АҢДАТПА

«6D074000-Наноматериалы и нанотехнологии» мамандығы бойынша Философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін диссертация

Талипова Айжан Бериккызы

Бактерияды целлюлоза, гидроксиаппатит және наноантисептиктердің негізіндегі биоактивті композиттік материал: құрылымы мен қасиеті

Диссертациялық жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс $Ti_3C_2T_x$MXene және гидроксиапатит (ГАП) нанобөлшектері енгізілген бактериялық целлюлозаның (БЦ) гидрогельді нанофибриллярлы қабықшасы негізінде композиттік материалдарды алу әдісін эксперименттік тұрғыда әзірлеуге арналған. Алынған нанокомпозиттердің құрылымдық-фазалық күйі, морфологиялық ерекшеліктері, антибактериялық әсерінің сипаттамалары мен *in vitro* жағдайындағы биосәйкестілігі жан-жақты зерттелді.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Наноматериалдар мен биомедициналық инженерияның қазіргі даму кезеңі функционалдық тиімділік пен биосәйкестілікті үйлестіретін антимикробтық құрылымдарды белсенді түрде әзірлеумен сипатталады. Бұл, әсіресе, биоқабықша түзетін антибиотикке төзімді патогендер әсернінен пайда болатын жарақаттық инфекцияларға қарсы қолдануға арналған материалдар үшін аса өзекті болып табылады. Мұндай нанокомпозиттік материалдарды жасаудағы инновациялық тәсілдер жаңа бейорганикалық антисептикалық компоненттерді қолдануды немесе биоматериалдарды биоактивті иондармен модификациялауды көздейді. Бұл тек антимикробтық белсенділікті қамтамасыз етіп қана қоймай, сонымен қатар тіндерде бақыланатын биологиялық жауапты индукциялау арқылы жараның жазылу үдерісін ынталандыруға мүмкіндік береді. Аталған бағыттағы көптеген зерттеулердің нысаны ретінде аса жұқа үшөлшемді наноторлы құрылымға ие биополимер - БЦ негізіндегі гидрогельді жаралық жабындар қарастырылады. Алайда, БЦ негізіндегі материалдар жаралық инфекцияға қарсы көбіне тек физикалық тосқауыл қызметін атқарады, осыған байланысты биоқабықшалардың жара аймағында түзілуіне жол бермейтін және/немесе олардың ыдырауын қамтамасыз ететін, сонымен қатар тері регенерациясын ынталандыратын бифункционалды платформаларды әзірлеуге бағытталған баламалы стратегияларды дамыту қажеттілігі туындайды. Мұндай платформаның перспективалы компоненттерінің бірі - өтпелі металдардың карбидтері, нитридтері және карбонитридтері тобына жататын екіөлшемді (2D) наноматериалдар - MXene-дер болып табылады. Қазіргі таңда MXene-дер немесе олардың негізіндегі материалдар биоқабықшалардың түзілуін тежеуге және тіпті олардың деструкциясына ықпал ететіні жөнінде үміт күттіретін ғылыми деректер бар.

Сонымен қатар, MXene-дердің жоғары концентрацияларында цитоуыттылық қасиет көрсетуі мүмкін екендігі жөнінде деректер бар, бұл олардың кейбір медициналық қолданылу аясын шектейді. Функционалдық тиімділік пен биосәйкестілік арасындағы тепе-теңдікті сақтау мәселесі композит құрамына ГАП енгізу арқылы шешілуі мүмкін, себебі ГАП цитоуыттылық деңгейін төмендетіп, тіндердің регенерациясы үшін қажетті

кальций арқылы жүзеге асатын коагуляция механизмдері негізінде жараның жазылу үдерісін жеделдетуге қабілетті. MXene мен ГАП-ты БЦ каркасына біріктіру MXene-дердің айқын антимикробтық әсерін ГАП-тың биоактивті қасиеттерімен үйлестіріп, көпфункционалды платформа қалыптастыруға мүмкіндік береді деп болжанады.

Аталған бағыттағы зерттеулердің белсенді жүргізілуіне қарамастан, құрамында ГАП және MXene нанобөлшектері бір мезгілде енгізілген БЦ негізіндегі композиттер туралы ғылыми мәліметтер қазіргі таңда жоқ. Бұған дейін тек екікомпонентті жүйелер - БЦ/MXene, БЦ/ГАП және ГАП/MXene - туралы ғана хабарланған. Осыған байланысты БЦ/MXene/ГАП гибридті наноматериалын синтездеу әдісін әзірлеу қажеттілігі туындайды, бұл процестің барлық кезеңдерін мұқият оңтайландыруды талап етеді. Әсіресе әрбір компоненттің қалыптасу жағдайларын дұрыс таңдауға, оларды енгізу реттілігіне және органикалық матрица мен бейорганикалық нанофазалар арасындағы тұрақты өзара әрекеттесуді қамтамасыз етуге ерекше назар аудару қажет. Сонымен қатар, композитті алу әдісі бактериялық целлюлозаның гельдік күйін және оның нанофибриллярлы құрылымын сақтауды көздеуі тиіс, себебі дәл осы күйде материал өзіне тән физика-химиялық қасиеттерін толық көрсете алады.

