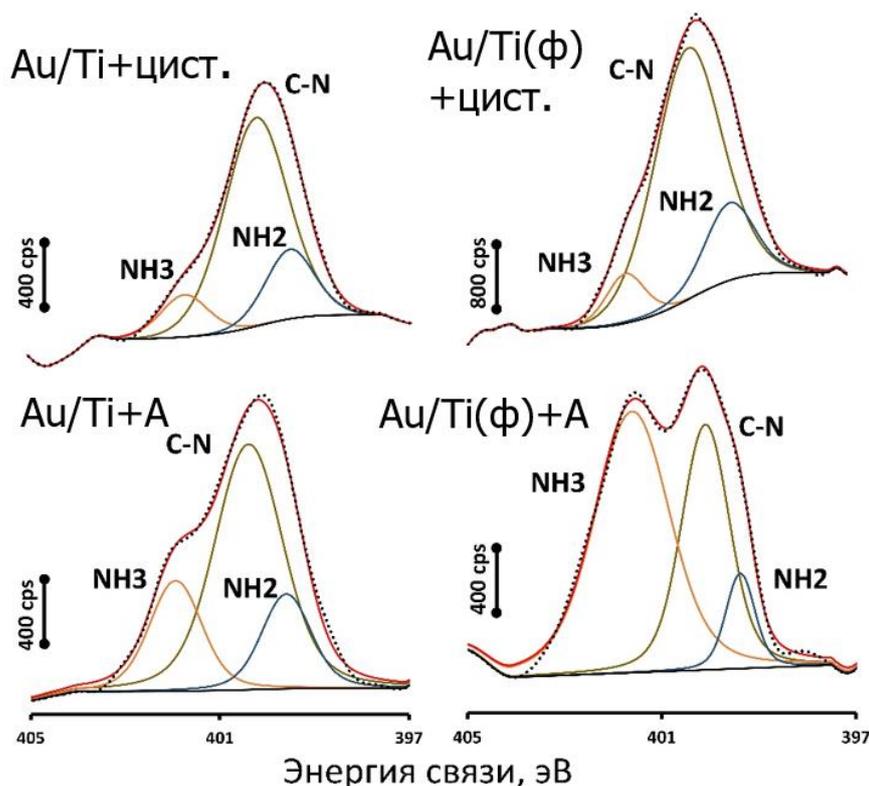


Рисунок 36 - РФЭС-спектры N1s исследованных образцов

РФЭС-анализ спектров S2p (рисунок 37), полученных с исследуемых образцов, подтверждает присутствие цистеина на поверхности, поскольку данное соединение содержит тиольную группу. Пики при значениях 161,1 и 162,4 эВ для (Au/Ti) и 160,6 и 161,8 (Au/Ti/(ф)) приписываются сульфидам металлов S<sub>2</sub><sup>-</sup> на поверхности образца. Пики, расположенные на энергиях 168,8–169,0 и 168,8–170,0 эВ связаны с сульфатами металлов SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, а значения энергий 166,7–167,0 и 167,8–168,2 эВ соответствуют SO<sub>3</sub><sup>2-</sup> сульфитам. Присутствие данных компонентов серы на поверхности вызвано предварительным травлением поверхности сплава раствором «Пираньи», содержащим серную кислоту.

Компоненты при значениях 161,4–162,0 и 162,6–163,1 эВ могут быть отнесены к связи между серой и золотом. Эти сигналы также наблюдаются в спектрах образцов Au/Ti+цист. и Au/Ti(ф)+цист., обработанных в растворе цистеина. Успешная функционализация поверхности L-цистеином отчетливо видна по новым

высокоинтенсивным пикам при 163,8–163,9 (Au/Ti+цист.) и 165,0–165,1 эВ (Au/Ti(ф)+цист.) соответственно. Стоит отметить, что пик цистеина гораздо более выражен в случае образца Au/Ti+цист. по сравнению с образцом Au/Ti(ф)+цист. Из чего следует, что меньшие AuNPs больше подходят для функционализации L-цистеином. Для лучшей аппроксимации РФЭС-спектра S2р 3/2 образца Au/Ti(ф) был добавлен компонент низкой интенсивности при 164,3 эВ.

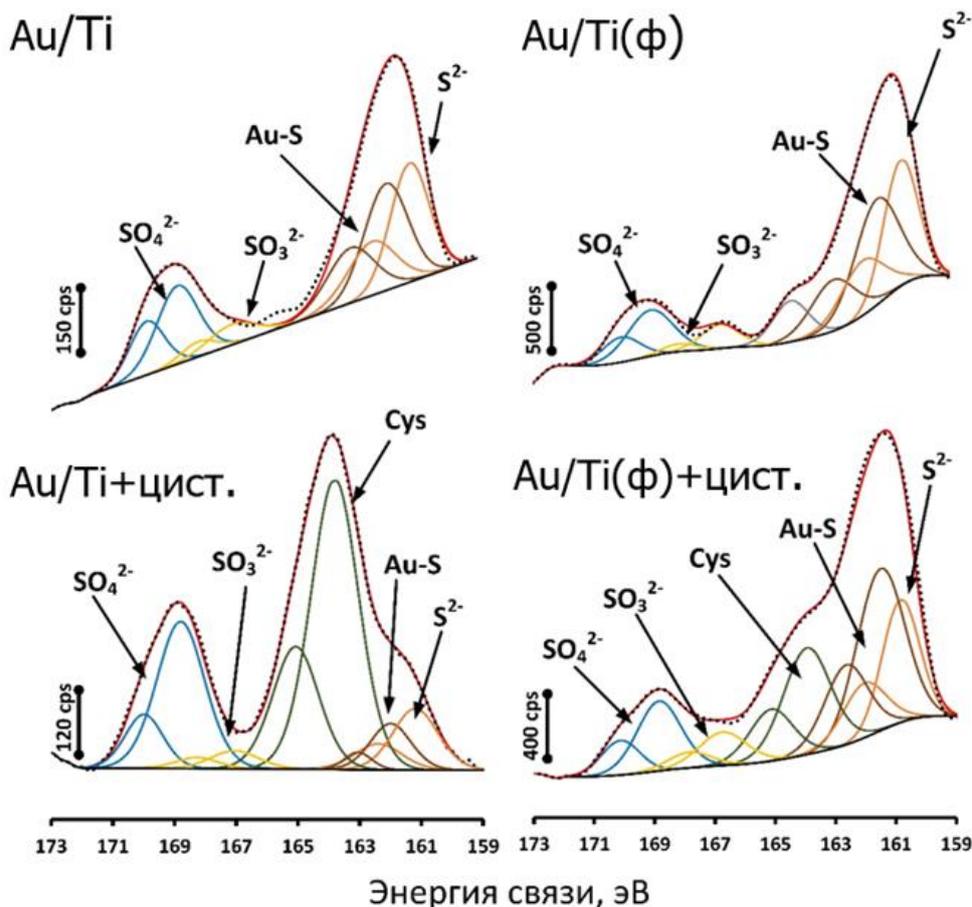


Рисунок 37 – РФЭС-спектры S<sub>2p</sub> исследованных образцов

### 3.4.5 Исследование механических характеристик модифицированных образцов

Были установлены основные характеристики сверхупругого поведения образца после модификации поверхности, а также исходного образца сплава Ti-18Zr-15Nb, такие как упругая обратимая деформация ( $\epsilon_r^{el}$ ), сверхупругая обратимая деформация ( $\epsilon_r^{SE}$ ), остаточная деформация ( $\epsilon_r^f$ ) и полная обратимая деформация ( $\epsilon_r^{tot}$ ). По диаграммам деформации-разгрузки (рисунок 38) установлено, что количество циклов до разрушения составляет 15 циклов для образца Au/Ti и 13 циклов для образца Ti-18Zr-15Nb

соответственно. Оба образца проявляют сверхупругое поведение при комнатной температуре. Значения полной обратимой деформации показали близкие значения, порядка 4%. Значения остаточной деформации находятся в пределах 0,1%, при деформации до 4% (до 8 цикла), а далее увеличиваются при деформации более 4,5% (рисунок 38 е), демонстрируя повышенный гистерезис кривой напряжение-деформация (рисунок 38 а, б) указывая на менее совершенное сверхупругое поведение для данных материалов, что связано с увеличением вклада пластической деформации и накоплением дефектов кристаллической решетки. Сверхупругая обратимая деформация для обоих образцов составляет ~2,4%, что характерно для сплава Ti-18Zr-15Nb. Значения сверхупругой деформации значительно возрастают, с увеличением числа циклов в то время, как упругая деформация имеет почти линейную зависимость. Таким образом деформация протекает преимущественно по сверхупругому механизму с самого начала испытаний, показывая типичное для данного материала сверхупругое поведение. Можно сделать вывод, что применяемый метод модификации поверхности не влияет на сверхупругие характеристики и механические свойства материала.

