

Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет

Суходуб Л. Б., Кумеда М. О., Суходуб Л. Ф.

**ЛЕГОВАНІ НАНОЧАСТИНКАМИ
АПАТИТ-БІОПОЛІМЕРНІ МАТЕРІАЛИ
ДЛЯ ОСТЕОПЛАСТИКИ**

Монографія

За загальною редакцією Л. Ф. Суходуба



Суми
Сумський державний університет
2024

УДК 577.118:616.71-002-089.843

С 91

Рецензенти:

І. В. Прокопович, доктор технічних наук, професор, директор Навчально-наукового інституту медичної інженерії Національного університету «Одеська політехніка»;

А. М. Романюк, доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри патоморфології НН МІ Сумського державного університету

*Рекомендовано до видання
вченою радою Сумського державного університету
як монографія
(протокол № 10 від 14 березня 2024 року)*

Суходуб Л. Б.

С 91

Леговані наночастинками апатит-біополімерні матеріали для остеопластики : монографія / Л. Б. Суходуб, М. О. Кумеда, Л. Ф. Суходуб. – Суми : Сумський державний університет, 2024. – 164 с.

ISBN 978-966-657-979-2

Найбільш перспективними матеріалами для тканинної інженерії кістки є біоактивні органо-неорганічні композити, які в певний спосіб імітують ієрархічну структуру другого рівня природної кісткової тканини з колагеновими фібрилами, мінералізованим гідроксиапатитом. Саме створенню таких матеріалів і дослідженню їхніх властивостей присвячено цю монографію, в основу якої взято розробки науково-практичної лабораторії «Біонаноккомпозит» Сумського державного університету за останні 5 років. Зокрема розглянуто вплив полісахаридів природного походження (альгінат, хітозан), ортофосфатів кальцію (гідроксиапатит, брüşит), неорганічних наночастинок (карбонові нанотрубки, оксид графену, магнетит, ZnO, фулерен C60) на фізико-хімічні та біологічні властивості отриманих композитів.

Монографія призначена для здобувачів вищої освіти, аспірантів і науковців у галузі медицини та біомедичної інженерії.

УДК 577.118:616.71-002-089.843

ISBN 978-966-657-979-2

© Сумський державний університет, 2024

ЗМІСТ

	С.
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ГІБРИДНІ КОМПОЗИТНІ МАТЕРІАЛИ ТА ЇХНІ СКЛАДОВІ	8
1.1. Біополімери, основні представники	9
1.2. Кальцій-фосфатна біокераміка	25
1.3. Наночастинки як компоненти для покращання властивостей композитних матеріалів	30
РОЗДІЛ 2. КОМПОЗИТНІ МАТЕРІАЛИ ДЛЯ ОСТЕОПЛАСТИКИ НА ОСНОВІ АЛЬГІНАТНОЇ МАТРИЦІ	44
2.1. Залежність властивостей наноструктурованих гідроксипатит-альгінат (НА-Alg)-композитів від методу їхнього кінцевого технологічного оброблення	44
2.2. Апатит-альгінатні композити, леговані багатостінними карбоновими нанотрубками, модифікованими іонами заліза (MWCNT + Fe)	50
2.3. Апатит-альгінатні композити, леговані одностінними карбоновими нанотрубками (SWCNTs)	56
2.4. Апатит-альгінатні композити, леговані наночастинками оксиду графену (GO)	62
2.5. Апатит-альгінатні композити, леговані наночастинками магнетиту (Fe ₃ O ₄)	68
2.6. Апатит-альгінатні композити, леговані мікрочастинками оксиду цинку	76

2.7. Апатит-альгінатні остеопластичні композити, леговані мікро- та наночастинками оксиду цинку	68
РОЗДІЛ 3. КОМПЗИТНІ МАТЕРІАЛИ ДЛЯ ОСТЕОПЛАСТИКИ НА ОСНОВІ ХІТОЗАНОВОЇ МАТРИЦІ	
3.1. Апатит-хітозановий композит, легований наночастинками фулерену C ₆₀	107
3.2. Остеопластичний композит на основі хітозаної матриці, мінералізованої поліфазними ортофосфатами кальцію, з підвищеною біоактивністю	117
ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ	131
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	132
СПИСОК РОБІТ АВТОРІВ МОНОГРАФІЇ З ПРОБЛЕМАТИКИ	157
ДОДАТОК А	161

ВСТУП

За реакцією живої тканини на імплантат існує дві основні групи біоматеріалів – біоінертні та біоактивні. Біоінертні матеріали вперше з'явилися наприкінці 1970-х – початку 1980-х років і були спрямовані лише на відновлення функціональності без токсичних реакцій [1]. До цієї групи матеріалів належать імплантати на основі оксидів металів, наприклад, ZrO_2 , Y_2O_3 , TiO_2 , $\alpha-Al_2O_3$ [2; 3]. Із середини 1980-х років фокус розробок зосереджено на біоактивних матеріалах, які здатні викликати контрольовану реакцію організму на процес імплантації за відсутності побічних ефектів [4]. До таких матеріалів належать: біоскло, біоактивна склокераміка, композити на основі неорганічних та органічних композитів, наприклад, неорганічним компонентом є гідроксиапатит (НА), а органічним – поліметилметакрилат [5; 6]. В імплантах, які піддаються механічним навантаженням, такі матеріали використовують у комплексі з біоінертними як біоактивні поверхневі покриття, оскільки мають недостатню механічну міцність [7].

Останнім десятиліттям увагу дослідників усе більше привертають біорозкладні (біорезорбувальні) матеріали, основною метою яких є допомога ушкодженому органу відновити втрачену функцію. Великою перевагою біорозкладних імплантів є відсутність необхідної повторної операції реімплантації.

Основна функція остеопластичних матеріалів – забезпечити «будівельний» матеріал у процесі регенерації кісткової тканини. Біорезорбувальні матеріали видаляються внаслідок клітинної активності або розчиненням у навколишньому біологічному середовищі без виділення метаболічно шкідливих речовин і формування фіброзної межі. Під час їхнього застосування лікувальний ефект у зоні дефекту наявний залежно від часу. До цієї групи матеріа-

лів належать, наприклад, фосфати, сульфати та карбонати кальцію, трикальційфосфат (ТСР), біоскло, композитні матеріали на основі біополімерів тощо [8; 9].

За походженням можна виділити такі види біоматеріалів: кераміка, метали, полімери синтетичного та натурального походження, а також інші багатокомпонентні композити, створені на основі попередніх варіантів.

Композити або композитні матеріали складаються із двох або більше складових із великими розбіжностями в їхніх фізичних, хімічних і механічних властивостях. Нові характеристики цих композитів є результатом поєднання окремих властивостей їхніх складових або відповідних об'ємних часток, а також розташуванням у структурі матеріалу. Залежно від передбачуваного застосування композити може бути розроблено для задоволення конкретних геометричних, структурних, механічних, хімічних або естетичних вимог.

Сфери застосування різноманітних синтетичних матеріалів такі: будівництво, наприклад, у будівлях і мостах, автомобільна промисловість, наприклад у кузовах автомобілів, аеронавігація, військово-морська (наприклад, кораблі та човни) і **біомедична** галузі.

Деякі наночастинки та композитні матеріали може бути використано в нових діагностичних інструментах, зображеннях і методологіях, цільових лікарських засобах, фармацевтичних продуктах, біомедичних імплантатах, для заміщення кісткової тканини і у тканинній інженерії.

Сьогодні для лікування тяжких захворювань також можна застосовувати нанотехнології, водночас суттєво збільшується рівень безпечності цих методів, наприклад за умови використання хіміотерапевтичних ліків від раку. Крім того, натільні гаджети та застосунки можуть виявляти важливі зміни життєвих показників, стан ракових та інфекційних клітин в організмі. Нанотехнології надають

лікарям значно кращої можливості оцінювання важливих даних про причини зміни ознак життя, діагностування захворювання та їхнього джерела, визначати методику лікування [7].

Дослідженню та використанню в медичній галузі композитних біоматеріалів, синтезованих дослідниками з України та всього світу, присвячено розділи цієї монографії.

Розділ 1

ГІБРИДНІ КОМПЗИТНІ МАТЕРІАЛИ ТА ЇХНІ СКЛАДОВІ

Хоча металеві, полімерні та керамічні біоматеріали десятиліттями використовують у біомедицині, складні композити почали успішно використовувати лише останнім часом. Основою композитних матеріалів часто є полімерні матриці, які характеризуються відносно високою пластичністю та низькою міцністю на розрив, із вмістом включень у вигляді дисперсної фази, поданої органічними, неорганічними або металевими мікро- та наночастинками. Кінцеві властивості композитних матеріалів значно залежать від геометрії та розподілу дисперсної фази. Геометрія частинок дисперсної фази стосується їхньої форми й розміру, тоді як розподіл охоплює положення та орієнтацію частинок у матриці.

Основними вимогами до матеріалів для заміни кісткової тканини є не тільки їхня висока біоактивність, але і здатність створювати міцні зв'язки з нативною кісткою. Згідно з медичною практикою через погану osteoconductivity та osteoinductivity керамічний матеріал може залишати кістковий дефект і мігрувати в навколишнє середовище. Щоб подолати такі недоліки, багато дослідників бачать перевагу у створенні органічно-неорганічних гібридних матеріалів на основі тривимірної сітки біомакромолекул із вбудованими наночастинками фосфату кальцію. Завдяки синергії функцій вихідних компонентів гібридні матеріали набувають принципово нових характеристик [10; 11]. Існує 2 класи органічно-неорганічних гібридних матеріалів, компоненти яких з'єднані між собою: а) лише слабкими взаємодіями (водневий зв'язок, Ван-дер-Ваальсовий зв'язок, π - π -взаємодія або електростатичні сили); б) міц-

ними хімічними зв'язками (ковалентними або іонно-ковалентними). Відносна взаємопроникність компонентів має бути в масштабі менше ніж 1 мкм [12; 13].

Остеокондуктивні композитні матеріали в ідеалі мають імітувати структуру і властивості нативної кістки і, в такий спосіб, бути біосумісними та сприяти загоєнню кісток і відновленню їхньої цілісності та міцності (рис. 1.1).



Рисунок 1.1 – Діаграма основних матеріалів для використання в медицині

Композитні матеріали також можна використовувати для виготовлення апаратів внутрішньої фіксації, які в минулому виготовляли з металів. Хоча металеві пристрої мають високий рівень міцності та довговічності, вони супроводжуються проблемами корозії та вищою, ніж у кістки, жорсткістю, що може спричинити дискомфорт під час застосування. Використання композитів на основі полімерів в певний спосіб розв'язує ці проблеми. Полімер на основі вуглецевого волокна може бути використано для створення пристрою з еластичністю, більшою за еластичність фактичної кістки, зберігаючи водночас високу міцність, необхідну

для підтримання загоєння кістки. Зважаючи на тип матеріалу, ризик корозії унеможлиблюється. Крім того, можна використовувати біорозкладну матрицю в комплексі з препаратами, призначеними для розчинення пристрою під час загоєння кістки та одночасного вивільнення ліків для сприяння одужанню [14].

На рисунку 1.1 за допомогою діаграми Венна подано класифікацію матеріалів за походженням.

1.1. Біополімери, основні представники

Серед полімерних складових композитних матеріалів щодо біомедичного призначення особливе місце посідають природні полісахариди – це складні вуглеводи, що складаються з довгих ланцюжків моносахаридних одиниць, з'єднаних між собою глікозидними зв'язками. Ці біополімери містяться в різних природних джерелах, зокрема рослинах, тваринах і мікроорганізмах. Природні полісахариди виконують широкий спектр функцій у біологічних системах і мають численні промислові та комерційні застосування. Їхніми перевагами є здатність до біологічного розкладання, біосумісність і стабільне джерело постачання. Природні полісахариди широко використовують у харчовій промисловості, фармацевтиці, косметичі, сільському господарстві та інших секторах, що робить їх важливим класом біополімерів [15]. У цій монографії буде приділено увагу таким природним полімерам, як хітозан, альгінат, желатин.

Хітозан

Хітозан (CS) – це природний полісахарид, основним джерелом якого є хітин, – компонент екзоскелетів ракоподібних, таких як креветки, краби та омари. Біорозкладаний, нетоксичний і біосумісний хітозан – це лінійний полімер, що складається з випадково розподілених одиниць (1–4)-зв'я-

заних D-глюкозаміну та N-ацетил-D-глюкозаміну, який отримують деацетилюванням хітину (рис. 1.2). У своїй структурі він має три типи реактивних функціональних груп, які забезпечують його хімічні взаємодії, а саме: аміногрупи в позиції С-2, а також первинні та вторинні гідроксильні групи в С-6 і С-3 позиціях відповідно [16].

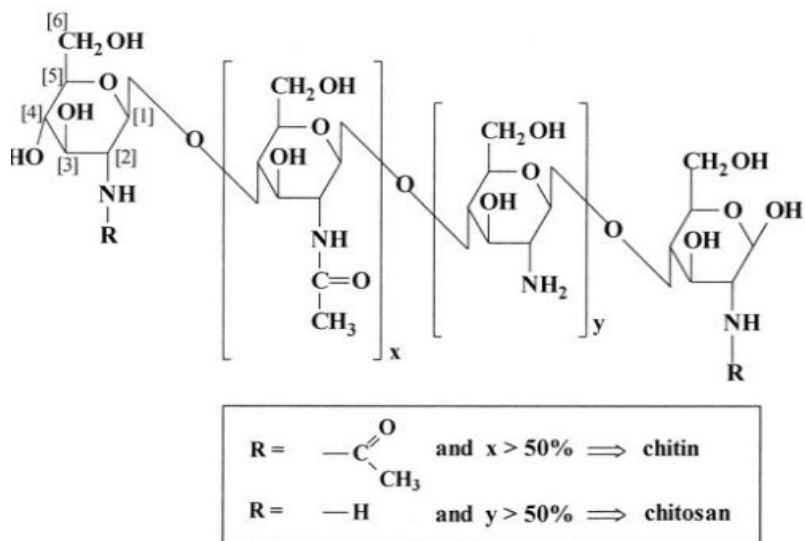


Рисунок 1.2 – Структурна формула хітину (x) та хітозану (y) [17]

Це надає хітозану таких властивостей, як біосумісність із нативними тканинами макроорганізму, біодеградація, протимікробна активність [18; 19]. Глюкозамінні ланки у структурі хітозану є місцями приєднання до його молекулярного ланцюга. Так, у протонаній формі аміногрупи дозволяють приєднання через електростатичну взаємодію. Нуклеофільні властивості амінів дозволяють приєднання за допомогою ковалентних зв'язків, оскільки аміни мають активну іонну пару електронів на електронегативному атомі азоту. Саме ці електрони приєднуються до позитивно

зарядженої частини іншої молекули. З іонами металів хітозан зв'язується через механізми комплексоутворення [20]. На рисунку 1.3 подано структурну хімічну формулу двох ланцюгів хітозану (1) та механізм їхньої взаємодії із двовалентним іоном металу (2).

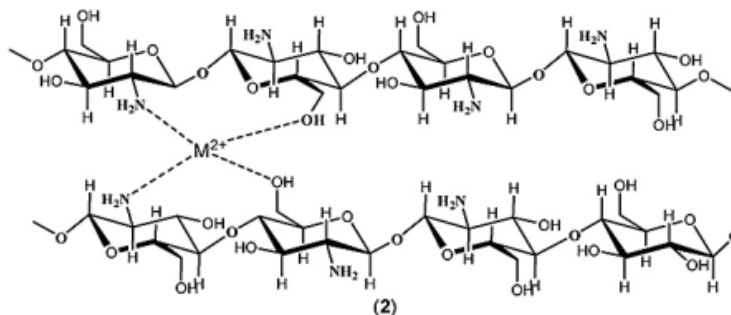


Рисунок 1.3 – Схема утворення комплексу «метал – хітозан» [21]

Здатність хітозану затримувати жири та холестерин у травному тракті зробила його популярною дієтичною добавкою для схуднення та зниження рівня «шкідливого» холестерину [22]. Його використовують як біорозкладний пакувальний матеріал, як складову біоматеріалів для загоєння ран, сорбенту в системах очищення води. Триває вивчення хітозану щодо його потенційних протимікробних, протигрибкових і протипухлинних властивостей. Було досліджено потенціал хітозану сприяти загоєнню ран. У разі нанесення на рану хітозан може утворювати захисну плівку, яка запобігає інфекції та сприяє загоєнню. Вважають, що ранозагоювальні властивості хітозану є результатом його здатності стимулювати вироблення чинників росту та сприяти утворенню нових кровоносних судин, що є необхідним для регенерації пошкодженої тканини [23]. Хітозан також може сприяти утворенню грануляційної тканини, що утворюється в процесі загоєння і складається з нових кровоно-

сних судин і сполучної тканини. Це може допомогти прискорити процес загоєння та зменшити ймовірність утворення рубців. Відомо, що хітозан є гарним сорбентом, наприклад, іонів важких металів. Кожен сорбент певною мірою має багато механізмів зв'язування, зазвичай, основним є якийсь один. Хітозан є винятком із цього правила, оскільки він сорбує як водорозчинні, так і жиророзчинні речовини, має іонообмінні властивості, зв'язує негативно заряджені молекули, з важкими металами та радіонуклідами утворює найміцніші хелатні сполуки. Також хітозан проявляє антимікробні властивості, які зменшують ризик розвитку ранових інфекцій. Завдяки позитивно зарядженим аміногрупам хітозан міцно зв'язується з негативно зарядженими молекулами на мембранах мікробів (тейхоеві кислоти, фосфорнокислі та карбоксильні групи, які є у складі мікробних стінок). Фіксація мембран паралізує їхню роботу, особливо транспорт іонів, корисних речовин, що сприяє посиленню чутливості збудників захворювань до різних антибактеріальних речовин. Цей неспецифічний механізм протимікробної дії дозволяє подолати особливо стійкі до антибіотиків інфекції: сальмонели, *E. coli*, стафілококи, Грам (+) коки, синьогнійну паличку, гриби *Candida*. Бактерії поділяються на Грампозитивні (+) і Грамнегативні (-) залежно від наявності тейхоевих кислот у перших і у других – ліпополісахариду, що має властивості ендотоксину. Передбачено, що хітозан пов'язує тейхоеві кислоти завдяки позитивному заряду своєї молекули (так можуть нейтралізуватися Грам (+) коки, наприклад стафілокок). Проте дослідження флокуляції Грам (-) мікрофлори не продемонстрували залежності між зарядом бактеріальних мембран і їхньою взаємодією з хітозаном. Більш сильну антимікробну дію хітозан виявляє проти Грам (+) бактерій: *Staphylococcus aureus*, *Listeria*, *Bacillus*. Деякі дані свідчать про різний механізм дії хітозану на Грам (+) та Грам (-) флору. Так, розмноження

Staphylococcus aureus зупиняє хітозан із меншим ступенем деацетилювання та більшою молекулярною масою. На *E.coli* більше впливає низькомолекулярний хітозан [24], що деякі дослідники пов'язують із більш складною двошаровою будовою мембрани цієї бактерії.

Отже, біосумісність, відсутність токсичності, гарна біорозчинність є запорукою безпечного використання хітозану у складі матеріалів біомедичного призначення.

Було встановлено, що більшість властивостей хітозану, таких як катіонна природа, антимікробна дія приписують первинній аміногрупі. У дослідженні Суї та ін. [25] було розроблено композит як трансдермальну систему доставки лікарських засобів (TDDS) за допомогою електропрядіння з використанням хітозану та полівінілового спирту (ПВС), навантаженому антибіотиком ампіциліном натрію. Було досліджено фізико-хімічні властивості та профіль вивільнення лікарського засобу з обсягу вказаного композиту. Важливою проблемою використання композиту хітозан / ПВС є анігіляція структури через гідрофільність обох компонентів, що призводить до надмірного набрякання внаслідок водопоглинання. Це явище в системах доставки ліків призводить до різкого вивільнення завантажених ліків і перешкоджає забезпечити стійкі та контрольовані профілі вивільнення. Отже, необхідне додаткове оброблення полімерних хітозанових волокон, щоб запобігти морфологічному руйнуванню [26]. Найпоширенішим методом подолання цієї проблеми є хімічне та фізичне «зшивання», яке механічно зміцнює структуру та запобігає різкому вивільненню лікарського засобу [27]. З метою індукувати зшити структуру в навантажених ампіциліном хітозан / ПВС композитах, отриманих методом електропрядіння, був використаний глутаровий альдегід як зшивального агента. Жодних змін у морфологічній структурі зшитих полімерних волокон не було виявлено. Було продемонстровано покра-

щені фізичні властивості композиту з невисоким ступенем вивільнення ампіциліну та придатність системи для трансдермальної доставки лікарських засобів [25]. Mendes та ін. [28] виготовили гібридний скафолд із використанням хітозану та азолектину (суміші фосфоліпідів видобутих із соєвих бобів) і дослідили їхній потенціал для трансдермальної доставки куркуміну, натрію диклофенаку та препаратів вітаміну В12. Згідно з попередніми дослідженнями окремі фосфоліпіди та нановолокна хітозану проявляли тривалу нестабільність у водному розчині, що є неприйнятним для більшості біологічних застосувань, особливо для трансдермальної доставки. Проте хітозан / фосфоліпід виявився більш стабільним у буферно-фосфатному розчині PBS зі значно меншою здатністю до набрякання, що пояснюється результатом утворення щільної та жорсткої структури через взаємодію між фосфоліпідами та хітозаном [28]. Крім того, хітозан / фосфоліпідні нановолокна не виявили помітної токсичності [28]. Поведінка вивільнення куркуміну, диклофенаку та вітаміну В₁₂ із хітозан / фосфоліпідних нановолокон продемонструвала профіль, який не залежить від природи препарату. Щодо цього релізу куркуміну становить більш стійкий профіль вивільнення, ніж інші досліджувані препарати через його гідрофобну природу [28]. В іншому дослідженні Najafi-Taher et al. [29] повідомили про скафолд для трансдермальної доставки ліків, у якому ядром є аскорбінова кислота, а оболонкою – волокна хітозан-ПВС. Для індукції поперечних зв'язків у структурі «ядро / оболонка» нановолокон був застосований метод дії парів глутарового альдегіду. Аналіз *in vitro* виявив, що вивільнення препарату в цій структурі залежало від кількості внесеного лікарського засобу та концентрації хітозану. Збільшення концентрації хітозану призводить до зниження вивільнення препарату. Було досліджено структуру «ядро / оболонка» зі змішаними нановолокнами хітозан-ПВС-аско-

рбінова кислота. Вивільнення лікарського препарату з цієї структури матеріалу продемонструвало початкове екстремальне вивільнення 33 %, пов'язане з наявністю гідрофільного ПВС. Водночас початкове вивільнення з нановолокон хітозан-ПВС було нижчим (27 %) через інкапсуляцію препарату в серцевині і необхідний час для дифузії через оболонку [29].

Альгінат

Альгінати (Alg) – нерозгалужені полісахариди, що складаються з D-мануронової кислоти (M) і її C-5 епімера L-гулууронової кислоти (G). Природний сополімер Alg є важливою складовою водоростей, таких як ламінарія, а також є екзополісахаридом бактерій, зокрема синьогнійної палички. Він складається з послідовностей залишків M (блоки M) і G (блоки G), укрплених послідовностями MG (MG-блоки). Alg можна отримати як із водоростей, так і з бактеріальних джерел, але комерційно доступні Alg водночас походять тільки з водоростей. Склад сополімеру, його послідовність і молекулярна вага залежать від джерел їхнього отримання. Велика кількість водоростей у водоймах визначає й кількість альгінатного матеріалу, наявного в природі. Бурі морські водорості є основним джерелом альгінату, який використовують у багатьох секторах, зокрема харчову, текстильну промисловості та медицину. Індустріальне виробництво Alg становить приблизно 30 000 тонн на рік, і за оцінками становить менше ніж 10 % від біосинтезованого альгінатного матеріалу [30]. Управління з контролю за якістю харчових продуктів і медикаментів США (FDA) вважає альгінат натрію безпечним і дозволяє для застосування як природного загусника й замітника стабілізатора.

Перше повідомлення про хімічну структуру альгінатів з'явилося ще в 1966 р. Larsen та ін. детально описали

частковий гідроліз альгінатів із подальшим розподілом за фракціями, що містять різні композиції сополімерів [31]. Було продемонстровано, що існують розчинні (гідролізовані) фракції та нерозчинні (резистентні) фракції. Стійкі фракції склалися з молекул, які містили переважно М або G-блоки, тоді як гідролізовані фракції мали високу частку MG-блоків. Тому було запропоновану структуру, яка складалася з М-блоків, G-блоків і гідролізованих блоків MG, що чергуються. А типову структуру альгінатного остова подано на рисунку 1.4, де (а) демонструє конформацію ланцюга, а (б) демонструє типовий розподіл за блоками.

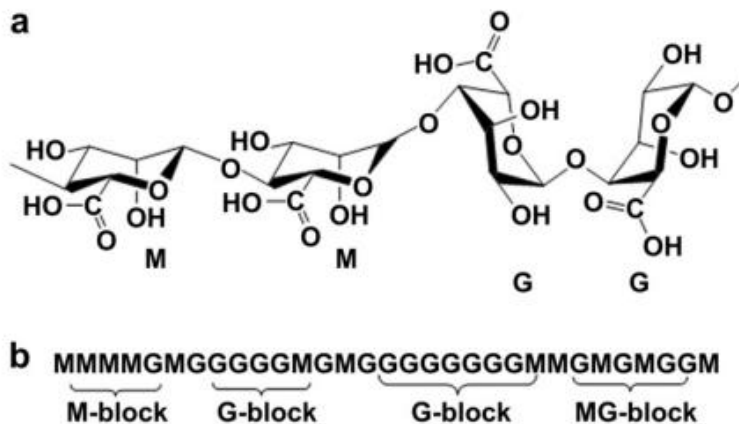


Рисунок 1.4 – Репрезентативна структура альгінату: (а) конформація ланцюга та (б) блоковий розподіл [32]

Часто застосовують хімічну модифікацію альгінатів як засіб для досягнення одного із двох результатів: (А) – покращання наявних властивостей (підвищення міцності іонного гелю за допомогою додаткового ковалентного зшивання, підвищення гідрофобності, покращання біодеградації або підвищення ступеня нуклеації та росту гідроксиапатиту (НА)), або (В) – надання абсолютно нових властивостей,

яких не було в немодифікованих альгінатах (наприклад, набуття антикоагулянтних властивостей, забезпечення хімічних / біохімічних взаємодій із поверхнями клітин).

Розчинність альгінатів у воді регулюють три параметри: а) рН розчинника; б) іонна сила середовища; в) наявність гелеутворювальних іонів у розчиннику. Для виготовлення розчину Alg важливо, щоб рН був вищим за певне критичне значення, і групи карбонової кислоти були депротоновані. Зміна іонної сили середовища впливає на властивості розчину, наприклад, на конформацію полімеру, подовження ланцюга, в'язкість і, отже, розчинність. Альгінати утворюють гель за наявності двовалентних катіонів, таких як Ca, Sr, Ba. Розчинність альгінатів дуже залежить від стану ланцюгових груп карбонових кислот. Альгінова кислота з групами карбонової кислоти в протонованому вигляді не була повністю розчинена в жодній системі розчинників, зокрема воді. Альгінат натрію розчинявся у воді, але не був повністю розчинений у жодному з досліджуваних органічних середовищ.

Як було зазначено вище, альгінат хелатується двовалентними катіонами з утворенням гідрогелів. Формування гелю відбувається завдяки взаємодії між G-блоками, які асоціюють, щоб утворити міцні з'єднання за наявності двовалентних катіонів [33]. Крім G-блоків, слабкі з'єднання утворюють також блоки MG [34]. Отже, альгінати з високим вмістом G дають більш міцні гелі. Спорідненість альгінатів до двовалентних іонів зменшується в такому порядку: $Pb > Cu > Cd > Ba > Sr > Ca > Co, Ni, Zn > Mn$ [35]. Проте Ca^{2+} є найпоширенішим катіоном для індукції утворення альгінатного гелю. Зшивання альгінатів кальцієм може здійснюватися двома методами. Перший – це метод «дифузії», за якому зшивальні іони дифундують у розчин альгінату із зовнішнього середовища. Другий – це метод «внутрішнього зшивання», коли джерело іонів розташоване в розчині

альгілату, а керований тригер (зазвичай рН або розчинність джерела іонів) запускає вивільнення зшивальних іонів у розчин. Дифузійний метод дає гелі з градієнтом концентрації зшивальних іонів Са по товщині, тоді як «внутрішнє зшивання» дає гелі з рівномірною концентрацією іонів по всьому об'єму [36]. Дифузійні гелі, зазвичай, отримують крапельним способом, додаючи розчин альгілату в ємність із СаCl₂. Типове «внутрішнє зшивання» гелів використовує як джерело кальцію нерозчинні солі кальцію, такі як СаСО₃.

