

Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

**НАНОСТРУКТУРИРОВАННЫЕ МАТЕРИАЛЫ, ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ  
К ВОЗДЕЙСТВИЮ ВЫСОКОИНТЕНСИВНОГО  
СФОКУСИРОВАННОГО УЛЬТРАЗВУКА**

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД ОБ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТАХ ПОДГОТОВЛЕННОЙ  
НАУЧНО-КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ (ДИССЕРТАЦИИ)  
аспиранта 4 курса факультета нано- и биомедицинских технологий  
по направлению подготовки 11.06.01  
Электроника, радиотехника и системы связи

**Петрова Арсения Владимировича**

Научный руководитель  
доктор химических наук,  
профессор



Горин Д.А.

Саратов 2018

## Актуальность темы

Активные исследования в области нанотехнологий и наноматериалов и повышенный интерес к их практическому использованию в последние годы обусловлены широкими возможностями, открывающимися применением наноматериалов в целом ряде областей народного хозяйства. Это сверхчувствительные диагностические нано-сенсоры; средства адресной доставки лекарств медицине; самовосстанавливающиеся материалы; грязеотталкивающие материалы, нано-покрытия и протекторы коррозии, тканевая инженерия, методы дезинфекции питьевой воды.

В современной медицине создание систем адресной доставки лекарственных средств в локальную пораженную область, с последующим высвобождением этих препаратов в заданное время и в необходимой дозировке является одним из перспективных направлений развития. Такой подход обещает существенным образом снизить концентрацию лекарственных препаратов в организме в целом и повысить эффективность их воздействия на пораженные участки. Особенно актуальными такие методы могут оказаться при терапии онкологических заболеваний, где токсичность применяемых лекарственных средств оказывает серьезные негативные последствия на организм в целом. Локализация терапевтического воздействия на онкологические поражения позволит снизить, а в ряде случаев, избежать необходимости хирургического вмешательства.

Важной составляющей в решении задач разработки новых наноматериалов и наноконтейнеров для доставки лекарственных средств на их основе, является использование ультразвуковых технологий и, в частности, применение высокоинтенсивного сфокусированного ультразвука – HIFU (HighIntensityFocusedUltrasound).

Несмотря на значительное количество публикаций на эту тему, проблема создания таких контейнеров, остается актуальной, так как к этим средствам

доставки предъявляется целый ряд требований: нетоксичность, биосовместимость и биodeградация, чувствительность к средствам воздействия, позволяющим высвободить заключенные лекарственные средства и др.

В настоящей диссертационной работе реализована концепция создания наноструктурированных материалов, чувствительных к высокоинтенсивному сфокусированному ультразвуку, в рамках которой были изготовлены методом одношагового покрытия и микроконтактной печати герметичных биосовместимых и биоразлагаемых нано и микроразмерных PLA массивов.

**Целью** настоящей работы явилось создание микро- и наноструктур для формирования микро- наноконтейнеров, способных инкапсулировать гидрофильные молекулы, отвечающих требованиям низкой проницаемости, высокой чувствительности к ультразвуковым воздействиям, биосовместимости и биodeградации; способных к высвобождению инкапсулированных грузов под воздействием высокоинтенсивного сфокусированного ультразвукового излучения.

Для реализации поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

- 1) Разработка одноэтапной технологии нанесения дип-покрытий для изготовления свободных биосовместимых массивов решеток микрокамер на основе полимолочной кислоты;
- 2) Изучение процессов in-situ кристаллизации NaCl и RhB внутри микрокамер;
- 3) Разработка установки для исследования воздействия высокоинтенсивного сфокусированного излучения HIFU на микро- и нанообъекты;
- 4) Экспериментальное изучение воздействия высокоинтенсивного сфокусированного ультразвукового излучения на наноконтейнеры на

основе полимолочной кислоты с целью создания технологии высвобождения инкапсулированного в них препарата;

- 5) Исследование воздействия высокоинтенсивного ультразвука на разрушение альгинатных микрокапсул;
- 6) Моделирование процесса распространения ультразвукового пучка в подвижных средах для измерения их расхода (например лимфе, крови, реакционных смесях);
- 7) Разработка установки для комплексного опто-акустического исследования биообъектов в режиме *in-vivo*, а также для исследования воздействия на них HIFU;
- 8) Разработка датчиков для опто-акустических исследований.

### **Научная новизна**

- Разработан новый способ изготовления методом одношагового DIP покрытия и микроконтактной печати герметичных биосовместимых и биоразлагаемых нано и микроразмерных PLA массивов с минимальным пределом производства 500нм и временем изготовления от 5 до 10 секунд.
- Впервые реализована *in-situ* кристаллизация NaCl и RhB внутри отдельных микрокамер (~8-17 пикограмм на одну камеру) с длительной инкапсуляцией (до 14 дней).
- Разработано и запатентовано новое устройство для измерения расхода газообразных и жидких сред в канализирующих системах (например химических реагентов протекающих по трубкам; плазмы, или крови, протекающих по сосудам);
- Разработан и запатентован новый оптоакустический объектив, совмещающий в себе приемо-излучающую ультразвуковую линзу и коаксиально расположенную систему подвода иммерсионной жидкости с размещенным внутри нее оптическим волоконным световодом.

- Разработано лабораторное оборудование, позволяющее производить методом высокоинтенсивного сфокусированного ультразвука высвобождение инкапсулированных лекарственных средств из полилактидных микро- и наноконтейнеров в течение 10-20 секунд.

### **Практическая значимость результатов исследования**

- Разработанный метод измерения расхода реакционной смеси может быть также использован и для медицинских целей, в частности для измерения объемов крови и лимфы, протекающих по сосудам;
- Разработанная установка для воздействия высокоинтенсивного сфокусированного ультразвукового излучения может быть использована (и уже используется в лаборатории «Дистанционно управляемые системы для тераностики», Саратовского госуниверситета) в лабораториях и научных центрах, занимающихся созданием и изучением свойств новых нанокompозитных материалов;
- Разработанная установка для комплексного исследования биологических объектов с помощью оптоакустики и HIFU, может найти применение при медико-биологических исследованиях в медицинских учреждениях, биомедицинских центрах, в вузовских лабораториях. Установка уже используется в лаборатории «Биофотоники» (СколТех, Сколково);
- Разработанные в ходе выполнения диссертации оптоакустические объективы и акустические приемные датчики могут найти применение для оптоакустических исследований в научных лабораториях и центрах, развивающих направление оптоакустики в широком аспекте применений;
- Разработанный метод изготовления и производства микрокамер и капсул на основе полимолочной кислоты может найти применение для формирования систем доставки лекарственных средств.
- Разработанные микрокамеры могут найти широкое применение для медицины, химических и биохимических технологий (например для

технологий одноклеточного уровня, покрытий имплантатов, высвобождения катализаторов и др.)