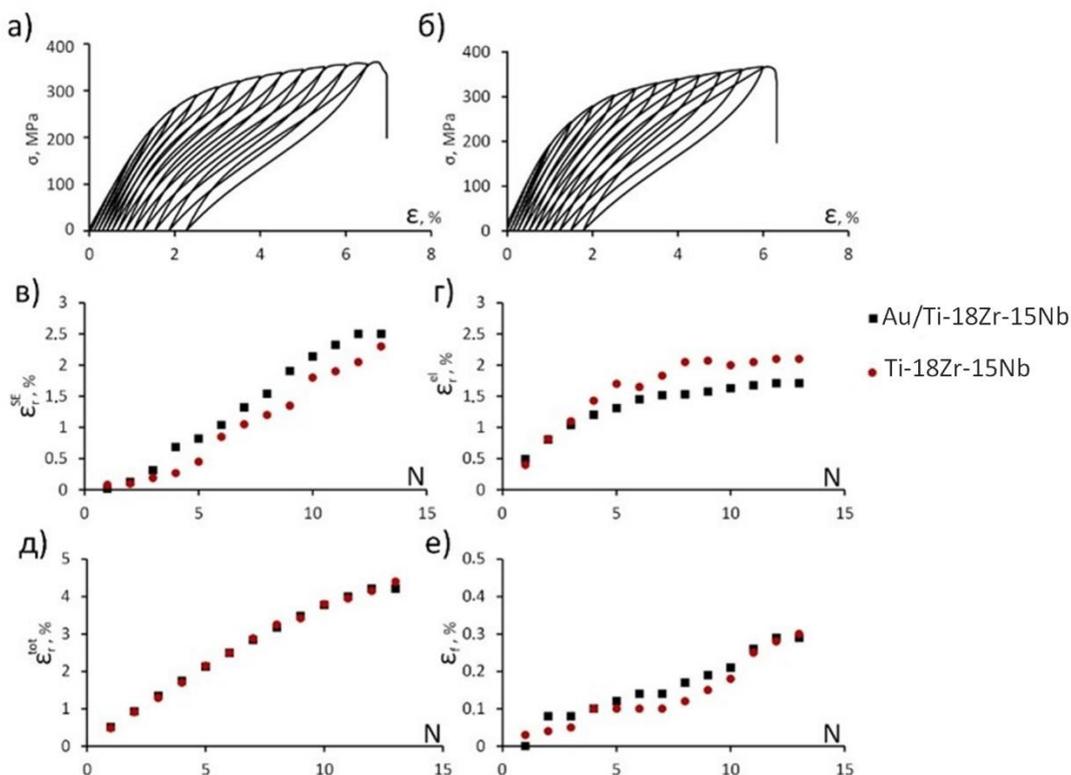


Рисунок 38 – Диаграммы деформации-разгрузки для а) исходного образца сплава Ti-18Zr-15Nb и б) модифицированного образца Au/Ti; в) сверхупругая обратимая деформация ( $\epsilon_r^{SE}$ ); г) упругая обратимая деформация ( $\epsilon_r^{el}$ ); д) полная обратимая деформация ( $\epsilon_r^{tot}$ ); е) остаточная деформация ( $\epsilon_r^f$ )

### 3.4.6 Исследование антибактериальных свойств

Результаты антибактериальных тестов против штаммов бактерий *E.coli* показаны на рисунке 39.

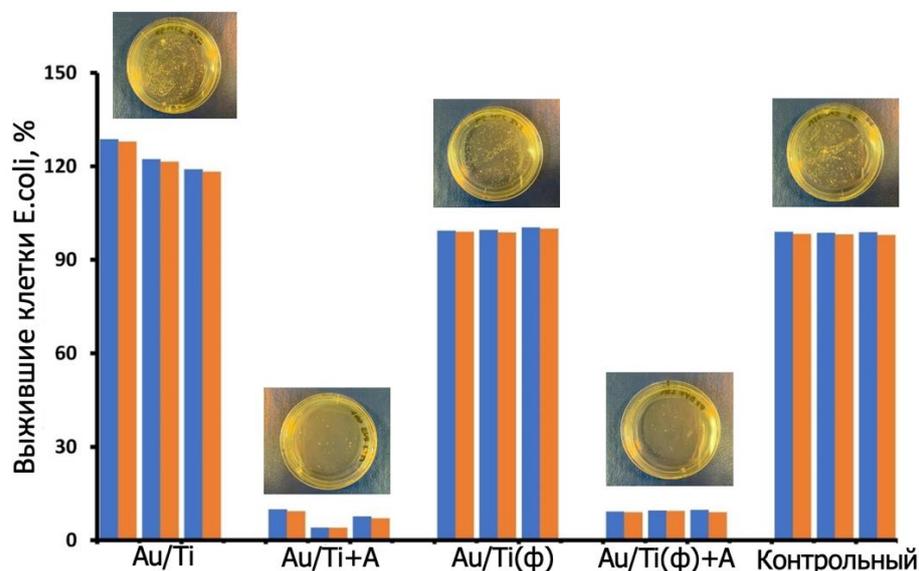


Рисунок 39 - Результаты антибактериальных тестов против штаммов бактерий *E.coli* исследованных образцов

Оба образца без модификации поверхности лекарственным веществом ( $Au/Ti$  и  $Au/Ti(\phi)$ ) не демонстрируют антибактериальный эффект в отношении клеток *E. coli*. Кроме того, образец  $Au/Ti$  имеет более высокую концентрацию бактерий по сравнению с контрольным образцом. Это связано с тем фактом, что пористый слой, появляющийся на поверхности образца после травления в растворе «Пираньи», более благоприятен для роста бактерий по сравнению с полированной поверхностью контрольного образца.

Образец  $Au/Ti(\phi)$  продемонстрировал практически одинаковые результаты антибактериальных исследований с контрольным образцом. Это связано с тем, что более крупные AuNPs, плотно заселяющие поверхность, покрывают значительное количество пор, что делает эту поверхность менее благоприятной для роста бактерий. Были проведены исследования шероховатости поверхности, которые позволили установить, что для образца  $Au/Ti$  параметр шероховатости  $R_a$  составляет менее 100 нм, в то время как для образца  $Au/Ti(\phi)$   $R_a=512$  нм. Разница в параметре шероховатости обусловлена исключительно наличием на поверхности AuNPs разного размера и морфологии, так как поры на поверхности, сформированные после травления в растворе «Пираньи» не могут быть обнаружены данным методом.

Образцы после загрузки гентамицином обладают выраженным антибактериальным эффектом, который обусловлен действием гентамицина. Подавление роста бактерий составляет около 79% для Au/Ti(ф)+А и до 90% для Au/Ti+А. Хотя в абсолютных значениях эти результаты близки, следует отметить, что в случае образца Au/Ti+А этот результат достигается при значительно более низкой концентрации AuNPs, что подчеркивает их повышенную эффективность.

На рисунке 40а представлены УФ-видимы спектры, соответствующие исходному раствору гентамицина (40 мг/мл), раствору гентамицина после экспозиции в нем образца Au/Ti(ф) в течение 24 часов и раствору гентамицина с концентрацией на 10% ниже исходной (36 мг/мл). Интенсивность спектра, полученного с раствора гентамицина после выдержки образца Au/Ti(ф) остается практически неизменной в сравнении с исходным раствором и значительно выше интенсивности пика от раствора с пониженной на 10% концентрацией. Это свидетельствует о том, что незначительное количество гентамицина (менее 2%) адсорбируется на поверхности. Исходя из вышесказанного установлено, что антибактериальный эффект достигается при чрезвычайно низкой дозировке препарата.

На рисунке 40б представлены результаты исследования высвобождения гентамицина с модифицированной поверхности. Установлено, что после выдержки образца Au/Ti(ф)+А в дистиллированной воде в течение 24, 48 и 72 часов УФ-видимый спектр, характерный для гентамицина, не обнаружен, что свидетельствует о том, что комплекс цистеин-гентамицин остается присоединенным к AuNPs и не высвобождается в раствор, предотвращая рост бактериальных клеток на поверхности и повышая устойчивость поверхности к образованию биопленки.

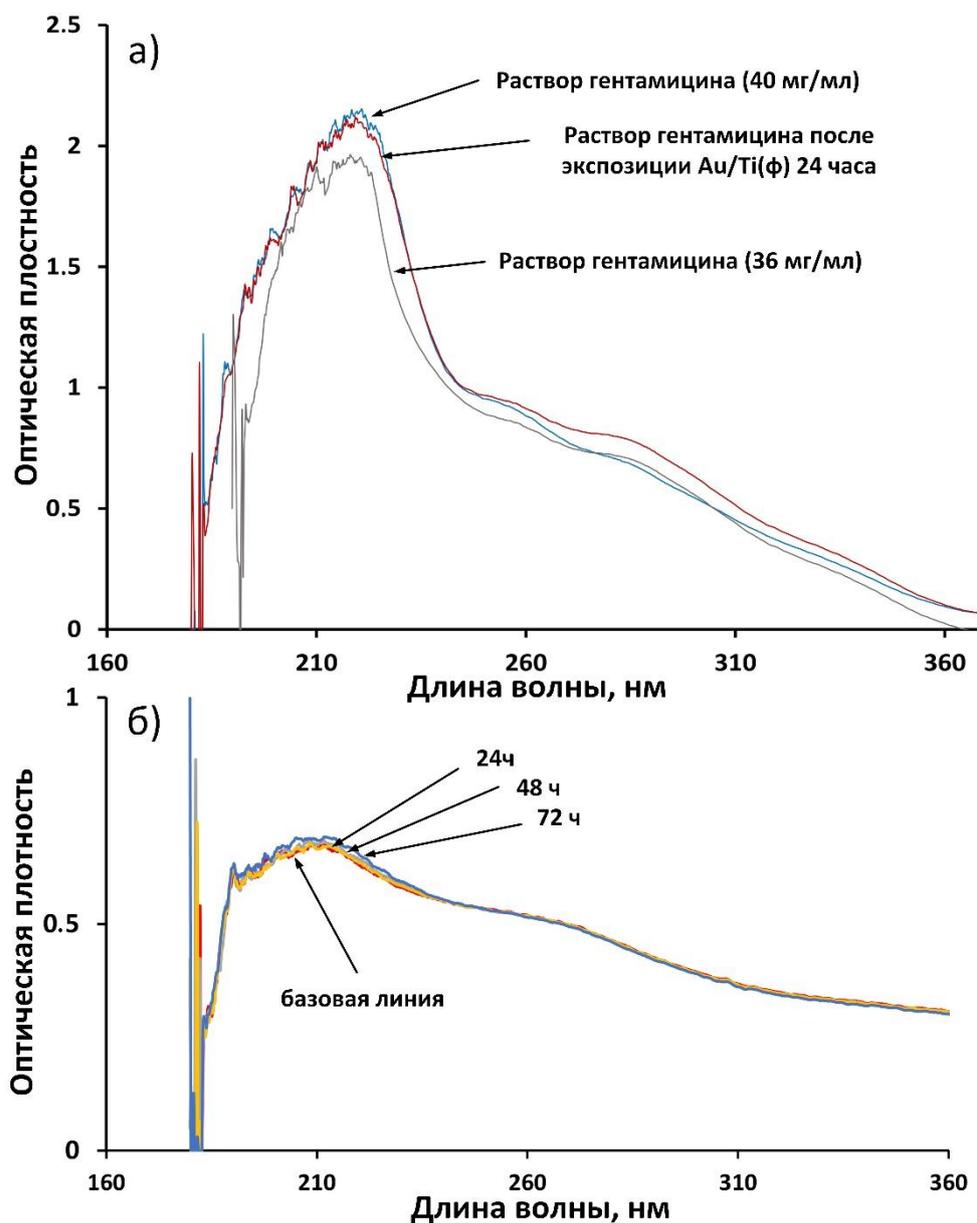


Рисунок 40 – а) УФ-видимые спектры после экспозиции Au/Ti(φ) в растворе гентамицина; б) УФ-видимые спектры после экспозиции Au/Ti(φ)+А в дистиллированной воде 24, 48 и 72 часа