Значення альгінатів як природних полісахаридів у біомедицині складно переоцінити. Завдяки здатності альгілату до гелеутворення через поглинання значної кількості рідини та можливості створювати вологе середовище альгінат натрію було досліджено для застосування для загоєння ран. Вважають, що це вологе середовище прискорює загоєння ран, діючи як захисний бар'єр і зберігаючи ідеальний рівень гідратації. Опіки, виразки та хірургічні розрізи можна покривати та захищати рановими пов'язками з альгілату натрію, які мають різні форми, зокрема листи, гелі та волокна. Ці пов'язки часто виготовляють із суміші альгілату кальцію та натрію, яка сприяє згортанню крові та загоєнню ран. Згідно з дослідженнями пов'язки, що містять альгінат натрію, можуть допомогти більш ефективно лікувати рани загалом, зменшувати біль і запалення. Крім того, вони є безпечними, їх добре переносять пацієнти. Сьогодні Alg використовують як перев'язувальний матеріал для лікування гострих або хронічних захворювань виразкових ушкоджень шкіри [37; 38]. Однак здатність альгілату до гелеутворення з метою отримання гідрогелів для інкапсуляції клітин є найбільш прийнятною для біомедичних застосувань [39].

Одним із критичних чинників для біомедичних застосувань, таких як доставка ліків, є швидкість розпаду в організмі людини. Деградація альгілату може відбуватися за допомогою обміну гелеутворювальних іонів кальцію

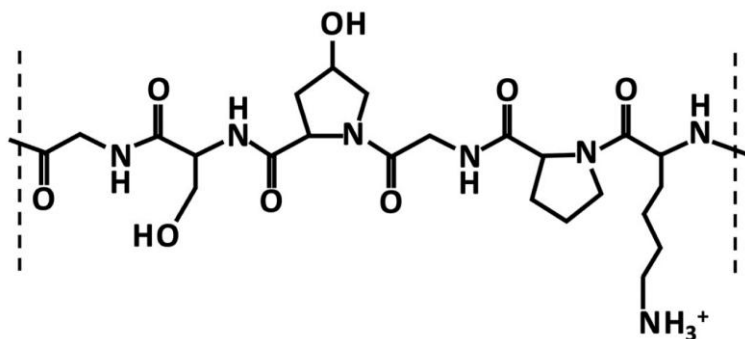
з гідролізом натрію, кислоти та лугу та активними формами кисню [40]. Fu та ін. [41] використовували суміш електро-спінінгового ПВС-Alg, наповненого лікарським засобом моксифлоксацину гідрохлоридом (МГХ) та зшитого парами глутарового альдегіду, як пов'язку на рану. Ідеальна мембрана для ранової пов'язки повинна забезпечувати відповідну функцію набрякання. Висока здатність нановолокна до набрякання та низька втрата вологи є критичними параметрами для ранових пов'язок, оскільки вони контролюють ранові виділення та підтримують вологе середовище в зоні ушкодження шкіри. У згаданому дослідженні Fu та ін. повідомили про високий ступінь набрякання композиту МГХ/ПВС/Alg $108 \pm 6,45$ %, тоді як відсоток втрати ваги був низьким ($4,94 \pm 1,98$ %). Профіль вивільнення навантаженого МГХ продемонстрував бурхливе вивільнення в перші 8 годин із наступним тривалим вивільненням протягом 26 годин [41]. Мембрана МГХ/ПВС/Alg також виявила належний антибактеріальний ефект щодо *P. aeruginosa* та *S. aureus* як позитивної та негативної бактерій. Аналіз загоєння ран довів, що композит МГХ/ПВС/Alg значно сприяв закриттю рани з 8 до 14 дня порівняно з контрольними групами [41]. Abid та ін. [42] розробили двошаровий скафолд із функцією контрольованої доставки знеболювальних ліків за опікових ран. Було використано різні полімери для кожного шару, водночас шар, який контактував з опаленими тканинами, забезпечував вибухове вивільнення лікарської речовини габапентину, а другий шар (ПВС і Alg) забезпечував тривале вивільнення ацетамінофену (АСМ). Щоб підвищити стабільність шару з нановолокон ПВС/Alg для вивільнення АСМ, його зшивали абсолютним етанолом, а потім розчином хлориду кальцію, у такий спосіб перетворюючи альгінат натрію на нерозчинний у воді альгінат кальцію. Дослідження вивільнення ліків обома шарами довело, що перший шар являє собою трифазний профіль вивільнення, де в першій фазі близько 55 % завантаженого

габапентину різко вивільнилося за 15 хвилин, що вплинуло на розплутування полімерних ланцюгів, коли фосфатно-буферний розчин PBS дифундував у пори поліетилен оксиду (PEO) та доступні простори. Протягом другої фази відбувалося вивільнення препарату від 55 % до 77 % між 15 і 30 хвилинами, що можна пояснити розривом водневих зв'язків у ланцюгах PEO. На завершальній фазі, яка приписується повному розчиненню PEO, вивільнилося 92 % завантаженого препарату. Кінетичне дослідження вивільнення препарату з першого шару довело, що початкова концентрація завантаженого препарату була важливішою за інші чинники, такі як маса нановолокна та вологість [42]. Вивільнення препарату з другого шару відбувалося у два етапи. На першому етапі вивільнення лікарського засобу з ПВС/Al₃ було приписано дифузії розчину PBS у вільні простори полімерних ланцюгів, незалежно від зшитої структури. Але друга фаза вивільнення АСМ сильно залежала від структури поперечних зв'язків, а саме розпаду полімерного ланцюга та розриву міжланцюгових і внутрішньоланцюгових водневих зв'язків. Незшитий ПВС/Al₃ скафолд вивільняв на 35 % більше ліків, ніж зшитий. Кінетичне дослідження другого шару довело, що вивільнення АСМ значною мірою залежить від площі поверхні скафолда [42].

Желатин

Желатин є біорозкладаним поліпептидом, який утворюється за допомогою часткового гідролізу природного колагену (рис. 1.5).

Це волокнистий, водорозчинний білок, який переважно міститься в сполучних тканинах організму [44]. Коллаген є природним полімером і відіграє значну роль у збереженні цілісності сполучних тканин, зокрема рогівки, хрящів, сухожиль, кровоносних судин, зв'язків і дентину [44].



Glycine Serine Hydroxyproline Glycine Proline Lysine

Рисунок 1.5 – Приклад хімічної структури фрагмента α -ланцюга желатину [43]

В організмі людини існує щонайменше 16 різних типів колагену. Найбільш поширеними є колагени типу I, типу II і типу III, які становлять приблизно від 80 % до 90 % усього колагену в організмі [44]. Колаген типу I складається із трьох спіральних поліпептидних ланцюгів діаметром приблизно 1,5 нм і довжиною 300 нм. Стандартна структура потрійної спіралі колагену типу I складається із двох α -ланцюгів і β -ланцюга. Колаген має обмежену антигенність та імуногенність, що є результатом поліпептидних структур трьох спіральних ланцюгів і молекул у центральних ділянках [45; 46]. Обмежена антигенність значно зменшила використання колагену з біологічною метою, на відміну від желатину, який має дуже гарну здатність до біологічного розкладання та не є антигеном. Проте желатин має багато різних типів, заснованих на структурі колагену, яка змінюється залежно від його джерела та процесів гідролітичного оброблення. Наприклад, протягом останніх десяти років у регенеративній медицині широко використовують свинячий і бичачий желатини [47]. Ці желатини мають подібні до людських поліпептидні структури. Рибні

желатини мають порівняно знижений вміст пептидних повторів або залишків амінокислот у своїх поліпептидних ланцюгах, таких як гідроксипролінамід і пролінамід. Отже, ці желатини мають суттєво знижену температуру плавлення, погану термостабільність, відносно низьку температуру гелеутворення та підвищену в'язкість порівняно з желатинами ссавців [47]. Гідролітичні способи перетворення колагену I поділяються на три групи: хімічні, фізичні та ферментативні. Повний гідролітичний процес від колагену I до желатину відбувається в три фази, зокрема стадію попереднього оброблення сировини, стадію екстракції желатину та стадію очищення або сушіння [47]. Є дві основні форми желатину (тип А та тип В), які можна отримати залежно від процедур, включених у попереднє оброблення колагену I перед екстракцією. Утворення желатину типу А відбувається за допомогою кислотного оброблення, тоді як утворення желатину типу В досягають за допомогою лужного або ферментативного оброблення [48]. Желатин типу А, який має ізоелектричну точку 9.0, отримують під час кислотного гідролізу колагену I під дією соляної або сірчаної кислоти. Молекули колагену I містять амідні групи глутаміну та аспарагіну, які гідролізуються до карбоксильних груп, утворюючи в такий спосіб глутамат і аспартат [48].

Молекулярна маса желатину коливається від 15 000 Да до 400 000 Да [47]. Желатин – це поліпептидна суміш, у якій близько 20 амінокислот зв'язані між собою пептидними зв'язками. Поліпептидні желатини мають молекулярну масу та довжину, які залежать від попереднього оброблення та параметрів гідролітичної стадії, зокрема температури, рН і часу [47]. Склад і послідовність амінокислот в окремих ланцюгах можуть значно відрізнятися залежно від джерела желатину, що впливає на його кінцеві властивості [49]. Окремі желатинові ланцюги містять міцні нековалентні зв'язки на основі водневих, гідрофобних і електростатич-

них взаємодій і сил Ван-дер-Ваальса. Желатин має слабшу імуногенність, ніж вихідний колаген I, через крихкі потрійні спіральні структури та властивості пропептидів [46; 50].

Колаген є основним компонентом позаклітинного матриксу в сполучних тканинах, і він відіграє вирішальну роль у відновленні та регенерації тканин. Желатин, отриманий із тваринних тканин, як похідна речовина колагену досліджували для його потенційного застосування як лікувального засобу для зцілення ран у формі пов'язки або губки. Ці матеріали створюють вологе середовище, що сприяє загоєнню ран, а також можуть служити бар'єром проти мікробної інфекції. Желатин сприяє проліферації клітин і відновленню ушкоджених тканин. Його можна використовувати для створення гідрогелів, які забезпечують підтримання вологого середовища, що сприяє міграції клітин, ангиогенезу (утворення нових кровоносних судин) та іншим процесам, важливим для загоєння ран. Желатин може служити джерелом клітин, чинників росту або інших біоактивних речовин для ушкоджених ділянок шкіри, що може посилити регенеративний потенціал і прискорити процес загоєння. Скафолди на основі желатину можуть забезпечувати тимчасову структурну підтримку під час регенерації тканин, деградуючи паралельно із загоєнням рани та залишаючи після себе регенеровану тканину. Важливо відзначити, що сфера біоматеріалів для догляду за ранами постійно розвивається і дослідження тривають [51; 52].

Метод хімічного зшивання наразі широко визнають як найбільш ефективну й популярну стратегію модифікації желатину з метою надання матеріалам із його вмістом нових властивостей. Однак дослідження покращання оптичних та електричних характеристик желатину завдяки використанню органічних молекул усе ще перебуває на ранніх стадіях.

Біоматеріали на основі желатину з додаванням хітину, хітозану або інших полісахаридів [53–55] – це широко вивчені желатинові композити, які набули популярності насамперед завдяки своєму застосуванню як кровоспинного агента й біомедичних галузях і в процесах пакування харчових продуктів [56]. У 2018 році С. Chen і його колеги синтезували нанокompозитний матеріал, що складається з хітинових нановолокон (CS_{NB}) і желатину. Аналіз із пропускання ультрафіолету довів, що включення желатину до складу нанокompозиту призвело до помітного підвищення коефіцієнта прозорості при 600 нм із 65 % до 88,7 %, що в поєднанні з поліпшеними механічними властивостями робить нанокompозитні плівки CS_{NB} /желатин дуже перспективними для застосування в упакуванні харчових продуктів і біомедичній промисловості [57]. У 2021 році Leite та їхня дослідницька група успішно розробили композит на основі желатину, поєднавши нанокристали дубильної кислоти та целюлози (CNC) з желатиновою матрицею. Композитна плівка продемонструвала вражальну здатність блокувати 76 % ультрафіолетового світла, зберігаючи водночас виняткову прозорість для видимого світла, що робить її дуже придатною для упаковки світлочутливих харчових продуктів і реагентів, таких як амінокислоти [58].

1.2. Кальцій-фосфатна біокераміка

Кераміка на основі ортофосфатів кальцію (ОФК) (табл. 1.1) має чудову біосумісність і протягом десятиліть була і є альтернативою біологічним замінникам, а саме природним кістковим тканинам: аутокістці, алокістці та ксенокістці [7].

Гідроксиапатит (НА) є основним неорганічним компонентом кісток і зубів хребетних, на його частку припадає близько 70 % загальної маси. НА має гарну біологічну сумісність і біоактивність. Стехіометричний НА має хімічну формулу $Ca_5(PO_4)_3(OH)$, а співвідношення Ca/P = 1,67.

Таблиця 1.1 – Основні представники кальцію фосфатів і їхні властивості [59]

Кальцію фосфат	Тип кристалічної ґратки	Параметри кристалічної комірки, нм	Співвідношення Са/Р	Густина (кг/м ³)
DCPD (брушит)	моноклинна	a = 5,812 b = 15,180 c = 6,239	1,0	2,32
DCPA (монетит)	триклинна	a = 6,910 b = 6,627 c = 6,998	1,0	2,89
ОСР (октакальцію фосфат)	триклинна	a = 19,62 b = 9,523 c = 6,835	1,33	2,61
α -ТСР (α-трикальцію фосфат)	моноклинна	a = 12,887 b = 27,28 c = 15,219	1,5	2,86
β -ТСР (β-трикальцію фосфат)	ромбічна	a = b = 10,418 c = 37,35	1,5	3,07
НА (гідроксиапатит)	гексагональна	a = b = 9,367 c = 6,884	1,67	3,16

Водночас біологічний апатит характеризується наявністю карбонатної складової (CO₂³⁻), а також іонів металів, які заміщують кальцій. Однак його часто записують як Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, щоб указати, що гексагональна елементарна комірка складається із двох молекул [60]. Стехіометричний НА ніколи не був виявлений у біологічних системах. Проте його широко використовують як замітник кісткової тканини або як захисне покриття на ортопедичних імплан-

тах (наприклад, на протезах кульшового суглоба або стоматологічних штифтах) через його хімічну та структурну схожість із природним кістковим мінералом. Серед всіх ОФК дефіцитний за кальцієм гідроксиапатит (кдНА), так званий біоапатит, є основним мінеральним компонентом твердих кісткових тканин, який у поєднанні з колагеновими волокнами утворює міцну композитну наноструктуру, здатну витримувати механічні навантаження. Кристалічна структура кдНА може вміщувати різноманітні катіони, які заміщують іони Ca^{2+} (Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Sr^{2+}), фосфатну групу PO_4^{3-} (CO_3^{2-} , SiO_4^{4-}) та аніонні заміщення по групі OH^- (F^- , Cl^- , CO_3^{2-}). Кристалічна структура кдНА добре інтегрується з кістковою тканиною й підтримує адгезію, проліферацію й диференціювання остеобластів під час утворення нової кістки [40]. Механічні властивості НА залежать здебільшого від стехіометрії, форми (щільна чи пориста), розміру частинок, умов спікання та наявності домішкових фаз [7].

У таблиці 1.2 проведено порівняння механічних властивостей НА кераміки порівняно з кістковими матеріалами [7].

Одним із важливих чинників успішної імплантації біоматеріалу поряд з остеопровідністю та пористістю є співвідношення швидкості резорбції біоматеріалу до швидкості утворення нової кісткової тканини. ОФК, пов'язані з кістковими тканинами хребетних, а саме дикальцієвий фосфат дигідрат (DCPD-брушит), дикальцієвий фосфат ангідрат (DCPA-монетит), β -трикальційфосфат (β -ТСП), кдНА та октакальцієвий фосфат (ОСП) з розчинностями (логарифм добутку концентрації іонів для цієї хімічної формули над осадом – $\log K_s$, моль l^{-1} , рН7, 25 °С) 6,59, 6,9, 85, 96,6 відповідно, відомі як біоматеріали для кісткоутворення через їхню біосумісність та остеокондуктивні властивості [61].

Таблиця 1.2 – Механічні властивості НА та кісткової тканини [62]

Параметр	Щільний НА	Пористий НА	Кортикальна кістка (* поперечна)	Губчаста кістка
Модуль Юнга (ГПа)	35–120	–	17–20 * 6–13	0,1–5
Міцність на розрив (МПа)	38–300	3	79–151 * 51–56	10–20
Міцність на стиск (МПа)	120–900	2–100	170–193 * 133	7–10
Межа течкості (МПа)	38–250	2–11	131–224 * 106–131	20
В'язкість руйнування (МПа/м)	0,7–1,2	0,1	2–12	0,1

Завдяки сайтам PO_4^{3-} і Ca^{2+} НА легко зв'язується з білками й тому його широко використовують у біоінженерії [63]. Але стехіометричний НА, як і кдНА, мають низьку швидкість резорбції й тому залишаються в організмі тривалий час, запобігаючи повній реконструкції живої кісткової тканини. Матеріали із вмістом НА також є носіями для доставки ліків і генів завдяки своїм регульованим фізико-хімічним властивостям (наприклад, пористій структурі, розміру кристалітів, адсорбційним властивостям, рН-залежному розчиненню, низькій токсичності, відмінній стабільності під час зберігання, дешевого виробництва [64]. Швидкість розчинення НА збільшується зі зміною рН середовища від лужного до кислого значень, що прискорює вивільнення молекул ліків з об'єму носія [65]. У дослідженні [66] нанорозмірний НА, навантажений доксорубіцином (DOX), за-

стосовували для посилення атаки на ракову пухлину. Результат довів ефективність впливу препарату HA-DOX на мітохондрії та ядра пухлиногенних клітин. Крім доставки класичних лікарських засобів, HA також має потенціал для доставки DNA, siRNA та miRNA – для генної терапії [66].

На відміну від HA, β -ТКФ демонструє високий рівень резорбції в біологічних умовах [67]. Він має міцність 451,11–676,66 МПа й межу плинності 137,29–156,91 МПа, гарну біосумісність і поряд із HA його застосовують у складі матеріалів для відновлення та реконструкції кісткової тканини [68]. Існує три основні напрями деградації β -ТКФ *in vivo*: деградація матеріалу фізіологічною рідиною організму, фагоцитоз макрофагами та багатоядерними гігантськими клітинами та активне поглинання остеокластами [69]. ОСР є попередником нанокристалів біоапатиту завдяки своїй структурі. Ця сполука, у якій шари апатиту, паралельні площині (100), чергуються з гідратованими шарами, де найімовірніше приєднання різних іонів і молекул [70], досить швидко перетворюється в аморфний ОФК (АФК), який повільно трансформується в кДНА – більш термодинамічно стабільну фазу [71; 72].

Загалом ОФК мають гарну біосумісність і здатність до розкладання, але їхні механічні властивості є недостатніми та більшою мірою залежать від пористості матеріалу. Зі збільшенням пористості зменшується міцність на розрив і стиск, в'язкість, водночас зростає крихкість і здатність до руйнування [73]. Численні тести *in vivo* продемонстрували, що ортофосфати кальцію мають гарну остеопровідність [74]. Біокераміка на основі ОФК добре зв'язується з поверхнею кістки без утворення сполучної тканини [75] і сприяє remodelюванню та формуванню нової кісткової тканини за допомогою залучення остеобластів та остеокластів у процесі хемотаксису [76]. Крім того, у комплексі з аліфатичними поліефірними матеріалами деградація HA і β -ТКФ

призводить до створення кислого середовища в навколишніх тканинах [77], що є більш сприятливим для росту нової кістки та її остеointegraції [78]. Висока крихкість ОФК ускладнює застосування відповідних ортопедичних матеріалів на ділянках кістки, які мають механічне навантаження. Тому більш перспективними для застосування в ортопедичній і артроскопічній хірургії є композити ОФК із полімерами, які поєднують еластичність органічної полімерної складової та біосумісність і остеопровідність неорганічної біокераміки [79]. Як приклад можна назвати інтерференційні гвинти, виготовлені з трикальцію фосфату або гідроксиапатиту в комплексі з полімолочною кислотою (β -TCP/PLLA та HA/PLLA відповідно), а також шовні анкери з трикальцію фосфату та сополімеру полімолочної та полігліколієвої кислот (TCP/PLGA), які використовують в артроскопічній хірургії плеча або коліна в дорослих і досягли ідеального терапевтичного ефекту [80; 81].

1.3. Наночастинки як компоненти для покращання властивостей композитних матеріалів

Новою тенденцією в науці про біоматеріали є модифікація наночастинками (НЧ) 3D-скафолдів для покращання або зміни їхніх властивостей, функціональності та кінетики вивільнення лікарських засобів [82]. НЧ – це ультрадисперсні частинки, розмір яких коливається від 1 нм до 100 нм, причому принаймні одна властивість значно відрізняється від об'ємного аналога [83]. Розмірна залежність деяких властивостей НЧ впливає з їхнього великого відношення площі поверхні до об'єму, що означає, що на поверхні оголюється більше атомів. Звідси більший внесок поверхневих атомів у зазначені властивості [84]. Другою причиною залежності розмірів на нанорівні є квантове обмеження, тобто коли розмір НЧ менший за довжину хвилі

де Бройля електрона або дірки [85]. Відповідно, НЧ виявляють унікальні фізичні, хімічні та оптичні властивості. Залежно від складу НЧ, які входять до складу біоматеріалів, можна розділити на групи, а саме: органічні (полімери, дендромери, ліпосоми), неорганічні (метали та їхні оксиди) і вуглецеві (графен, фулерен, нанотрубки) (див. рис. 1.1) [86].

Органічні наночастинки

Органічні НЧ, а саме ліпосоми та міцели привернули значну увагу в доставці ліків і терапії раку завдяки своїй здатності ефективно інкапсулювати та спрямовувати терапевтичні агенти. Ці наноносії мають такі переваги, як контрольоване вивільнення, покращена розчинність гідрофобних препаратів, зниження системної токсичності та цілеспрямована доставка до конкретних клітин або тканин [87]. Включення цих НЧ у матриці для терапії раку кісток довело багатообіцяльний потенціал у покращанні результатів лікування. НЧ «серцевина – оболонка» складаються з основного матеріалу, оточеного оболонкою, яка може захищати терапевтичний вантаж і контролювати профіль його вивільнення [88]. Убудовуючи протипухлинні препарати в ядро та модифікуючи поверхню цільовими лігандами, НЧ оболонки ядра можуть ефективно доставляти ліки до пухлинних клітин, мінімізуючи пошкодження здорових тканин. Інтеграція цих НЧ у матриці дозволяє виготовляти специфічні для пацієнта імплантати або каркаси, які можуть вивільняти ліки локально, забезпечуючи стійкий терапевтичний ефект у місці пухлини.

Міцели – це самозібрані НЧ, утворені з амфифільних блок-сополімерів, здатних інкапсулювати гідрофобні препарати в межах свого гідрофобного ядра. Ці структури можуть покращувати час циркуляції ліків в організмі та посилювати їхнє накопичення в пухлинних тканинах завдяки ефекту підвищеної проникності та утримання [89]. Бувши

інтегрованими в матриці, міцели забезпечують контрольоване вивільнення ліків, сприяючи точному просторово-часовому контролю терапевтичної доставки для ефективного лікування раку (рис. 1.6).

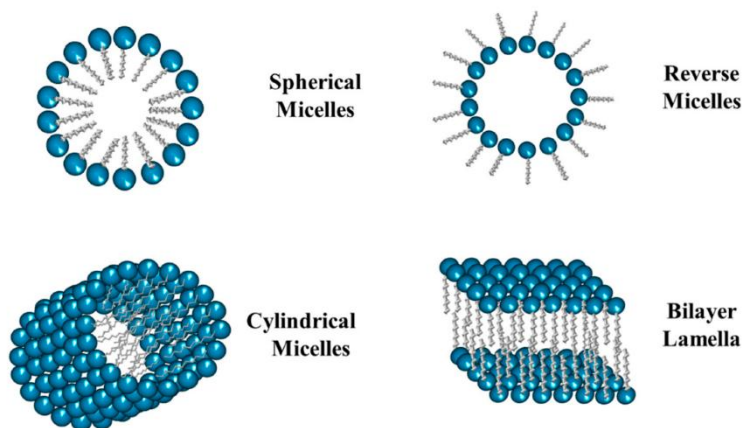


Рисунок 1.6 – Схематичне зображення різних типів міцел [90]

Ліпосоми (грец. lipos – жир + soma – тіло) – замкнуті бульбашки водного розчину, оточені безперервним бімолекулярним шаром, у якому вуглеводні частинки полярних фосfolіпідів зорієнтовані всередину, а електрично заряджені гідрофільні частинки – назовні і взаємодіють із водним оточенням.

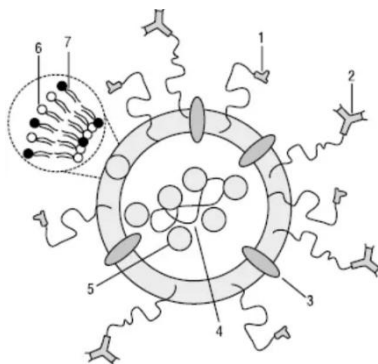


Рисунок 1.7 – Ідеальна конструкція ліпосоми з адресною доставкою [91]

Стійкість оболонки ліпосом зумовлено наявністю в молекулах фосfolіпідів двох вуглеводневих хвостів (рис. 1.7), гідрофобність яких перешкоджає її «розповзанню» у водному середовищі [91]. Такий принцип будови мають і мембрани клі-

тин, ліпідний шар яких містить молекули білків, малорозчинних у воді. Отже, ліпосоми є сферичними везикулами, що складаються з ліпідних бішарів, що дозволяє інкапсулювати як гідрофільні, так і гідрофобні препарати в їхньому водному ядрі або ліпідному шарі [92]. Ці структури можуть покращити розчинність, стабільність і біодоступність ліків, мінімізуючи нецільові ефекти. У тканинній інженерії ліпосоми можуть бути включені в скафолди або гідрогелі та виконувати роль носія різних лікарських речовин із подальшим їхнім вивільненням. Це полегшує локалізовану та стійку доставку протиракових агентів, у такий спосіб підвищуючи ефективність терапії раку. Sarkar і Bose [93] використовували навантажені ліпосомами пористі скафолди фосфатів кальцію (CaP), насичені куркуміном, для вивчення протиракових і остеогенних властивостей куркуміну. Ці біфункціональні скафолди продемонстрували підвищену цитотоксичність щодо клітин остеосаркоми (MG-63), і водночас сприяли проліферації кісткоформувальних клітин остеобластів, що було протестовано *in vitro* з використанням клітин плода людини (hFOB). В іншому дослідженні Bose et al. [94] куркумін був інкапсульований у нанорозмірні полімерні міцели та включений у скафолди, надруковані на тривимірному ТКФ [95].

Прикладом використання ліпосом як носіїв лікарських засобів можуть бути системи з доксорубіцином, вінкристином, анаміцином, третіоїном та ін. Ліпосоми можуть використовуватися як засоби, здатні посилювати імуногенні властивості антигенів. За їхньою допомогою можливе введення деяких сироваток і вакцин, зниження їхньої дози зі збереганням титру антитіл у крові вищим, ніж у разі введення звичайних вакцин або сироваток. Ліпосоми мають незначну токсичність і виражену пролонговану дію. На сьогодні відомі способи, які дозволяють підвищувати стійкість та ефективність ліпосом за допомогою більш оптима-

льної конструкції та підвищення адресної доставки. Наприклад, модифікують поверхню ліпосоми полімером із гнучким гідрофільним ланцюгом (поліетиленоксидом) і отримують стеричностабілізовані ліпосоми (1), які менше взаємодіють із клітинами ретикулоендотеліальної системи (РЕС); вводять імуноглобуліни для надання ліпосомам молекулярного адресату (2) або білок, наприклад гемаглютинін, який зумовлює більш легке злиття ліпосом із клітинною оболонкою (3). До їхнього складу можуть уводитися різні речовини, наприклад ДНК (4); позитивно заряджені ліпідні частинки для їхньої компактизації (5); мембраноутворювальні (6) і дестабілізувальні ліпіди (7) (див. рис. 1.7) [91].