Результаты диссертационной работы были использованы при реализации программы «Умник», а также программы «Старт» Фонда Содействия развитию Малых Форм Предприятий в Научно-Технической Сфере, а также в образовательной деятельности Саратовского национального исследовательского университета и Сколковского института науки и технологий.

Получены Акты внедрения результатов работы от:

- ООО «Корпорация «СпектрАкустика»;
- ООО «СЭНСОПРИБОР»;

### **Достоверность полученных результатов**

обеспечена применением аттестованных измерительных приборов, а также апробированных методов и методик измерения, воспроизводимостью полученных результатов, применением статистических методов обработки экспериментальных данных, а также оценки погрешностей измерений.

### **Личный вклад автора**

Автор принимал участие в построении плана исследований воздействия высокоинтенсивного сфокусированного ультразвука на микро- и нанообъекты. При непосредственном участии автора были разработаны лабораторные установки для управляемой генерации сфокусированного ультразвукового излучения. Автором были предложены техническое решение по созданию опто-акустического объектива, а также техническое решение по разработке ультразвукового измерителя, защищенные патентами РФ. В соавторстве с коллегами выполнен расчет и моделирование распределения амплитуды акустического поля в движущейся среде. Экспериментальные

исследования мощности сфокусированного ультразвукового пучка выполнены автором самостоятельно. В соавторстве с коллегами была разработана одноэтапная технология нанесения DIP-покрытий для изготовления свободных биосовместимых массивов решеток микрокамер на основе полимолочной кислоты (полилактида) с in-situ кристаллизацией NaCl и RhB внутри отдельных микрокамер и последующим высвобождением содержимого с помощью HIFU излучения. В соавторстве с коллегами были выполнены работы по высвобождению микрочастиц магнетита высокоинтенсивным ультразвуковым воздействием.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 6 работ: одна статья в российском журнале из Перечня ведущих рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ; одна статья – в зарубежном издании (импакт фактор 7.367); две публикации в трудах международных конференций; два патента на изобретения.

### **Объём и структура диссертации**

Диссертация изложена на 86 страницах машинописного текста, содержит 31 рисунок, 1 таблицу. Состоит из введения, 5 глав, заключения и списка литературы, содержащего 141 источник.

**Первая глава** посвящена литературному обзору методов получения структурированных наноматериалов и управления физико-химическими свойствами; методов капсулирования полиэлектролитных микрокапсул и возможности высвобождения инкапсулированных препаратов с помощью высокоинтенсивного сфокусированного ультразвука, а также применению ультразвука в материаловедении, химии и медицине, в том числе для оптоакустической диагностики.

**Вторая глава** посвящена обсуждению технологии изготовления полилактидных микрокамер, инкапсулирования и высвобождения под

действием ультразвука модельного препарата и используемых для этого материалов. Также описывается оборудование, применяемое в экспериментах.

Во втором разделе главы проводится моделирование процесса распространения ультразвуковой волны в движущейся среде; например в движущемся по трубке реактивном растворе, для точного измерения его расхода при изготовлении наноструктурированных материалов, или в движущихся биологических жидкостях для точного измерения скорости их потоков при оптоакустической диагностике в медицине.

Представленная математическая модель расчёта амплитуды поля волнового пучка при наличии движущейся среды позволяет, по заданным характеристикам рассматриваемой системы, оценивать характер распределения в ней волнового ультразвукового поля.

На рисунке 1 приведены распределения амплитуды поля ультразвукового пучка: а) при малой и б) при высокой скорости движения потока, построенные с помощью разработанной модели.

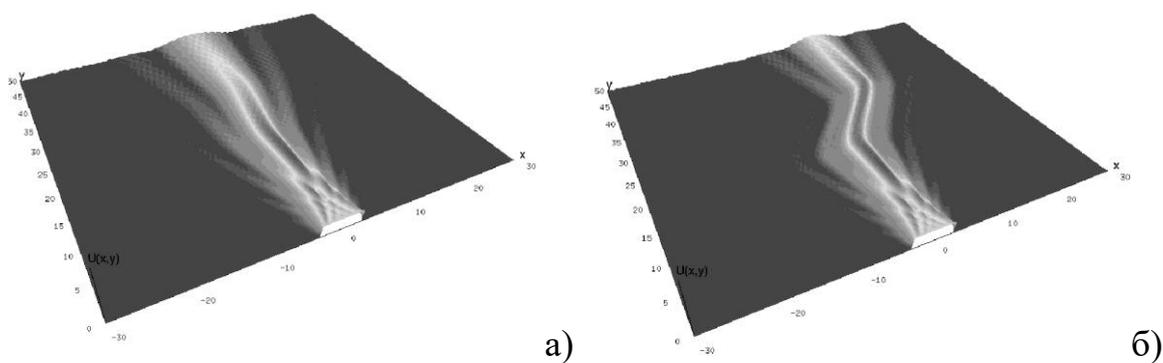


Рис.1. Искривление траектории распространения ультразвукового пучка, пронизывающего участок с движущейся средой; а) с низкой, б) с высокой скоростью движения потока.

**Третья глава** посвящена обсуждению вопросов конструирования и разработки экспериментального оборудования.

В первом разделе главы описывается разработка двух модификаций установки для генерации высокоинтенсивного сфокусированного ультразвукового пучка (HIFU).

Первая модификация предназначена для исследования воздействия HIFU на нанобъекты, и представляет собой комплекс из двух самостоятельных (акустического и электронного) модулей, соединенных коаксиальным кабелем. Электронный модуль является перестраиваемым высокочастотным генератором. Электроакустический преобразователь в акустическом модуле представляет собой сферическую акустическую линзу, выполненную из тонкого слоя пьезоэлектрической керамики. На обе поверхности этой акустической линзы нанесены серебряные электроды. Такой сферический пьезопреобразователь обладает высокой акустической добротностью и генерирует сфокусированный ультразвуковой пучок с фокусным расстоянием 15 мм в воде, которая является акустической средой и звукопроводом. Площадь акустического пучка в фокальной плоскости составляет 1 кв.мм. Плотность ультразвукового пучка в области фокуса может достигать нескольких сотен Ватт на квадратный сантиметр. Схематичное изображение этой установке представлено на рисунке 2, а её фото – на рисунке 3.