### 3.4.7 Исследование биосовместимости модифицированных материалов

На рисунках 41, 42 представлена динамика пролиферации клеток МС3Т3 на поверхности образцов Au/Ti+A, Au/Ti(φ)+A и контрольных образцов. Для образца контроля и полированного образца наблюдается типичная картина пролиферации. В течение 7 дней наблюдается высокая динамика роста клеток. Стоит отметить, что резкое уменьшение количества клеток в образце Ti-18Zr-15Nb на 7 дней эксперимента является технической ошибкой и связано со сменой питательной среды после 5 дней пролиферации.

Средняя площадь клеток после 7 дней эксперимента также увеличивается для обоих образцов.

Для образцов Au/Ti+A, Au/Ti(ф)+A после антибактериальной модификации наблюдается снижение пролиферации клеток в течение первых 5 дней. Данный факт связан с ингибирующим воздействием на низ лекарственного препарата на поверхности образца. Однако, по истечении действия лекарственного препарата (7 день) пролиферация клеток значительно ускоряется и практически достигает результатов, полученных на контрольных образцах. Стоит отметить, что образец Au/Ti+A, содержащий на поверхности AuNPs меньших размеров, демонстрирует лучшие результаты – большее количество клеток и более высокую среднюю площадь клеток по сравнению с образцом Au/Ti(ф)+A.

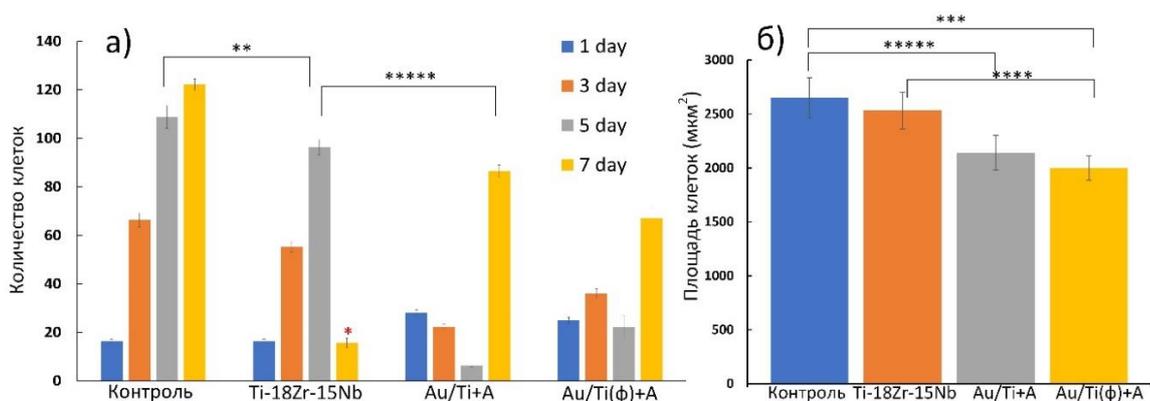


Рисунок 41 – Данные статистического анализа на цитотоксичность исследуемых образцов

\*техническая ошибка, \*\*  $p < 0,001$ , \*\*\*  $p < 0,005$ , \*\*\*\*  $p < 0,02$ , \*\*\*\*\*  $p < 0,05$

На рисунке 43 представлен вид остеобластических клеток на модифицированной поверхности образцов Au/Ti+A, Au/Ti(ф)+A и контрольных образцах. Клетки имеют типичный актиновый цитоскелет и многочисленные очаговые спайки. Как правило, остеобластные клетки имеют округлую форму на плоской поверхности, в то время как на более шероховатой поверхности они способны изменять морфологию в соответствии с геометрией поверхности. Как упоминалось ранее, значение параметра шероховатости Ra для образца Au/Ti(f)-cg выше, чем для образца Au/Ti-cg. Можно заметить, что более шероховатая поверхность способствует удлинению остеобластов.

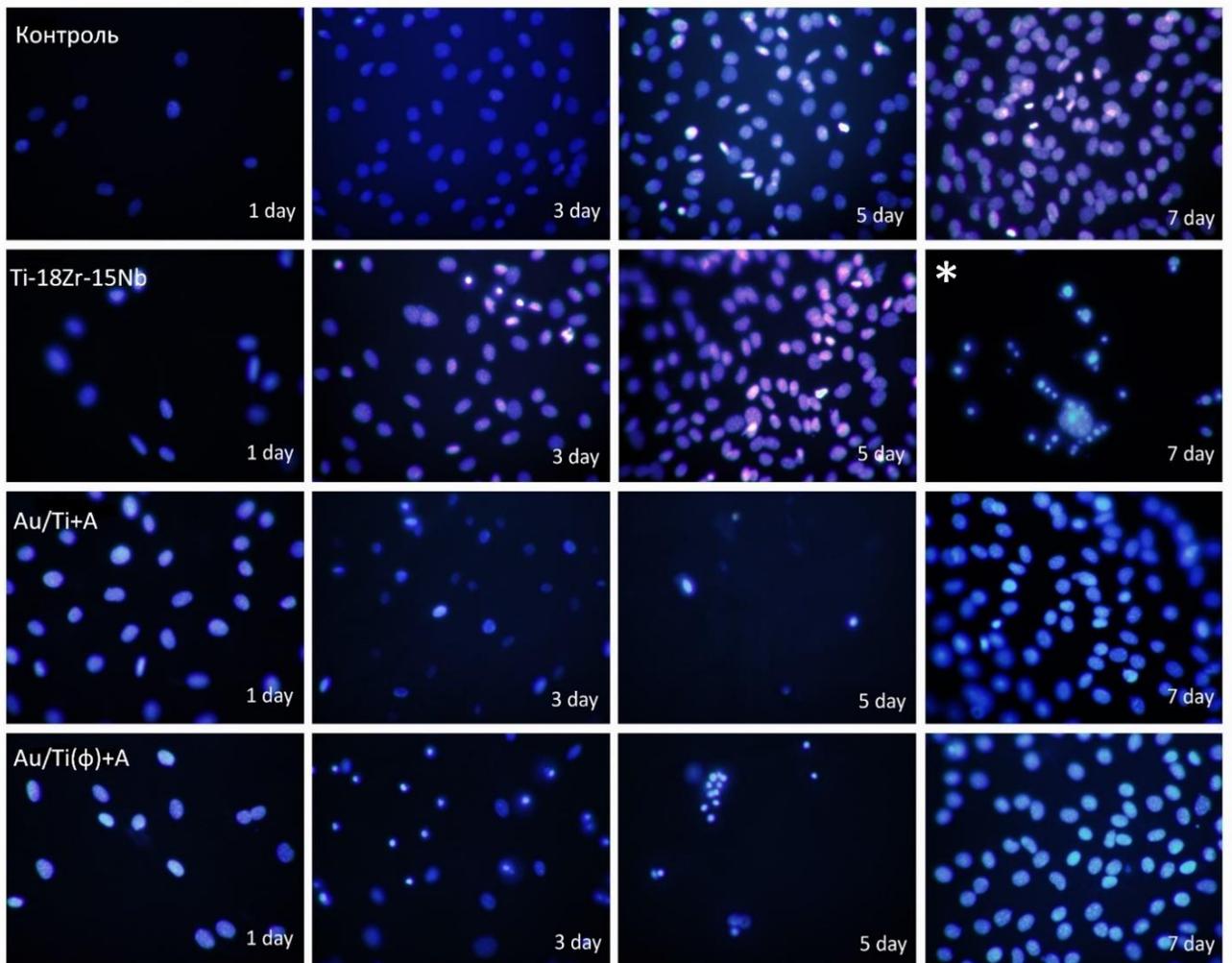


Рисунок 42 - Динамика пролиферации клеток MC3T3 на поверхности исследуемых образцов; \*техническая ошибка