Жұмыстың мақсаты: Бактериялық целлюлоза, MXene және гидроксиапатит негізінде алынған үшкомпонентті нанокомпозиттік материалдың құрылымдық ерекшеліктері мен антимикробтық қасиеттерін әзірлеу және жан-жақты сипаттау.

Зерттеу міндеттері:

– меласса қосылған қоректік орта негізінде алынған БЦ-ның гельді қабықшаның құрылымдық және механикалық қасиеттерін талдау;

– MXene және гидроксиапатитпен арматураланған бактериялық целлюлоза негізіндегі композиттік материалдарды алу;

– MXene мен гидроксиапатит нанокешендері интеркаляцияланғаннан кейін БЦ нано гель-үлдірінің элементтік, фазалық және функционалдық құрамын, сондай-ақ морфологиясын зерттеу;

– композиттік гидрогельдің құрылымдық және функционалдық қасиеттерін сақтауды қамтамасыз ететін стерилизациялау әдісін таңдау;

– үшкомпонентті композиттік материалдың антимикробтық және антибиоқабықшалық әсерінің көрініс беру ерекшеліктерін *Time-kill* тестінде және созылмалы жаралық биоқабықша моделінде (LCWB) зерттеу;

– *in vitro* жағдайында үшкомпонентті композиттік материалдың цитоуыттылығы мен биосәйкестілігін анықтау.

Зерттеу объектілері: БЦ гель-пленкалары, сондай-ақ оның құрамына енгізілген ГАП және $Ti_3C_2T_x$ MXene нанобөлшектері бар композиттердің эксперименттік үлгілері.

Зерттеу әдістері: БЦ алу - беткі культивирлеу арқылы жүргізілді; $Ti_3C_2T_x$MXene алу - химиялық травление әдісі; ГАП химиялық тұндыру тәсілімен синтезделді; БЦ/ГАП композиттері *in situ* және *ex situ* модификациялары арқылы дайындалды; ГАП/MXene гибридтері физика-химиялық гибридизация әдісімен алынды; БЦ/ГАП/MXene және БЦ/MXene композиттері *ex situ* тәсілі арқылы қалыптастырылды. Плёнкалар мен

композиттердің морфологиясы сканерлейтін электрондық микроскопия (JSM-7800F) көмегімен зерттелді. Құрылымдық-фазалық күйі өткізгіш электрондық микроскопия және рентгеноструктуралық талдау әдістерімен анықталды. Функционалдық құрам ИК-спектроскопия (Bruker Alpha II FTIR) арқылы, ал элементтік құрам мен кеңістіктік таралу энергодисперсиялық рентгендік спектроскопия (JEOL JED-2300T CENTURIO SDD) арқылы зерттелді. Композиттердің кристалдық құрылымы рентгендік дифракция (XRD) (PANalytical Empyrean, Malvern Panalytical) көмегімен талданды. Химиялық құрам жоғары айырымды рентген фотоэлектрондық спектроскопия (HR-XPS) арқылы анықталды. Плёнкалардың механикалық беріктігі «Instron» созылу машинасында бағаланды. Антибактериялық белсенділік Time-kill тесті арқылы, ал антибиоқабықтық белсенділік микропланшеттік әдіспен және созылмалы жара биоқабығының *in vitro* LCWB моделінде зерттелді. Биосәйкестілік NIH3T3 фибробласттары жасушаларының өміршеңдігін, адгезивтік қасиеттерін, метаболикалық белсенділігін, морфологиясы мен пролиферациясын талдау арқылы бағаланды.

Зерттеу нәтижелерінің ғылыми жаңалығы.

БЦ/ГАП/Mxene негізінде антисептикалық, антибиоқабықшалық және антиоксиданттық әсерге ие көпфункционалды жаралық жабын жасауға арналған жаңа нанокомпозиттік материал алынды.

Алғаш рет ГАП/MXene кешенін бактериялық целлюлоза матрицасына *ex situ* әдісімен енгізу екіөлшемді титан карбидінің тотығуын барынша төмендететіні және БЦ-ның наноталшықты гидрогельді құрылымының сақталуын қамтамасыз ететіні көрсетілді.