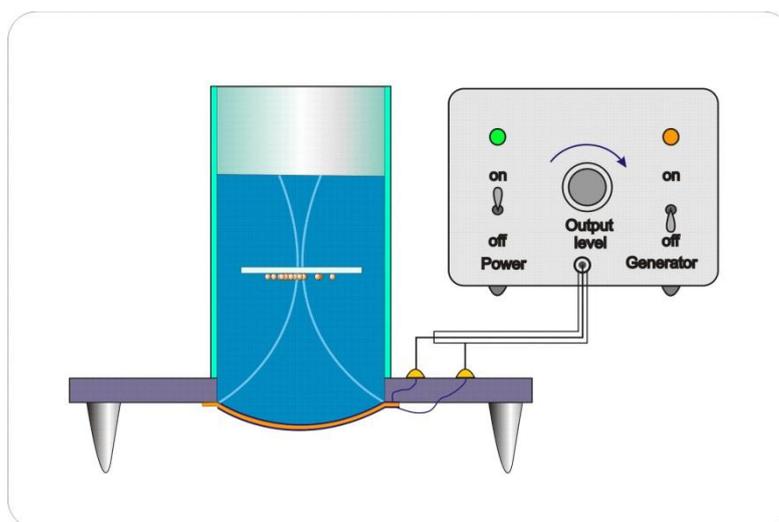


Рис.2. Схема установки для генерации высокоинтенсивного сфокусированного ультразвукового пучка



Рис.3. Фотография установки для генерации высокоинтенсивного сфокусированного ультразвукового пучка

Вторая модификация установки предназначена для комплексного опто-акустического исследования и ультразвукового HIFU воздействия на биологические объекты. Схема этой установки приведена на рисунке 4, а фотография акустического модуля – на рисунке 5.

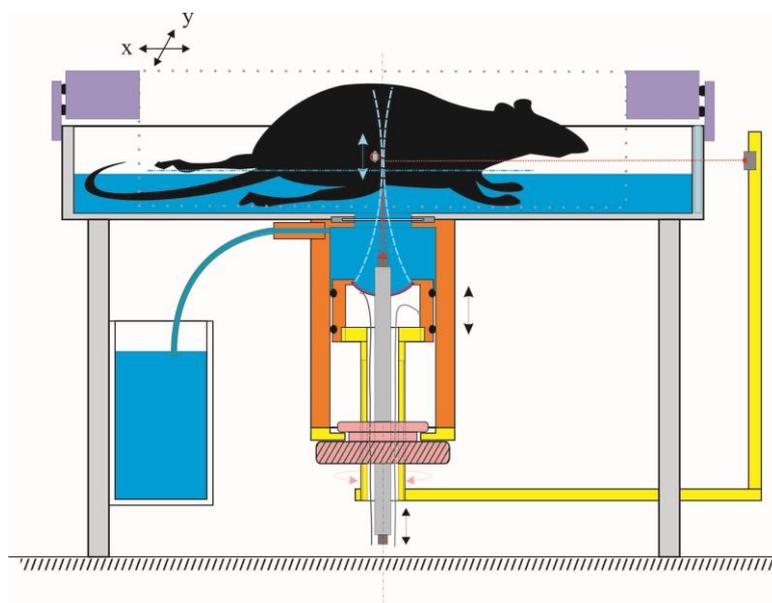


Рис.4.Схема лабораторной установки для комплексного опто-акустического исследования и ультразвукового HIFU воздействия на биологические объекты



Рис.5. Фотография акустического модуля установки для комплексного опто-акустического исследования и ультразвукового HIFU воздействия на биологические объекты

Установка снабжена ванной для размещения биообъекта. Ванна частично заполняется водой для обеспечения акустического контакта с биообъектом. В нижней части ванны имеется окно, прозрачное для оптических и акустических волн, но разделяющее свето-звукопроницаемой пленкой две области, заполненные водой, служащей иммерсионной жидкостью. Такое разделение двух полостей позволяет при смене животного, проводить стерилизацию ванны для размещения другого животного для проведения следующего эксперимента. Вторая полость с иммерсионной жидкостью сопряжена с системой вертикального позиционирования опто-акустического объектива, соосного с акустической линзой для генерации HIFU.

Во втором разделе третьей главы обсуждается конструирование и изготовление ультразвуковых приемо-излучающих фокусирующих датчиков.

На рисунке 6 приведена фотография разработанных ультразвуковых датчиков с центральной частотой 5 МГц., имеющих цилиндрическую акустическую линзу для оптоакустических исследований кровеносных сосудов.



Рис.6. Фотография ультразвуковых датчиков с цилиндрической линзой для опто-акустических исследований

На рисунке 7 показана фотография разработанного и запатентованного оптоакустического объектива, имеющего коаксиально расположенные: акустическую сферическую линзу; канал для подведения иммерсионной жидкости; волоконно-оптический волновод для оптической генерации ультразвуковых импульсов в исследуемой среде.

Особенностью объектива является наличие канала вдоль оси кварцевого звукопровода со сферической акустической линзой, проходящего через центр дискового пластинчатого пьезоэлектрического преобразователя, работающего с центральной частотой 100 МГц. Такой канал, диаметром 0.8 мм позволяет, кроме подведения иммерсионной жидкости в область исследования, вставлять настраиваемый по глубине волоконный волновод с оптической линзой на торце для совмещения оптического и акустического фокусов.



Рис.7. Фотография оптоакустического объектива

**Четвертая глава** посвящена разработке полилактидно-кислотных (PLA) нано- и микро камер для укупорки малых гидрофильных молекул и их HIFU высвобождению.

В первом разделе сформулирована постановка задачи.

Во втором разделе обсуждаются результаты изготовления полилактиднокислотных микрокамер. Основой для изготовления микрокамер является силиконовый (полидиметилсилоксан PDMS) штамп с лунками. Этот штамп может быть изготовлен посредством осаждения PDMS на поверхности кремниевой подложки в виде негативной реплики.

Отмечается, что успешное изготовление решетки микроконтейнеров требует выдерживания трех основных параметров, определяющих толщину PLA пленки.

Первый параметр – это время экспозиции штампа PDMS в растворе PLA: несмотря на то, что PDMS сшивается и нерастворим в хлороформе, он может набухать и деформировать структуру камеры при экспозиции более 10 с, поэтому время экспозиции было выбрано 5 секунд.

Второй параметр это скорость вывода штампа PDMS из раствора. Скорости выведения штампа из PLA около 3 мм/сек приводят к получению несколько более тонких пленок, что может быть обусловлено силами поперечного воздействия. При скорости 8 см/с и концентрации ( $M\%=2\%$ ) толщина тонкой пленки достаточно стабильна и составляет около 1 мкм.