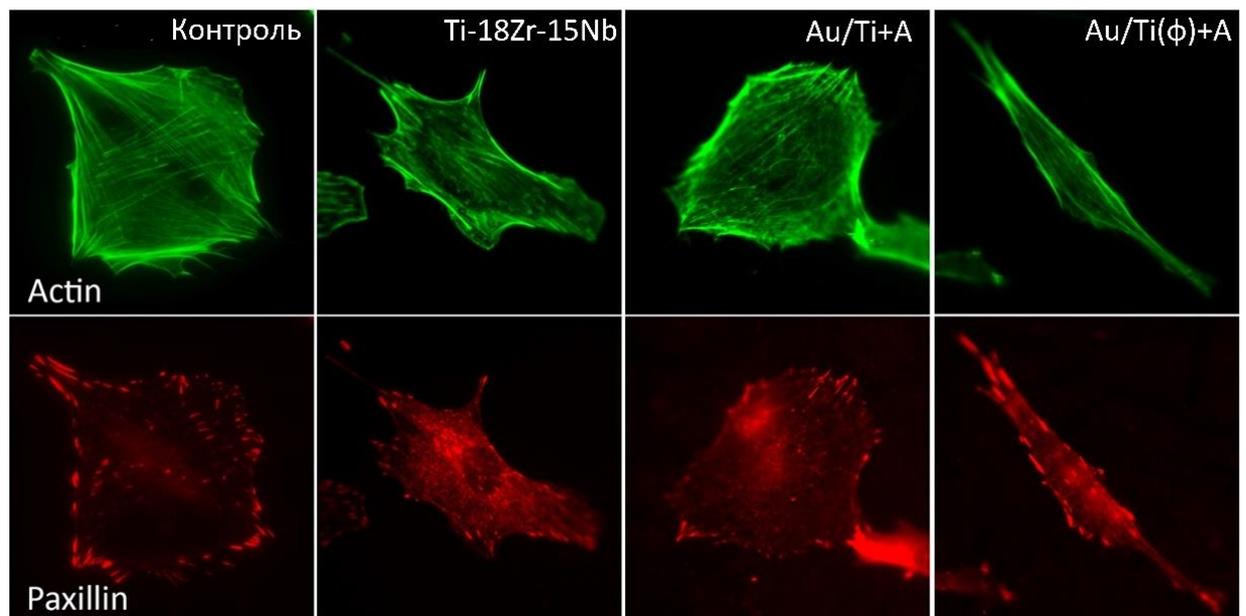


Рисунок 43 - Вид остеобластических клеток на модифицированной поверхности исследуемых образцов

### **Выводы по разделу**

*Модификация поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb наночастицами золота, связанными с лекарственным веществом (гентамицином) повышает антибактериальные свойства поверхности. AuNPs небольших размеров (3–5 нм) и более крупные (до 100 нм) равномерно формируются на поверхности методом химического восстановления. Оба типа AuNPs формируются в пористом слое, который был сформирован перед их синтезом путем химического травления. Полученные наночастицы, функционализированные гентамицином, демонстрируют высокую антибактериальную активность по отношению к клеткам E.coli. AuNPs, меньших размеров, функционализированные гентамицином, проявляют несколько более высокий антибактериальный эффект (подавление роста бактерий на 90%) по сравнению с более крупными AuNPs (подавление роста бактерий на 79%).*

### 3.5 Перенос отработанных методик модификации поверхности на другие материалы.

Предложенные в данной работе методики синтеза наночастиц для антибактериальной модификации поверхности являются высокоэффективными и могут быть реализованы для модификации других материалов для медицинских применений. Для демонстрации этого в данной работе был взят один из наиболее распространенных медицинских сплавов с памятью формы – TiNi (50,8 ат. %Ni) в исходном состоянии (контрольная обработка – отжиг при 700°C в течение 30 минут с закалкой в воде) и после старения (дополнительный отжиг при 430 °C в течение 60 минут с закалкой в воде). Поверхность материала была подвергнута травлению в растворе «Пираньи» в течение 90 минут. Наночастицы серебра и золота были равномерно сформированы на поверхности материала, что свидетельствует о возможности реализации данных методик на поверхности других медицинских материалов.

В таблице 13 представлены режимы формирования наночастиц серебра и золота на поверхности Ti-Ni.

Таблица 13 - Режимы формирования наночастиц серебра и золота на поверхности TiNi.

Образец	Тип частиц	Режим синтеза	Время синтеза
TiNi (исх)	AgNPs	100 мг AgNO <sub>3</sub> (в 5 мл H <sub>2</sub> O) добавлено в 50 мл ПЭГ-400	8 минут с воздействием УФ и 10 минут без УФ воздействия
TiNi (исх)	AuNPs	1,5 мг HAuCl <sub>4</sub> *4H <sub>2</sub> O и 0,25 мл NaBH <sub>4</sub> (1,5 мг/мл) добавлено в 32 мл H <sub>2</sub> O	20 минут
TiNi (ТО)	AgNPs	100 мг AgNO <sub>3</sub> (в 5 мл H <sub>2</sub> O) добавлено в 50 мл ПЭГ-400	8 минут с воздействием УФ и 10 минут без УФ воздействия
TiNi (ТО)	AuNPs	1,5 мг HAuCl <sub>4</sub> *4H <sub>2</sub> O и 0,25 мл NaBH <sub>4</sub> (1,5 мг/мл) добавлено в 32 мл H <sub>2</sub> O	20 минут

Результаты СЭМ анализа позволили установить, что в результате синтеза на поверхности сплава TiNi равномерно формируются наночастицы Ag и Au (рисунок 44).

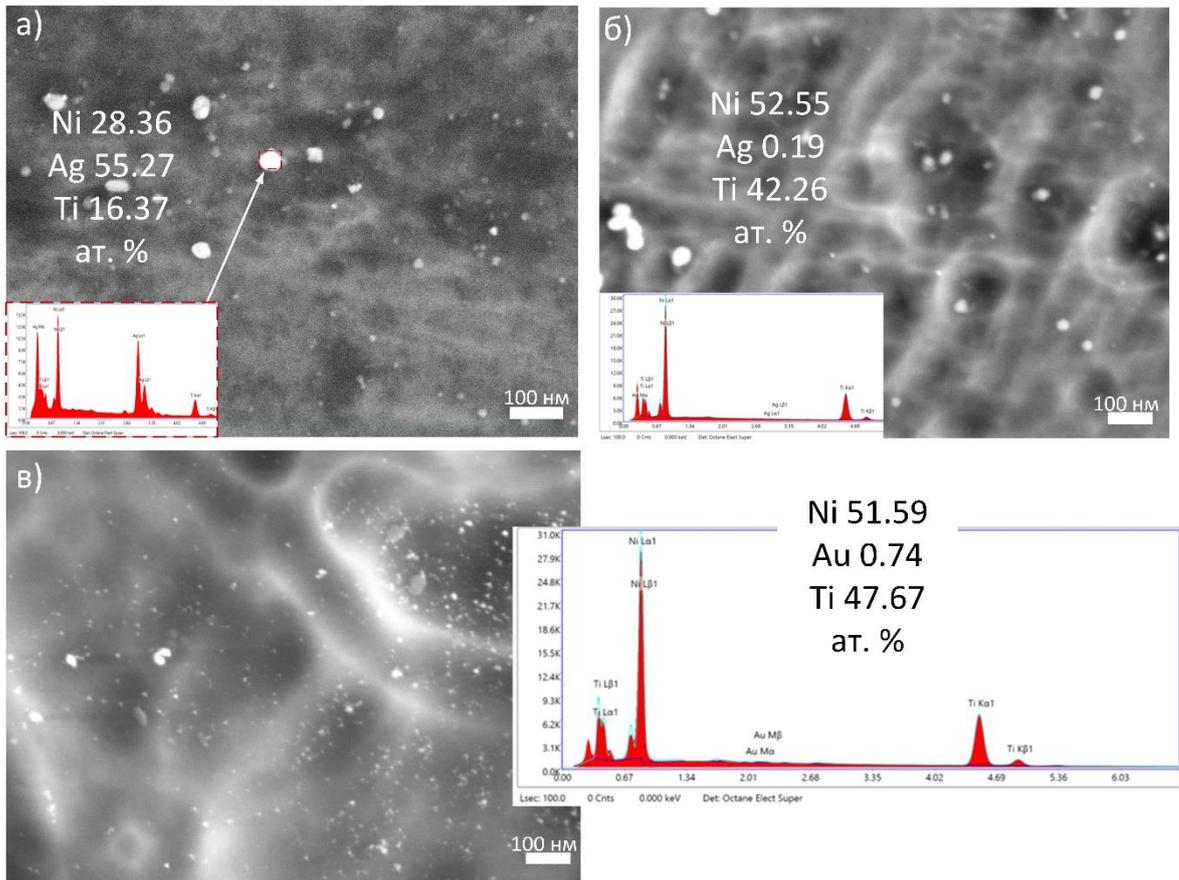


Рисунок 44 - Микроструктура поверхности образца TiNi: а, б) после формирования AgNPs; в) после формирования AuNPs и соответствующие ЭДС-спектры

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ ПО РАБОТЕ

1. Разработана методика формирования пористого слоя толщиной до 100 нм на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb, заключающаяся в травлении поверхности в растворе «Пираньи» ( $H_2SO_4+H_2O_2$ ) в течение 90 минут.
2. Разработан метод синтеза наночастиц серебра, заключающийся в восстановлении нитрата серебра в среде полиола, обеспечивающий равномерное распределение наночастиц на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb. Средний размер AgNPs составляет  $18\pm 2$  нм для полированной поверхности и  $13\pm 2$  нм для поверхности, подвергнутой предварительному травлению в растворе «Пираньи». Наночастицы серебра встраиваются в пористый слой на глубину около 60 нм.
3. При исследовании химического состава поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb, модифицированного AgNPs, установлено, что пористая структура поверхности способствует формированию на ней большего количества наночастиц серебра по сравнению с полированной поверхностью сплава.
4. Разработан способ формирования наночастиц серебра на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb с покрытием  $TiO_2$ , предварительно синтезированным методом атомно-слоевого осаждения для повышения биоактивных свойств поверхности. Способ позволяет сформировать на поверхности данного типа равномерно распределенные наночастицы серебра размером от 20 нм до 60 нм.
5. Установлено, что пористая поверхность сплава Ti-18Zr-15Nb, модифицированная наночастицами серебра, проявляет высокие антибактериальные свойства за счет более высокого выхода ионов серебра и длительного контакта с бактериальными клетками по сравнению с полированной поверхностью сплава Ti-18Zr-15Nb, модифицированной наночастицами серебра.
6. Разработан метод синтеза наночастиц золота, заключающийся в химическом восстановлении золотохлористоводородной кислоты ( $HAuCl_4$ ) в водной среде, обеспечивающий равномерное распределение этих наночастиц размером от 1 до 40 нм на пористой поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb. Наночастицы золота встраиваются в пористый слой на глубину около 80 нм.
7. Показана эффективность привязки лекарственных препаратов к наночастицам золота на поверхности сплава Ti-18Zr-15Nb через промежуточное аминокислотное соединение для повышения антибактериальных свойств сплава. Показана низкая цитотоксичность поверхности сплава, декорированной наночастицами золота и

лекарственными препаратами, в отношении клеточной костной ткани – остеобластов.