Наночастинки металів і їхніх оксидів

Мікро- та наночастинки (МЧ, НЧ) неорганічного походження, такі як цинк, золото, срібло, залізо, мідь, кальцій і їхні оксиди привертають увагу дослідників щодо використання в біомедичній галузі через їхні структурні, магнітні, оптичні та електричні властивості [96], а також вплив на властивості композитних матеріалів із їхнім вмістом. Наявність неорганічної фракції в біополімерній матриці може підвищувати механічну міцність, термічну стабільність, пористість, гідрофільність матеріалу загалом. Крім того, фізичні внутрішні властивості часто можна адаптувати за допомогою контролю розміру, форми, поверхні, складу та структури неорганічних частинок. Наприклад, суперпарамагнетизмом магнітних наночастинок і люмінесценцією квантових точок можна керувати, змінюючи розмір і склад неорганічного ядра [97]. Властивості неорганічних наночастинок також можна поєднувати з органічними системами для створення гібридних композитів, які поєднують переваги фізико-хімічних властивостей як неорганічних, так і органічних компонентів, забезпечуючи чудову функціональність кінцевого матеріалу [98].

Серед великої кількості наночастинок металів особливо увагу привертають НЧ срібла, які включають до складу матеріалів біомедичного призначення завдяки їхньому протимікробному потенціалу. Ці наночастинки демонструють ефективність в інактивації бактерій, грибів і вірусів [99]. Їхня протимікробна активність залежить від морфології, розміру, площі поверхні та концентрації. Наприклад, Dong et al. вивчали вплив розміру НЧ Ag (10–90 нм) на антибактеріальну активність і виявили, що менші НЧ Ag генерують більшу кількість активних форм кисню (ROS), що призводить до більш ефективного пошкодження бактеріальних клітин [100]. Також повідомляли, що позитивно заряджені НЧ Ag мають більшу антимікробну активність проти грампозитивних бактерій, ніж негативно заряджені поверхневі НЧ [101]. Ефект цитотоксичності НЧ срібла щодо бактерій може бути пов'язаний із декількома фізико-хімічними параметрами, а механізми, пов'язані з бактерицидною активністю, ще не до кінця вивчені [101]. НЧ Ag також проявляють токсичність щодо клітинних ліній людини внаслідок їхньої деградації або агрегації в цитозолі [102], тому потрібно з обережністю підходити до кількості включених НЧ і визначати мінімальні пригнічувальні концентрації.

Наночастинки міді (Cu) зацікавлюють як альтернативи НЧ Ag через їхню відносно низьку вартість і відому токсичність щодо бактеріальних клітин. Недоліком наночастинок Cu є те, що вони зазнають швидкого окислення під впливом повітря з утворенням оксиду міді (CuO), який є токсичним для клітин людини. Токсичність мікро- та нанорозмірного CuO здебільшого пов'язана із впливом на клітини дисоційованих іонів Cu. Крім того, накопичення міді в організмі людини призводить до утворення шкідливих радикалів, таких як гідроксильні радикали [103].

Іншою альтернативою є оксид цинку (ZnO). Нанорозмірні частинки ZnO занесено до списку безпечних речовин, їх використовують як харчові добавки. Частинки ZnO проявляють антибактеріальну активність проти грампозитивних і грамнегативних бактерій, а також проти спор, стійких до високої температури та високого тиску під час застосування стандартних методів стерилізації [104]. ZnO у формі наночастинок є багатообіцяльним антибактеріальним засобом, точний антибактеріальний механізм якого вивчають.

Хімічне зшивання неорганічними наночастинок через утворення ковалентних зв'язків між полімерними ланцюгами можна використовувати для створення механічно міцніших матеріалів. Використання неорганічних наночастинок як зшивачів може змінити властивості гелю. Наприклад, Li et al. розробив неорганіко-органічні наноклоїдні системи за допомогою металокоординаційної хімії, використовуючи наночастинок оксиду заліза та полімерний катехол. По суті, наночастинок магнетиту Fe₃O₄ були зібрані в нанокмпозитних гідрогелевих мережах завдяки оборотній фізичній взаємодії між 4-плечовим поліетиленгліколем (4cPEG) і наночастинок через міжфазний зв'язок катехол-Fe(III). Унаслідок цього було отримано внутрішньо динамічну мережу гелю, яка могла реагувати на магнітне поле [105].

За останні кілька років дослідницькі групи вивчали композитні чорнила для 3D-друку, які містять різні типи НЧ із метою застосування як імплантатів під час лікування раку кісток або в разі втрати кісткової маси, спричиненої пухлиною [106]. Jiang та ін. [107] розробили надрукований на 3D-принтері імплантат, який вивільняє хіміотерапевтичні засоби та чинники росту для одночасної терапії раку та остеогенезу.

Вуглецеві наночастинки

Вуглецеві наночастинки, такі як нанотрубки (рис. 1.8), графен і його оксид, фулерени як новий клас матеріалів можуть проявляти антимікробну активність і значно впливати на фізико-хімічні властивості нанокомпозитних форм, придатних для різних галузей, зокрема біомедичного та харчового застосування [108].

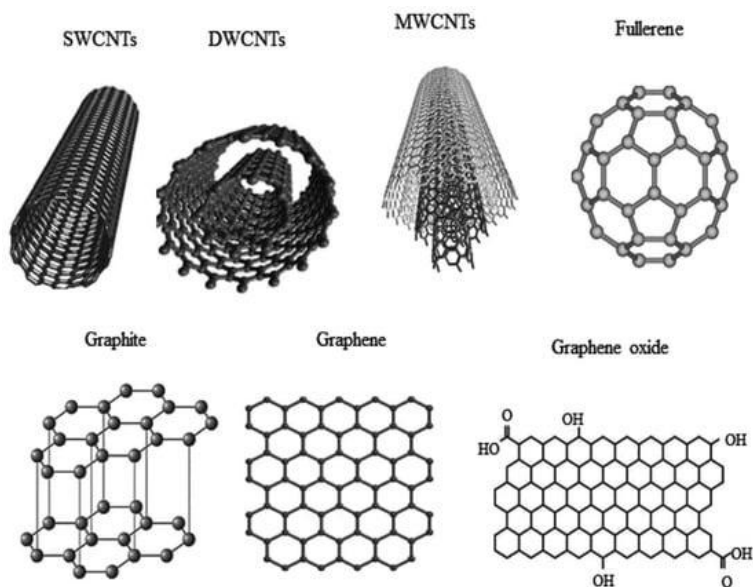


Рисунок 1.8 – Схематичне зображення одностінних вуглецевих нанотрубок (SWCNTs), двостінних вуглецевих нанотрубок (DWCNTs), багатошарових вуглецевих нанотрубок (MWCNTs), фулерену, графіту, графену, оксиду графену [109]

Графен як двовимірна стільникова структура з гібридизацією sp_2 має унікальні електричні, хімічні та механічні властивості [110]. Застосування графену охоплюють різні галузі, такі як енергетика, медицина та хімія [111].

Оксид графену (GO) і відновлений оксид графену (rGO) завдяки їхнім електропровідним властивостям переважно використовують для утворення графенових провідних гідрогелів. Існує низка технологій для отримання GO, наприклад механічне відшарування графіту, епітаксiale зростання на SiC або металевих підкладках, термічне або хімічне відновлення GO, виготовленого за допомогою відшарування оксиду графіту та відшарування інтеркаляційних сполук графіту.

Класичним методом отримання GO є процес Хаммерса, у якому графіт спочатку змішували з концентрованою сірчаною кислотою та окислювачами, такими як нітрат натрію, потім додавали перманганат калію під точним контролем температури, після чого додавали відновники та агенти, що зупиняють реакцію, такі як перекис водню в кінці процесу [112]. Однак поверхневі кисневмісні функціональні групи GO роблять його майже ізольованим, тому GO зазвичай можна відновити до rGO з кращою електропровідністю за допомогою високотемпературного оброблення або змішування з водними розчинами дофаміну, використовуючи самополімеризацію та відновлення дофаміну [113]. Додавання GO до гідрогелів призводить до покращених механічних властивостей завдяки його шаруватій структурі та великій кількості функціональних груп, таких як епоксидні, гідроксильні та карбоксильні, які роблять його сумісним із полімерами, колоїдами та амфіфілами.

Серед передових наноматеріалів матеріали на основі графену привертають усе більшу увагу в біомедицині через їхню відмінну механічну міцність, гарну біосумісність і низьку токсичність. Оксид графену має чудову гідрофільність і стабільність у фізіологічному середовищі порівняно з графеном, і здебільшого його використовують із біомедициною метою як зміцнювальний матеріал у тканинній інженерії [114], для доставки ліків, клітин і візуалізації тканин.

Біосумісність GO *in vivo* насамперед визначено хімічними властивостями його поверхні. Хоча GO демонструє гарну дисперсію у воді, він має тенденцію до агрегації у фізіологічних розчинах через взаємодію поверхневих зарядів [115]. Тому функціоналізація GO є важливим напрямом досліджень у сучасній медицині, що обумовлено різними біомедичними вимогами. У 2008 році Liu та ін. [116] уперше використали поліетиленгліколь (PEG)-модифікований нанорозмірний GO, який продемонстрував відмінну фізіологічну стабільність і біосумісність.

Структура шару одноатомного оксиду графену (GO) сприяє адсорбції та закріпленню молекул ліків на поверхні GO, що підвищує ефективність завантаження ліків [117]. Порівняно з первинним графеном GO демонструє стабілізаційну поведінку у водних середовищах, його можна використовувати як нанорозмірні армувальні наповнювачі в біокомпозитах [118]. GO містить як гідрофобні, так і гідрофільні ділянки, які надають йому амфіфільних властивостей. Зв'язані на поверхні GO гідроксильні, епоксидні та карбонільні реакційноздатні групи можуть взаємодіяти з полімерами, біомолекулами, ДНК, білками, квантовими точками, надаючи їм можливості для різноманітних біологічних і медичних застосувань. На наноматеріалах на основі графену також створено системи контрольованого вивільнення ліків, що реагують на рН, світло та магнітні поля [119].

Засобами молекулярної механіки було продемонстровано можливість комплексоутворення між сполуками GO, гідроксиапатитом (НА) та альгінатом (Alg) у водній суміші [120]. Розрахунки енергій взаємодії довели, що аранжування молекул переважно стабілізується сольвофобними / Ван-дер-Ваальсовими взаємодіями між поверхнями GO та НА і додатково стабілізується водневими зв'язками між ОН-групами GO та атомами кисню НА. Було визначено, що сольвофобні взаємодії дають одну третину повної енергії

стабілізації, тоді як решта сумарної енергії – завдяки Ван-дер-Ваальсовим і Н-з'язкам. Проведені розрахунки допомогли презентувати структурну картину експериментального композиту НА-Alg-GO (рис. 1.9).

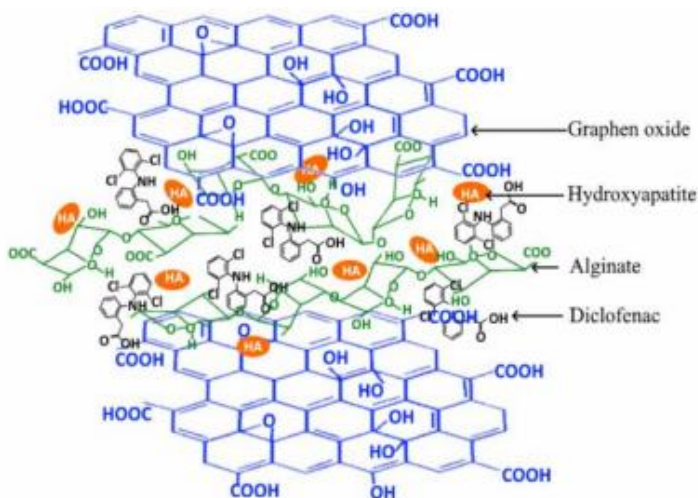


Рисунок 1.9 – Розрахована структура потрійного комплексу НА-Alg-GO [121]

Хоча нові докази свідчать про те, що матеріали на основі графену є перспективними в біомедичній галузі, існують занепокоєння щодо потенційного негативного впливу на людей і навколишнє середовище. Результати оцінювання токсичності матеріалів, що містять графен, є суперечливими, що вказує на необхідність нових досліджень перед застосуванням у клінічній медицині.

Фулерен із його унікальною структурою, що складається із sp^2 атомів вуглецю, являє собою високосиметричну сітку з різними розмірами (C_{60} , C_{76} тощо). Чистий C_{60} має дуже низьку розчинність у воді, однак він може утворювати агрегати у водних розчинах і створювати стабільні колоїдні розчини, які містять як окремі фулерени, так і кла-

стери фулеренів [122]. Оскільки первинний і дериватизований C_{60} можуть проникати у внутрішньоклітинний простір і накопичуватися в клітинній мембрані та цитоплазмі, вони можуть становити загрозу для функціонування та цілісності клітин [123]. Фізико-хімічні властивості, поведінка, пов'язана з утворенням реактивних форм кисню (ROS) і, як наслідок токсичність фулерену, залежать від методів, які використовують для утворення розчинних форм первинного C_{60} , зокрема механічного оброблення, тривалого перемішування у воді та хімічної модифікації. Ці методи можуть змінити загальні властивості первинного фулерену [124].

Однією з основних характеристик C_{60} є його виняткова здатність поглинати вільні радикали, що робить його «губкою для вільних радикалів», сприяючи захисту біологічних систем від пошкодження клітин [125]. Наявність кількох подвійних зв'язків у гратці фулерену робить його здатним реагувати з вільними радикалами [126]. Фулерени як найефективніший поглинач можуть реагувати з такими вільними радикалами, як супероксид (O_2^-), гідроксильними радикалами (OH) і перекисом водню (H_2O_2). Крім того, вони можуть локалізуватися в клітинах і також пригнічувати утворення вільних радикалів. З іншого боку, ґрунтуючись на зазначених дослідженнях, можна припустити, що здатність фулеренів поглинати радикали не може бути повністю пов'язана із самою фулереновою граткою, але також може бути пов'язана з функціональними групами, приєднаними до вуглецевої гратки. Отже, за здатністю дезактивувати вільні радикали різні фулерени відрізняються [124].

Лі та співавтори [127] підготували суміш GO- C_{60} , що містить гідрофільний метоксил поліетиленгліколь (mPEG), який демонструє чудову колоїдну стабільність у фізіологічних розчинах. Зв'язування GO з фулереном підвищує здатність фулерену генерувати синглетний кисень під світлом близько до інфрачервоного спектра (NIR). Си-

нергічний ефект між GO і C₆₀ підвищує ефективність фотодинамічної (PDT) і фототермічної (PTT) терапії. Цей синергетичний ефект підкреслює їхній потенціал для подальших поглиблених досліджень і практичного застосування.

Вуглецеві нанотрубки (CNTs) можуть формувати гарний зв'язок із композитним інтерфейсом, переміщувати на себе навантаження та підвищувати міцність матеріалів скафолду завдяки гарних механічним властивостям [128]. Крім того, тривимірна пориста структура CNTs має високу питому площу поверхні, що сприяє більшій кількості взаємодій білка та прикріплення клітин [129]. Також пористі CNTs-вмісні композити позитивно впливають на позаклітинний матрикс (ECM) у твердій кістковій тканині [130]. Їхню високу взаємодію з клітинними білками можна використовувати для управління морфологією клітин і сприяння диференціації мезенхімальних клітин на остеоцити, остеобласти та генеалогічні клітини нейронів [131].

Електропровідність CNTs можна використовувати в управлінні фізіологічною поведінкою клітин, що дозволяє використання CNTs як електронно-клітинних біосенсорів [132]. Крім того, порожниста форма і нанорозмірність CNTs роблять їх придатними для вивільнення попередньо іммобілізованих у їхню структуру біомолекул, аптамерів, пептидів і різних лікарських засобів у таргетні зони організму людини [7; 133].

Композити на основі HA із вмістом CNTs широко застосовують в ортопедії та травматології для відновлення ушкодженої кісткової тканини. Залежно від цільового застосування їх можна розділити на дві основні групи, а саме: 1) окремі матеріали, які використовують як протез, його частину або наповнювач кісткового дефекту; 2) біоактивні композитні покриття на металевих імплантатах. Особливу увагу приділяють контролю пористості, забезпеченню гомогенності та рівномірної дисперсії CNTs і, водночас, мі-

німізації хімічної дисоціації та утворенню додаткових фракцій НА під дією високої температури за високотемпературних методів синтезу композитів. Контроль пористості та розподілу CNTs здебільшого має на меті досягнення гарних механічних властивостей композитної структури. Хоча найнижча пористість забезпечує найкращі механічні властивості, але наявність мікро- та макропор є обов'язковою для ортопедичного застосування. Пористість сприяє васкуляризації імплантата, що є запорукою утворення та інтеграції нової кістки. Важливим моментом є також рівномірне диспергування CNTs і частинок НА в полімерній матриці [134]. З метою розв'язання цієї задачі було розроблено кілька підходів щодо синтезу НА/CNTs композитів за допомогою одночасного введення CNTs і НА в полімерну матрицю. Rajendiran, Rajesh та ін. ввели CNTs і НА в розчин альгінату за допомогою методу змішування та створили скафолд Alg/НА/CNTs за допомогою сублімаційного сушіння, що підвищило механічну міцність і біосумісність композиту [135]. Elham Rashidi та ін. за допомогою введення CNTs і НА в полієфіретеркетон (PEEK) отримали скафолд PEEK/НА/ CNTs за допомогою лиття під тиском. Результати довели, що компресійні властивості та цитосумісність були кращими, ніж у чистого скафолда з PEEK [136]. Atieyh Esmi та ін. додавали CNTs і НА в поліметилметакрилат (PMMA) і готували композитний скафолд PMMA/НА/CNTs за допомогою осадження з розплаву, що дало покращену механічну міцність і біоактивність [137]. Детальну інформацію про властивості композитів на основі біоплімерів і кальцій фосфатів можна отримати за посиланнями, наведеними в додатку А.

Розділ 2

КОМПОЗИТНІ МАТЕРІАЛИ ДЛЯ ОСТЕОПЛАСТИКИ НА ОСНОВІ АЛЬГІНАТНОЇ МАТРИЦІ

2.1. Залежність властивостей наноstrukturованих гідроксиапатит-альгінат (HA-Alg)-композитів від методу їхнього кінцевого технологічного оброблення

У цьому розділі розглянуто наноstrukturований композитний матеріал, у якому поєднано біоактивність і еластичність Alg та остеопровідність HA.

Синтез було проведено з використанням 0,167 М тетрагідрату нітрату кальцію ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 0,1 М дигідрофосфату діамонію ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) за описаною раніше методикою [157]. Інакше кажучи, натрій альгінат (Alg) низької в'язкості (E407, Китай) розчиняли в 0,1 М $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ за 37 °С протягом 2 годин із подальшою гомогенізацією з допомогою ультразвуку. До утвореної суспензії додавали краплями водний розчин кальцію нітрату тетрагідрату. Значення рН = 10–11 досягали за допомогою додавання 25 % водного розчину гідроксиду амонію. Суміш нагрівали за 80 °С протягом 20 хв із подальшим «зістарюванням» за кімнатної температури впродовж 24 годин, промивали дистильованою водою до нейтрального рН. Відділений центрифугуванням отриманий осад являв собою гель HA/Alg із вологістю близько 90 %. Для отримання зразків у формі керамічних скафолдів 2 % розчин Alg додатково додавали до HA/Alg гелю у ваговому співвідношенні HA/Alg: Alg = 1 : 0,5. Сформований у таблетки (діаметром 10 мм, товщиною 5 мм) матеріал занурювали в 0,25 М розчин хлориду кальцію на 24 години для утворення полімерної

матриці за допомогою зшивання молекул Alg іонами Ca^{2+} . Три типи фінішного оброблення було застосовано, а саме: а) сушіння за 37°C протягом 24 годин; б) попереднє заморожування за -20°C з подальшою сублимацією за температури -53°C ; в) спікання за 1100°C для повного видалення Alg й отримання механічно стійких пористих керамічних скафолдів.

Схематично процес утворення HA/Alg-композитів подано на рисунку 2.1.

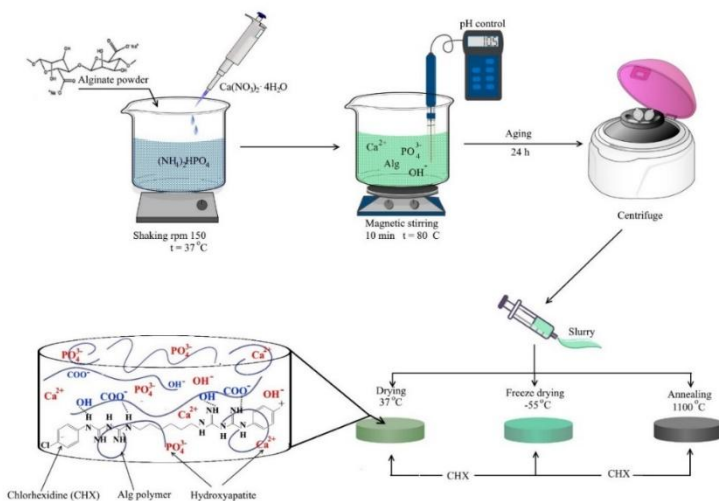


Рисунок 2.1 – Схема процесу отримання композитних матеріалів HA/Alg

Дослідження мікроструктури композитів HA/Alg за допомогою растрового електронного мікроскопа (ПЕМ) (рис. 2.2), демонструє утворення голкоподібних кристалітів HA із середнім розміром близько 80 нм.

Морфологію поверхні зразків, отриманих за різних способів фінішного оброблення, подано на рисунку 2.3. Сканувальна електронна мікроскопія (SEM) демонструє різницю у структурі зразків, а саме найбільш щільним є композит, висушений за 37 °С, тоді як ліофілізований має високий ступінь пористості. Відпалений за 1100 °С керамічний НА-скафолд має однорідну з помірною пористістю морфологію.

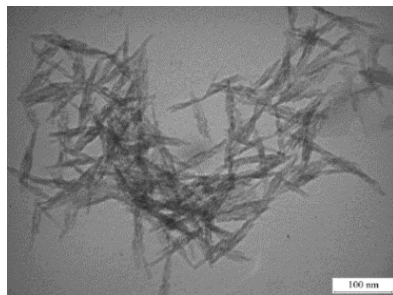


Рисунок 2.2 – ПЕМ-зображення мікроструктури НА у складі НА/Alg

Інфрачервону спектроскопію з Фур'є-перетворенням (FTIR) було використано для оцінювання взаємодій між функціональними групами НА та Alg. Спектри чистого альгінату натрію та НА було використано для порівняння. Спектри FTIR отриманих зразків продемонстрували характерні для наявних компонентів вібраційні смуги. Так, коливання за 3572 і 632 cm^{-1} відповідають валентній і лібраційній модам гідроксильної групи НА відповідно [158]. Варто зазначити, що смуга OH за 632 cm^{-1} є слабкою для зразка НА (37 °С). Це можна пояснити наявністю карбонатних груп CO_3^{2-} , для яких смуга вібраційних коливань наявна за 1450 cm^{-1} , що свідчить про утворення карбонат-заміщеного апатиту типу В [159]. Очевидно, що зсув смуги поглинання обумовлено частковою взаємодією OH^- із CO_3^{2-} -групами, які замістили групи PO_4^{3-} [160].

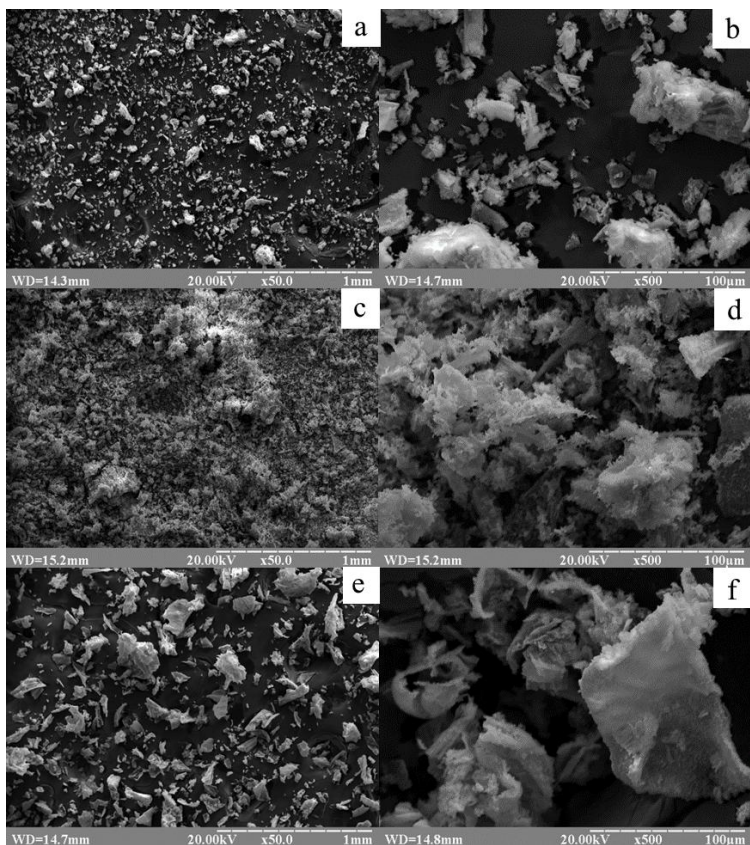


Рисунок 2.3 – СЕМ-зображення поверхні зразків: висушених за 37 °С (а, б) керамічних скафолдів, відпалених за 1100 °С (с, d) і ліофілізованих за -53 °С (е, f) за різних збільшень (x50 і x500 відповідно)

Зі збільшенням вмісту карбонатів інтенсивність вібрації ОН- зменшується. Смуга за 1625 см^{-1} для цих зразків відповідає деформації молекул Н-О-Н, пов'язаних із НА [161]. Полоси у всіх спектрах за 1034 см^{-1} відповідають тричі виродженим валентним коливанням ν_3 зв'язку Р-О у фосфатній групі PO_4 в НА. Діапазони з частотою 962 см^{-1} , 602 см^{-1} і 564 см^{-1} також належать коливанням фосфатної

групи гідроксиапатиту [162]. Пік коливань у молекулі альгінату за 3437 см^{-1} пов'язаний із коливаннями у зв'язках ОН-груп у вуглецевих кислотах [163]. Насичений пік за 1626 см^{-1} приписано асиметричному вібраційному коливанню карбонілу -C=O [164] у чистих спектрах альгінату і зміщується до 1618 см^{-1} із збільшенням вмісту альгінату у зразках композитів. Смуга поглинання для чистого альгінату навколо 1422 см^{-1} , що відповідає симетричним валентним коливанням COO- груп [165], значно зменшила інтенсивність у спектрах композитів і змістилася до 1424 см^{-1} . Вібраційні смуги коливань для карбоксильних груп чистого альгінату за 1303 см^{-1} і 827 см^{-1} зникли у спектрах композитів. Отже, можна стверджувати, що карбоксильні групи молекул альгінату іонізуються до COO- іонів і утворюють водневі зв'язки з НА під час формування композиції НА/Alg (рис. 2.4).