Используя 1% раствор PLA и штамп PDMS, можно получить отверстия микрокамер диаметром 500 нм 1 мкм длиной. Однако такие тонкие наноструктуры находились на пределе устойчивости. Недостатком таких пленок является то, что они имели высокую чувствительность к электронному пучку (при исследовании с помощью сканирующего электронного микроскопа SEM) и плавилась при наблюдении с высоким увеличением. По этой причине основное внимание при дальнейших исследованиях было уделено микрокамерам.

Третьим и наиболее важным параметром для воспроизводимого производства тонких пленок PLA является концентрация раствора PLA; вариацией этого параметра можно получить нанопленки с разными толщинами (50-150 нм). Для более толстых пленок (толщиной до 7 мкм) около 5% оказываются заполненными PLA наряду с пустыми ячейками микрокамер. Заполненные ячейки не могут быть использованы для инкапсуляции и поэтому определялись, как бракованные.

В результате того, что при концентрации раствора выше 3% камеры оказывались заполненными, для последующих экспериментов использовался раствор с концентрацией 2% PLA, при котором объем камер оказывается наиболее стабильным.

Третий раздел четвертой главы посвящен загрузке лекарственного средства в микроконтейнеры.

Загрузка содержимого в PLA ( $m\%=2\%$ ) осуществлялась посредством озвучивания в растворе NaCl и сушки на воздухе (Рис. 8). Указанная обработка позволяет наблюдать in-situ рост кристаллов NaCl (Рис 8B). Используя 1% раствор PLA были сформированы несколько десятков PLA микрокамер нанометровых размеров, стабилизированных в вакууме (Рис.8D) и в основном прозрачные для электронов (при SEM исследованиях).

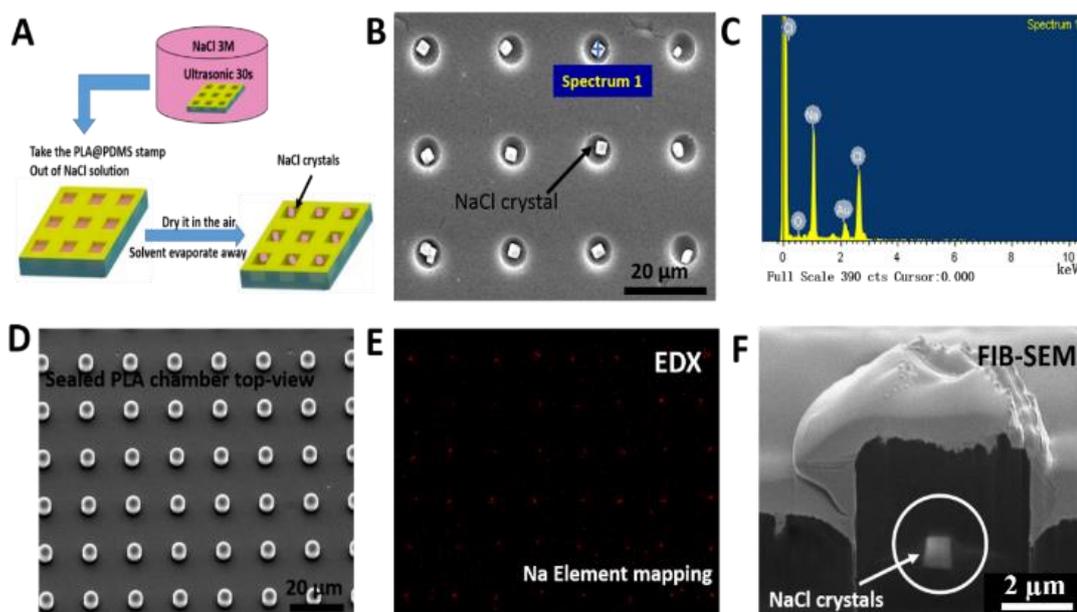


Рис.8. Закупоривание гидрофильных молекул внутри воздушных пузырьков в тонких пленках полимолочной кислоты (PLA) и доказательство их успешной инкапсуляции.

А) Схема для инкапсуляции кристаллов NaCl внутри гидрофобного PLA микроконтейнера; В) SEM Изображение кристаллов PLA – NaCl в микрокамерах перед закупориванием ( $m\%=2\%$ ); размер кристалла NaCl - приблизительно  $1 \pm 0.2$  мкм; С) EDX анализ кристаллов NaCl, загруженных в PLA микрокамеры; D) SEM изображение закупоренных PLA-NaCl микрокамер ( $PLAm\%=1\%$ ); E) Анализ EDX картирования микрокамер PLA-NaCl, доказывающий нахождение NaCl внутри микрокамер; F) Изображение среза (выполненного сфокусированным ионным пучком (FIB)) PLA-NaCl закупоренной микрокамеры ( $PLAm\%=2\%$ ). Неравномерная толщина стенки микрокамеры обусловлена плавлением PLA во время ионной резки.

EDX (энерго-дисперсионный анализ рентгеновского излучения на SEM) анализ заключается в том, что электроны (в SEM) проникают через слой PLA, появляются на подслое кристалла NaCl и стимулируют рентгеновское

излучение, которое покидая камеру, попадает на детектор, характеризующий уровень энергии, который характеризует тот или иной атом.

В работе также изучалась долгосрочная инкапсуляция малых гидрофильных молекул. По сравнению с раствором кристаллов хлорида натрия, малые молекулы красителя RhB ( $M_w=479$  г/моль) были успешно загружены в микрокамеры в виде наноразмерных преципитатов, как показано на рисунках 9 А)-Д).