8. Установлено, что формирование пористого слоя на поверхности сплава не оказывает негативного влияния на характеристики его сверхупругого поведения. Разработанные методики модификации поверхности могут быть применены к другим сверхупругим сплавам медицинского назначения, в частности, к никелиду титана.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Chisso V. I. et al. In vitro study of matrix surface properties of porous granulated calcium phosphate ceramic materials made in Russia //Bulletin of experimental biology and medicine. – 2008. – Т. 145. – С. 499-503.
2. Vallet-Regi M. Bio-ceramics with clinical applications. – John Wiley & Sons, 2014.
3. Levingstone T. J. Ceramics for medical applications. – 2008.
4. Kirilova I. A. et al. Ceramic and bone-ceramic implants: promising directions //Khirurgiya Pozvonochnika. – 2013. – Т. 4. – С. 52-62.
5. Jofré J. et al. The effect of maximum bite force on marginal bone loss of mini-implants supporting a mandibular overdenture: a randomized controlled trial //Clinical oral implants research. – 2010. – Т. 21. – №. 2. – С. 243-249.
6. Conrad H. J., Seong W. J., Pesun I. J. Current ceramic materials and systems with clinical recommendations: a systematic review //The Journal of prosthetic dentistry. – 2007. – Т. 98. – №. 5. – С. 389-404.
7. Hench L. L. The future of bioactive ceramics //Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2015. – Т. 26. – С. 1-4.
8. Bayazit V., Bayazit M., Bayazit E. Evaluation of bioceramic materials in biology and medicine //Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures. – 2010. – Т. 7. – №. 2. – С. 267-278.
9. Best S. M. et al. Bioceramics: Past, present and for the future //Journal of the European Ceramic Society. – 2008. – Т. 28. – №. 7. – С. 1319-1327.
10. Tatatarenko-Kozmina T. Y. et al. Effect of hydroxyapatite as a component of biostable composites on population and proliferation of mesenchymal stem cells //Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2007. – Т. 143. – С. 519-523.
11. Rahmani R. et al. Hybrid metal-ceramic biomaterials fabricated through powder bed fusion and powder metallurgy for improved impact resistance of craniofacial implants //Materialia. – 2022. – Т. 24. – С. 101465.
12. Zhu T., Wang Z. Research and application prospect of short carbon fiber reinforced ceramic composites //Journal of the European Ceramic Society. – 2023.
13. Madeira S. et al. Aunps and Agunps-functionalized zirconia surfaces by hybrid laser technology for dental implants //Ceramics International. – 2020. – Т. 46. – №. 6. – С. 7109-7121.

14. Petersen R. Carbon fiber biocompatibility for implants //Fibers. – 2016. – T. 4. – №. 1. – C. 1.
15. Kenar H. et al. Femtosecond laser treatment of 316L improves its surface nanoroughness and carbon content and promotes osseointegration: An in vitro evaluation //Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2013. – T. 108. – C. 305-312.
16. Govindaraj S., Costantino P. D., Friedman C. D. Current use of bone substitutes in maxillofacial surgery //Facial plastic surgery. – 1999. – T. 15. – №. 01. – C. 73-81.
17. Baker D., Kadambande S. S., Alderman P. M. Carbon fibre plates in the treatment of femoral periprosthetic fractures //Injury. – 2004. – T. 35. – №. 6. – C. 596-598.
18. Belangero W. D., Köberle G., Hadler W. A. Inflammatory reaction of rat striated muscle to particles of carbon fiber reinforced carbon //Brazilian Journal of Medical and Biological Research= Revista Brasileira de Pesquisas Medicas e Biologicas. – 1993. – T. 26. – №. 8. – C. 819-826.
19. Kettunen J. et al. Fixation of distal femoral osteotomy with an intramedullary rod: early failure of carbon fibre composite implant in rabbits //Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition. – 1999. – T. 10. – №. 7. – C. 715-728.
20. Adams D., Williams D. F., Hill J. Carbon fiber-reinforced carbon as a potential implant material //Journal of biomedical materials research. – 1978. – T. 12. – №. 1. – C. 35-42.
21. Kanaoujiya R. et al. Biomedical application of polymer-based nanomaterials: Vaccines & drugs //Materials Today: Proceedings. – 2023.
22. May R. Polyetheretherketones //Encyclopedia of Polymer Science and Technology. – 2002.
23. Hak D. J. et al. Use of carbon-fiber-reinforced composite implants in orthopedic surgery //Orthopedics. – 2014. – T. 37. – №. 12. – C. 825-830.
24. Scholz M. S. et al. D.; Gilbert, ME; Muflahi, SA; Pernice, MF; Rae, SI; et al. The Use of Composite 6 Materials in Modern Orthopaedic Medicine and Prosthetic Devices: A Review. Compos. 7 //Sci. Technol. – 2011. – T. 71. – №. 16. – C. 1791-1803.
25. Li C. S. et al. The use of carbon-fiber-reinforced (CFR) PEEK material in orthopedic implants: a systematic review //Clinical Medicine Insights: Arthritis and Musculoskeletal Disorders. – 2015. – T. 8. – C. CMAMD. S20354.
26. Park J. B., Lakes R. S. Hard tissue replacement—II: Joints and teeth //Biomaterials. – 2007. – C. 395-458.
27. Chawla K. K., Chawla K. K. Carbon fiber composites //Composite materials: science and engineering. – 1998. – C. 252-277.

28. Ali M. S. et al. Carbon fibre composite bone plates. Development, evaluation and early clinical experience //The Journal of bone and joint surgery. British volume. – 1990. – T. 72. – №. 4. – C. 586-591.
29. Petersen R. C. Bisphenyl-polymer/carbon-fiber-reinforced composite compared to titanium alloy bone implant //International journal of polymer science. – 2011. – T. 2011.
30. Guitchounts G. et al. A carbon-fiber electrode array for long-term neural recording //Journal of neural engineering. – 2013. – T. 10. – №. 4. – C. 046016.
31. Pilliar R. M. et al. Carbon fiber-reinforced bone cement in orthopedic surgery //Journal of Biomedical Materials Research. – 1976. – T. 10. – №. 6. – C. 893-906.
32. Mugnai R. et al. Biomechanical comparison between stainless steel, titanium and carbon-fiber reinforced polyetheretherketone volar locking plates for distal radius fractures //Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research. – 2018. – T. 104. – №. 6. – C. 877-882.
33. Bosco R., Beucken J. Van Den, Leeuwenburgh, S., and Jansen, J.(2012).“ //Surface Engineering for Bone Implants: A Trend from Passive to Active Surfaces.” Coatings. – T. 2. – C. 95-119.
34. Park, J., & Lakes, R. S. Biomaterials: an introduction. Springer Science & Business Media – 2007.
35. Hu S. et al. A novel TiZrNb medium entropy alloy (MEA) with appropriate elastic modulus for biocompatible materials //Materials Science and Engineering: B. – 2021. – T. 270. – C. 115226.
36. Rupp F., Geis-Gerstorf J., Geckeler K. E. Dental implant materials: surface modification and interface phenomena //Advanced Materials. – 1996. – T. 8. – №. 3. – C. 254-257.
37. Kaur M., Singh K. Review on titanium and titanium based alloys as biomaterials for orthopaedic applications //Materials Science and Engineering: C. – 2019. – T. 102. – C. 844-862.
38. Geetha M. et al. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants–A review //Progress in materials science. – 2009. – T. 54. – №. 3. – C. 397-425.
39. Duerig T. W., Melton K. N., Stöckel D. Engineering aspects of shape memory alloys. – Butterworth-heinemann, 2013.
40. Staiger M. P. et al. Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: a review //Biomaterials. – 2006. – T. 27. – №. 9. – C. 1728-1734.

41. Heublein B. et al. Biocorrosion of magnesium alloys: a new principle in cardiovascular implant technology? //Heart. – 2003. – T. 89. – №. 6. – C. 651-656..
42. Wong, J. Y., & Bronzino, J. D. Biomaterials. CRC press. – 2007.
43. Davis, J. R. Handbook of materials for medical devices. (*No Title*). – 2003.
44. Bekmurzayeva A. et al. Surface modification of stainless steel for biomedical applications: Revisiting a century-old material //Materials Science and Engineering: C. – 2018. – T. 93. – C. 1073-1089.
45. Rho J. Y., Kuhn-Spearing L., Zioupos P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone //Medical engineering & physics. – 1998. – T. 20. – №. 2. – C. 92-102.
46. Yamamoto A., Honma R., Sumita M. Cytotoxicity evaluation of 43 metal salts using murine fibroblasts and osteoblastic cells //Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials. – 1998. – T. 39. – №. 2. – C. 331-340.
47. Salahinejad E. et al. In vitro electrochemical corrosion and cell viability studies on nickel-free stainless steel orthopedic implants //PloS one. – 2013. – T. 8. – №. 4. – C. e61633.
48. Merritt K., Brown S. A. Effect of proteins and pH on fretting corrosion and metal ion release //Journal of biomedical materials research. – 1988. – T. 22. – №. 2. – C. 111-120.
49. Fricker D. C., Shivanatii R. Fretting corrosion studies of universal femoral head prostheses and cone taper spigots //Biomaterials. – 1990. – T. 11. – №. 7. – C. 495-500.
50. Xulin S. et al. Fretting corrosion resistance and fretting corrosion product cytocompatibility of ferritic stainless steel //Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials. – 1997. – T. 34. – №. 1. – C. 9-14.
51. Marti A. Cobalt-base alloys used in bone surgery //Injury. – 2000. – T. 31. – C. D18-D21.
52. Sahoo P., Das S. K., Davim J. P. Tribology of materials for biomedical applications //mechanical behaviour of biomaterials. – Woodhead Publishing, 2019. – C. 1-45.
53. Goharian A., Abdullah M. R. Bioinert metals (stainless steel, titanium, cobalt chromium) //Trauma Plating Systems. – 2017. – T. 115.
54. Watanabe K. et al. Cobalt–chromium alloy has superior antibacterial effect than titanium alloy: in vitro and in vivo studies //Spine. – 2021. – T. 46. – №. 17. – C. E911.