Сондай-ақ, алғаш рет меласса негізіндегі экономикалық тиімді қоректік ортаның құрамы ұсынылып, оңтайландырылды. Аталған орта бактериялық целлюлозаның нанофибриллярлы құрылымы мен механикалық беріктігін сақтай отырып, оның биосинтез деңгейінің жоғарылауын қамтамасыз етеді.

Зерттеулердің теориялық маңыздылығы. Нанокомпозиттік материалдың құрамы теориялық және эксперименттік тұрғыда негізделіп, оның антимикробтық және антибиоқабықшалық әсері функционалдық нанофазалардың өзара әрекеттесуімен айқындалатыны көрсетілді.

БЦ-ны алу және оны бейорганикалық биобелсенді компоненттер – MXene және ГАП арқылы функционалдандырудың экономикалық тиімді тәсілдері айқындалды, бұл жоғары антимикробтық белсенділігі, төмен цитоуыттылығы және регенеративтік қасиеттері бар биүйлесімді композиттік материал алуға мүмкіндік береді.

Композиттің функционалдық компоненттерінің антимикробтық әсер ету мүмкін механизмдері ұсынылды, олар MXene арқылы белсенді оттегі түрлерінің түзілуімен және ГАП арқылы фибрин полимерленуінің тежелуіне байланысты биопленка құрылымының бұзылуымен түсіндіріледі.

Зерттеудің практикалық маңыздылығы. Жасушадан тыс матриксті имитациялайтын үшөлшемді нанофибриллярлы БЦ скаффолдына интеграцияланған екіөлшемді MXene наноқұрылымдары мен ГАП нанобөлшектерінің синергетикалық өзара әрекеттесуі көпдәрілікке төзімді микроорганизмдермен инфицирленген созылмалы жараларды емдеуге

арналған жаңа буындағы перспективалы материалды қалыптастырады.

Қант өндірісінің қалдықтары негізінде әзірленіп, оңтайландырылған қоректік орта, сондай-ақ продуцент-штаммды культивирлеудің таңдалған технологиялық параметрлері нанофибриллярлы құрылымы айқын қайталанатын және тұрақты физика-механикалық сипаттамалары бар бактериялық целлюлозаны алуға мүмкіндік береді. Бұл материал функционалдық нанокомпозиттік жүйелерді жасау үшін наноқұрылымданған матрица ретінде бактериялық целлюлозаны ауқымды өнеркәсіптік синтезде қолдануға негіз бола алады.

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:

- 2% меласса қосылған модификацияланған қоректік ортада синтезделген БЦ, тығыз өрілген наноөлшемді целлюлозалық фибриллалардан тұратын үшөлшемді торлы матрица түрінде ұсынылған иерархиялық ұйымдасқан нанофибриллярлы архитектурасымен сипатталады. Аталған құрылым материалдың кеуекті болуын және оның жоғары механикалық беріктігін (37,12 ± 0,2 МПа) қамтамасыз етеді;

- арматуралаушы нанобөлшектердің біркелкі таралуымен сипатталатын наноқұрылымданған композиттік материалдың қалыптасуы алдын ала физика-химиялық гибридизациялау арқылы түзілген ГАП/MXene нанокешенін *ex situ* әдісімен бактериялық целлюлоза матрицасына енгізу нәтижесінде жүзеге асатыны негізделеді;

- белсенді оттек түрлерін генерациялайтын MXene-мен функционалданған БЦ, антимикробтық қасиеттерге ие болады, ал гидроксиапатит арқылы жүзеге асатын фибрин полимеризациясының тежелуі және Ca^{2+} -тәуелді Вар ақуызының инактивациясы жараның жазылу үдерісін жеделдетуге ықпал етеді.

Зерттеу нәтижелері мен қорытындылары:

1. Меласса (2%) қосылған модификацияланған қоректік ортада диаметрі 15–35 нм наноталшықтардан және өлшемі 50–150 нм фибриллярлы шоқтардан тұратын наноқұрылымданған БЦ түзіледі. Алынған материал жоғары механикалық беріктікпен (37,12 ± 0,2 МПа) және серпімділікпен (созылу көрсеткіші 3,28 ± 0,2 %) сипатталады. *Komagataeibacter xylinus* С-3 штаммын аталған ортада 7 тәулік бойы культивирлеуүлдір түзілуінің өнімділігін 12,8 г/л-ге дейін арттыруды және синтезделетін биополимердің өзіндік құнын 5 есеге төмендетуді қамтамасыз етеді.