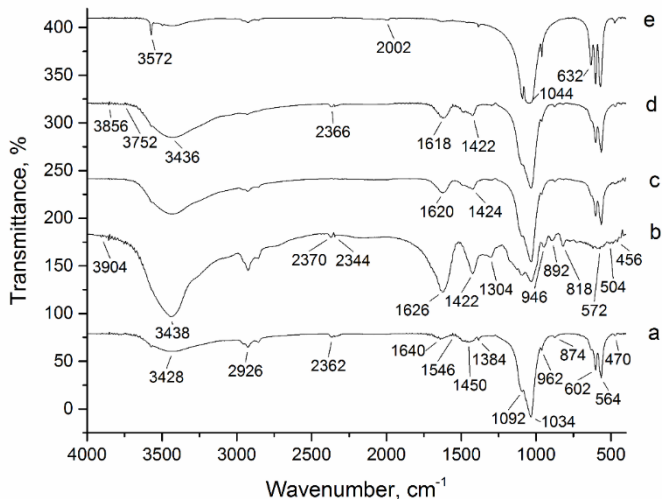


Рисунок 2.4 – FTIR-спектри коливань у зразках: НА (а), альгінат (б), композити НА/Alg: висушені за $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (с), ліофілізовані (д) і відпалені за $1100\text{ }^{\circ}\text{C}$ (е)

Ступінь набрякання та пористості є важливими чинниками для визначення механічної стабільності НА/Alg-композитів, їхньої здатності поглинати та зберігати у своїй структурі біоактивні речовини, зокрема лікарські засоби. Дослідження довели, що ступінь набрякання для зразків залежить від долі наявного полімеру, способу фінального оброблення композитів і коливається від 10 % для НА/Alg, відпаленого за 1100 °С (полімер відсутній унаслідок згоряння, і набрякання відбувається внаслідок адсорбції рідини гідроксиapatитом) до 464 % для ліофілізованого НА/Alg. Відомо, що НА є гідрофільною речовиною й гарним адсорбентом. Наявність у структурі альгінату також характеризується високою водопоглинальною здатністю, збільшує ступінь набрякання композитів пропорційно до його кількісного вмісту. Зі свого боку, ступінь набрякання залежить від площі поверхні, яка здатна адсорбувати рідину. Отже, збільшення ступеня пористості підвищує ступінь набрякання матеріалу. Пористість ліофілізованих зразків становить близько 70 %, тоді як висушених за 37 °С – 5 %, а відпалених за 1100 °С – 31 %. За 37 °С температурного оброблення композиту протягом 24 годин відбувається поступове усування альгінатного розчину та ущільнення матеріалу. Вищий ступінь пористості НА/Alg (1100 °С) порівняно з НА/Alg (37 °С) можна пояснити утворенням під час відпалу порожнин у структурі композиту, викликаних вигоранням альгінатного полімеру протягом короткого часу відпалу (1 година). Пористість відпалених зразків збільшувалася із збільшенням вмісту альгінату, який додавався до материнського розчину під час синтезу. Було також доведено, що набрякання відпалених композитів залежить від кількості доданого альгінату під час синтезу та збільшується в 10 і 13 разів для композитів із вмістом 10 % і 40 % альгінату відповідно, порівняно з НА, синтезованим без Alg [166]. У підсумку можна зазначити, що висушені за

37 °С зразки були менш механічно стабільними порівняно з іншими через відносно високий початковий ступінь вологості внаслідок наявності слабо зв'язаної структурної води в макромолекулах альгінату та гідратної води на кристалитах НА. Ступінь набрякання був найвищим для ліофілізованих зразків через їхню підвищену адсорбційну здатність. Найбільша механічна стабільність (збереження форми) була характерною для зразків без вмісту полімеру і для відпалених за 1100 °С.

2.2. Апатит-альгінатні композити, леговані багатостінними карбоновими нанотрубками, модифікованими іонами заліза (MWCNT + Fe)

У цьому підрозділі описано новий біологічно активний композитний матеріал на основі гідроксиапатиту та багатостінних вуглецевих нанотрбок, легованих іонами заліза (MWCNT + Fe). Детальний опис досліджень можна отримати в роботі [167].

Інакше кажучи, синтез НА проводили за описаної технології (див. підрозділ 2.1). Карбонові нанотрубки MWCNT + Fe у формі дрібнодисперсного порошку було додано до 1,5 % водної суспензії альгінату в кількості, яка забезпечувала їхню концентрацію 0,05 мг/мл. Після оброблення ультразвуком низької потужності протягом 20 хвилин було отримано гомогенну стабільну суспензію Alg/MWCNT + Fe, до якої було додано мікрочастинки НА (≤ 163 мкм) у вигляді порошку. Утворену колоїдну суспензію було гомогенізовано ультразвуком протягом 30 хвилин. Співвідношення MWCNT + Fe : НА (у формі сухих порошоків) становило 0,4 mg : 1 g відповідно. Суміш була диспергована у водному розчині 0,25 М кальцію хлориду, де вони перебували протягом 2 годин. Утворені гранули були відділені від розчину фільтруванням, ретельно промиті деіонізованою водою та висушені за кімнатної температури. У подаль-

шому зразки було названо НА-Alg/MWCNT + Fe. Для порівняння впливу карбонових наночастинок на фізико-хімічні властивості композиту зразки НА-Alg (без вмісту MWCNT + Fe) було отримано за тією ж самою технологією та використано як контрольні.

Імовірну взаємодію між функціональними групами НА, Alg та MWCNT + Fe у створених композитах було досліджено методом інфрачервоної спектроскопії за допомогою спектрофотометра Perkin-Elmer ВХ-II із роздільною здатністю 1 см^{-1} у діапазоні $(4000-400) \text{ см}^{-1}$. Експериментальні зразки НА-Alg, а саме: а) висушені за $37 \text{ }^\circ\text{C}$; б) відпалені за $700 \text{ }^\circ\text{C}$; в) композит НА-Alg/MWCNT + Fe засипали в агатовий розчин і ретельно змішували з KBr (1 мг досліджуваної проби змішували зі 100 мг порошку KBr).

Характеристичні смуги ІЧ-коливань в експериментальних зразках наведено на рисунку 2.5. Одержані дані для експериментальних зразків свідчать про наявність основних смуг коливань, які належать НА та Alg (табл. 2.1). Смуга поглинання для чистого Alg за 1422 см^{-1} , що відповідає симетричному розтягувальному коливанню COO -групи, зміщується до 1430 см^{-1} і 1428 см^{-1} у спектрах НА-Alg і НА-Alg/MWCNT + Fe відповідно. Пік за 2924 см^{-1} для Alg, який пов'язаний із розтягувальними коливаннями зв'язків OH -груп у вуглекислотах, зміщується до 2928 см^{-1} у НА-Alg і зникає у спектрі НА-Alg/MWCNT + Fe. Можна припустити, що карбоксильні групи молекул Alg іонізуються до COO -іонів і формують водневий або інший зв'язок під час утворення НА-Alg-композиту.

Смуга з піком за 3570 см^{-1} належить до розтягувальної (ν_s) моди гідроксильної групи OH . Широка смуга в інтервалі $3430-3416 \text{ см}^{-1}$ асоціюється з поглинанням молекул води. Ці смуги відсутні у спектрі зразка НА-Alg ($700 \text{ }^\circ\text{C}$). Також відсутність у цьому зразку смуги близько 1600 см^{-1} , пов'язаної з коливанням у функціональних групах органі-

чного компонента, узгоджується з даними термогравіметричного аналізу (TGA/DTA).

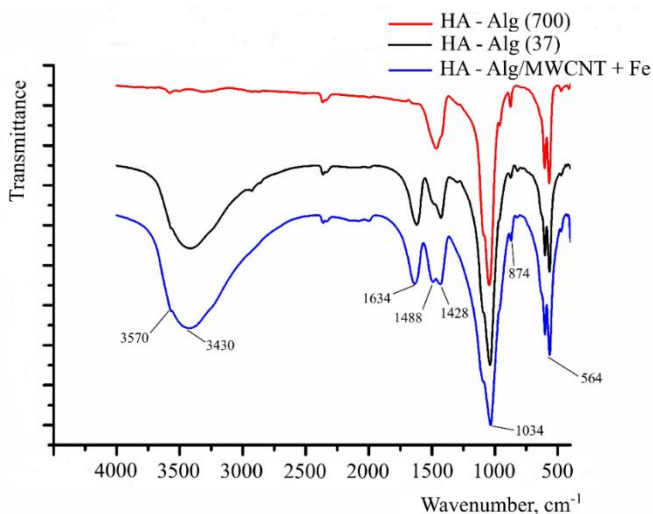


Рисунок 2.5 – FTIR-спектри від зразків «знизу – ввверх»: HA-Alg/MWCNT + Fe, HA-Alg (37 °C) і HA-Alg (700 °C) [167]

Таблиця 2.1 – Характеристичні інфрачервоні смуги коливань у зразках [167]

HA-Alg (37 °C)	HA-Alg (700 °C)	HA-Alg/MWCNT + Fe	Alg	HA	Характеристична група
1	2	3	4	5	6
476	472	472	–	–	ν_2 O-P-O in PO_4
564	570	564	572	564	$\nu_4 PO_4$
600	602	604		602	$\nu_4 PO_4$
–	–	–	–	630 (сл.)	ОН лібраційна мода
872	876	874	–	–	$\nu_2 CO_3^{2-}$

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4	5	6
960	958	–	–	962	ν_1 P-O у PO_4
1038	1042	1034	–	1044	ν_3 P-O у PO_4
1090	1092	1096	–	1092	ν_3 PO_4
1430	–	1428	1422	–	COO валентні сим.
–	–	1488		–	C=C вал.
1614	–	1634	1626	–	ν_2 H-O-H; –C=O
2340	2334	2336		–	ν_2 CO_2
3416	–	3430	2924	–	OH вал.
3570	3576	3570	3438	3428	OH вал.

Вивчення теплової поведінки зразків (TGA/DTA-аналіз) у разі нагрівання до 600 °С продемонструвало дві зони втрати маси: в інтервалі температур до 100 °С унаслідок видалення слабкозв'язаної води, і в інтервалі 200–400 °С (близько 10 % маси) унаслідок видалення органічного компонента. Це добре узгоджено з літературними даними [168], які свідчать, що адсорбована вода втрачається після нагрівання за температури від 25 °С до 120 °С; структурна вода – від 120 °С до 300 °С; втрата карбонатних та органічних компонентів починається за 550 °С.

Набрякання та здатність зразків зберігати механічну стабільність було досліджено за постійного коливання в шейкері за 37 °С у фосфатному буферному розчині PBS (рис. 2.6).

Зразки HA-Alg/MWCNT + Fe продемонстрували вищий ступінь набрякання порівняно з HA-Alg завдяки наявності MWCNT + Fe-нанотрубок, які мають порожнини та високорозвинену поверхню, що сприяє адсорбції рідини. Водночас HA-Alg/MWCNT + Fe зберігали механічну стабі-

льність навіть після 7 днів коливань у шейкері, на відміну від HA-Alg-гранул, які після 2 діб перебування в однакових технологічних умовах почали втрачати форму, а через 7 днів набули форми гелю. Указаний факт можна пояснити утворенням зв'язків між функціональними групами Alg, HA та MWCNT + Fe завдяки електростатичним і Ван-дер-Ваальсовим взаємодіям, що надає композиту структурної міцності.

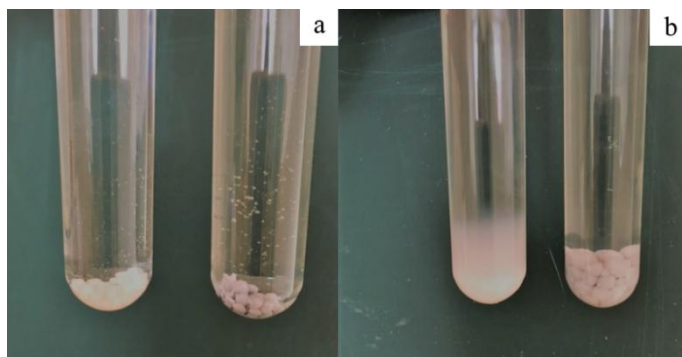


Рисунок 2.6 – Зовнішній вигляд гранульованого композиту HA-Alg (ліві пробірки) та HA-Alg/MWCNT + Fe (праві пробірки): а) відразу після експозиції у PBS; б) через 7 днів коливання в шейкері у PBS за 37 °C [167]

Механічні властивості експериментальних зразків досліджували на оригінальному обладнанні для вимірювання пружно-пластичних параметрів під час стиснення та розтягування, що складається з «ІМАШ-20-78», операційного підсилювача, аналогово-цифрового перетворювача (АЦП) та персонального комп'ютера (ПК). Зразки отримували холодним пресуванням під тиском 100 МПа у формі таблеток діаметром 5 мм і товщиною 2 мм. Механічні властивості композитів подано в таблиці 2.2 та на рисунку 2.7.

Таблиця 2.2 – Механічні властивості композитів на основі НА [167]

Зразок	Густина, г/см ³	Максимальна відносна деформація, ϵ_{destr}	Міцність σ_c , МПа	Модуль Юнга E , МПа
НА-Alg	0,89	0,25	118	570
НА-Alg/MWCNT + Fe	0,91	0,23	168	740

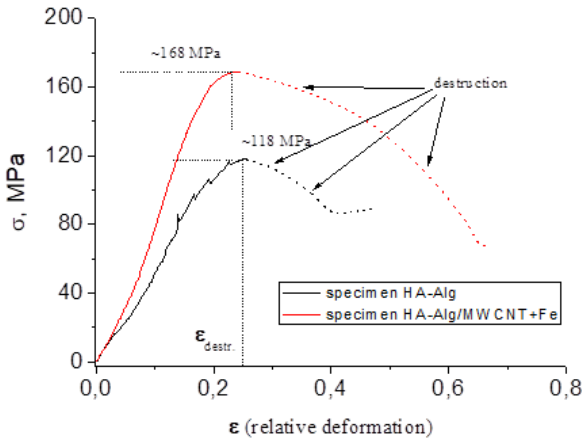


Рисунок 2.7 – Міцність σ_c для НА-Alg і НА-Alg/MWCNT + Fe-композитів, виміряна за їхнього одноосного стискування [167]

Результати свідчать про досить високе значення модуля Юнга ($E \sim 740$ МПа) досліджуваного зразка НА-Alg/MWCNT + Fe, яке можна порівняти зі сталевим зразком такого ж самого розміру ($E \sim 706$ МПа). Підвищення міцності композитів НА-Alg/MWCNT + Fe порівняно з НА-Alg можна пояснити зв'язуванням наночастинок MWCNT + Fe

із матрицею HA-Alg, що призводить до ефективного перенесення навантаження на MWCNT + Fe.

Отже, потенційно матеріал може бути використано під час 3D-моделювання ділянок кісткової тканини, які мають механічне навантаження.

2.3. Апатит-альгінатні композити, леговані одностінними карбоновими нанотрубками (SWCNTs)

Цей підрозділ присвячено ще одному представнику царини вуглецевих нанотрубок – одностінним вуглецевим нанотрубкам (SWCNTs). Як було зазначено вище, вуглецеві нанотрубки (CNTs) є одними з найміцніших виявлених матеріалів і мають надзвичайні теплові, електричні та механічні властивості [169]. Вони проявляють стійкість до агресивних кислотних і лужних середовищ, не змінюючи своєї структури [170]. Дослідження *in vitro* довели біосумісність CNTs, застосованих в ортопедичних цілях [171]. Низькі дози нанокристалічних порошків гідроксиапатиту, легованих CNTs, суттєво не знижували життєздатність клітин G-292 і не викликали окисного стресу після 2 днів експозиції [172].

Наведені вище факти спонукали нас до додаткового дослідження низки властивостей апатит-полімерного композиту із вмістом SWCNTs, а саме покращання біологічних, механічних характеристик і тестування композиту як носія ліків і їхнього пролонгованого вивільнення в зону імплантації.

Для отримання композитного матеріалу готували гідрогель HA за описаною в роботі [173] технологією, основною відмінністю якої від попередніх було застосування мікрохвильового опромінення (МХО) під час синтезу. Інакше кажучи, після сполучення всіх необхідних компонентів для

отримання гідрогелю НА, отриману суспензію поміщали в побутову мікрохвильову піч Samsung M1712NR для мікрохвильового опромінення протягом 5 хв. Ця процедура повторювалася 5 разів, після чого продукт охолоджували за кімнатної температури в негерметично закритому об'ємі. Після промивання тверду фракцію зразка відокремлювали центрифугуванням. Вміст вологи в отриманому гідрогелі НА становив приблизно 90 %. Okремо до 1,5 % водного розчину альгінату натрію додавали SWCNTs у вигляді дрібнодисперсного порошку. Суміш обробляли ультразвуком малої потужності (90 Вт) (для запобігання нагріванню) протягом 20 хв. Унаслідок цього утворювалася однорідна стабільна колоїдна суспензія Alg/SWCNTs, до якої поступово було додано гідрогель НА. Кількісний вміст SWCNTs становив 0,05 та 0,5 мас.% від кількості НА (у перерахунку на сухі речовини). Суміш обробляли ультразвуком (90 Вт) протягом 5 хвилин, після чого крапельним методом диспергували в 0,25 М розчин хлориду кальцію та витримували протягом 24 годин. Утворені гранули відокремлювали від розчину фільтруванням, ретельно промивали деіонізованою водою й сушили за кімнатної температури.

Зображення морфології поверхні гранул, отримане за допомогою сканувальної електронної мікроскопії, наведено на рисунку 2.8.

Експериментальні зразки, по суті, являють собою матрицю, сформовану в разі зшивання макромолекул альгіна-ту іонами кальцію, в об'єм якої іммобілізовані частинки НА та одностінні вуглецеві трубки в кількості 0,05 % та 0,5 % від вмісту НА. Результат свідчить, що збільшення відсотка SWCNTs призводить до утворення більш щільної структури. На рисунках також зображено шорстку поверхню з макро- і мікропорами (< 1 мкм), що є однією з вимог до біоматеріалів.

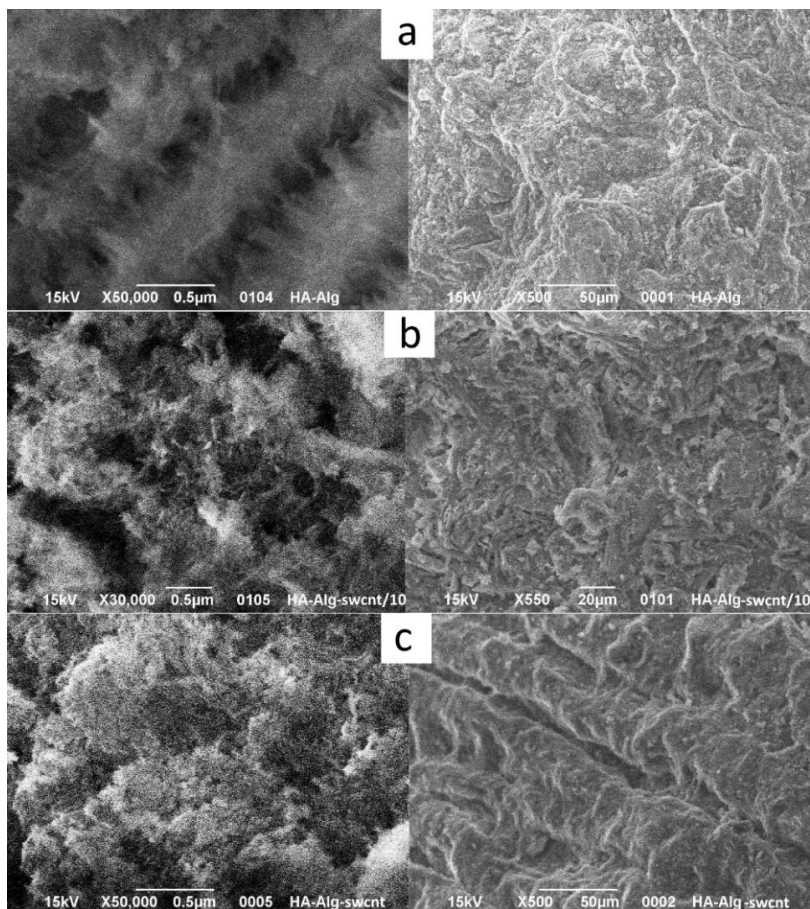


Рисунок 2.8 – СЕМ-зображення зразків поверхні:
 HA-Alg (A), HA-0,05Alg/SWCNTs (B)
 та 0,5HA-Alg/SWCNTs (мг/мл) (C) за різних збільшень [174]

Здатність поглинати та утримувати рідину було досліджено за допомогою витримування зразків у фосфатному буферному розчині до моменту набуття постійної маси. Результати довели, що включення SWNTs до зразків призводить до зменшення ступеня водопоглинання пропорцій-

но збільшенню вмісту вуглецевих нанотрубок. Частково це може бути пов'язано з гідрофобним характером SWNTs. Крім того, SWNTs-вмісні зразки демонструють вищу механічну стабільність після коливань у шейкері (об./хв – 80) за 37 °С протягом 15 днів.

Як бачимо з рисунка 2.9, додавання 0,05 мг/мл SWNTs до композиту дещо підвищує міцність на стиск (зразок HA-Alg/SWCNT/10) порівняно з контрольним (HA-Alg). Збільшення вмісту SWNTs у 10 разів (0,5 мг/мл) у композиті (зразок HA-Alg/SWNTs) призводить до значного підвищення його механічної міцності за умови стискання до 202 МПа. Максимальна відносна деформація ϵ_{dest} перед руйнуванням лежить у межах 0,17–0,19 для HA-Alg і з малим вмістом 0,05SWNTs (зразок HA-Alg/SWNTs/10). Для композиту вмістом 0,5SWCNT (зразок HA-Alg-SWCNT) максимальні відносні деформації ϵ_{destr} зросли до 0,28.

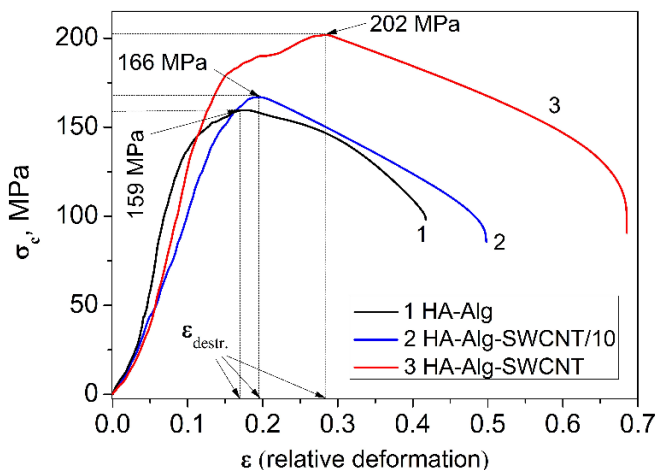


Рисунок 2.9 – Міцність σ_c композитів на основі HA, виміряна за умови одновісного стискання [167]

На рисунку 2.10 наведено діаграми «навантаження – розвантаження» досліджуваних зразків: вимірювання проводили за умови одновісного стиску протягом трьох циклів навантаження. Модуль Юнга є мірою жорсткості пружного матеріалу та використовується для характеристики матеріалів [175]. Оцінювання модуля Юнга (E) довело, що експериментальні композити мають порівняно високий модуль Юнга, а саме $E \sim 563\text{--}645$ МПа (табл. 2.3).

Загалом підвищення міцності для зразків із різним вмістом SWCNTs пов'язане з чудовими механічними властивостями карбонових нанотрубок (модуль пружності 1 ГПа або більше та висока міцність на розтяг – до 30 ГПа). Невелика зміна міцності на стиск для зразка HA-0,05Alg/SWCNTs/10 з низьким (0,05 мг/мл) вмістом SWCNTs можна пояснити малим об'ємом міжфазних ділянок у зразку та неефективним процесом передання навантаження між HA-Alg і SWCNTs. Водночас збільшення вмісту SWCNTs до 0,5 мг/мл у композиті забезпечує великий об'єм міжфазних площ у зразку HA-Alg/SWCNTs

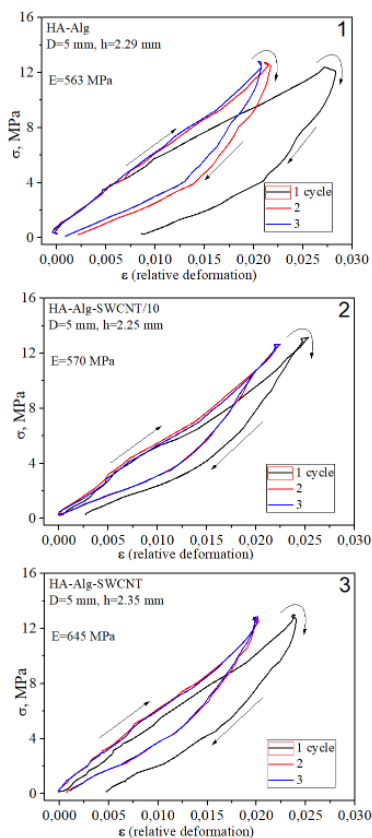


Рисунок 2.10 – Діаграми «навантаження – розвантаження» композитів, виміряні за одновісного стиску протягом трьох циклів навантаження [167]

та підвищення міцності на стиск завдяки гарній міжфазній адгезії між компонентами композиту. Відбувається ефективно перенесення навантаження від матриці HA-Alg до SWCNTs, що призводить до покращання механічних властивостей [176]. З іншого боку, відомо, що подальше збільшення вмісту SWCNTs вище, ніж певна концентрація, (> 1 w%) [177] може призвести до агломерації SWCNTs, що послаблює зв'язок між SWCNTs і матрицею HA-Alg і погіршує механічні властивості SWCNTs-вмісних композитів.

Таблиця 2.3 – Механічні властивості експериментальних композитів [167]

Зразок	Щільність, г/см ³	Максимальна відносна деформація, ϵ_{destr}	Міцність на стиск, МПа	Модуль Юнга E , ГПа
HA-Alg	2,03	0,17	159	0,563
HA-0,05Alg/SWCNT	2,02	0,19	166	0,570
HA-0,5Alg/SWCNT	2,04	0,28	202	0,645

Отже, новий біоактивний гранульований композитний матеріал на основі гідроксиапатиту (HA), альгінату натрію (Alg) і одностінних вуглецевих нанотрубок (SWCNTs) був синтезований методом співосадження та досліджений інструментальними методами SEM, XRD, FTIR і HPLC. Дані рентгенодіагностики та енергодисперсійної рентгєнівської флуоресценції свідчать про утворення під впливом мікрохвильового опромінення (МХО) кальційдефіцитного HA (Ca/P = 1,65) з невеликим вмістом карбонату. Доведено, що міцність на стиск композитів HA-Alg-SWCNT і HA-Alg становить 202 МПа і 159 МПа відповідно, що є в межах значень для кортикальної кістки людини. Додавання 0,5 %

вуглецевих нанотрубок від вмісту НА підвищує модуль Юнга зразка НА-Alg-SWCNTs (645 МПа) порівняно з контрольним НА-Alg (563 МПа), надає гранулам механічної стабільності, а також зменшує ступінь набрякання від 105 % до 98 %. Указані властивості свідчать про потенційне використання SWCNTs-вмісних матеріалів на основі НА та Alg для відновлення кісткової тканини.

2.4. Апатит-альгінатні композити, леговані наночастинками оксиду графену (GO)

Для синтезу був використаний оксид графену (GO) у формі порошку (Sigma-Aldrich, США), який диспергували у 2 % водному розчині альгінату натрію (Alg) у кількостях, що забезпечували концентрацію GO 15 та 150 мкг/мл. Утворену суспензію піддавали ультразвуковому обробленню (40 кГц) протягом 20 хвилин. Гідрогель гідроксиапатиту (НА) отримували під дією мікрохвильового опромінення за описаною в п. 2.1 технологією. Для утворення гранульованого НА-Alg-GO композиту гідрогель НА поступово додавали до колоїдної суспензії Alg-GO з масовим співвідношенням 1 : 1 (у перерахунку на сухі речовини) і обробляли ультразвуком протягом 5 хв. Після витримання в 0,25 М розчині хлористого кальцію протягом 24 годин, гранули відділяли фільтруванням і промивали дистильованою водою. Отже, ваговий вміст GO в отриманому композиті становив 0,0004 % та 0,004 %. Зразки були названі НА-Alg-GO та НА-Alg-10GO відповідно. Зразок НА-Alg, що не містить GO, використовували як контроль у подальших дослідженнях.

Зображення TEM та електронно-дифракційна картина (ED) композитів (рис. 2.11 А–С) указують на утворення голкоподібних кристалітів НА та їхніх агломератів розмірами 100 нм і більше. Розташування електронних кілець і міжплощинні відстані на ED відповідають фазі НА. Збі-

льшення вмісту GO знижує ступінь кристалічності композиту, про що свідчить ослаблення дифракційного кільця ([002]) на спектрі ED (див. рис. 2.11 С). Дисперговані в розчині Alg наночастинки GO мають розмір 20–30 нм.

Дослідження FTIR довели наявність вібраційних смуг, характерних для функціональних груп HA та Alg, у всіх експериментальних зразках, зокрема і зразках із вмістом GO. Дослідження підтверджує відсутність хімічної взаємодії між GO та іншими компонентами. Можна припустити наявність фізичної адсорбції між ними або інтеркаляції молекулярної структури HA-Alg між шарами GO.