55. Plecko M. et al. Osseointegration and biocompatibility of different metal implants-a comparative experimental investigation in sheep //BMC musculoskeletal disorders. – 2012. – T. 13. – C. 1-12.
56. Vaicelyte A. et al. Cobalt–Chromium dental alloys: Metal exposures, toxicological risks, CMR classification, and EU regulatory framework //Crystals. – 2020. – T. 10. – №. 12. – C. 1151.
57. Khatayevich D. et al. Biofunctionalization of materials for implants using engineered peptides //Acta biomaterialia. – 2010. – T. 6. – №. 12. – C. 4634-4641.
58. Bommala V. K., Krishna M. G., Rao C. T. Magnesium matrix composites for biomedical applications: A review //Journal of Magnesium and Alloys. – 2019. – T. 7. – №. 1. – C. 72-79.
59. Brar H. S. et al. Magnesium as a biodegradable and bioabsorbable material for medical implants //Jom. – 2009. – T. 61. – C. 31-34.
60. Witte F. The history of biodegradable magnesium implants: a review //Acta biomaterialia. – 2010. – T. 6. – №. 5. – C. 1680-1692.
61. Kirkland N. T. Magnesium biomaterials: past, present and future //Corrosion Engineering, Science and Technology. – 2012. – T. 47. – №. 5. – C. 322-328.
62. Kraus T. et al. The influence of biodegradable magnesium implants on the growth plate //Acta biomaterialia. – 2018. – T. 66. – C. 109-117.
63. Naujokat H. et al. Osteosynthesis of a cranio-osteoplasty with a biodegradable magnesium plate system in miniature pigs //Acta biomaterialia. – 2017. – T. 62. – C. 434-445.
64. Liu C. et al. Biodegradable magnesium alloys developed as bone repair materials: a review //Scanning. – 2018. – T. 2018.
65. Chakraborty Banerjee P. et al. Magnesium implants: Prospects and challenges //Materials. – 2019. – T. 12. – №. 1. – C. 136.
66. Veiga C., Davim J. P., Loureiro A. J. R. Properties and applications of titanium alloys: a brief review //Rev. Adv. Mater. Sci. – 2012. – T. 32. – №. 2. – C. 133-148.
67. Davis J. R. et al. Handbook of materials for medical devices //(No Title). – 2003.
68. Ding R., Guo Z. X., Wilson A. Microstructural evolution of a Ti–6Al–4V alloy during thermomechanical processing //Materials Science and Engineering: A. – 2002. – T. 327. – №. 2. – C. 233-245.
69. Elias C. N. et al. Mechanical and clinical properties of titanium and titanium-based alloys (Ti G2, Ti G4 cold worked nanostructured and Ti G5) for biomedical

- applications //Journal of Materials Research and Technology. – 2019. – T. 8. – №. 1. – C. 1060-1069.
70. Wu C. et al. Novel sphene coatings on Ti–6Al–4V for orthopedic implants using sol-gel method //Acta biomaterialia. – 2008. – T. 4. – №. 3. – C. 569-576.
71. Xiong Y. et al. Fatigue behavior and osseointegration of porous Ti-6Al-4V scaffolds with dense core for dental application //Materials & Design. – 2020. – T. 195. – C. 108994.
72. Sharma A. et al. Investigation of electrochemical corrosion behavior of additive manufactured Ti–6Al–4V alloy for medical implants in different electrolytes //Journal of Alloys and Compounds. – 2020. – T. 830. – C. 154620.
73. Fojt J. Ti–6Al–4V alloy surface modification for medical applications //Applied Surface Science. – 2012. – T. 262. – C. 163-167.
74. Yang W. et al. Osteogenic differentiation of bone marrow stromal stem cells on a novel  $\beta$  titanium alloy-based micro-nano composite //Journal of Materials Research and Technology. – 2023. – T. 24. – C. 5864-5875.
75. Delgado-Pujol E. J. et al. Porous beta titanium alloy coated with a therapeutic biopolymeric composite to improve tribomechanical and biofunctional balance //Materials Chemistry and Physics. – 2023. – T. 300. – C. 127559.
76. Hussein M. A. et al. Design and processing of near- $\beta$  Ti–Nb–Ag alloy with low elastic modulus and enhanced corrosion resistance for orthopedic implants //Journal of Materials Research and Technology. – 2023. – T. 24. – C. 259-273.
77. Lubas M., Kulakovska A., Gembara P. A Study of Novel Medical Alloys of the Ti–Zr System //Metal Science and Heat Treatment. – 2016. – T. 58. – C. 417-420.
78. Hsu H. C. et al. The structure and mechanical properties of as-cast Zr–Ti alloys //Journal of alloys and Compounds. – 2009. – T. 488. – №. 1. – C. 279-283.
79. Bönisch M. et al. Thermal stability and phase transformations of martensitic Ti–Nb alloys //Science and Technology of Advanced Materials. – 2013. – T. 14. – №. 5. – C. 055004.
80. Xie F. X. et al. Structural characterization and electrochemical behavior of a laser-sintered porous Ti–10Mo alloy //Corrosion science. – 2013. – T. 67. – C. 217-224.
81. Zhou Y. L., Niinomi M. Ti–25Ta alloy with the best mechanical compatibility in Ti–Ta alloys for biomedical applications //Materials Science and Engineering: C. – 2009. – T. 29. – №. 3. – C. 1061-1065.
82. Park K. H. et al. Electrochemical and mechanical properties of cast Ti–V alloys for dental applications //Int. J. Electrochem. Sci. – 2016. – T. 11. – C. 5552-5563.

83. Santos P. F. et al. Microstructures, mechanical properties and cytotoxicity of low cost beta Ti–Mn alloys for biomedical applications //Acta biomaterialia. – 2015. – T. 26. – C. 366-376.
84. Hsu H. C. et al. Structure and mechanical properties of as-cast Ti–Si alloys //Intermetallics. – 2014. – T. 47. – C. 11-16.
85. Nakai M. et al. Self-adjustment of Young's modulus in biomedical titanium alloys during orthopaedic operation //Materials Letters. – 2011. – T. 65. – №. 4. – C. 688-690.
86. Bordji K. et al. Cytocompatibility of Ti-6Al-4V and Ti-5Al-2.5 Fe alloys according to three surface treatments, using human fibroblasts and osteoblasts //Biomaterials. – 1996. – T. 17. – №. 9. – C. 929-940.
87. Fellah M. et al. Friction and wear behavior of Ti-6Al-7Nb biomaterial alloy //25ème JIFT 2013. – Centre pour la Communication Scientifique Directe, 2013. – T. 4. – C. 374-384.
88. Lee D. G. et al. Bio-compatible properties of Ti–Nb–Zr titanium alloy with extra low modulus //Journal of Biomaterials and Tissue Engineering. – 2016. – T. 6. – №. 10. – C. 798-801.
89. Takahashi K. et al. Biomechanical evaluation of Ti-Nb-Sn alloy implants with a low Young's modulus //International journal of molecular sciences. – 2015. – T. 16. – №. 3. – C. 5779-5788.
90. Nouri A., Hodgson P. D., Wen C. E. Effect of process control agent on the porous structure and mechanical properties of a biomedical Ti–Sn–Nb alloy produced by powder metallurgy //Acta biomaterialia. – 2010. – T. 6. – №. 4. – C. 1630-1639.
91. Zhang, D. C., Mao, Y. F., Li, Y. L., Li, J. J., Yuan, M., & Lin, J. G. (2013). Effect of ternary alloying elements on microstructure and superelasticity of Ti–Nb alloys. Materials Science and Engineering: A, 559, 706–710. doi:10.1016/j.msea.2012.09.012
92. De Almeida L. H. et al. Corrosion resistance of aged Ti–Mo–Nb alloys for biomedical applications //Journal of Alloys and Compounds. – 2014. – T. 615. – C. S666-S669.
93. Cimpean A. et al. Osteoblast cell behavior on the new beta-type Ti–25Ta–25Nb alloy //Materials Science and Engineering: C. – 2012. – T. 32. – №. 6. – C. 1554-1563.
94. Ehtemam-Haghighi S. et al. Evaluation of mechanical and wear properties of Ti<sub>x</sub>Nb<sub>7</sub>Fe alloys designed for biomedical applications //Materials & Design. – 2016. – T. 111. – C. 592-599.
95. Han J. H. et al. Sn effect on microstructure and mechanical properties of ultrafine eutectic Ti–Fe–Sn alloys //Journal of alloys and compounds. – 2009. – T. 483. – №. 1-2. – C. 44-46.