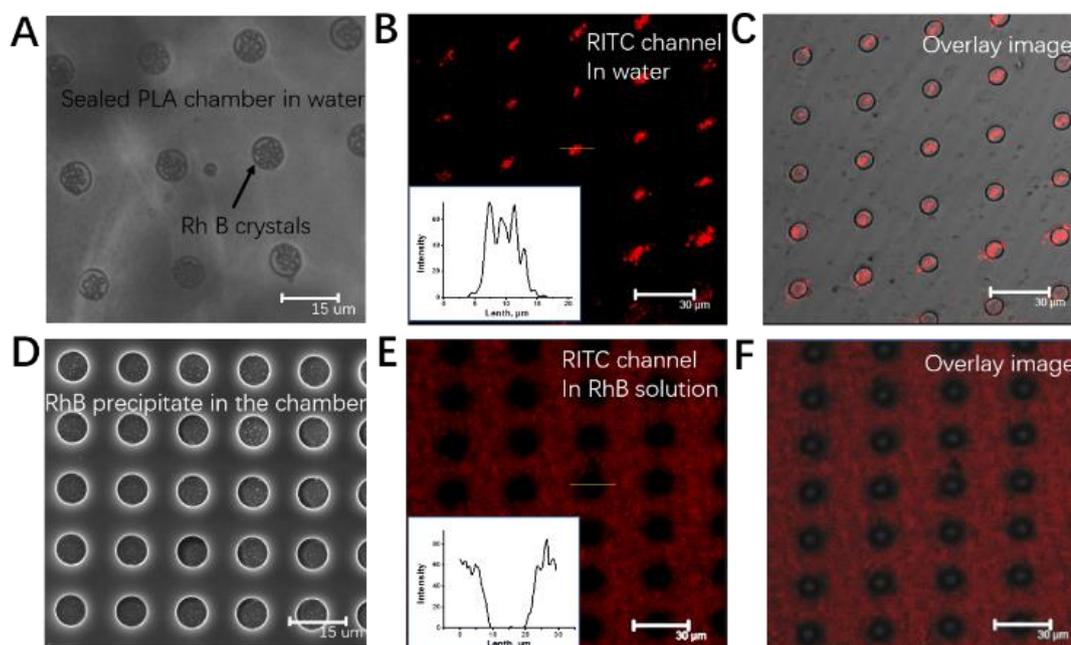


Рис. 9. Определение экранирующих свойств загруженных PLA микрокамер.

А) Оптическая микрофотография закупоренного PLA-NaClсодержимого внутри микрокамеры в загруженном состоянии после 2 часов;В) Изображение от конфокального лазерного сканирующего микроскопа (CLSM) закупоренных микрокамер PLA-NaCl в RITC канале;С) наложенная микрофотография;D) SEM изображение незакупоренных перципитатов внутри микрокамеры;Е) иF) –CLSM микрофотографии закупоренных пустых микрокамер в RhB растворе RITCкрасителя (родамин изоцианат) и наложенное изображение, доказывающее

эффективную загрузку микрокамер. Наложённый график показывает относительную интенсивность флуоресценции по поперечному сечению микрокамеры.

Вес инкапсулированных RhB преципитатов в каждой микрокамере составляет  $8 \cdot 10^{-12} \text{ г} \sim 1.7 \cdot 10^{-11} \text{ г}$ ., что составляет  $1.28 \sim 2.72 \text{ мг/см}^2$ .

В четвертом разделе четвертой главы изучается техника высвобождения закупоренного препарата с помощью сфокусированного высокоинтенсивного ультразвука (HIFU). Показано, что изготовленные одношаговым методом PLA микрокамеры позволяют быстро высвобождать заключенные в них лекарственные средства посредством HIFU. Полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа изображения биodeградируемых PLA микрокамер, после воздействия HIFU разной длительности, показаны на рисунке 10. Они демонстрируют, что герметично закупоренные микрокамеры с захваченными пузырьками воздуха, реагируют на HIFU и могут быть открыты для высвобождения заключенных в них лекарственных средств.

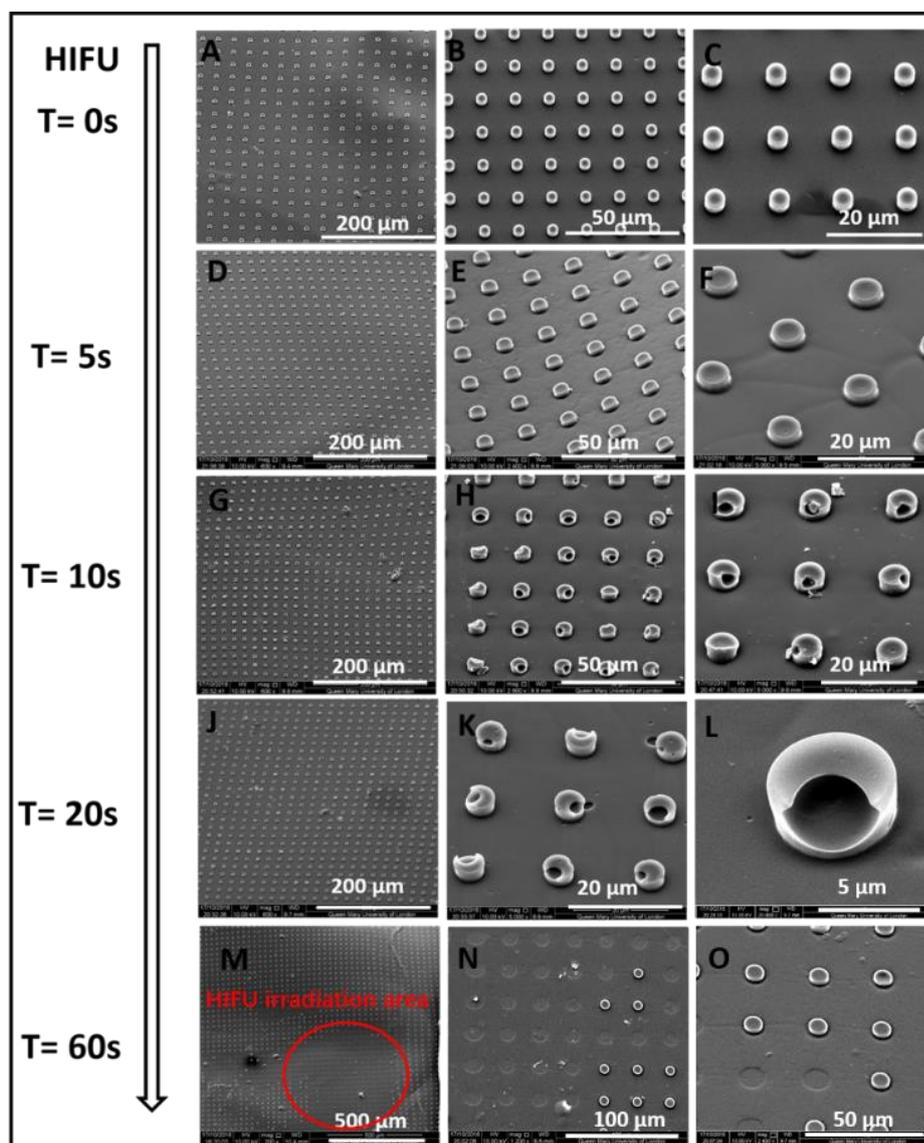


Рис.10. Воздействие высокоинтенсивного сфокусированного ультразвука при открытии микрокамер в зависимости от времени экспозиции. SEM изображения закупоренных микрокамер до (0 секунд – изображения первой строки) и после HIFU воздействия: для 5 секунд (вторая строка); после 10 секунд (третий ряд), 20 с (четвертый ряд). Отверстия, появляющиеся в микрокамерах с отсутствующими кристаллами доказывают высвобождение загруженного продукта. Воздействие в течение 60 секунд (последняя строка) привело к окончательному «сдутию» крышки микрокамеры посредством HIFU облучения.