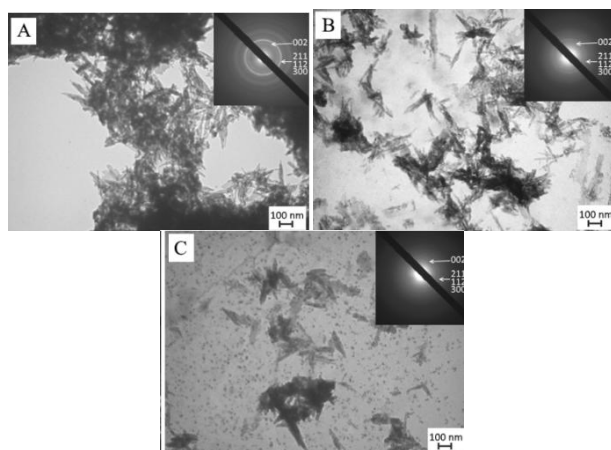


Рисунок 2.11 – ТЕМ-зображення та ЕД-спектри експериментальних зразків: А – HA-Alg; В – HA-Alg-GO; С – HA-Alg-GO10 [178]

Біоактивність композитів оцінювали *in vitro* за допомогою оцінювання їхнього впливу на рН фізіологічного розчину. Досліджувані зразки занурювали в буферний розчин, який імітує фізіологічну рідину (SBF, рН = 7,33), за умови постійного перемішування та температури 37 °С. Розчин SBF використовували як контроль. Зміну значень рН

через регулярні інтервали часу подано на рисунку 2.12 А. На відміну від контролю, кислотність якого не змінювалася, тест на біоактивність експериментальних зразків показав зміну рН, що означає їхню взаємодію із SBF або біоактивність. Дослідження ступеня набрякання, відносної вологості та механічної стійкості проводили в буферному фосфатному розчині в кислому (рН = 4) та нейтральному (рН = 7,3) середовищах (рис. 2.12 В). Відносну вологість визначали як ступінь втрати маси зразків після ліофілізації порівняно з їхньою масою після висушування за 37 °С протягом 2 днів (табл. 2.4).

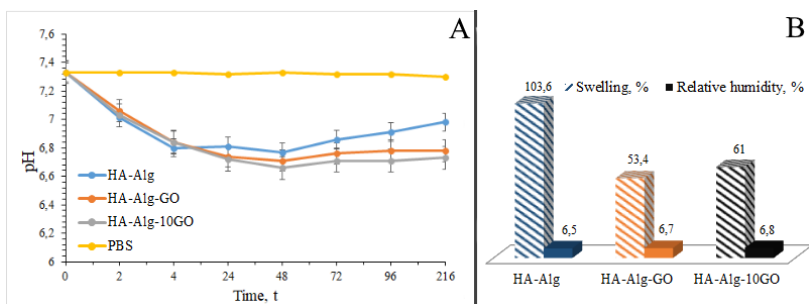


Рисунок 2.12 – А – Вплив композитів на значення рН розчину SBF; В – ступінь набрякання композитів у нейтральному середовищі і їхня відносна вологість після висушання за 37 °С протягом 20 діб [178]

Таблиця 2.4 – Коефіцієнт набрякання та відносна вологість експериментальних композитів [178]

Зразок	Набрякання, %	Відносна вологість, %
HA-Alg	103,6	6,5
HA-Alg-GO	53,4	6,7
HA-Alg-GO10	61,0	6,8

Було доведено, що додавання GO сприяє механічній стійкості гранул (тобто здатності тримати форму певний час), очевидно, завдяки сильнішим міжмолекулярним взаємодіям за обох значень рН порівняно з контролем. Наявність наночастинок GO знижувала ступінь набрякання композитів у нейтральних і кислих середовищах. Варто відмітити зниження ступеня набрякання всіх зразків у кислому середовищі через усадження Alg матриці.

Структурне моделювання системи HA-Alg-GO.

Методами молекулярної механіки засвідчено можливість комплексоутворення між досліджуваними сполуками HA, Alg, GO у водній суміші. Плоска форма молекул GO і HA свідчить про те, що в суміші вони, імовірно, утворюють комплекси, схожі на стекування, у яких HA може інтеркалюватися між двома GO-шарами (рис. 2.13 а). Моделювання тривимірної структури потрійного комплексу HA-Alg-GO довело, що його стабільності досягають, коли молекула Alg охоплює периферію стека HA-GO.

Рисунок 2.13 б, с свідчить про те, що таке розташування молекул переважно стабілізується сольвофобними або Ван-дер-Ваальсовими взаємодіями між поверхнями GO та HA,

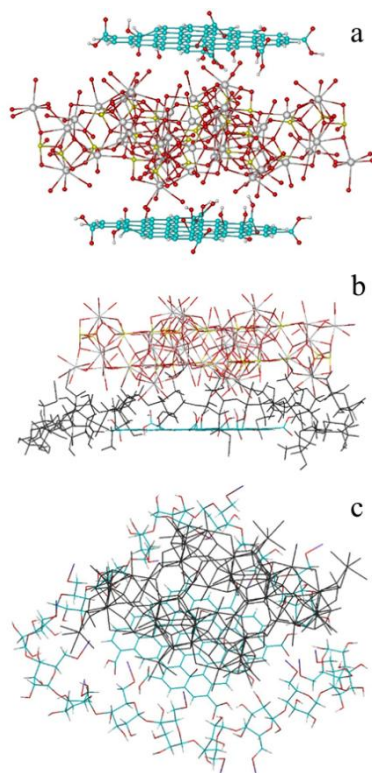


Рисунок 2.13 – Розраховані просторові структури:
 а) комплексу HA-GO;
 б) потрійного комплексу HA-Alg-GO (вид збоку)
 та с) вид зверху [178]

а також додатково стабілізується водневими зв'язками між ОН-групами GO та атомами кисню НА (≈ 4 зв'язки). Невелику кількість Н-зв'язків також відзначено між ОН-групами Alg та ОН-групами GO (≈ 3 зв'язки), атомами кисню НА (≈ 3 зв'язки).

У межах методу ММ+ розраховано енергії внутрішньо- та міжмолекулярних взаємодій у потрійному комплексі: $E_{\text{total}} = 6172,35$ ккал/моль, $E_{\text{GO}} = 3715,50$ ккал/моль, $E_{\text{НА}} = 1303,33$ ккал/моль, $E_{\text{Alg}} = 1440,94$ ккал/моль. Це дозволило оцінити внесок міжмолекулярних взаємодій у повну енергію комплексоутворення: $\Delta E = E_{\text{total}} - E_{\text{GO}} - E_{\text{НА}} - E_{\text{Alg}} \approx -287$ ккал/моль. Це значення має бути збільшено на величину стабілізації комплексу від сольвофобних взаємодій. Останню можна оцінити за площею поверхні, доступною для розчинника, кожної молекули окремо та в комплексі, тобто загальне значення $A = 4061,39 \text{ \AA}^2$, $A_{\text{GO}} = 1044,62 \text{ \AA}^2$, $A_{\text{НА}} = 2430,58 \text{ \AA}^2$, $A_{\text{Alg}} = 3272,94 \text{ \AA}^2$. Беручи мікроскопічний поверхневий натяг, $\gamma = 0,05$ ккал/моль $\cdot \text{ \AA}^2$, для води [179], можна остаточно оцінити сольвофобний внесок як $\Delta G_{\text{hyd}} = \gamma \cdot (A_{\text{total}} - A_{\text{GO}} - A_{\text{НА}} - A_{\text{Alg}}) \approx -134$ ккал/моль. Бачимо, що сольвофобні взаємодії дають одну третину загальної енергії стабілізації, тоді як решту дають енергія стекінгу Ван-дер-Ваальса та Н-зв'язки. Підсумовуючи, можна зробити висновок, що фізична адсорбція GO в системі НА-Alg видається можливою за допомогою утворення потрійного комплексу, стабілізованого взаємодіями стекінгу, Н-зв'язками та сольвофобними взаємодіями.

Дослідження міцності на стиск. Дослідження довело (табл. 2.5, рис. 2.14), що додавання GO до НА-Alg дещо підвищує міцність зразків на стиск. Максимальні відносні деформації ϵ_{destr} до руйнування є в межах 0,10–0,14 для трьох типів зразків. Загалом таке підвищення міцності для зразка НА-Alg-GO пов'язане з високим аспектним співвідношенням і чудовими механічними властивостями графену (питома поверхня становить $2630 \text{ м}^2/\text{г}$, межа міцності –

130,5 ГПа і модуль Юнга – близько 1,0 ТПа) [180; 181]. З іншого боку, відомо [182], що міжфазне зчеплення між компонентами композиту визначає навантаження, яке буде передаватися між ними. Отже, підвищення міцності HA-Alg-GO також можна пояснити гарним зв'язуванням наночастинок GO з матрицею HA-Alg, що призводить до ефективного передавання напруги на GO.

Таблиця 2.5 – Механічні властивості експериментальних композитів [178]

Зразок	Щільність, г/см ³	Максимальна відносна деформація, ϵ_{destr}	Міцність на стиск, МПа	Модуль Юнга E , ГПа
HA-Alg	2,03	0,10	166	793
HA-Alg-GO	2,10	0,14	179	840
HA-Alg-GO/10	2,11	0,12	177	1325

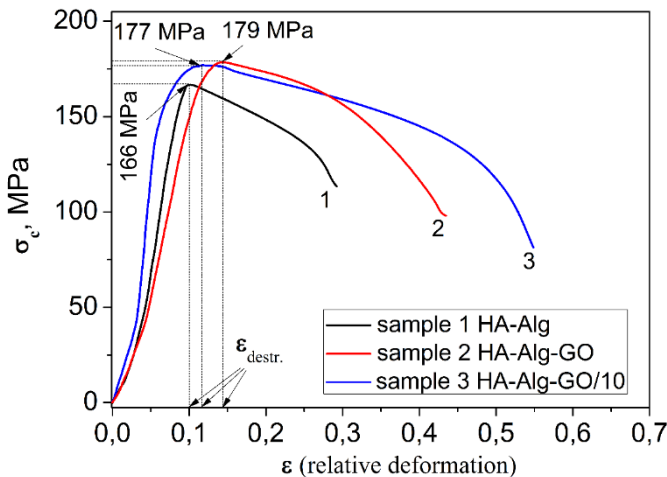


Рисунок 2.14 – Міцність на стиск, виміряна за умови одновісного стиснення [178]

Поліпшення механічних властивостей композитів переважно можна пояснити сумісністю та специфічними взаємодіями гідроксильних груп Alg з функціональними групами GO (гідроксильні, епоксидні). Покращені властивості розтягування приписують водневим зв'язкам GO та Alg. Структура композиту Alg-GO призводить до більш рівномірного розподілу напруги та мінімізує наявність центру концентрації напруг, у такий спосіб значно підвищуючи механічні властивості нанокompозиту [183]. Крім того, хімічний перехресний зв'язок між шарами GO може бути підвищений за допомогою додавання двовалентних іонів Ca^{2+} [184] під час утворення гранул, що призводить до покращання механічних властивостей композитів.

2.5. Апатит-альгінатні композити, леговані наночастинками магнетиту (Fe_3O_4)

Матеріал цього підрозділу побудовано на узагальненні отриманих наукових результатів, які детально описано в опублікованій у Journal of the Korean Ceramic Society статті [185]. У зв'язку з цим подальших посилань на цю роботу не наводимо.

Магнетит (Fe_3O_4) є найпоширенішим оксидом заліза в біомедицині через низьку токсичність, відносну легкість функціоналізації та високу намагніченість за кімнатної температури [186]. Магнітні матеріали можуть бути введені в остеопластичний матеріал і сприяти формуванню кісток [187]. Біомедичне застосування магнітних наночастинок (МНЧ) зросло останніми десятиліттями [188]. Іони заліза із МНЧ додаються до відкладень заліза в організмі після метаболізму і містяться в еритроцитах або гемоглобіні [189]. Існує кілька головних напрямів використання МНЧ у медицині, наприклад, у тканинній інженерії для регенерації кісткової тканини [190] як носіїв лікарських засобів для

ефективного контролю їхньої доставки та релізу в зону ураження [191], а також у клінічній медицині під час діагностики із застосуванням магнітно-резонансної томографії, де МНЧ застосовують як контрастний матеріал завдяки локальній модифікації магнітних полів, градієнтів електричних полів і радіохвиль залежно від використовуваного типу зображення [192]. МНЧ має практичне застосування під час лікування онкологічних захворювань, зокрема раку кісткової тканини методом гіпертермії [193–195]. Композит «гідроксиапатит-альгінат-магнетит» можна розглядати як фізичну модель будови кісткової тканини другого рівня у 8-рівневій ієрархії [173].

У цій роботі було синтезовано магнетит-альгінатні наночастинки, які під дією ультразвуку були дисперговані в суспензії 2 % альгінату з доданими наноструктурованими мікрочастинками гідроксиапатиту (≤ 163 мкм). Отримані біомагнітні композити, подані у формі гідрогелю та гранул, можуть бути перспективними в хірургічній ортопедії як заповнювач кісткових дефектів.

Синтез гідрогелю гідроксиапатиту та гранульованого композиту проводили за описаними вище методиками. Синтез магнетит-альгінату проводили методом хімічного осадження, а саме: до 5 мл 2 % водного розчину Alg (pH 10) додавали 10 мл 0,4М FeCl₃ · 6H₂O та 10 мл 0,4М FeSO₄ × × 7H₂O. Суміш витримували за умови 80 °С протягом 60 хв. Утворений осад промивали дистильованою водою до нейтрального рН. Після сушіння одержували наноструктурований порошок магнетиту із співвідношенням компонентів Fe₃O₄ : Alg = 10 : 1 у перерахунку на сухі речовини. З метою утворення композиту у формі гідрогелю до 2 % розчину альгінату додавали гідрогель НА-Fe₃O₄ у ваговому співвідношенні 1 : 1 та гомогенізували ультразвуком протягом 20 хв. Композитний матеріал у формі гранул (надалі НА-Fe₃O₄-Alg) було отримано за допомогою диспергуван-

ня суспензії $\text{HA-Fe}_3\text{O}_4\text{-Alg}$ у 0,125-М розчин хлориду кальцію. Після 25-хвилинної експозиції гранули відділяли фільтруванням, промивали дистильованою водою до нейтральної реакції та сушили за кімнатної температури.

Рисунок 2.15 демонструє морфологію композиту HA-Alg , де бачимо, що HA є вбудованим в альгінатну матрицю за допомогою утворення ламелей (позначено червоними кружками на рисунку 2.15 а). Результати елементного аналізу наведено на рисунку 2.15 та в таблиці 2.6. Ламелі HA (невеликі елементи, що становлять пластинчасті структури) добре бачимо на рисунку 2.15 а. EDAX-спектр чіткий, піки елементів ідентифікуються, розподіл елементів рівномірний, кількісне відхилення не перевищує 5 %.

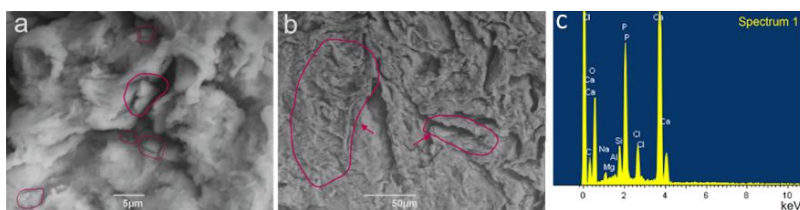


Рисунок 2.15 – SEM-зображення композиту HA-Alg :
а), б) поверхня HA-Alg із позначеними місцями аналізу;
с) відповідні спектри HA-Alg -композиту [185]

На рисунку 2.16 наведено TEM-зображення наночастинок магнетиту, отриманих за наведеною вище методикою. Лінійні розміри частинок і статистичне оброблення результатів подано у вигляді гистограми. Дослідження довели, що наявність альгінату натрію під час синтезу призводить до зменшення розміру наночастинок магнетиту. Згідно з гистограмою близько 40 % частинок мають розмір 8 нм, тоді як під час синтезу в безполімерному розчині найбільша частка наночастинок має розмір 12 нм.

Наночастинки магнетиту мають значну поверхневу енергію і є найбільш ефективними, зокрема з погляду антибактеріальної дії. Але ми також повинні пам'ятати, що зменшення розміру призводить до збільшення агрегації через їхню високу поверхневу активність. Отже, ступінь агрегації наночастинок Fe_3O_4 може істотно впливати на активність і властивості біокомпозитів із їхнім вмістом. У разі синтезу наночастинок Fe_3O_4 за наявності альгінату гідроксильні групи останнього можуть генерувати міжфазний зв'язок із наночастинками магнетиту і, у такий спосіб, перешкоджати росту та агломерації наночастинок Fe_3O_4 . Під час формування гранул альгінат діє як диспергатор і забезпечує рівномірний розподіл наночастинок магнетиту в полімерній матриці під дією ультразвуку.

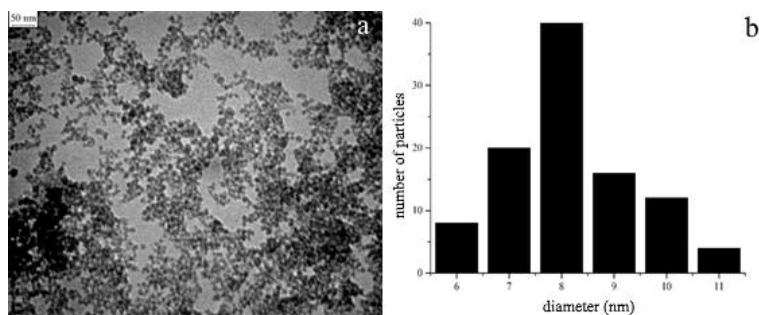


Рисунок 2.16 – ТЕМ-зображення наночастинок магнетиту, отримане за наявності альгінату (а) та гістограма їхнього розподілу за розмірами (б) [185]

На рисунку 2.17 подано SEM-зображення гідрогелю НА- Fe_3O_4 за різних збільшень (а, б, с, д), а також EDA-аналіз елементного складу на вказаних ділянках (а, б). Частинки магнетиту добре інтегровані в гідрогелеву матрицю. Їхній розмір не перевищує 10–15 нм. Як бачимо зі спектра EDA, елементи O, Al, P, Ca та Fe подано в досліджуваних зонах.

Концентрація Fe коливається від 3,30 % до 12,82 % мас, що свідчить про певну агломерацію магнетиту.

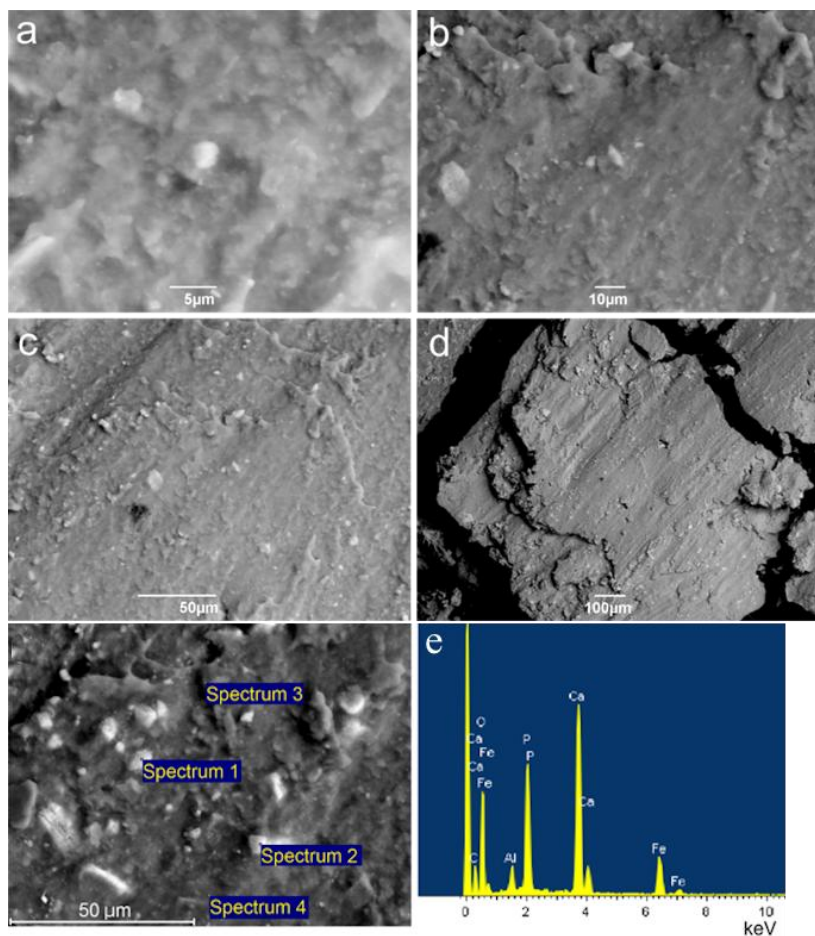


Рисунок 2.17 – СЕМ-зображення гідрогелю $\text{HA-Fe}_3\text{O}_4$ за різних збільшень (a) $\times 3000$; b) $\times 1000$; c) $\times 500$; d) $\times 100$) та EDA-аналіз елементного складу на вказаних ділянках (e) [185]

Морфологію композитних гранул із вмістом альгіна-ту та магнетиту (НА-Fe₃O₄-Alg) подано на рисунку 2.18, а елементний аналіз – у таблиці 2.6.

Можна зробити висновок, що магнетит зменшує гомогенізацію розподілу НА, блокуючи утворення ламелей. Концентрація Fe також значно змінюється від 17,70 до 2,22 мас.% (табл. 2.7). Масове співвідношення Ca/P становить 2.1, що трохи нижче за стехіометричне співвідношення НА (2,15). Відсутність процесу утворення ламелей гідроксиапатиту, а також підвищений вміст Ca і P у точках аналізу магнетиту (рис. 2.18 a, b; спектри 1 і 2) може свідчити про накопичення гідроксиапатиту навколо частинок магнетиту.

Відомо, що однією з головних функцій остеопластичного матеріалу є сприяння прикріпленню клітин для подальшої клітинної проліферації та диференціювання після імплантації матеріалу. Також має зберігатися фенотип і життєздатність клітин. Біосумісність композитного матеріалу *in vitro* оцінювали за рівнем життєздатності, адгезивними властивостями, морфологією, проліферацією та диференціацією клітин. Дослідження цитотоксичності проводили для зразків, поданих у двох агрегатних формах – гідрогелю (НА-Fe₃O₄) і гранул (НА-Fe₃O₄-Alg). Загальну кількість клітин у культурах (живі та загиблі) визначали на 3-тю та 5-ту добу після витримання зразків у живильному середовищі. Відмінностей стану культивованих фібробластів на 3-тю добу в посівах із дослідними зразками та в контрольній культурі не було виявлено. На 5-ту добу культивування спостерігаємо значне збільшення щільності клітин. Клітини, які були переважно зрілими фібробластами, зберегли свій фенотип у культурах.

Таблиця 2.6 – Результати елементного аналізу НА-Alg-композиту, ваг% [185]

Спектр	O	Na	Mg	Al	Si	P	Cl	Ca	Sum	Ca/P
1	50,68	1,20	0,25	0,17	2,02	11,40	3,99	28,05	100,00	2,46
2	49,48	1,14	0,35	0,29	2,28	12,93	3,67	29,86	100,00	2,30
3	50,30	1,04	0,42	0,31	2,19	12,63	3,64	29,48	100,00	2,33
max.	50,68	1,20	0,42	0,31	2,28	12,93	3,99	29,86	–	–
min.	49,48	1,04	0,25	0,17	2,02	11,40	3,64	29,05	–	–

Таблиця 2.7 – Результати елементного аналізу НА-Fe₃O₄-Alg-композиту, ваг% [185]

Спектр	O	Na	Mg	Al	Si	P	Cl	Ca	Fe	Sum	Ca/P
1	46,02	0,92	0,00	0,31	3,47	9,09	3,14	19,34	17,70	100	2,13
2	46,21	0,86	0,15	0,23	2,40	9,41	3,29	20,40	17,05	100	2,17
3	48,42	0,73	0,26	0,31	2,50	13,06	3,89	28,62	2,22	100	2,19
Середнє значення	46,88	0,84	0,14	0,28	2,79	10,52	3,44	22,79	12,32	100	2,17
Стандартне відхилення	1,33	0,10	0,13	0,05	0,59	2,21	0,40	5,08	8,76	–	–
Max	48,42	0,92	0,26	0,31	3,47	13,06	3,89	28,62	17,70	–	–
Min	46,02	0,73	0,00	0,23	2,40	9,09	3,14	19,34	2,22	–	–

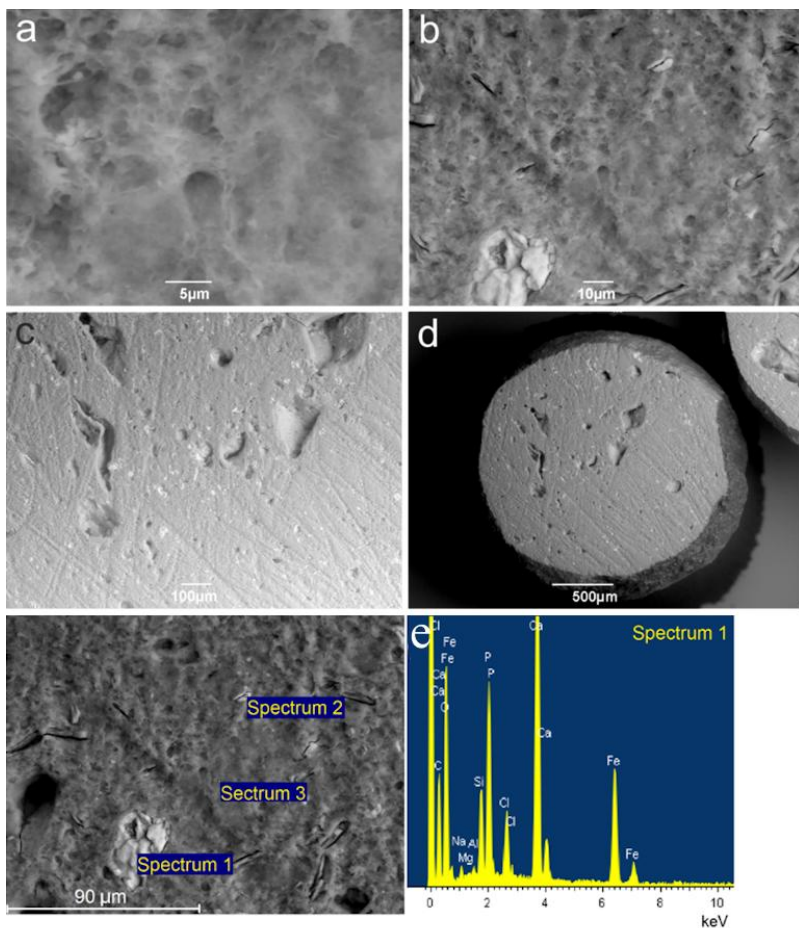


Рисунок 2.18 – SEM-зображення гранул $\text{HA-Fe}_3\text{O}_4\text{-Alg}$ за різних збільшень (a) $\times 3000$; b) $\times 1000$; c) $\times 500$; d) $\times 100$) та EDAX-аналіз елементного складу на вказаних ділянках (e) [185]

Розподіл загальної кількості клітин і кількості мертвих клітин не мав істотної різниці порівняно з контрольною культурою (рис. 2.19).

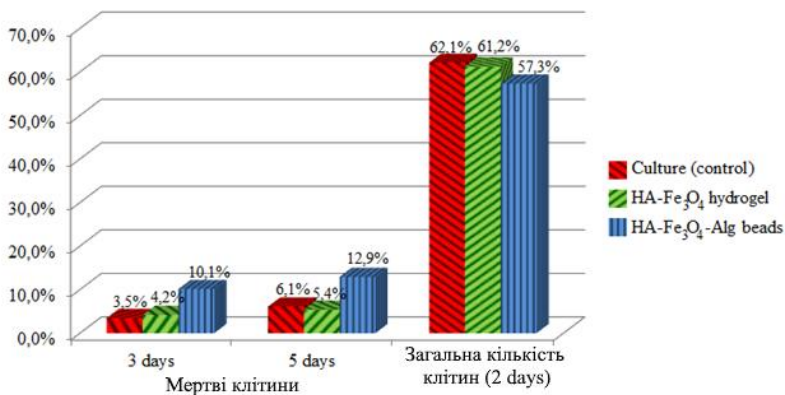


Рисунок 2.19 – Порівняльна характеристика впливу дослідних зразків на поведінку клітин у живильному середовищі [185]

Експериментальні дані доводять, що поведінка остеобластів і фібробластів залежить від структури зразка і змінюється під час переходу від гідрогелю до гранул. Так, для гідрогелю HA-Fe₃O₄ характерна менша кількість мертвих клітин і вищий ступінь їхньої проліферації в період від 3 до 5 діб порівняно з гранулами HA-Fe₃O₄-Alg. Цей факт можна пояснити так: у гідрогелі дисперговані HA-мікрочастинки сумарно мають більш розвинуту поверхню, а отже, більший контакт HA з клітинами, що сприяє виживанню клітин і їхній проліферації. У разі з гранулами контакт клітин із HA відбувається лише на їхній поверхні, знижуючи відсоток виживання. Магнетит має певну токсичність, впливаючи на поведінку фібробластів і знижуючи ступінь їхньої проліферації.