2. Алдын ала қалыптастырылған ГАП/MXene кешенін *ex situ* әдісімен БЦ матрицасына интеграциялау арқылы БЦ/ГАП/MXene наноқұрылымданған композиттік материалы алынды. Бұл тәсіл БЦ құрылымында ГАП нанобөлшектері мен MXene қабатшаларының біркелкі таралуын қамтамасыз етеді.

3. БЦ/ГАП/MXene композитінің кешенді құрылымдық талдауы барлық компоненттердің наномасштабта сәтті интеграцияланғанын растады. СЭМ және ЭДС әдістері БЦ/MXene матрицасына енгізілген ГАП-тың жекелеген микроагломераттарын (1–5 мкм) анықтап, элементтік карталау Ca және P (ГАП) мен Ti (MXene) элементтерінің колокализациясын көрсетті. ТЕМ және FIB көмегімен алынған көлденең қималардың визуализациясы БЦ мен

MXene қабаттарының шекарасында бекітілген ГАП нанобөлшектерінің (50–200 нм) бар екендігін тікелей дәлелдеп, фазалардың айқын бөлінуімен сипатталатын иерархиялық архитектураны растады. XPS талдауы БЦ/MXene жүйесімен салыстырғанда БЦ/ГАП/MXene композитінде Ti 2p байланыс энергиясының ығысуын (Δ≈2,5эВ) көрсетті, бұл MXene мен ГАП арасындағы күшті интерфейстік электрондық өзара әрекеттесулерді білдіреді. MXene/ГАП енгізілуі үзілуге беріктікті 43 МПа-ға дейін арттырып, салыстырмалы созылуды 8%-ға ұлғайтты.

4. БЦ/ГАП/MXene нанокомпозитін суық плазмамен немесе этилен оксидімен стерилизациялау материалдың құрылымдық және функционалдық қасиеттеріндегі өзгерістерді барынша азайтып, электрөткізгіштік пен фототермиялық жауаптың бастапқы деңгейінің 94–98% сақталуын қамтамасыз ететін басым әдістер ретінде саналды.

5. ГАП/MXene нанокешенін БЦ құрамына енгізу БЦ/ГАП/MXene композитіне көп дәрілерге төзімді клиникалық маңызды патогендерге қарсы жоғары антимикробтық және антибиоқабықшалық белсенділік береді. Бактериялық өсудің бактериостатикалық тежелу дәрежесі *P. aeruginosa* үшін 95% және *S. aureus* үшін 99% құрады. Физиологиялық тұрғыдан релевантты созылмалы жаралық биоқабықша моделінде (LCWB) MRSA өміршеңдігінің 98%-ға, ал FQRPA-ның 86%-ға төмендеуі байқалды.

6. БЦ/ГАП/MXene композитінің наноқұрылымданған архитектурасы NIH-3T3 фибробласттарының материал бетіне жоғары адгезиясын және олардың белсенді пролиферациясын қамтамасыз етеді. Материал қатысуымен өсірілген жасушалар MTT-тестте жоғары метаболикалық белсенділікпен (>81%) сипатталды, бұл айқын цитоуыттылық қасиеттің жоқтығын және композиттің биосәйкестілігінің деңгейін көрсетеді.

Негізгі ғылыми жұмыстар жоспарына байланысы. Диссертациялық жұмыс келесі жобалар аясында орындалды: 1) 2679/ГФ4 «Трансдермалды терапевтік жүйелерді құру үшін бактериалды целлюлоза негізіндегі биокомпозициялық материалдарды әзірлеу»; 2) AP23488697 «Инфекцияланған жараларды емдеуге арналған антибактериалды және регенеративтік қасиеттері күшейтілген гидрогель фототермикалық платформасын құру стратегиясы».

Публикациялар. Диссертацияның негізгі мазмұны 11 басылымда көрініс тапқан, оның ішінде Web of Science және Scopus деректер базаларында индекстелген 4 мақала, ҚР ҒЖБСҚК тізіміне кірген республикалық ғылыми журналдарда 3 мақала, халықаралық конференциялар материалдарында 4 тезис бар.

Автордың жеке үлесі теориялық және эксперименттік зерттеулердің негізгі көлемін орындау, алынған нәтижелерді талдау, интерпретациялау және рәсімдеу, жарияланымдардың рукопистерін дайындау болып табылады.

Диссертацияның көлемі мен құрылымы. Диссертациялық жұмыс компьютерлік мәтіннің 148 бетінде баяндалған және мынадай бөлімдерден тұрады: белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиет, зерттеу материалдары мен әдістері, нәтижелері мен оларды талқылау, қорытынды, 285 атаудан тұратын пайдаланылған дереккөздердің тізімі. Жұмысқа 11 кесте, 41 сурет және 1 қосымша кіреді.