96. Tong Y. X. et al. Effects of Sn and Zr on the microstructure and mechanical properties of Ti-Ta-based shape memory alloys //Journal of materials engineering and performance. – 2011. – T. 20. – C. 762-766.
97. Santos P. et al. Development of New Ti-Mn-Mo Alloys for Use in Biomedical Applications //Proceedings of the 13th World Conference on Titanium. – Hoboken, NJ, USA : John Wiley & Sons, Inc., 2016. – C. 1741-1745.
98. Kang D. K. et al. Properties of experimental titanium-silver-copper alloys for dental applications //Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials. – 2009. – T. 90. – №. 1. – C. 446-451.
99. Koike M. et al. Evaluation of Ti-Cr-Cu alloys for dental applications //Journal of materials engineering and performance. – 2005. – T. 14. – C. 778-783.
100. Wang P. et al. Microstructure and mechanical properties of a newly developed low Young's modulus Ti-15Zr-5Cr-2Al biomedical alloy //Materials Science and Engineering: C. – 2017. – T. 72. – C. 536-542.
101. Elshalakany A. B. et al. Microstructure and mechanical properties of Ti-Mo-Zr-Cr biomedical alloys by powder metallurgy //Journal of Materials Engineering and Performance. – 2017. – T. 26. – C. 1262-1271.
102. Nag S., Banerjee R., Fraser H. L. Microstructural evolution and strengthening mechanisms in Ti-Nb-Zr-Ta, Ti-Mo-Zr-Fe and Ti-15Mo biocompatible alloys //Materials Science and Engineering: C. – 2005. – T. 25. – №. 3. – C. 357-362.
103. Kuroda D. et al. Design and mechanical properties of new  $\beta$  type titanium alloys for implant materials //Materials Science and Engineering: A. – 1998. – T. 243. – №. 1-2. – C. 244-249.
104. Hao Y. L. et al. Elastic deformation behaviour of Ti-24Nb-4Zr-7.9 Sn for biomedical applications //Acta biomaterialia. – 2007. – T. 3. – №. 2. – C. 277-286.
105. Nnamchi P. S. et al. Mechanical and electrochemical characterisation of new Ti-Mo-Nb-Zr alloys for biomedical applications //Journal of the mechanical behavior of biomedical materials. – 2016. – T. 60. – C. 68-77.
106. Stenlund P. et al. Bone response to a novel Ti-Ta-Nb-Zr alloy //Acta biomaterialia. – 2015. – T. 20. – C. 165-175.
107. Lin J. et al. Novel Ti-Ta-Hf-Zr alloys with promising mechanical properties for prospective stent applications //Scientific reports. – 2016. – T. 6. – №. 1. – C. 37901.
108. Hynowska A. et al. Novel Ti-Zr-Hf-Fe nanostructured alloy for biomedical applications //Materials. – 2013. – T. 6. – №. 11. – C. 4930-4945.

109. Murayama Y. et al. Mechanical properties of Ti-Cr-Sn-Zr alloys with low Young's modulus //Materials Science Forum. – Trans Tech Publications Ltd, 2012. – T. 706. – C. 553-556.
110. Guo S. et al. Microstructural evolution and mechanical behavior of metastable  $\beta$ -type Ti–25Nb–2Mo–4Sn alloy with high strength and low modulus //Progress in Natural Science: Materials International. – 2013. – T. 23. – №. 2. – C. 174-182.
111. Zhao X. et al. Microstructures and mechanical properties of metastable Ti–30Zr–(Cr, Mo) alloys with changeable Young's modulus for spinal fixation applications //Acta biomaterialia. – 2011. – T. 7. – №. 8. – C. 3230-3236.
112. Geetha M. AK singh, R. Asokamani, AK Gogia //Mater. sci. – 2009. – T. 54. – №. 3. – C. 397-425.
113. Williams D. F. On the mechanisms of biocompatibility //Biomaterials. – 2008. – T. 29. – №. 20. – C. 2941-2953.
114. Katz J. L. Anisotropy of Young's modulus of bone //Nature. – 1980. – T. 283. – №. 5742. – C. 106-107.
115. Hallab N. J. et al. Lymphocyte responses in patients with total hip arthroplasty //Journal of Orthopaedic Research. – 2005. – T. 23. – №. 2. – C. 384-391.
116. Sargeant A., Goswami T. Hip implants–paper VI–ion concentrations //Materials & Design. – 2007. – T. 28. – №. 1. – C. 155-171.
117. Viceconti M. et al. Large-sliding contact elements accurately predict levels of bone–implant micromotion relevant to osseointegration //Journal of biomechanics. – 2000. – T. 33. – №. 12. – C. 1611-1618.
118. Albrektsson T., Jansson T., Lekholm U. Osseointegrated dental implants //Dental Clinics of North America. – 1986. – T. 30. – №. 1. – C. 151-174.
119. Albrektsson T., Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration //European spine journal. – 2001. – T. 10. – №. Suppl 2. – C. S96-S101.
120. Breinemark P. I. et al. Intraosseous anchorage of dental prostheses. part 1: experimental studies //Scand I Plast Reconstr Surg. – 1969. – T. 3. – №. 2. – C. 81-100.
121. Yoneyama T., Miyazaki S. Shape memory alloys for biomedical applications //Cambridge: Woodhead Publ. Ltd, 2009. – P. 338.

122. Жукова Ю.С. Получение и исследование сверхупругих сплавов Ti-Nb-Ta, Ti-Nb-Zr медицинского назначения: автореф. дис. канд. техн. наук. – М.: Москва, 2013. – 167 с.
123. Thompson S. A. An overview of nickel–titanium alloys used in dentistry //International endodontic journal. – 2000. – Т. 33. – №. 4. – С. 297-310.
124. Sifakakis I., Bourauel C. Nickel–titanium products in daily orthodontic practice //Orthodontic Applications of Biomaterials. – Woodhead Publishing, 2017. – С. 107-
125. Sharma N., Raj T., Jangra K. Applications of nickel-titanium alloy //Journal of Engineering and Technology. – 2015. – Т. 5. – №. 1. – С. 1.
126. Costa M., Abbracchio M. P., Simmons-Hansen J. Factors influencing the phagocytosis, neoplastic transformation, and cytotoxicity of particulate nickel compounds in tissue culture systems //Toxicology and applied pharmacology. – 1981. – Т. 60. – №. 2. – С. 313-323.
127. Kokorev O. V. et al. In vitro and in vivo evaluation of porous TiNi-based alloy as a scaffold for cell tissue engineering //Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology. – 2016. – Т. 44. – №. 2. – С. 704-709.
128. Nakaş G. İ., Dericioglu A. F., Bor Ş. Fatigue behavior of TiNi foams processed by the magnesium space holder technique //Journal of the mechanical behavior of biomedical materials. – 2011. – Т. 4. – №. 8. – С. 2017-2023.
129. Hagemann R. et al. Design, processing, and characterization of nickel titanium micro-actuators for medical implants //Journal of Laser Applications. – 2015. – Т. 27. – №. S2. – С. S29203.
130. Miyazaki S., Kim H. Y. Basic characteristics of titanium–nickel (Ti–Ni)-based and titanium–niobium (Ti–Nb)-based alloys //Shape Memory and Superelastic Alloys. – Woodhead Publishing, 2011. – С. 15-42.
131. Preparation, structural and microstructural characterization of Ti-25Ta-10Zr alloy for biomedical applications / F. F. Quadros, P.A. Bazaglia, J. S. K. Santos et al. // Journal of Materials Research and Technology. – 2019. – Т. 8. – С. 4108-4114.
132. Microstructure and selected mechanical properties of aged Ti-15Zr-based alloys for biomedical applications / D.R.N. Correa, P.A.B. Kuroda, M.L. Lourenco et al. // Mater Sci Eng T. – 2018. – С. 762-771.
133. Ramires P.A., Romito A., Cosentino F. The influence of titania/ hydroxyapatite composite coatings on in vitro osteoblasts behavior // Biomaterials. – 2001. – V. 22. – P. 1467-1474.

134. Miyazaki S., Kim H. Y., Hosoda H. Development and characterization of Ni-free Ti-base shape memory and superelastic alloys // *Mater Sci.* – 2006. – V. 43. – P. 438-440.
135. Development of non-equiatomic Ti-Nb-Ta-Zr-Mo high-entropy alloys for metallic biomaterials / T. Hori, T. Nagase, M. Todai et al. // *Scripta Material.* – 2019. – V. 172. – P. 83-87.
136. Manufacturing and Characterization of Novel Ti-Zr-Based Shape Memory Alloys / A. Konopatsky, V. Brailovski, M. Filonov et al. // *Materials Today.* – 2017. – V. 4. – P. 4856-4860.
137. Effect of Ta addition on the electrochemical behavior and functional fatigue life of metastable Ti-Zr-Nb based alloy / Y. S. Zhukova, A. S. Konopatsky, S. Dubinskiy et al. // *Journal of alloys and compounds.* – 2018. – V. 748. – P. 51-56.
138. Sheremetyev V. et al. Optimization of a thermomechanical treatment of superelastic Ti-Zr-Nb alloys for the production of bar stock for orthopedic implants // *Journal of Alloys and Compounds.* – 2022. – T. 928. – C. 167143.
139. Lukashevich K. et al. Effect of Cooling and Annealing Conditions on the Microstructure, Mechanical and Superelastic Behavior of a Rotary Forged Ti–18Zr–15Nb (at.%) Bar Stock for Spinal Implants // *Journal of Functional Biomaterials.* – 2022. – T. 13. – №. 4. – C. 259.
140. Zhukova Y. et al. The Electrochemical and Mechanical Behavior of Bulk and Porous Superelastic Ti–Zr-Based Alloys for Biomedical Applications // *Materials.* – 2019. – T. 12. – №. 15. – C. 2395.
141. Basova T. V. et al. The use of noble metal coatings and nanoparticles for the modification of medical implant materials // *Materials & Design.* – 2021. – T. 204. – C. 109672.
142. Chen Z. et al. A multinuclear metal complex based DNase-mimetic artificial enzyme: matrix cleavage for combating bacterial biofilms // *Angewandte Chemie.* – 2016. – T. 128. – №. 36. – C. 10890-10894.
143. Natan M. et al. Two are better than one: Combining ZnO and MgF<sub>2</sub> nanoparticles reduces *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* biofilm formation on cochlear implants // *Advanced Functional Materials.* – 2016. – T. 26. – №. 15. – C. 2473-2481.
144. Pham V. T. H. et al. Graphene induces formation of pores that kill spherical and rod-shaped bacteria // *ACS nano.* – 2015. – T. 9. – №. 8. – C. 8458-8467.