2.6. Апатит-альгінатні композити, леговані мікрочастинками оксиду цинку

Матеріал цього підрозділу побудований на узагальненні отриманих наукових результатів, які детально описано

в статті, опублікованій у журналі *Ceramics International* [196]. У зв'язку з цим далі посилання на цю роботу не наводимо.

Під впливом мікрохвильового опромінення (МХО) було синтезовано й комплексно вивчено наноструктурований композитний матеріал на основі НА, AlG і мікрочастинок ZnO (≤ 63 мкм). Біоматеріал було виготовлено у формі гранул і гідрогелю з метою заповнення дефектів складної геометрії з мінімальним зазором між кісткою та імплантатом. Гідрогель і мікрочастинок гідроксиапатиту були синтезовані за описаною в попередніх розділах класичною технологією. Відмінністю від класичної технології було те, що після змішування компонентів і доведення рН до попередньо визначеного рівня реакційну суміш піддавали дії мікрохвильового випромінювання потужністю 300 Вт протягом 3 хв, а потім 450 Вт протягом 5 хв у мікрохвильовій печі Samsung M1712NR. Температуру реакційної суспензії підтримували близькою до фізіологічної (37 °С) за допомогою системи охолодження, щоб унеможливити вплив нагрівання. Важливим є утворення нанокристалів НА під впливом МХО в один етап (без утворення аморфної фази CaP) через швидке поглинання енергії випромінювання реакційною системою в умовах миттєвої дегідратації іонів Ca^{2+} , PO_4^{3-} та OH^- [173].

Синтез мікрочастинок оксиду цинку (ZnO). 3 % розчин альгінату натрію додавали до 0,2 М розчину гексагідрату нітрату цинку $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Утворення мікрочастинок ZnO починалося після додавання до реакційної суміші 25 % розчину аміаку. Після цього титанову пластину занурювали в реакційну суміш, через яку пропускали змінний струм силою 2 А протягом 30 хв. Увесь об'єм суміші додатково нагрівали до температури 80 °С із застосуванням магнітного перемішування. Промиту дистильованою водою до нейтральної реакції осаджену фракцію ZnO відокремлювали центрифугуванням. Після висушування за 37 °С продукт був подрібнений до порошку з дисперсністю

< 63 мкм. ZnO додавали до гідрогелю або порошку НА в заданій кількості (5 %, 10 %, 15 % та 20 %) за ретельного перемішування. Гранульований НА-Alg-ZnO композит отримували за описаною вище технологією, тобто диспергуванням гідрогелю НА-Alg-ZnO у 0,25 М розчині хлориду кальцію (рис. 2.20).

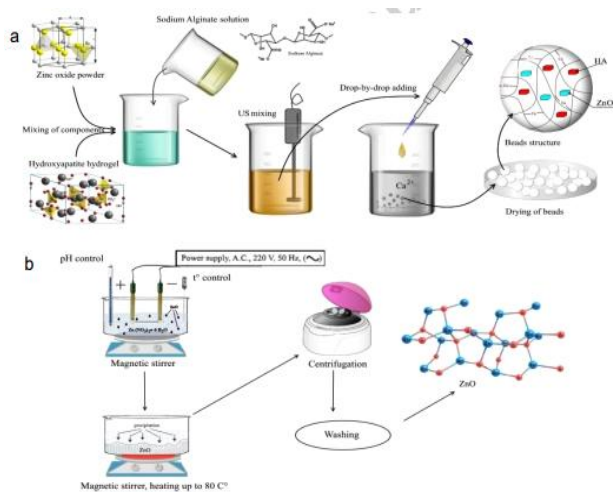


Рисунок 2.20 – Схема виготовлення композиційного полімер-апатитного матеріалу НА-Alg-ZnO у вигляді гранул, легуваних наноструктурованими частинками ZnO (a) і технологічна схема синтезу ZnO (b) [196]

Рентгено-структурні дослідження зразків довели утворення фази НА (НА-JCPDS 01-084-1998) із середніми розмірами кристалітів – 39,6 нм. Водночас синтезовані частинки ZnO склалися з гексагональної фази ZnO ($a = 0,324$ нм, $c = 0,517$ нм, JCPDS 00-001-1136), середній розмір кристалітів становив 25,5 нм. Рентгенівські спектри цих зразків, а також композитів НА-Alg і НА-Alg-ZnO наведено на рисунку 2.21.

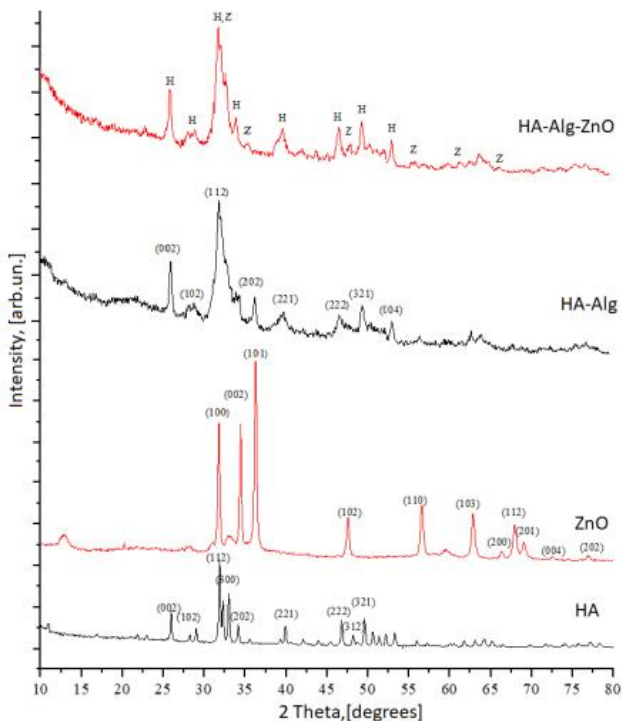


Рисунок 2.21 – Рентгенівські дифрактограми від зразків композитних матеріалів і їхніх компонентів: ZnO та HA, виготовлених під впливом MW і відпалених за 900 °С, HA-Alg та HA-Alg-ZnO. Основні піки позначені індексами Міллера, а також літерами: H – гідроксипатит, Z–ZnO [196]

Морфологію синтезованих зразків досліджували SEM- і ТЕМ-методами. Аналіз частинок ZnO за допомогою ТЕМ демонструє, що нанокристаліти ZnO (до 50 нм) подані включеннями кубічної структури (рис. 2.22 а) з параметрами решітки $a = 0,427$ нм і переважно шестикутною структурою (рис. 2.22 б) з параметрами решітки $a = 0,324$ нм, $b = 0,324$ нм і $c = 0,515$ нм. Цей факт може бути пояснено

особливостями виготовлення оксиду цинку. Як було зазначено вище, зародження ZnO відбувалося під час проходження електричного струму, а подальше зростання кристалітів та осадження продукту здійснювалося під час конвекційного нагрівання реакційної суміші до 80 °С. Оскільки похибка методу рентгенівської дифракції становить приблизно 5–6 % об'ємної частки фаз, а концентрація кубічної фази ZnO не перевищує цього порогу, включення кубічної фази оксиду цинку не могли бути ідентифіковані в зоні рентгенівського дифракційного спектра під високим кутом.

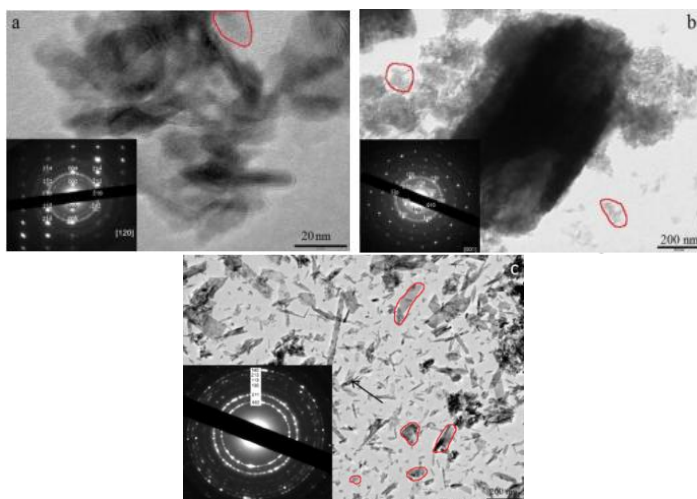


Рисунок 2.22 – ТЕМ-зображення кристалітів та електронно-дифракційних моделей ZnO з поміченими наногранулами: з кубічною решіткою (шкала 20 нм) (а), з шестикутною решіткою (шкала 200 нм) (б); НА з поміченими наногранулами й дифракційними кільцями (с)

На рисунку 2.23 а подано морфологію зразка НА-ZnO. На зображенні позначено точки елементного аналізу. На рисунку 2.23 б подано спектр EDA ділянки № 1, де монокристалічні включення ZnO (у вигляді сніжинок) мають розмір від 13 до кількох десятків мкм. Розповсюдження мікрочастинок ZnO є хаотичним. З таблиці та спектра EDA добре бачимо, що Zn ідентифікується в композиті НА-ZnO. Середнє значення концентрації Zn у цій зоні зразка становить 25,63 мас.%. Співвідношення Ca/P становить 1,87.

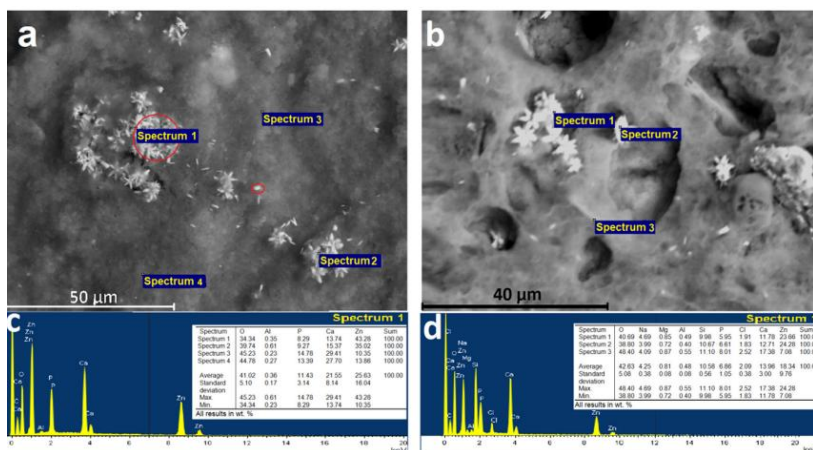


Рисунок 2.23 – SEM-зображення та результати EDA-досліджень зразків: а) поверхня НА-ZnO з позначеними кристалами (а), поверхня НА-Alg-ZnO (б), відповідні спектри EDA композиту НА-ZnO (с) і композит НА-Alg-ZnO (д) [196]

Дослідження ступеня набрякання. Доведено, що час експозиції зразків у розчині CaCl_2 із метою набуття альгінатною матрицею з імобілізованими неорганічними частинками форми гранул впливає на здатність матеріалу адсор-

бувати рідину (рис. 2.24). Для дослідження готували зразки гранул, процес зшивання яких у розчині хлориду кальцію становив 25 хвилин і 18 годин. Ступінь набрякання зразків HA-Alg і HA-Alg-ZnO вивчали у фосфатно-буферному розчині PBS протягом 24 годин за значень рН 4,5 та 7,3 з урахуванням умов резорбції живого організму та утворення нової кісткової тканини, викликані специфічними клітинами – остеобластами та остеокластами. Результати доводять, що ступінь набрякання зразків збільшується в разі введення ZnO в композит. Збільшення часу витримки в розчині CaCl₂ призводить до зниження ступеня набрякання. Виявилось, що зразки із вмістом ZnO дещо менш чутливі до набрякання в нейтральному середовищі за рН = 7,3, ніж у кислому за рН = 4,5.

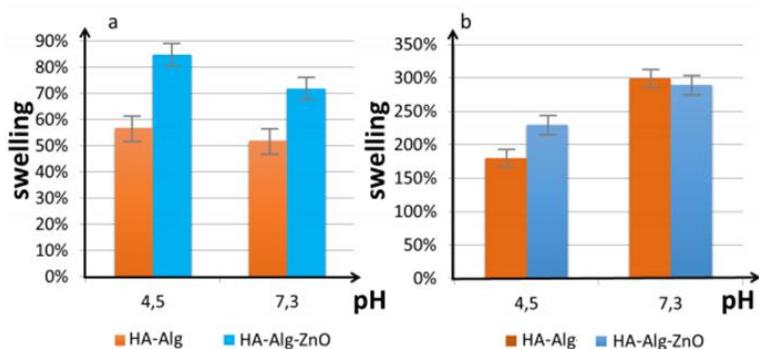


Рисунок 2.24 – Ступінь набрякання (у %) гранул HA-Alg і HA-Alg-ZnO з часом витримки в CaCl₂: 18 годин (а) 25 хвилин (б) [196]

Ступінь пористості контрольного HA-Alg становить 5–15 %, тоді як пористість зразка із вмістом оксиду цинку HA-Alg-ZnO збільшується до 35–50 %. Збільшення пористості сприяє збільшенню кількості ділянок для адгезії та

проліферації клітин, що утворюють нову кісткову тканину, і є однією з вирішальних вимог до біоматеріалів.

Попереднє дослідження антимікробної активності НА-Alg-ZnO зразків щодо *E. coli* ATCC 25922 і *S. aureus* ATCC 25923 проводили методом дискової дифузії в агар (рис. 2.25). Для цього 0,1 мл суспензії НА-Alg-ZnO (вміст активної речовини ZnO становив 0,7 мг) та 0,1 мл НА-Alg (як контроль) наносили на інокульоване поживне середовище.

Результати довели, що зони пригнічення росту мікроорганізмів становили близько 10 мм для зразків, що містять ZnO. Це вказує на незначну антимікробну активність композиту, причиною якої може бути слабка дифузія активної речовини з композиту. Контрольний зразок (без вмісту ZnO) не виявив зони пригнічення росту для обох бактеріальних культур. Варто зазначити, що в цьому разі дифузія частинок ZnO в агар була обмежена наявністю важкорозчинної сполуки – НА.

Наукові дослідження свідчать, що запорукою антимікробної активності є іони Zn^{2+} , які вивільняються із ZnO під час дисоціації. Вивільнені іони Zn^{2+} істотно впливають на гальмування активного транспорту, а також на метаболізм амінокислот і порушення функціонування у ферментній системі бактерій. Згідно з роботами [163; 197] цей механізм найбільш прийнятний для наноструктурованих кристалів ZnO, коли швидкість процесу дифузії Zn^{2+} зростає зі зменшенням розміру ZnO-частинок, що також має прямий вплив на розмір зони інгібування.

Результати випробувань протимікробної активності матеріалу щодо *S. aureus* ATCC 25923 та *E. coli* ATCC 25922 подано на рисунку 2.25.

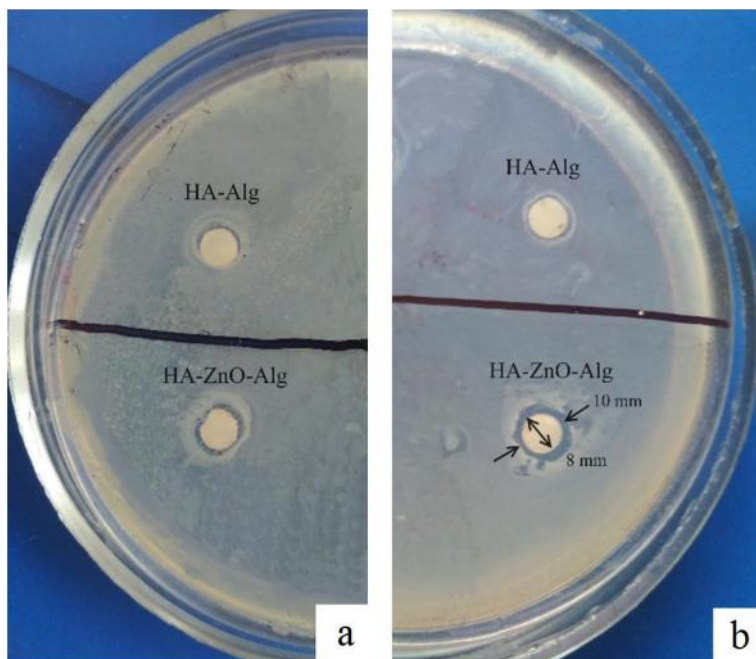


Рисунок 2.25 – Тест на антибактеріальну активність зразків: HA-Alg (контроль), HA-Alg-ZnO щодо *S.aureus* ATCC 25923 (a) та *E. coli* ATCC 25922 (b) [196]

Наночастинки ZnO призводять до руйнування мембрани внаслідок утворення реакційних форм кисню (РФК), що є причиною загибелі мікроорганізмів. Вважають, що наночастинки ZnO, які мають кубічну структуру (параметр ґратки $a = 0,427$ нм), роблять більший внесок в антибактеріальну активність, ніж наночастинки з гексагональною структурою (параметри решітки $a = 0,324$ нм, $b = 0,324$ нм і $c = 0,515$) (рис. 2.26). Пояснення ґрунтується на тому факті, що лише наночастинки ZnO з гексагональною структурою можуть утворювати хімічний зв'язок із гідроксиапатитом.

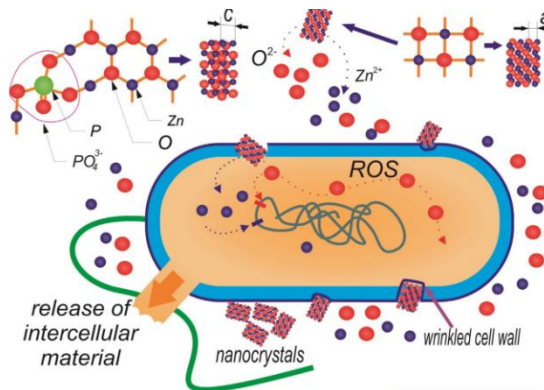


Рисунок 2.26 – Антибактеріальний механізм дії нанокристалів ZnO з кубічною ґраткою ($a = 0,427$ нм) і гексагональною (параметри ґратки $a = 0,324$ нм, $b = 0,324$ нм, $c = 0,515$ нм) [196]

Наночастинки ZnO з кубічною структурою також не утворюють хімічних зв'язків із фосфатами, тому, більш імовірно, вони беруть участь у створенні частинок РФК і вивільненні іонів Zn^{2+} , які можуть взаємодіяти з білком і мають потенційний вплив на патогенез HSV-1 [198]. Результати довели, що додаткові операції (УЗ, МХО) під час синтезу можуть сприяти утворенню нових структур ZnO, які раніше не траплялися в композитних матеріалах, що вказує на необхідність більш детального вивчення цього питання.

Адгезивні та проліферативні властивості клітин через 48 год культивування оцінювали методом флуоресцентної мікроскопії. Для візуалізації мишачих фібробластів NIH-3T3 клітини попередньо фарбували флуорогенним барвником DHR-123, який забезпечує зелену флуоресценцію в метаболічно активних клітинах. Отримані результати доводять стабільність клітин протягом 5 днів культивування за наявності експериментальних зразків. Синтезовані матеріали не проявили цитотоксичної дії на структурну організацію клітини (рис. 2.27).

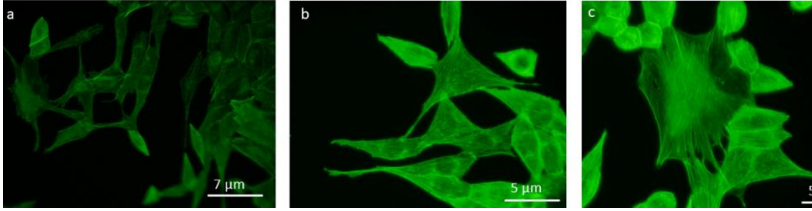


Рисунок 2.27 – Флуоресцентні зображення клітин NIH-3T3, культивованих з експериментальними зразками: контроль (а), HA-ZnO (б) і HA-Alg-ZnO (с) [196]

Їхній ріст і проліферативна активність доводять біосумісність досліджуваних матеріалів. Клітини продемонстрували нормальну морфологію і продемонстрували гарну адгезивну здатність. Клітини залишилися метаболічно активними, про що свідчить зелена флуоресценція в них (рис. 2.28).

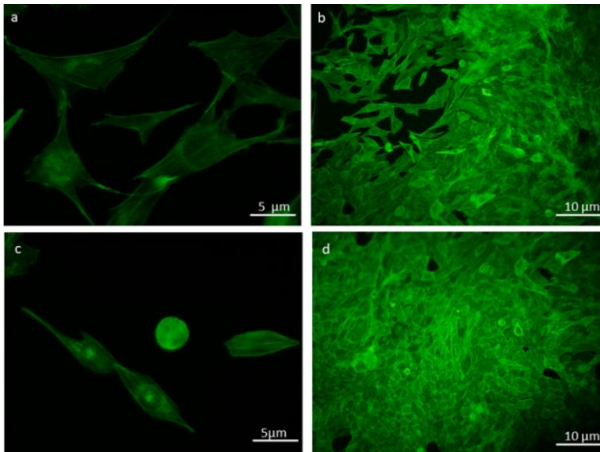


Рисунок 2.28 – Клітини фібробластів миші NIH-3T3, культивовані протягом 3 днів (а, б), протягом 5 днів (с, д) із зразками HA-ZnO (а, б) і HA-Alg-ZnO (с, д) [196]

Оцінювання метаболічної активності культивованих клітин за наявності експериментальних зразків було проведено за допомогою колориметричного тесту МТТ. Відновлення тетразолієвого барвника залежить від NADP-H-залежних ферментів оксидоредуктази, переважно в цитозолі клітини [197], що вказує на клітинну метаболічну активність. Клітини з низьким рівнем метаболізму відновлюють дуже мало МТТ. Навпаки, клітини, що швидко діляться, демонструють високий ступінь відновлення МТТ (рис. 2.29).

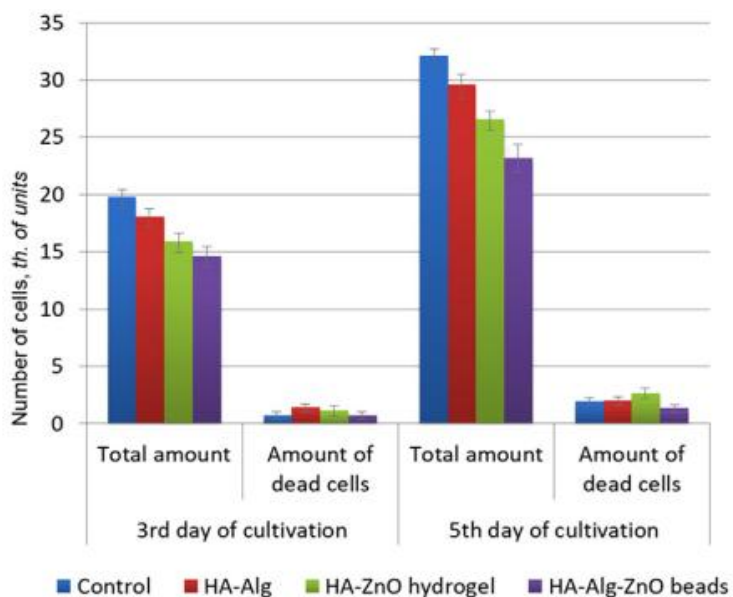


Рисунок 2.29 – Метаболічна активність мишачих фібробластів НІН-3Т3, культивованих за наявності експериментальних зразків [196]

Аналіз цитотоксичності за допомогою МТТ-тесту довів, що всі досліджувані матеріали на основі НА були цитосумісними. Виживаність клітин становила більше ніж 80 % порівняно з контрольною групою (клітини, культиво-

вані в культуральному середовищі без експериментальних зразків).

Отже, наноструктурований композитний матеріал на основі частинок HA, ZnO та альгілату натрію був синтезований і досліджений. XRD та EDA виявили утворення HA з масовим співвідношенням Ca/P = 2,15, що відповідає стехіометричному апатиту (2,16). Оксид цинку як гексагональної, так і кубічної структур виготовляли за допомогою попереднього пропускання електричного струму через реакційну суміш. Неорганічна фаза HA-ZnO розподілена в полісахаридній альгілатній матриці, що наближує структуру матеріалу до природних кісткових нанокompозитів. Ультразвукове оброблення реакційної суміші призводить до гомогенізації в розподілі складових. Іони кальцію стабілізують структуру нанокompозиту, що знижує рухливість полімерних ланцюгів альгілату. Введення ZnO в композит підвищує його пористість і ступінь набрякання у фосфатно-буферному розчині.

2.7. Апатит-альгілатні остеопластичні композити, легovanі мікро- та наночастинками оксиду цинку

Матеріал цього підрозділу побудовано на узагальненні отриманих наукових результатів, які детально описано в опублікованій статті [199]. У зв'язку з цим подальші посилання на цю роботу не наводимо.

Серед біологічно активних матеріалів медичного призначення важливу роль відіграють наноматеріали – речовини або їхні композиції, розміри структурних елементів яких містяться в інтервалі від 1 нм до 100 нм. Нанорозмірні частинки (NP_s) характеризуються великою питомою поверхнею, що надає матеріалам нових унікальних оптичних, механічних, каталітичних і біологічних властивостей [200]. Необхідно чітко розрізняти істинні наноматеріали (ІНМ)

і нанорозмірні матеріали (НРМ): властивості НРМ практично обмежуються розмірним параметром, тоді як ІНМ завдяки «нанорозмірності» набувають якісно нових властивостей, які не притаманні матеріалам із більшими розмірами частинок. Наночастинки металів та оксидів металів (Me_{NPs} , MeO_{NPs}) є альтернативою антибіотикам через їхню здатність чинити протимікробну дію. Завдяки біосумісності, здатності поглинати ультрафіолетове світло, розсіюванню та антибактеріальним властивостям Me_{NPs} і MeO_{NPs} використовують у медицині у складі кісткових матеріалів [196], лікувальних пов'язок [201], носіїв лікарських засобів, протимікробних і протипухлинних препаратів [202]. Активно вивчають протираковий механізм дії таких частинок [203]. Останніми десятиліттями набувають розвитку біотехнології «зеленого синтезу» наночастинок із використанням рослинних екстрактів, бактерій, грибів, які використовують підхід «знизу вгору» і містять хімічні та біологічні методи оброблення. Біологічний підхід пропонує екологічно безпечний однокроковий спосіб синтезу Me_{NPs} і MeO_{NPs} із різними розмірами, формами і фізико-хімічними властивостями без застосування небезпечних або токсичних речовин [204; 205]. Наприклад, під час порівняння властивостей наночастинок оксиду цинку (ZnO_{NPs}), отриманих методом «зеленого синтезу» та класичним методом осадження, виявилось, що «зелені» наночастинки демонстрували вищу цитотоксичність проти ракових клітин, а також чудову протидіабетичну та протимікробну активність [206].

Одним із викликів сучасного світу є резистентність патогенних мікроорганізмів до антибіотиків, що створює загрозу життю людей. Водночас деякі антибіотики можуть негативно впливати на ріст нової кісткової тканини або їхнє застосування обмежене вузьким антимікробним спектром [207]. Наночастинки металів і їхніх оксидів є альтернативою антибіотикам завдяки протимікробним власти-

востям. Цинк є важливим мінералом, який регулює активність ферментів в організмі, а частинки ZnO як мікронного, так і нанометричного розміру проявляють протимікробну активність [208]. Водночас доведено залежність протимікробної дії наночастинок ZnO від їхнього розміру та форми [209]. Також підтверджена протипухлинна активність наночастинок ZnO як результат вивільнення іонів цинку Zn^{2+} у кислому внутрішньоклітинному середовищі. Такі умови можуть спричинювати окислювальний стрес через утворення реактивних кисневих частинок (ROS), надмірна кількість яких викликає пошкодження ДНК і загибель мікробної клітини [210].