Красный круг в “М” показывает зону облучения HIFU ( $D \sim 50\mu\text{m}$ ). Изображения в каждой строке имеют разные увеличения.

На рисунке 11 представлены результаты количественных измерений родамина (RhB), высвобожденного посредством HIFU. Для подтверждения того факта, что высвобождение RhB было вызвано HIFU, а не диффузией, было изучено поведение PLA микрокамер с заключенным RhB ( $\text{PLAm}\%=2\%$ ) и выдерживавшемся в темноте (чтобы предотвратить фото обесцвечивание Родамина), без какой-либо другой обработки.

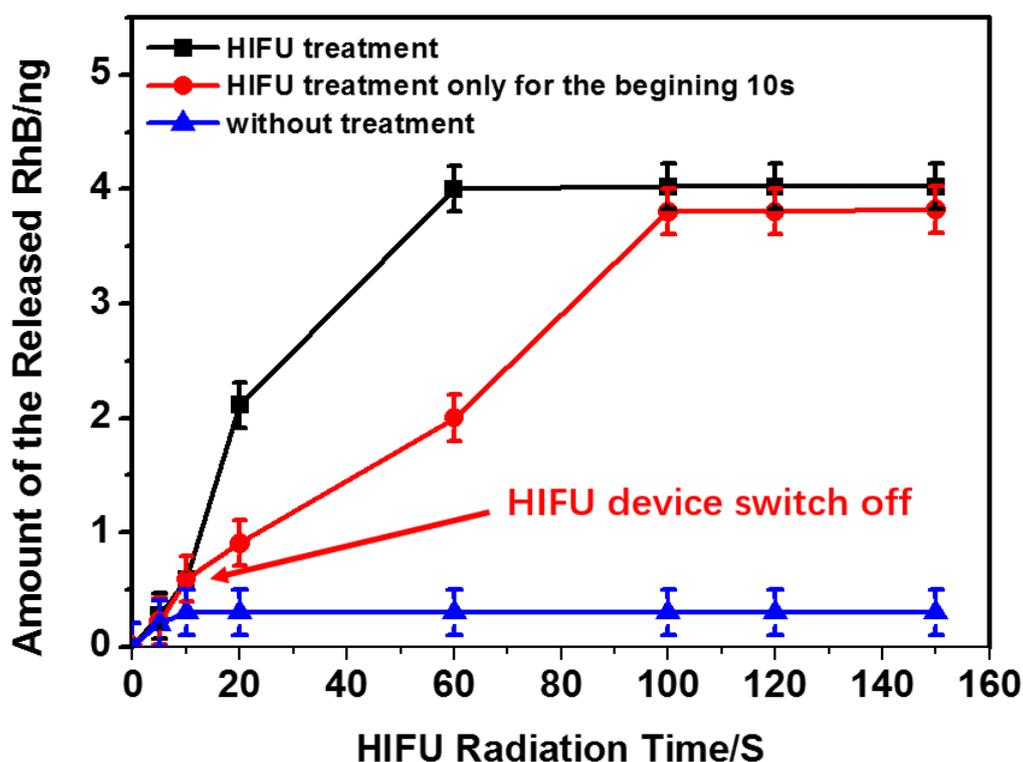


Рис.11. Количество высвобожденного Родамина (RhB) из закупоренных PLA-RhB микрокамер под воздействием HIFU. Черная линия показывает микрокамеры, экспонированные непрерывным HIFU излучением, а красная линия показывает микрокамеры с воздействием HIFU в течение 10 секунд, затем генератор HIFU был выключен, как показывает красная стрелка; Синяя линия показывает контрольный эксперимент без воздействия HIFU. По шкале абсцисс отложено время (0с, 5с, 10с, 20с, 60с, 100с, 120с, 150с)

В пятом разделе четвертой главы обсуждаются результаты моделирования методом конечных элементов (DFE) распределения давления ультразвуковой волны на стенки PLA микрокамер. Результаты моделирования представлены на рисунке 12.

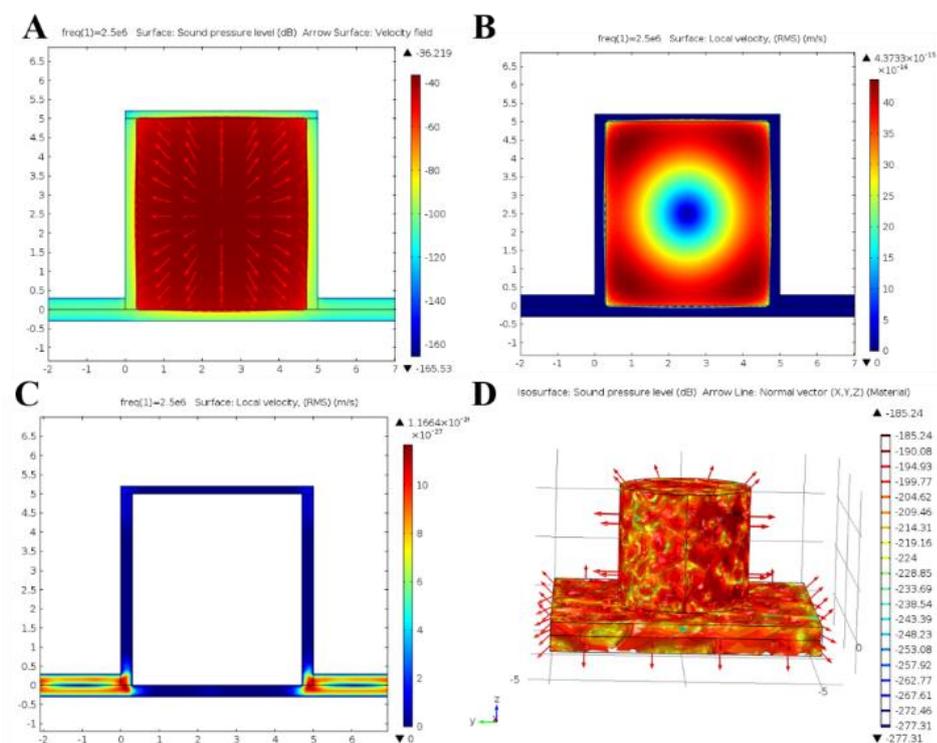


Рис.12. Моделирование с помощью метода конечных элементов микрокамер, не заполненных воздухом и заполненных воздушным пузырьком. А) Двумерное моделирование воздействия акустического давления и векторы давления внутри заполненной газом микрокамеры, показывающее некоторую деформацию стенок, обусловленную акустическим давлением. В) Двумерное моделирование скоростей частиц для микрокамеры, заполненной воздухом, показывающее пиковое воздействие по углам и некоторую деформацию стенок камер; С) двумерное моделирование микрокамер, заполненных водой, показывающая низкую скорость частиц и отсутствие деформации; D) трехмерное моделирование микрокамеры, заполненной воздухом, показывающее пиковое

давление и вектора силы во внешнюю сторону от микрокамеры с пиковым давлением в верхних углах.