145. van de Lagemaat M. et al. Comparison of methods to evaluate bacterial contact-killing materials //Acta biomaterialia. – 2017. – T. 59. – C. 139-147.
146. Tripathy A. et al. Natural and bioinspired nanostructured bactericidal surfaces //Advances in colloid and interface science. – 2017. – T. 248. – C. 85-104.
147. Pandit S. et al. Vertically aligned graphene coating is bactericidal and prevents the formation of bacterial biofilms //Advanced Materials Interfaces. – 2018. – T. 5. – №. 7. – C. 1701331.
148. Ye J. et al. Formation of a ZnO nanorods-patterned coating with strong bactericidal capability and quantitative evaluation of the contribution of nanorods-derived puncture and ROS-derived killing //Bioactive Materials. – 2022. – T. 11. – C. 181-191.
149. Ye J. et al. Eco-friendly bacteria-killing by nanorods through mechano-puncture with top selectivity //Bioactive Materials. – 2022. – T. 15. – C. 173-184.
150. Wu Z. et al. Microbial resistance to nanotechnologies: An important but understudied consideration using antimicrobial nanotechnologies in orthopaedic implants //Bioactive Materials. – 2022.
151. Banerjee I., Pangule R. C., Kane R. S. Antifouling coatings: recent developments in the design of surfaces that prevent fouling by proteins, bacteria, and marine organisms //Advanced materials. – 2011. – T. 23. – №. 6. – C. 690-718.
152. Page K., Wilson M., Parkin I. P. Antimicrobial surfaces and their potential in reducing the role of the inanimate environment in the incidence of hospital-acquired infections //Journal of materials chemistry. – 2009. – T. 19. – №. 23. – C. 3819-3831.
153. Cui X. et al. Inhibition of bacterial adhesion on hydroxyapatite model teeth by surface modification with PEGMA-Phosmer copolymers //ACS Biomaterials Science & Engineering. – 2016. – T. 2. – №. 2. – C. 205-212.
154. Harris L. G. et al. Staphylococcus aureus adhesion to titanium oxide surfaces coated with non-functionalized and peptide-functionalized poly (L-lysine)-grafted-poly (ethylene glycol) copolymers //Biomaterials. – 2004. – T. 25. – №. 18. – C. 4135-4148.
155. Ulbricht J., Jordan R., Luxenhofer R. On the biodegradability of polyethylene glycol, polypeptoids and poly (2-oxazoline) s //Biomaterials. – 2014. – T. 35. – №. 17. – C. 4848-4861.
156. Kang S. et al. Development of anti-biofouling interface on hydroxyapatite surface by coating zwitterionic MPC polymer containing calcium-binding moieties to prevent oral bacterial adhesion //Acta biomaterialia. – 2016. – T. 40. – C. 70-77.

157. Li M. et al. Thiol-ol chemistry for grafting of natural polymers to form highly stable and efficacious antibacterial coatings //ACS applied materials & interfaces. – 2017. – T. 9. – №. 2. – C. 1847-1857.
158. Xiong M. H. et al. Delivery of antibiotics with polymeric particles //Advanced drug delivery reviews. – 2014. – T. 78. – C. 63-76.
159. Castelletto V. et al. Peptide-stabilized emulsions and gels from an arginine-rich surfactant-like peptide with antimicrobial activity //ACS applied materials & interfaces. – 2019. – T. 11. – №. 10. – C. 9893-9903.
160. Hickok N. J., Shapiro I. M. Immobilized antibiotics to prevent orthopaedic implant infections //Advanced drug delivery reviews. – 2012. – T. 64. – №. 12. – C. 1165-1176.
161. Enges& x 000 E 6 ter L. et al. Antibiotic prophylaxis in total hip arthroplasty //Acta Orthopaedica Scandinavica. – 2003. – T. 74. – №. 6. – C. 644-651.
162. Alt V. et al. The effects of combined gentamicin–hydroxyapatite coating for cementless joint prostheses on the reduction of infection rates in a rabbit infection prophylaxis model //Biomaterials. – 2006. – T. 27. – №. 26. – C. 4627-4634.
163. Popat K. C. et al. Decreased Staphylococcus epidermis adhesion and increased osteoblast functionality on antibiotic-loaded titania nanotubes //Biomaterials. – 2007. – T. 28. – №. 32. – C. 4880-4888.
164. Romano C. L. et al. Antibiofilm agents and implant-related infections in orthopaedics: where are we? //Journal of chemotherapy. – 2013. – T. 25. – №. 2. – C. 67-80.
165. Oliveira W. F. et al. Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis infections on implants //Journal of Hospital Infection. – 2018. – T. 98. – №. 2. – C. 111-117.
166. Zimmerli W., Moser C. Pathogenesis and treatment concepts of orthopaedic biofilm infections //FEMS Immunology & Medical Microbiology. – 2012. – T. 65. – №. 2. – C. 158-168.
167. Toms A. D. et al. The management of peri-prosthetic infection in total joint arthroplasty //The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume. – 2006. – T. 88. – №. 2. – C. 149-155.
168. Qu Y. et al. Antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from very low birth weight babies: comprehensive comparisons of bacteria at different stages of biofilm formation //Annals of clinical microbiology and antimicrobials. – 2010. – T. 9. – C. 1-12.

169. Aurore V. et al. Silver-nanoparticles increase bactericidal activity and radical oxygen responses against bacterial pathogens in human osteoclasts //Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. – 2018. – T. 14. – №. 2. – C. 601-607.
170. Knetsch M. L. W., Koole L. H. New strategies in the development of antimicrobial coatings: the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles //Polymers. – 2011. – T. 3. – №. 1. – C. 340-366.
171. Marambio-Jones C., Hoek E. M. V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment //Journal of nanoparticle research. – 2010. – T. 12. – C. 1531-1551.
172. Loiseau A. et al. Silver-based plasmonic nanoparticles for and their use in biosensing //Biosensors. – 2019. – T. 9. – №. 2. – C. 78.
173. Abdalla S. S. I. et al. Antibacterial and anti-biofilm biosynthesised silver and gold nanoparticles for medical applications: Mechanism of action, toxicity and current status //Current drug delivery. – 2020. – T. 17. – №. 2. – C. 88-100.
174. Jia Z. et al. Constructing multilayer silk protein/Nanosilver biofunctionalized hierarchically structured 3D printed Ti6Al4 V scaffold for repair of infective bone defects //ACS Biomaterials Science & Engineering. – 2018. – T. 5. – №. 1. – C. 244-261.
175. Xie K. et al. Long-term prevention of bacterial infection and enhanced osteoinductivity of a hybrid coating with selective silver toxicity //Advanced healthcare materials. – 2019. – T. 8. – №. 5. – C. 1801465.
176. Rice K. M. et al. A review of the antimicrobial potential of precious metal derived nanoparticle constructs //Nanotechnology. – 2019. – T. 30. – №. 37. – C. 372001.
177. Demann E. T. K., Stein P. S., Haubenreich J. E. Gold as an implant in medicine and dentistry //Journal of long-term effects of medical implants. – 2005. – T. 15. – №. 6.
178. Moreno-Álvarez S. A. et al. Preparation and bactericide activity of gallic acid stabilized gold nanoparticles //Journal of Nanoparticle Research. – 2010. – T. 12. – C. 2741-2746.
179. Gu X. et al. Preparation and antibacterial properties of gold nanoparticles: A review //Environmental Chemistry Letters. – 2021. – T. 19. – C. 167-187.
180. Hakamada M., Taniguchi S., Mabuchi M. Antibacterial activity of nanoporous gold against Escherichia coli and Staphylococcus epidermidis //Journal of Materials Research. – 2017. – T. 32. – №. 9. – C. 1787-1795.

181. TP S. D., Zhang Y., Yu H. Antibacterial Activity and Cytotoxicity of Gold (I) and (III) Ions and Gold Nanoparticles //Biochemistry & Pharmacology: Open Access. – 2015. – T. 4. – №. 6. – C. 199-199.
182. Zheng K., Setyawati M. I., Leong D. T. Xie JJA //Antimicrobial gold nanoclusters. ACS Nano. – 2017. – T. 11. – №. 7. – C. 6904-10.
183. Gupta A. et al. Ultrastable and biofunctionalizable gold nanoparticles //ACS applied materials & interfaces. – 2016. – T. 8. – №. 22. – C. 14096-14101.
184. Thihe V. C., Njobeh P. B., Mhlanga S. D. Optimization of commercial antibiotic agents using gold nanoparticles against toxigenic *Aspergillus* spp //Materials Today: Proceedings. – 2015. – T. 2. – №. 7. – C. 4136-4148.
185. Fayaz A. M. et al. Vancomycin bound biogenic gold nanoparticles: a different perspective for development of anti VRSA agents //Process biochemistry. – 2011. – T. 46. – №. 3. – C. 636-641.
186. Vidya S. M. et al. Preparation of gold nanoparticles by novel bacterial exopolysaccharide for antibiotic delivery //Life sciences. – 2016. – T. 153. – C. 171-179.
187. Shamaila S. et al. Gold nanoparticles: an efficient antimicrobial agent against enteric bacterial human pathogen //Nanomaterials. – 2016. – T. 6. – №. 4. – C. 71.
188. Tuval T., Gedanken A. A microwave-assisted polyol method for the deposition of silver nanoparticles on silica spheres //Nanotechnology. – 2007. – T. 18. – №. 25. – C. 255601.
189. He Y. et al. Fabrication of a bio-instructive scaffold conferred with a favorable microenvironment allowing for superior implant osseointegration and accelerated in situ vascularized bone regeneration via type H vessel formation //Bioactive Materials. – 2022. – T. 9. – C. 491-507.
190. Choi O. et al. Interactions of nanosilver with *Escherichia coli* cells in planktonic and biofilm cultures //Water research. – 2010. – T. 44. – №. 20. – C. 6095-6103.