Варто відрізнати можливий токсичний вплив самих Me_{NPs} від впливу вивільнених іонів Zn^{2+} , а також від комбінованого ZnO_{NPs}/Zn^{2+} впливу, що потребує спеціальних досліджень [211]. За нашими попередніми спостереженнями на механізм токсичної та протимікробної дії частинок ZnO також впливає матриця, у яку ці частинки іміобілізовані. У цьому підрозділі ми розглядаємо композитний остеопластичний матеріал на основі гідроксиапатиту, іміобілізованого в CS-Alg матрицю, який містить нано- (ZnO_{NPs}) або мікро- ($ZnO_{MPs} \leq 63$ мкм) частинки ZnO однакової концентрації. Указаний матеріал має невисоку швидкість біодеградації, що властиво для остеопластичних матеріалів. Це впливає на дифузію активних компонентів, а отже, і на активність матеріалу щодо навколишнього середовища.

Це дослідження присвячене порівняльному впливу ZnO_{NPs} і ZnO_{MPs} у складі остеопластичного матеріалу на його фізико-хімічні властивості, а саме пористість, протимікробні властивості та динаміку релізу лікарського засобу. Особливу увагу приділено порівнянню здатності ZnO нано- та мікрочастинок спричинювати токсичну дію щодо кісткоформуєвальних клітин – остеобластів, вплив на їхню життєздатність, морфологію та здатність до мінералізації.

Синтез гранульованого остеопластичного матеріалу, легovanого ZnO_{NPs} і ZnO_{MPs} . Гідроксипатит (НА) та мікрочастинки оксиду цинку (ZnO_{MPs}) отримували за описаними в попередніх розділах технологіями. Наночастинки оксиду цинку (ZnO_{NPs}) було отримано методом поліольного синтезу з використанням етиленгліколю (ЕГ) як реакційного середовища та ацетату цинку $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ (1 моль/л) [212]. Суміш вихідних речовин нагрівали під час інтенсивного перемішування тефлоною мішалкою. Для конденсації пари і стікання конденсату застосовували зворотний холодильник. Термопара забезпечувала контроль температури синтезу. Після досягнення температури 160 °С суспензію витримували 60 хвилин, охолоджували до кімнатної температури та відокремлювали одержаний продукт за допомогою центрифугування, відмивали етанолом із використанням ультразвукової ванни та подальшого центрифугування. Вологі наночастинки ZnO диспергували в етиловому спирті за допомогою ультразвукового перемішування, досягаючи заданої концентрації.

Для приготування гранул НА-Alg/CS-ZnO було використано дві суміші НА з ZnO_{MPs} і НА з ZnO_{NPs} . Вміст частинок ZnO в обох випадках становив 2,5 % від кількості НА. Суміші додавали до 2 % розчину альгінату натрію (Alg) у співвідношенні (НА+ ZnO): Alg = 3 : 1 у перерахунку на сухі речовини з подальшим обробленням ультразвуком. Аквадетрим (Вітамін D3) було додано до отриманої суміші в концентрації 18,75 мкг/мл. Гранули НА-Alg/CS- ZnO_{NPs} і НА-Alg/CS- ZnO_{MPs} було отримано за допомогою диспергування кожної із суспензій у 0,25 М розчин хлориду кальцію та витримки протягом 18 годин. Протягом наступних 24 годин відбувалась експозиція утворених гранул у суміші розчинів 1,5 % хітозану (CS). Гранули НА-Alg/CS (без ZnO) було виготовлено за згаданою вище методологією, і цей зразок був використаний як контрольний у подальших

дослідженнях. Для визначення впливу зшивання хітозану на ступінь набрякання та механічну стабільність частину гранул було синтезовано без додаткового оброблення хітозаном, а зразки було названо HA-Alg-ZnO_{NP}s і HA-Alg-ZnO_{MP}s.

Отже, наноструктурований полімер-апатитний гранульований остеопластичний матеріал (HA-Alg/CS, контроль), а також легований мікро- (HA-Alg/CS-ZnO_{MP}s) і наночастинками (HA-Alg/CS-ZnO_{NP}s) оксиду цинку був синтезований для застосування під час лікування пошкодження кісткової тканини. Концентрація ZnO частинок обох типів становила 375 мкг в 1 г готового продукту. Схему технологічного процесу наведено на рисунку 2.30.

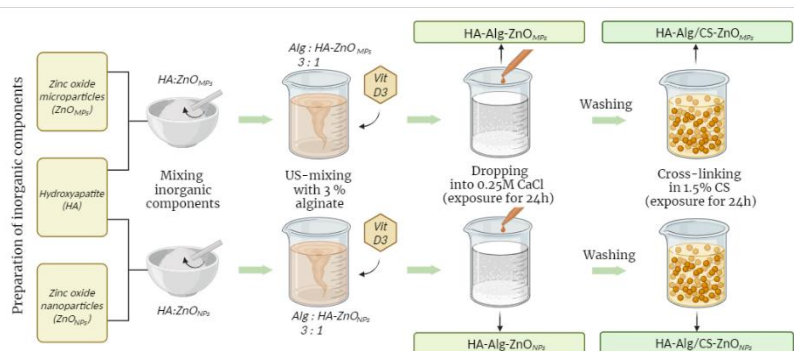


Рисунок 2.30 – Схематичне зображення технологічного процесу отримання композитного матеріалу [199]

Рисунок 2.31 А демонструє загальний вигляд HA-Alg/CS-ZnO_{MP}s/ZnO_{NP}s гранули, яка має переважно правильну сферичну форму, і її поверхня, за даними SEM, характеризується шорсткістю й пористістю. На рисунку 2.31 В-Г подано морфологію двох груп експериментальних зразків, а саме зшитих хітозаном (CS) (рис. 2.31 В, D, F) і не зшитих CS (рис. 2.31 С, Е, G). SEM демонструє більш пористу поверхню гранул після їхнього зшивання хітозаном.

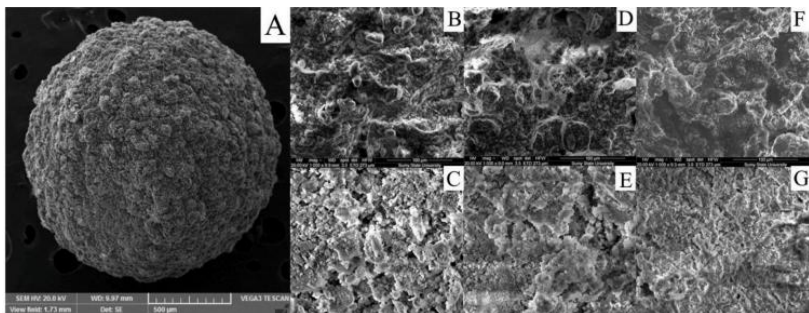


Рисунок 2.31 – SEM-зображення загального вигляду композитів (А), морфології поверхні:
 В – HA-Alg/CS-ZnO_{MPs}; С – HA-Alg-ZnO_{MPs};
 D – HA-Alg/CS-ZnO_{NPs}; E – HA-Alg-ZnO_{NPs};
 F – контроль HA-Alg/CS; G – контроль HA-Alg [199]

Ступінь набрякання (рис. 2.32 А, В) є одним із важливих показників під час створення біоматеріалів. Його визначали кількісно, вимірюючи зміну маси зразка як функцію часу занурення зразка у буферний фосфатно-сольовий розчин (PBS) за умови рН = 7,4. Для визначення впливу хітозану на фізико-механічні характеристики композиту (ступінь набрякання та деградації, механічну стабільність, пористість) порівнювали дві групи зразків: зшиті та не зшиті хітозаном. Відомо, що в PBS карбоксильні COOH групи альгінату, який входить до складу композитів, є іонізованими до COO⁻ і з цієї причини відштовхуються одна від одної та викликають набрякання полімеру. Цей процес підтримується осмотичним тиском, що призводить до розслаблення полімерних ланцюгів. Набрякання зразків припиняється завдяки балансу між силами зшивання та осмотичним тиском. Зазвичай модуль пружності зменшується із збільшенням набряку, тому гелевий матрикс розм'якшується [213]. Дослідження довело, що контрольний зразок HA-Alg уже після 24 годин набрякання втрачає свою форму.

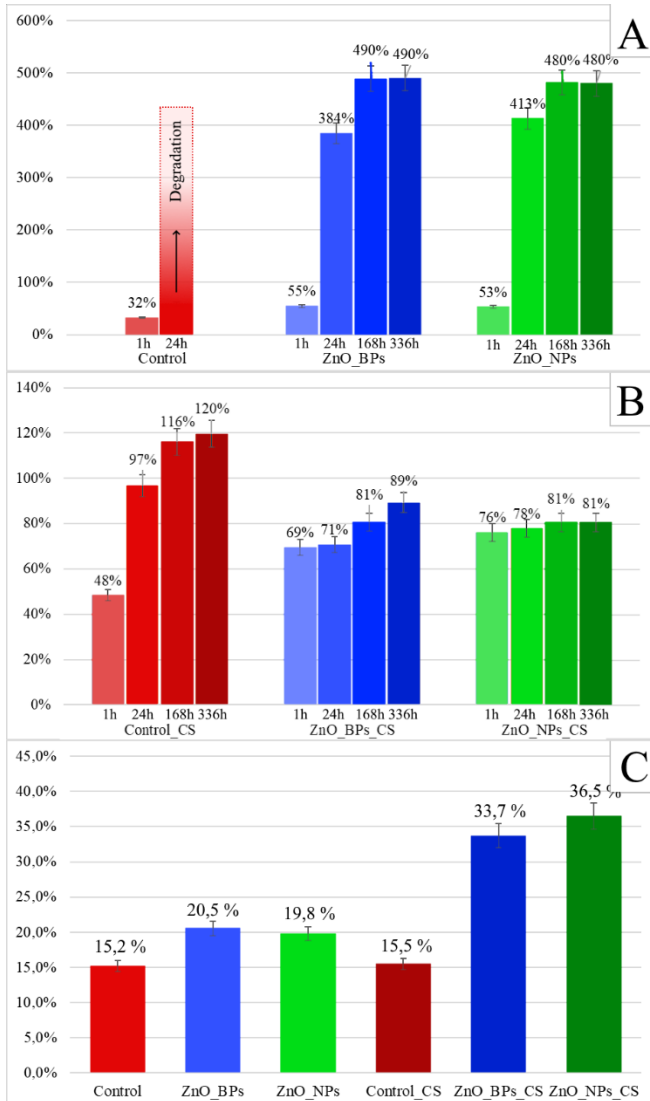


Рисунок 2.32 – Ступінь набрякання в буферному розчині PBS-зразків: А – без вмісту CS; В – зшитих CS; С – пористість [199]

Додатковий процес зшивання за допомогою електростатичної взаємодії між протонованими в розчині оцтової кислоти аміногрупами CS і COO-групами Alg зменшують ступінь набрякання та надають механічної стабільності всім експериментальним зразкам. Цікавим фактом є те, що вміст обох типів ZnO частинок у не зшитих хітозаном зразках забезпечує композитам механічну стабільність, незважаючи на високий (близько 500 %) ступінь набрякання. Контрольний HA-Alg демонстрував початок ерозії матриці вже після 24 годин перебування у PBS. Водночас зразки, зшиті хітозаном, не тільки зберігали механічну стабільність протягом тривалого періоду, але й демонстрували зменшення набрякання в 5 разів.

Визначення пористості зразків (див. рис. 2.32 С) довело протилежну ситуацію, а саме зшиті хітозаном зразки із вмістом ZnO-частинок мають вищий ступінь пористості, ніж такі ж самі, не зшиті хітозаном.

Водночас пористість контрольних (без вмісту ZnO) зразків обох груп (зшитих і не зшитих хітозаном) не відрізняється. Цей факт доводить суттєвий вплив ZnO-частинок обох типів на ступінь пористості. Як було зазначено вище, вихідна колоїдна суміш являє собою високодисперсну систему завдяки обробленню ультразвуком, дія якого пов'язана з виникненням кавітаційних ударних хвиль, які подрібнюють тверді частинки дисперсійної системи. Наявність поверхнево-активної речовини (ПАР) TWEEN-80 сприяло утворенню на межі поділу «частинки – середовище» адсорбційних шарів молекулярного або іонного типу, які, з одного боку, перешкоджають злипанню подрібнених частинок, а з іншого – можуть надавати мікроділянкам твердої поверхні електричного заряду. Відомо, що в умовах полярності поверхня твердих, зокрема Me- та MeO-частинок, в електроліті здатна поляризувати іони, які містяться поблизу, що призводить до адсорбції як позитивних, так і негативних іонів із навколишнього середовища.

Виникає певний стан дисперсної системи, викликаний дією адсорбованих іонів, а саме баланс енергій електростатичного притягання й відштовхування між зарядженими частинками, які згідно з теорією ДЛФО (Дерягіна – Ландау – Фервея – Овербека) мають електростатичний характер. Перевага енергії відштовхування однойменно заряджених іонів, адсорбованих на неорганічних частинках, призводить до утворення позитивного «розклинювального» тиску, який викликає відштовхування поверхонь, призводить до збільшення відстані між макромолекулами. Саме це є причиною збільшення пористості зразків, до складу яких входять частинки ZnO.

Дослідження механічних характеристик остеопластичного матеріалу. У таблиці 2.8 наведено результати досліджень механічних властивостей зразків за стискальним навантаженням.

Таблиця 2.8 – Механічні характеристики остеопластичного матеріалу [199]

Зразок	Густина, g/cm^3	Максимальна відносна деформація, ϵ_{destr}	* Міцність на стиск σ_c , МПа	Модуль Юнга E , МПа
HA-Alg (Control)	1,88	0,61 (at 299 МПа)	299	348
HA-Alg -ZnO _{MPs}	1,93	0,29 (at 85 МПа)	291	419
HA-Alg -ZnO _{NPs}	1,93	0,45 (at 178 МПа)	178	646
HA-Alg/CS (Control)	1,84	0,14 (at 269 МПа)	269	526
HA-Alg/CS-ZnO _{MPs}	1,91	0,49 (at 300 МПа)	300	310
HA-Alg/CS-ZnO _{NPs}	1,89	0,29 (at 251 МПа)	251	380

* За цього навантаження зразок розплющується σ_c .

На рисунку 2.33 наведено діаграми «навантаження – розвантаження» σ_c першої серії зразків, не зшитих хітозаном, HA-Alg, HA-Alg-ZnO_{MPs} і HA-Alg-ZnO_{NPs} протягом трьох циклів одновісного стиснення до ~12 МПа.

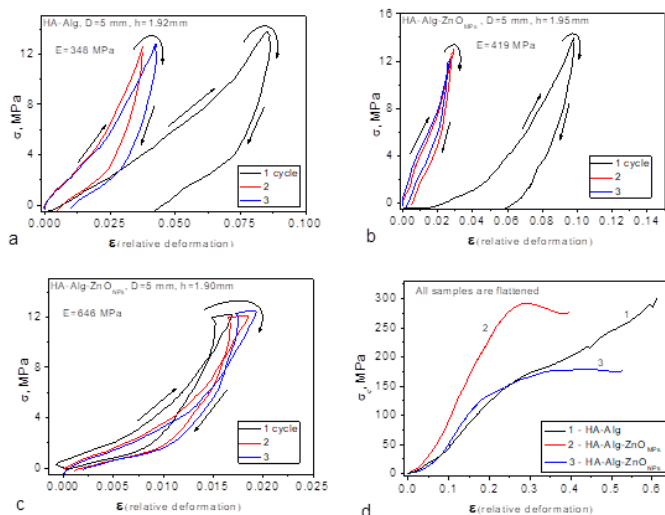


Рисунок 2.33 – Діаграми «навантаження – розвантаження» зразків HA-Alg (a), HA-Alg-ZnO_{MPs} (b) і HA-Alg-ZnO_{NPs} (c), виміряні за одновісного стиску протягом трьох циклів навантаження та міцності на стиск σ_c (d) [199]

Як бачимо з рисунка 2.33, велика пластична деформація ϵ_{plast} 0,042 після 1-го циклу «навантаження – розвантаження» наявна для зразка HA-Alg, тоді як для 2-го та 3-го циклів пластичні деформації були досить низькими. Додавання частинок ZnO_{MPs} (HA-Alg-ZnO_{MPs}) трохи збільшує пластичну деформацію для 1-го циклу «навантаження – розвантаження» ($\epsilon_{plast} = 0,059$) і значно менші пластичні деформації наявні для 2-го і 3-го циклів навантаження. З іншого боку, зразок із додаванням частинок ZnO_{NPs} (HA-Alg-ZnO_{NPs}) виявив низьку пластичну деформацію

($\sim 0,001-0,002$) для всіх 3 циклів «навантаження – розвантаження» і наявні переважно пружні деформації ε_{elast} до 0,02.

Значення модуля Юнга (E) є мінімальним для зразка HA-Alg (348 МПа) і підвищується після додавання ZnO, особливо наночастинок ZnO (646 МПа, зразок HA-Alg-ZnO_{NPs}). Отже, додавання частинок ZnO підвищує пружність зразків на основі HA-Alg і послаблює їхні пластичні (необоротні) деформації за умови навантаження в діапазоні до 12 МПа, що забезпечує підвищену формостійкість композитів із частинками ZnO.

Дослідження міцності на стиск зразків HA-Alg, HA-Alg-ZnO_{MPs} і HA-Alg-ZnO_{NPs} довело, що всі зразки були сплюснені за стискальних навантажень 180–299 МПа (див. рис. 2.33 d), тобто фрагментації зразків не було, і після вивантаження ці зразки не були відновлені. Це означає, що в разі стиснення до навантаження $\sim 180-299$ МПа виникають відносно великі пластичні деформації ($\varepsilon_{dest} \sim 0,29-0,61$), які можуть призвести до пластичного руйнування. Максимальна міцність на стиск (299 МПа) і пластична деформація ($\varepsilon_{destr} \sim 0,61$) наявні для зразка HA-Alg. Зразок HA-Alg-ZnO_{MPs} демонструє дещо знижену міцність на стиск, тоді як додавання наночастинок ZnO призводить до значного зниження міцності на стиск, $\sigma_c \sim 178$ МПа.

Аналогічне дослідження механічних властивостей було проведено для другої групи зразків, а саме HA-Alg/CS, HA/Alg/CS-ZnO_{MPs} і HA-Alg/CS-ZnO_{NPs}, зшитих маркомолекулами хітозану (рис. 2.34). Контрольний зразок HA-Alg/CS демонструє нижчу пластичну деформацію ($\sim 0,004-0,0001$) для всіх 3 циклів «навантаження – розвантаження» і значно вищу величину модуля Юнга порівняно зі зразком, не зшитим хітозаном (HA-Alg). Це означає, що зшивання CS призводить до вищої еластичності та формостійкості зразків HA-Alg/CS. З іншого боку, наявність частинок ZnO у зразках HA-Alg/CS-ZnO_{MPs} і HA-Alg/CS-ZnO_{NPs}, зшитих хіто-

заном, призводить до великих пластичних деформацій (0,042 і 0,049) після 1-го циклу «навантаження – розвантаження» відповідно. Для 2-го та 3-го циклів пластичні деформації для цих зразків були значно меншими (0,006 та 0,01 відповідно). HA-Alg/CS-ZnO_{MPs} і HA-Alg/CS-ZnO_{NPs} демонструють зниження значень модуля Юнга (E) порівняно з контрольним зразком HA-Alg/CS (див. табл. 2.8). Наприклад, значення E для HA-Alg/CS-ZnO_{MPs} і HA-Alg/CS-ZnO_{NPs} дорівнюють 310 і 380 МПа відповідно, тоді як для HA-Alg/CS значення $E = 526$ МПа.

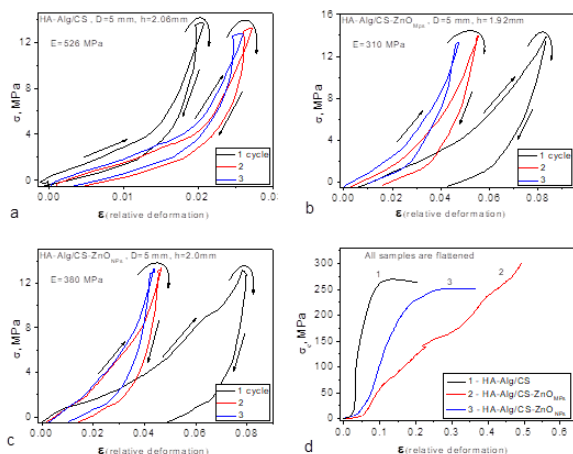


Рисунок 2.34 – Діаграми «навантаження – розвантаження» зразків HA-Alg/CS(a), HA-Alg/CS-ZnO_{MPs} (b) і HA-Alg/CS-ZnO_{NPs} (c), виміряних за одновісного стиску протягом трьох циклів навантаження, і міцність на стиск σ_c (d) [199]

Достатню різницю механічних характеристик контрольних зразків обох груп (HA-Alg і HA-Alg/CS) спостерігали також у значенні максимальної відносної деформації ϵ_{destr} досліджуваної міцності на стиск: незважаючи на

приблизно однакові значення міцності на стиск (299 і 269 МПа) для цих зразків, максимальна відносна деформація ε_{destr} для HA-Alg/CS дорівнює 0,14, що значно менше порівняно з HA-Alg ($\varepsilon_{destr} = 0,61$). На рисунку 2.35 наведено порівняльні діаграми механічних параметрів усіх досліджуваних зразків.

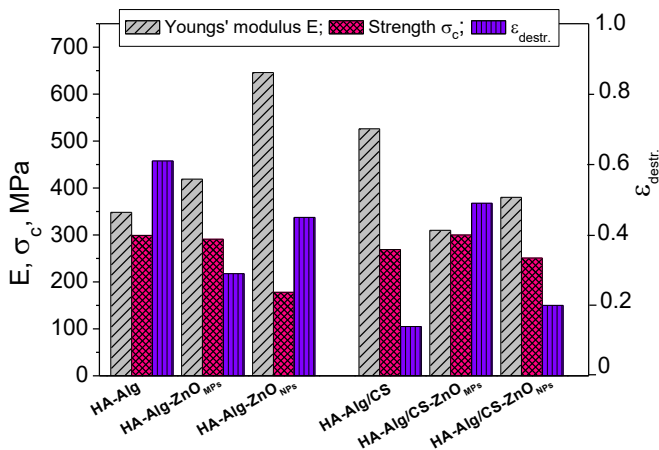


Рисунок 2.35 – Модуль Юнга E , міцність на стиск σ_c і максимальна відносна деформація ε_{destr} для двох груп досліджуваних зразків [199]

Як бачимо з таблиці 2.8, значення ε_{destr} для зразків HA-Alg і HA-Alg/CS корелюють зі значеннями модуля Юнга, а саме – чим вищий модуль Юнга, тим менша деформація зразка. Це твердження про співвідношення між модулем Юнга та значеннями ε_{destr} є правильним для всіх зразків другої серії (HA-Alg/CS, HA-Alg/CS-ZnO_{MPs} та HA-Alg/CS-ZnO_{NPs}). Однак варто зазначити, що зв'язок між модулем Юнга та максимальною відносною деформацією ε_{destr} є більш складним (порівняйте дані для зразків HA-Alg, HA-Alg-ZnO_{MPs} і HA-Alg-ZnO_{NPs}), оскільки E відображає лише пружну деформацію ε_{elast} ($E = \sigma_{load} / \varepsilon_{elast}$), тоді як ε_{destr} містить також

пластичну деформацію ε_{plast} разом із пружною деформацією, тобто $\varepsilon_{destr} = \varepsilon_{elast} + \varepsilon_{plast}$.

На основі вищенаведених фактів можна зробити такі висновки: наявність частинок $ZnO_{NPs/MPs}$ у композиції з природними полімерами (Alg, CS) є чинником впливу на ступінь пористості. Додавання мікро- та наночастинок оксиду цинку збільшує пористість із 15 % до 20 %, а зшивання молекулами CS створює ефект синергічної дії з частинками ZnO, що збільшує пористість до 33–36 %. Частинки ZnO (як мікророзмірні, так і нанорозмірні) підвищують пружність (модуль Юнга) композитів на основі HA-Alg і послаблюють їхні пластичні (необоротні) деформації під час навантаження до 12 МПа. Відбувається достатнє зниження міцності на стиск σ_c порівняно з композитом HA-Alg, який не містить ZnO. Ефект зшивання CS призводить до вищої еластичності зразків HA-Alg/CS порівняно з HA-Alg. Проте зразки HA-Alg/CS- $ZnO_{NPs/MPs}$ характеризуються великими пластичними деформаціями і зниженням модуля Юнга (E) порівняно з контрольним зразком HA-Alg/CS, який не містить частинок ZnO, та незначним впливом на міцність на стиск σ_c .

Дослідження клітинної біосумісності та цитотоксичності in vitro на остеобластах. Безпека синтезованих наноматеріалів із погляду їхньої можливої цитотоксичності є серйозною проблемою нанонауки. У медичному аспекті, крім знищення ракових чи бактеріальних клітин, матеріали із вмістом наночастинок металів і їхніх оксидів у разі використання для лікування можуть також вбивати здорові клітини. Наномасштабний розмір частинок ZnO сприяє їхньому проникненню й затриманню в клітинах, що дозволяє їм проявляти свою внутрішньоклітинну активність [210]. У цьому дослідженні зроблено порівняння цитотоксичної дії композитів із вмістом нано- та мікрочастинок оксиду цинку, які є компонентами гібридних апатит-

біополімерних скафолдів для потенційного застосування як остеопластичного матеріалу щодо культури остеобластів – кісткоформувальних клітин.

У дослідженні цитотоксичності первинну культуру остеобластів через 3 пасажі після виділення подано моношаром поліморфних клітин фібробластоподібної морфології (рис. 2.36 А).

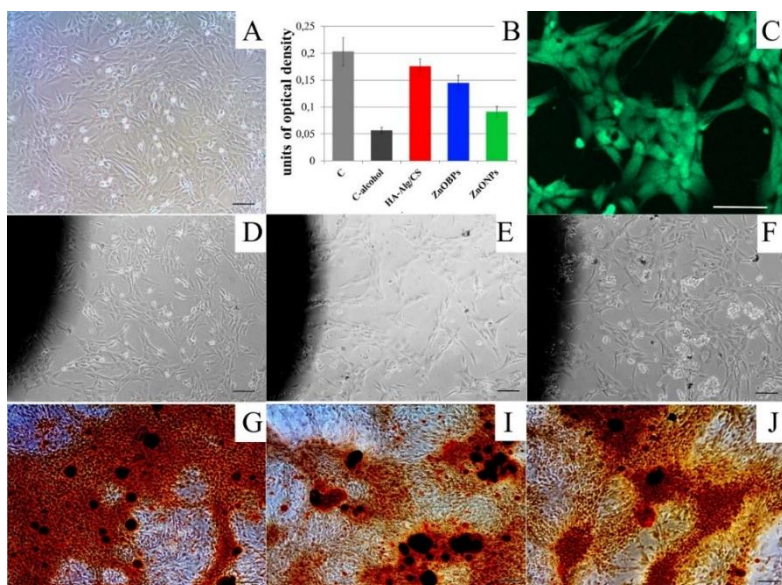


Рисунок 2.36 – Результати дослідження біосумісності експериментальних зразків остеопластичних матеріалів

Остеобласти після виділення – А, результати МТТ тесту – В, остеобласти після адгезії до пластику – С (конфокальна мікроскопія, забарвлення флуорисциндіацитатом). Остеобласти з Control sample: 1 доба – D, 14 доба – G; остеобласти з ZnO_{MPs-CS} : 1 доба – E, 14 доба – I; остеобласти ZnO_{NPs-CS} : 1 доба – F, 14 доба – J. А, D, E, F – фазовий контраст без забарвлення. G, I, J – світлова мікроскопія,

забарвлення червоним алізарином. Масштабні лінійки 100 мкм [199].

Реакція МТТ (3-(4,5-диметилтіазол-2-ил)-2,5-дифенілтетразоліум бромід), проведена за методикою [214], виявила, що життєздатність клітин, які контактували з контрольним зразком HA-Alg/CS, є нижчою, але, імовірно, не відрізняється від клітин негативного контролю (клітини, які не контактують з експериментальними зразками). Кількість живих клітин після контакту зі зразками HA-Alg/CS-ZnO_{MPs} і HA-Alg/CS-ZnO_{NPs}, імовірно, нижча порівняно з негативним контролем і HA-Alg/CS, однак усі показники є значно вищими за позитивний контроль (клітини, які загинали під дією етанолу без контакту з експериментальними зразками). Такі результати свідчать про помірну токсичність зразків остеопластичного матеріалу, особливо HA-Alg/CS-ZnO_{NPs} (див. рис. 2.36 В).