**Пятая глава** диссертации посвящена изучению техники высвобождения частиц магнетита из микроконтейнеров на базе альгината серебра посредством HIFU.

На рисунке 13 представлена схема формирования микрокапсул альгината серебра с наночастицами окиси железа ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).

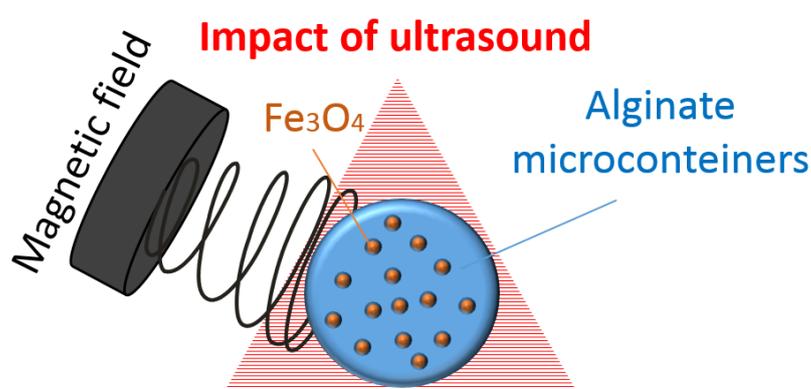


Рис.13. Структурная схема микрокапсул альгината серебра с наночастицами оксида железа

Используя инъекционный метод, были изготовлены микрокомпозитные шарики разных размеров, используемые в качестве контейнеров. Их характеристики исследовались с помощью оптического микроскопа, сканирующего лазерного конфокального микроскопа и лазерным дифракционным методом.

В микроконтейнеры были внедрены наночастицы окиси железа, что придало им дополнительные свойства: 1) такие микроконтейнеры стали быть управляемыми внешним магнитным полем; и 2) они показали чувствительность к ультразвуковому воздействию.

Целью эксперимента было исследование зависимости времени воздействия УЗ на степень деградации микрокапсул.

На рисунке 14 представлена зависимость времени разрушения альгинатных микрокапсул от концентрации в них азотнокислого серебра.

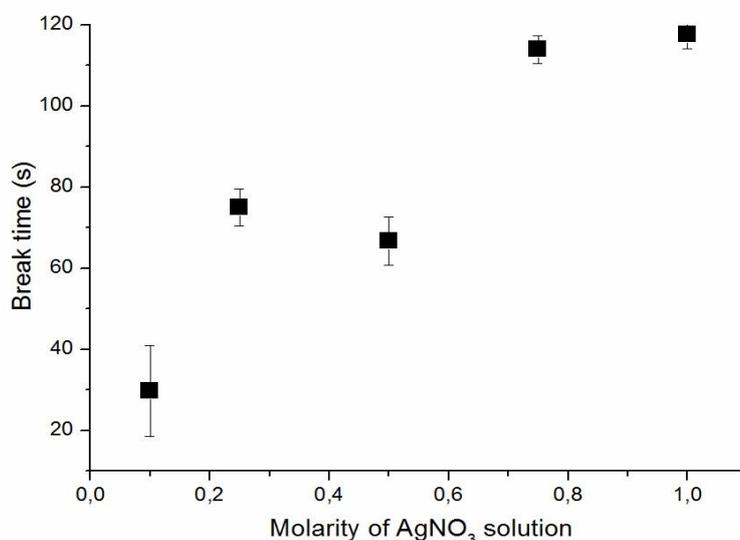


Рис.14. Зависимость времени ультразвукового разрушения альгинатных микрокапсул от концентрации в них азотнокислого серебра AgNO<sub>3</sub>

В ходе проведения экспериментов было установлено методом оптической микроскопии, что форма микрокапсул идентична для разных размеров шариков и концентрация серебра в них составляет выше 0.1M. Внедренные в контейнеры наночастицы окиси железа позволяли позиционировать местонахождение капсул внешним магнитным полем. Было также установлено, что микроконтейнеры могут быть разрушены ультразвуковым облучением, что представляет интерес для медицинских и биологических применений.

### **Положения, выносимые на защиту**

1) Разработанная одноэтапная технология нанесения DIP-покрытий для изготовления свободных биосовместимых массивов решеток микрокамер на основе полимолочной кислоты (полилактида) требует относительно короткого времени изготовления (около 5 секунд) по сравнению с существующими сегодня технологиями (требующими несколько часов, или несколько суток).

2) Впервые реализована in-situ кристаллизация NaCl и RhB внутри отдельных микрокамер (~ 8-17 пикограмм на одну камеру) с длительной инкапсуляцией (до 14 дней).

3) Разработанная установка для генерации высокоинтенсивного сфокусированного ультразвука с оптимизированными параметрами позволяет за короткий промежуток времени (10-20 секунд) полностью высвободить инкапсулированные модели лекарственных средств из микро- и наноконтейнеров, изготовленных на основе полимолочной кислоты (полилактида).

4) На защиту выносятся разработанный опто-акустический объектив, совмещающий систему акустического детектирования с коаксиально расположенными оптоволоконной системой импульсного оптического возбуждения ультразвука и системой доставки иммерсионной жидкости в область опто-акустической диагностики.

### **Основные результаты работы и рекомендации по их использованию**

В ходе выполнения диссертационной работы были получены следующие результаты.

1. Разработана математическая модель расчета амплитуды поля волнового пучка при наличии движущейся среды позволяющая, по заданным характеристикам рассматриваемой системы, оценивать характер распределения в ней волнового поля. Она также может быть адаптирована, и использована для более сложного характера взаимодействия акустической волны с движущейся средой.

2. В ходы выполнения диссертационной работы были сконструированы и изготовлены:

- Установка для исследования воздействия высокоинтенсивного сфокусированного излучения HIFU на микро- и нанообъекты;

- Установка для комплексного опто-акустического исследования биообъектов в режиме *in-vivo*, а также для исследования воздействия на них HIFU;
- Датчики для опто-акустических исследований: Датчики с цилиндрической акустической линзой; датчики со сменными головками с различными фокусными расстояниями акустических линз; опто-акустические объективы.

Разработанные устройства и установки могут быть востребованы для научных исследований широкого спектра задач, а также найти практическое применение при производстве диагностического оборудования. На предложенные в работе технические решения получены два патента РФ на изобретения.

3. В ходе проведения экспериментов по воздействию ультразвука высокой мощности на альгинатные микрокапсулы, было установлено методом оптической микроскопии, что форма микрокапсул идентична для разных размеров шариков и концентрация серебра в них составляет выше 0.1М. Внедренные в контейнеры наночастицы окиси железа позволяли позиционировать местонахождение капсул внешним магнитным полем. Было также установлено, что микроконтейнеры могут быть разрушены ультразвуковым облучением, что представляет интерес для медицинских и биологических применений.

4. В ходе выполнения диссертации были также:

- Разработана одноэтапная технология нанесения дип-покрытий для изготовления свободных биосовместимых массивов решеток микрокамер на основе полимолочной кислоты (полилактида).
- В ходе экспериментов был достигнут минимальный размерный предел производства (для данной технологии) в 500 нм.
- Получаемые микрокапсулы позволяют инкапсулировать небольшие гидрофильные молекулы, а также захватывать воздушные пузырьки. Насколько известно авторам, это первое сообщение об *in-situ*

кристаллизации NaCl и RhB внутри отдельных микрокамер (~ 8-17 пикограмм на одну камеру) с длительной инкапсуляцией (до 14 дней).

- Производство биоразлагаемых нано- и микрокамер из полимолочной кислоты требует относительно короткого времени изготовления (около 5 секунд по сравнению с несколькими днями при использовании сегодня существующих технологий для микрокамер [M. V. Kiryukhin, S. M. Man, S. R. Gorelik, G. S. Subramanian, H. Y. Low and G. B. Sukhorukov, *Soft Matter*, 2011, 7, 6550] и около одного дня для капсул [G. Sukhorukov, A. Fery and M. Brumen, *Phys. Chem.*, 2004, 6, 4078–4089]).
- Микрокамеры, изготавливаемые по разработанной технологии имеют низкую проницаемость и высокую чувствительность к ультразвуку из-за захвата воздушного пузырька. Численное моделирование показало на 11 порядков более высокую скорость молекул для микрокамер PLA с воздушными пузырьками, по сравнению с камерами, заполненными водой.
- Определена эффективность воздействия ультразвуковой энергии, которая составила ~0.8%.
- Выявлено, что наличие индуцированных ультразвуком локальных боковых пиков давления вызывает диагонально направленных вверх прокол камеры.
- Разработанная решетка микрокамер на основе молочной кислоты позволяет высвобождать контролируемое количество инкапсулированного вещества.

Учитывая перечисленные свойства, разработанные микрокамеры могут найти широкое применение для медицины, химических и биохимических технологий (например для технологий одноклеточного уровня, покрытий имплантатов, высвобождения катализаторов и др.)

### **Апробация работы**

1. Международная конференция SaratovFallMeetingSFM'12 Саратов, 2012.

2. IBCM-2015 International Baltic Conference on Magnetism: Focus on Biomedical Aspects. Immanuel Rant Baltic Federal University

3. Форум молодых ученых U-NOVUS, (Свидетельство участника выставки), Томск, 2014

4. Всероссийский конкурс молодых ученых «Умник» Победитель программы 2011г.

5. Всероссийский конкурс «Умник – на Старт» Победитель 2013.

Сконструированная и изготовленная в рамках диссертационной работы установка для исследования воздействия HIFU на микро- и нано объекты используется для проведения исследований в Саратовском госуниверситете в лаборатории «Дистанционно управляемые системы для тераностики», созданной по 220 постановлению Правительства РФ (Мегагрант №14.Z50.31.0004), руководитель – профессор Г.Б. Сухоруков.

Разработанные Оптоакустические объективы используются для научных исследований в лаборатории «Биомедицинской фотоакустики», созданной в Саратовском госуниверситете в рамках Мегагранта №14.Z50.31.0044, руководитель – профессор В.П.Жаров.

Установка для комплексного исследования биообъектов используется для научных исследований в научной лаборатории «Биофотоники» Центра Фотоники и Квантовых Материалов Сколковского Института Науки и Технологий (СколТех), Сколково.

Работа была поддержана Фондом Содействия Развитию Малых Форм Предприятий в Научно-Технической Сфере (программы: «Умник», 2011-2012 г.г.; «Старт» 2013- 2015 г.г.),

Работа также была поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации (Грант №14.Z50.31.0004). Руководитель гранта профессор Г.Б.Сухоруков, Университет Королевы Марии, Лондон .

Работа была также поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации (Грант №14.Z50.31.0044). Руководитель гранта

профессор В.П.Жаров, Университет Медицинских Наук штата Арканзас, Литл Рок, США.

### Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

1. Косицын Н.В., Петров В.В., Петров А.В., Расчет распределения амплитуды поля ультразвукового волнового пучка в движущейся среде. Изв. ВУЗов Саратовского университета, Новая серия. Серия Физика. 2016 г., Т.16, Вып 1., С.27-33;

2. Gai, M., Frueh, J., Tao, T., Petrov, A. V., Petrov, V. V., Shesterikov, E. V., ... Sukhorukov, G. B. 2017, № 9). Poly lactic acid nano- and micro chamber arrays for encapsulation of small hydrophilic molecules featuring drug release via high intensity focused ultrasound. *Nanoscale*, 9(21), P. 7063-7070. DOI:10.1039/c7nr01841j (2016/2017 Impact Factor : 7.367);

3. Petrov A.V Ultrasonic Device for Measuring of Gas Consumption Proc. Of International Symposium «Saratov Fall Meeting – SFM 12» P13;

4. V.F. KOROLOVYCH, M.D. MOKROUSOV, A.V. PETROV, A.N. BANNIKOVA, V.THYMATHENKO, L.A. BULAVIN, D.A. GORIN, G.B. SUCHORUKOV, Microcontainers For Drug Delivery On The Base Of Microcomposite Alginate Proceedings of Interbational Baltic conference on magnetism (Focus on biomedical aspects) IBCM-2015;

5. Петров А.В., Королович В.Ф., Горин Д.А., Петров В.В., Сухоруков Г.Б., Патент РФ 2603819 Оптоакустический объектив (патент), Заявка: 2015111328/28, 30.03.2015, Опубликовано: 27.11.2016, Бюл. №33;

6. Петров А.В., Петров В. В., Косицын Н.В., Лапин С.А., Патент РФ 2498229. Ультразвуковой газовый расходомер (патент), Заявка: подача заявки: 2012-05-03, публикация патента: 10.11.2013.



Петров А.В.