За даними конфокальної мікроскопії, клітини на поверхні культуральної пластини добре забарвлювалися флюорисциндіацитатом, що свідчить про їхню життєздатність (див. рис. 2.36 С).

За контакту з контрольним HA-Alg/CS (рис. 2.36 D) і HA-Alg/CS-ZnO_{MPs} (рис. 2.36 E) зразками клітини добре адгезували, набували типової форми, швидко формували моношар на поверхні культурального флакона. Під час контакту з HA-Alg/CS-ZnO_{NPs} клітини демонстрували знижені адгезивні властивості, значна їхня кількість була не прикріпленою або не розпластаною (рис. 2.36 F). Помірна токсичність зразків щодо клітин у першу добу культивування виражалася у зниженні як адгезивних властивостей, так і показників реакції МТТ, яка ґрунтується на здатності мітохондрій перетворювати МТТ у формазан. Через 2 доби в пробах із контрольними зразками спостерігали моношар клітин із конфлюентністю, близькою до 100 %, у пробах із дослідними зразками конфлюентність була близько 80 %. Забарвлення культури остеобластів червоним алізарином

під час 14-добового культивування в остеогенному середовищі за наявності всіх експериментальних зразків підтвердило збереженість специфічної функції остеобластів – мінералізації, тобто відкладення солей кальцію (рис. 2.36 G–J). Водночас токсичність експериментальних зразків значно зменшувалася протягом культивування, що може бути пов'язано зі змінами у складі зразків або адаптацією клітин.

Під час проведення проточної цитометрії (рис. 2.37) виявлено, що більшість клітин у всіх зразках була слабо забарвлена обома барвниками, тобто не мала апоптотичних і некротичних змін (квадрат Q4). Клітин, які мали переважно апоптотичні зміни (Q3), некротичні (Q1) або апоптотичні та некротичні (Q2), було небагато та їхня кількість не відрізнялася в різних групах.

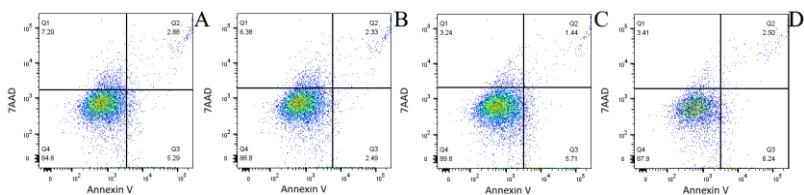


Рисунок 2.37 – Репрезентативні дотплоти дослідження апоптозу та некрозу остеобластів методом проточної цитометрії: остеобласти після контакту:

A – з контрольним зразком HA-Alg/CS;

B – HA-Alg/CS-ZnO_{BP}s; C – HA-Alg/CS-ZnO_{NP}s;

D – після адгезії до пластику

Отже, визначено, що культивування клітин за наявності експериментальних апатит-біополімерних остеопластичних матеріалів не призводить до збільшення некротичних та апоптотично змінених клітин. Варто зауважити, що в процесі *in vitro* досліджень концентрація експериментального матеріалу є досить високою. В умовах організму існує постійний кровотік, який забезпечує вивід токсинів і продуктів метаболізму, працюють системи детоксикації,

що значно зменшує ступінь токсичності. Отже, досліджувані зразки щодо остеобластів є біосумісними, малотоксичними, не перешкоджають процесам мінералізації.

У низці робіт було порівняно токсичність порошкового ZnO, наночастинок ZnO_{NPs} і Zn²⁺-іонів щодо бактерії *E.coli*. Частинки ZnO та іони Zn²⁺, імовірно, є основними причинами токсичності ZnO_{NPs} за умови їхнього потрапляння у водне середовище [211]. Продемонстровано, що механізми їхньої токсичності залежать від співвідношення ZnO : Zn²⁺ у певний момент часу. Це співвідношення є невизначеним, оскільки будь-який чинник, який може його змінити, впливатиме на динаміку та механізми токсичності. ZnO_{NPs} виявили підвищену токсичність після їхньої трансформації через реліз Zn²⁺. Також було доведено, що гостра токсичність ZnO_{NPs} була порівняно однаковою з токсичністю об'ємних частинок ZnO_{MPs}, а також Zn²⁺ [215].

Дослідження біосумісності in vivo (рис. 2.38) було проведено за допомогою імплантації експериментального зразку HA-Alg/CS-ZnO_{BP}s із вмістом ергокальциферолу до стегнової кістки групи лабораторних щурів.

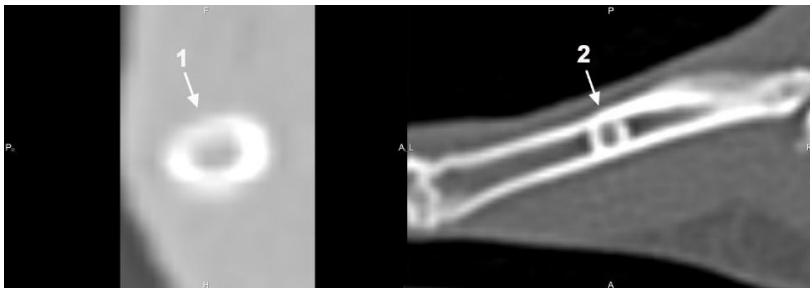


Рисунок 2.38 – Комп'ютерні томограми стегнових кісток щурів на 90-ту добу після нанесення дефекту та імплантації кістково-пластичного матеріалу. Ділянка травми у тварин контрольної групи (1) та експериментальної з імплантованим біоматеріалом (2) [199]

За допомогою комп'ютерної томографії було встановлено, що на 90-ту добу експерименту межа між імплантатом і материнською кісткою на рівні кортикального шару не простежується, ділянка дефекту відсутня.

З боку кістково-мозкового каналу імплантат добре помітний, з ознаками резорбції (див. рис. 2.38). Оптична щільність місця імплантації біоматеріалу ($1636,1 \pm 65$ HU) у 1,8 раза перевищує оптичну щільність регенерату у тварин контрольної групи ($871,9 \pm 62$ HU). Зі свого боку, оптична щільність прилеглої до ділянки травми материнської кістки у тварин контрольної групи становила $1457,5 \pm 116$ HU, а в експериментальних – $1784,8 \pm 70$ HU. За допомогою підрахування відносної оптичної щільності регенерату було встановлено, що вона для тварин контрольної групи дорівнювала 59,8 %, а для ділянки імплантації біоматеріалу – 91,6 %. Отже, наведені показники свідчать про оптимізувальний вплив досліджуваного біоматеріалу на репаративну регенерацію довгої кістки скелета.

Розділ 3

КОМПОЗИТНІ МАТЕРІАЛИ ДЛЯ ОСТЕОПЛАСТИКИ НА ОСНОВІ ХІТОЗАНОВОЇ МАТРИЦІ

3.1. Апатит-хітозановий композит, легований наночастинками фулерену C₆₀

Розділ присвячено створенню та дослідженню біоактивного композитного матеріалу на основі НА, CS і C₆₀ у формі гранул розміром 2 мм. Матеріал цього підрозділу побудовано на узагальненні отриманих наукових результатів, які детально описано в опублікованій статті [216].

Утворення на першому етапі синтезу гідрогелю НА-CS, який лежить в основі композитних матеріалів, відбувалося під впливом мікрохвильового опромінювання (MW), що значно (до 3 хвилин) скорочує час синтезу порівняно із класичним методом, який містить конверсійне передання тепла та зістарювання розчину протягом не менше ніж 24 год. У разі MW-випромінювання електричне поле поляризує одночасно всі наявні молекули в розчині, що сприяє швидкому перетворенню електромагнітної енергії в тепло та призводить до надшвидкого нагрівання матеріалу [173; 196]. Отримані гранули являють собою матрицю, утворену за допомогою зшивання макромолекул CS триполіфосфатом натрію (ТПФ), яка містить іммобілізовані неорганічні частинки НА та C₆₀. Відомо, що ТПФ із низькою молекулярною вагою належить до групи неорганічних поліфосфатів, відомих як терапевтичний засіб, що стимулює чинник росту фібробластів і підсилює остеогенну диференціацію стовбурових клітин [217].

На першому етапі синтезу готували гідрогель НА-CS. Для цього до 100 мл 0,1М CaCl₂ додавали 10 М NaOH для досягнення значення рН = 12. До вищевказаного розчину

додавали 100 мл 0,06 М H_3PO_4 , що містить 0,4 г CS (М. М. 150 кДа). Отриману суміш піддавали мікрохвильовому опроміненню за потужності 600 Вт протягом 3 хв. Після охолодження осад відокремлювали центрифугуванням і промивали деіонізованою водою. Вміст вологи в отриманій речовині становив 85 %. Зразок був названий гідрогелем НА-CS і використовувався для подальшої підготовки композитів, що містять C_{60} . Для приготування гранул НА-CS і НА-CS- C_{60} спочатку розчин C_{60} в ультрарозчинній воді (2,6 мг/мл) додавали до 3 % розчину CS в 1 % оцтовій кислоті. Суміш обробляли ультразвуком протягом 20 хвилин. Було приготовано дві однорідні колоїдні суспензії CS- C_{60} , у яких концентрація C_{60} становила 0,15 мг/мл та 0,3 мг/мл. Кожну з цих двох суспензій (CS-0,15 C_{60} та CS-0,3 C_{60}) додавали до гідрогелю НА-CS у ваговому співвідношенні 1 : 1, а суміші обробляли ультразвуком протягом 5 хв із подальшим диспергуванням в 1 % розчин ТПФ для формування гранул протягом 24 годин. Утворені гранули відокремлювали від рідкої фракції фільтруванням, ретельно промивали деіонізованою водою й сушили за кімнатної температури. Зразки було названо НА-CS-0,15 C_{60} і НА-CS-0,3 C_{60} . Для порівняння фізичних і хімічних властивостей також було отримано гранули за вищеописаною технологією, але без вмісту C_{60} . Цей зразок дістав назву НА-CS, його використовували як контрольний.

Проведені рентгенологічні (XRD) дослідження для зразків НА-CS, НА-CS-0,15 C_{60} і НА-CS-0,3 C_{60} виявляють наявність однієї фази НА (JCPDS 9-432) як після сушіння за 37 °С, так і після спікання за 700 °С. Незначне відхилення параметрів кристалічної решітки НА в отриманих композитах ($a = 0,941$ нм; $c = 0,688$ нм) порівняно зі стехіометричним НА ($a = 0,942$ нм; $c = 0,688$ нм) є результатом адсорбції під час синтезу іонів карбонату, джерелом яких є атмосферний вуглекислий газ. Це призвело до утворення кальцій-дефіцитного карбонату заміщеного НА, у якому

співвідношення Ca/P становить 1,63 за даними RFA. Цей факт підтверджено подальшими дослідженнями FTIR (рис. 3.1), які демонструють наявність смуг поглинання карбонатів у 874 і 1420 cm^{-1} [218] і свідчать про утворення карбонатного типу апатиту В-типу внаслідок часткової заміни групи PO_4^{3-} на карбонатні іони [219].

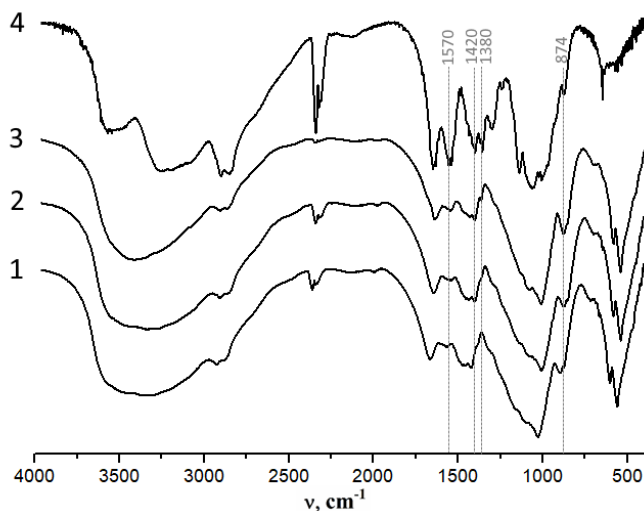


Рисунок 3.1 – FTIR-спектри підготовлених зразків: HA-CS (1); HA-CS-0,15C₆₀ (2); HA-CS-0,3C₆₀ (3) і чистий CS (4) [216]

ТЕМ-зображення та схеми дифракції електронів (ЕД) композиту HA-CS (рис. 3.2) указують на утворення голкоподібних кристалів HA за умови синтезу за наявності CS і під впливом мікрохвильового випромінювання. Агломерати кристалітів мають середній розмір 80 нм. Очевидно, що поверхнева енергія нанокристалітів, синтезованих під впливом MW, є найвищою. Цей чинник сприяє збільшенню швидкості їхньої агломерації. ЕД підтвердило, що неорганічний компонент досліджуваного матеріалу подано фазою HA.

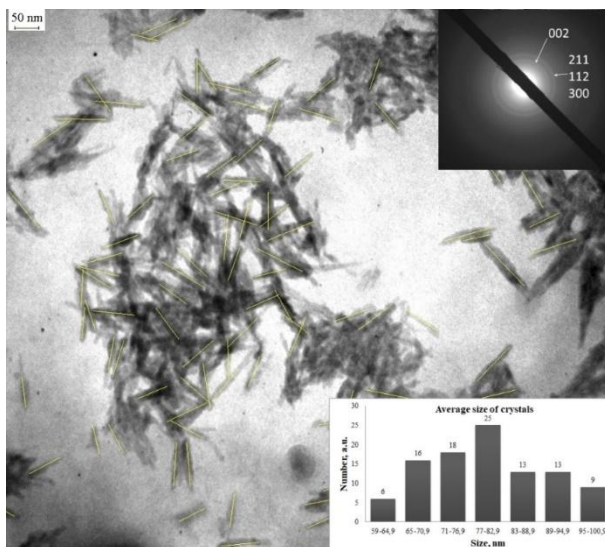


Рисунок 3.2 – Спектри зображень TEM та ЕД експериментальних композитів [216]

На рисунку 3.3 подано SEM-зображення поверхні НА-CS-0,15C₆₀. Варто відзначити, що зразки із вмістом C₆₀ характеризуються досить щільною й водночас багаторівневою поверхнею з кулькоподібними кристалічними агломератами НА, водночас як контрольний зразок НА-CS має меншу щільність і більшу пористість порівняно з іншими.

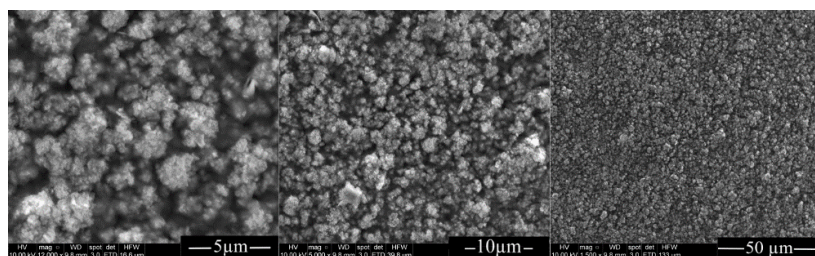


Рисунок 3.3 – Морфологія зразка НА-CS-0,15C₆₀ за різного збільшення [216]

Ступінь набрякання гранул HA-CS, HA-CS-0,15C₆₀ і HA-CS-0,3C₆₀ досліджували у фосфатно-буферному розчині PBS (рН = 7,4). Водночас зразки перебували протягом 14 днів у шейкері за постійного перемішування (80 об./хв) та постійної температури 37 °С. Хімічний склад PBS є таким: натрій гідрофосфат Na₂HPO₄ (10 ммоль/л), хлорид натрію NaCl (137 ммоль/л), хлорид калію KCl (2,7 ммоль/л) і калій дигідрофосфат KH₂PO₄ (1,8 ммоль/л) [220]. Варто відзначити, що протягом експерименту всі зразки зберігали форму гранул, а ступінь їхнього набрякання становив від 39 % для контрольного HA-CS до 48 % для HA-CS-0,3C₆₀ (рис. 3.4).

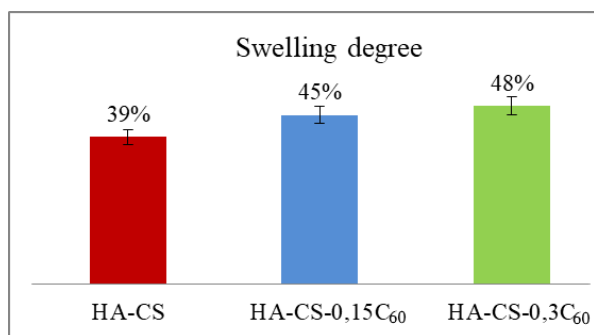


Рисунок 3.4 – Ступінь набрякання композитів HA-CS, HA-CS-0,15C₆₀ і HA-CS-0,3C₆₀ після 14-денного перебування в розчині PBS ($p \leq 0,05$) [216]

Відносно низький ступінь набрякання зразків, що містять CS, можна пояснити тим, що вже на першій стадії утворення гідрогелю HA-CS іони Ca²⁺ взаємодіють із гідроксильними групами молекул CS, створюючи щільно пов'язаний комплекс між CS і HA [221], залишаючи меншу кількість вільних гідрофільних груп для взаємодії або адсорбції молекул води. Крім того, на другій стадії синтезу під час формування гранул відбувається взаємодія протонованих в оцтовокислому середовищі аміногруп макромолекул CS і негативно заряджених іонів солі ТПФ (Na₅P₃O₁₀),

які за кислотних значень ($\text{pH} = 3$) у розчині наявні у вигляді аніонів фосфонію $\text{P}_3\text{O}_{10}^{-5}$ [16], що призводить до механічної стабілізації матриці. Водночас із збільшенням вмісту C_{60} у композитній структурі збільшується кількість адсорбованої рідини. Примітно, що маючи більш високий рівень набрякання, зразки із вмістом C_{60} демонструють підвищену здатність до механічної стабільності, основою якої можуть бути сили міжмолекулярної взаємодії.

Подальші дослідження методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), протягом яких зразки перебували у фізіологічному розчині, підтвердили, що ступінь деградації композитів, виражений у кількості продуктів розпаду, був значно вищим для контрольного зразка (без вмісту C_{60}), ніж для зразків, що містили C_{60} (рис. 3.5 б).

Дослідження ВЕРХ. Дослідження гранул НА-СS- C_{60} , насичених анестезином, як систем для тривалого вивільнення ліків, проведено на рисунку 3.5 а. Як модельний лікарський засіб використовували спиртовий розчин анестезину з концентрацією 11,76 мг/мл. Анастезин ($\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$) – знеболювальний лікарський засіб, гідрофобна молекула (М. м. 165,189 г/моль), погано розчинна у воді, що визначає її мінімальне поглинання. Його використовують як головний компонент у численних фармацевтичних препаратах для хірургічної або процедурної місцевої анестезії. Експериментальні зразки насичували розчином анестезину протягом 24 годин із подальшим сушінням за 37 °С.

На рисунку 3.5 можна виділити дві основні стадії вивільнення лікарського засобу: а) протягом першої доби та б) після першої доби до кінця вивільнення. Перша стадія характеризується відносно високою швидкістю вивільнення поверхнево-адсорбованого анестезину.

У подальшому вивільнення ліків з усіх експериментальних зразків відбувається майже рівномірно протягом усього періоду дослідження. Кінетика вивільнення фулереновмісних зразків подібна до кінетики вивільнення з конт-

рольних зразків. Водночас зразки із вмістом C_{60} відзначено вищою механічною стійкістю. Вивільнення анестезину із зразків, що містять C_{60} , контролюється виключно дифузійними силами, тоді як із контрольного зразка – визначено як дифузією препарату, так і деградацією гранул. Збільшення вмісту C_{60} із 0,15 мг/мл до 0,3 мг/мл пролонгує вивільнення анаестезину на 2 дні. Можна припустити, що уповільнення вивільнення ліків із зразків, що містять C_{60} , відбувається внаслідок гідрофобних взаємодій C_{60} та анестезину. Отже, зміна вмісту C_{60} дозволяє регулювати час виходу препарату.

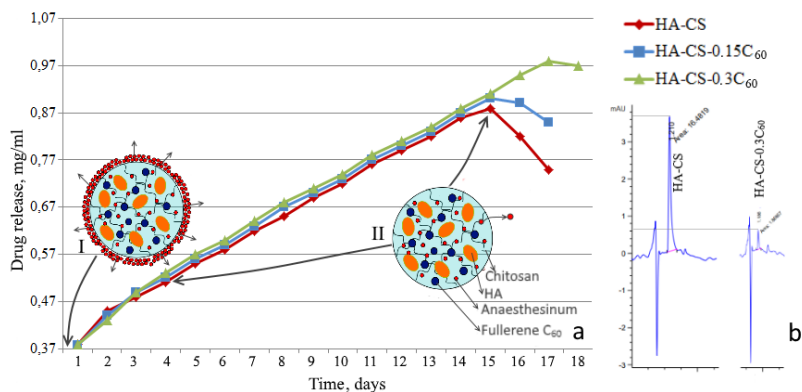


Рисунок 3.5 – Кінетика вивільнення анестезину у PBS (мг/мл) із дослідних зразків протягом 18 днів (а); порівняння кількості продуктів деструкції з HA-CS і HA-CS-0,3C₆₀ протягом 18 днів (b) [216]

Антибактеріальну активність експериментальних зразків досліджували проти грамнегативної *E. coli* ATCC 25922 та грампозитивної бактерії *S. aureus* ATCC 25923 методом визначення зони інгібування. Варто зазначити, що досліджувані зразки характеризуються низьким ступенем розчинності, що спричиняє затримання дифузії наночастинок C_{60} зі складу композитів. Тому антимікробний тест проводили з використанням гідрогелів, ідентичних за складом до

досліджуваних гранул. Зона затримання росту (у мм) відображає антимікробну сприйнятливість зразків – чим більша зона гальмування, тим більша антимікробна активність.

Експерименти довели, що зразки НА-CS, НА-CS-0,15C₆₀ і НА-CS-0,3C₆₀ не виявляли антимікробної активності. Додаткові дослідження на зразках із різним вмістом C₆₀, а саме 0,08, 0,04, 0,004, 0,0004 довели, що зниження концентрації до 0,004 мг/мл забезпечує антимікробний ефект композиту НА-CS-0,004C₆₀ проти *S.aureus* ATCC 25923, який підтверджено утворенням зони пригнічення росту (ZOI) 16 ± 1 мм (рис. 3.6). Водночас практично відсутня антибактеріальна активність (ZOI приблизно 10 ± 2 мм) зазначеної концентрації C₆₀ проти *E.coli* ATCC 25922.

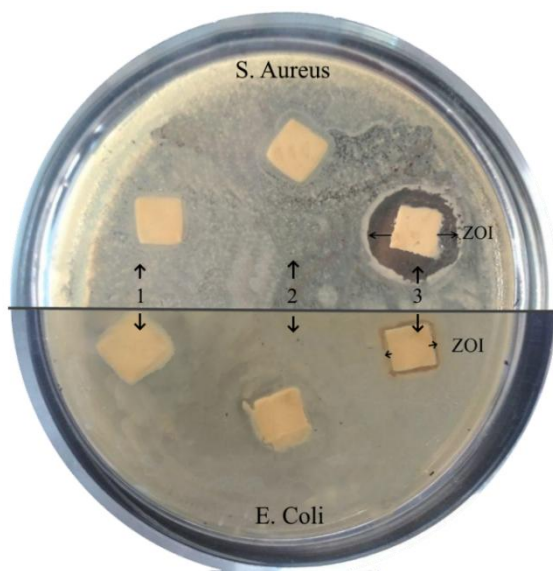


Рисунок 3.6 – Протимікробна активність зразків НА-CS (1), НА-CS-0,0004C₆₀ (2) і НА-CS-0,004C₆₀ (3) проти *S. aureus* ATCC 25923 (зверху) та *E. coli* ATCC 25922 (знизу) [216]

Примітка: $p \leq 0,05$.

Механізм антимікробної дії C_{60} не зовсім зрозумілий. Відомо, що молекули C_{60} здатні локалізуватися в багатих на ліпіди ділянках, таких як клітинні мембрани, і вони можуть брати участь в окислювально-відновлювальних реакціях [222]. Вважають, що реактивні види кисню (ROS) беруть участь у руйнуванні бактеріальної мембрани клітин і перекисному окисненні ліпідів [223]. Також виявлено, що чим менший ступінь агрегації C_{60} , тим вище антибактеріальна активність. Це явище можна пояснити тим, що в суспензії менші агрегати C_{60} мають більшу загальну площу поверхні, що забезпечує більш високу антибактеріальну активність [224]. Оскільки CS є складовим компонентом композитного матеріалу, ми припускаємо, що антимікробний ефект може бути результатом синергічного ефекту CS і C_{60} . Механізм дії CS містить позитивно заряджені частинки CS, які взаємодіють із негативно зарядженими клітинними мембранами, викликаючи збільшення мембранної проникності і, зрештою, розрив і витік внутрішньоклітинних компонентів [225]. В іншому запропонованому механізмі CS утворює хелатні комплекси з мікроелементами, викликаючи пригнічення активності ферментів [226].

Дослідження життєздатності клітин за наявності експериментальних клітин. Аналіз відновлення резазурину виявив достатню проліферацію клітин остеобластів на 3-й день, порівнюючи з позитивним контролем ПКТ (пластична культура тканини) (рис. 3.7 D). Не було суттєвої різниці між зразками HA-CS і HA-CS-0,15 C_{60} , проте HA-CS-0,3 C_{60} (вміст C_{60} становить 0,3 мг/мл) значно підвищує життєздатність клітин ($p = 0,034$) порівняно з іншими експериментальними групами. Клітини остеобластів мають нормальну структуру під час мікроскопічного дослідження, але лунка із зразком HA-CS-0,3 C_{60} виявила краще злиття клітин (рис. 3.7 C). У лунках із зразками HA-CS і HA-CS-0,15 C_{60} наявні де-

які продукти деструкції (рис. 3.7 А, В), що, імовірно, може впливати на життєздатність клітин.

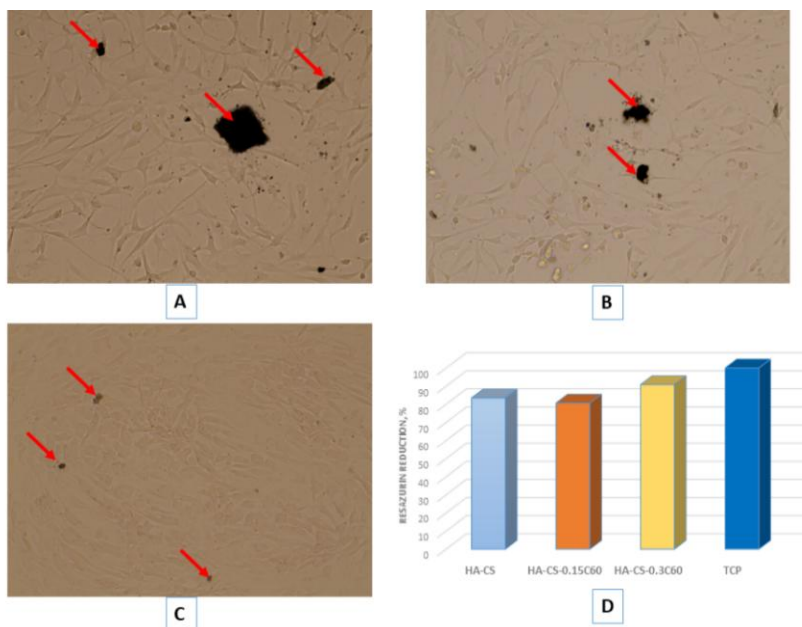


Рисунок 3.7 – Оптичне зображення первинних клітин остеобластів людини на 3-й день після культивування з експериментальними зразками HA-CS (А), HA-CS-0,15C₆₀ (В) та HA-CS-0,3C₆₀ (С) та виживання клітин, визначене із застосуванням резазурину (D). Червоні стрілки вказують на продукти деструкції [216]

Тест на життєздатність клітин указує на відсутність токсичної дії композитів, які містять 0,3 та 0,15 мг/мл C₆₀, що добре узгоджується з нашими останніми результатами щодо чистого C₆₀: за концентрації до 0,144 мг/мл він не виявляє токсичності щодо клітин ембріональної нирки людини (НЕК293) зі значенням IC₅₀ 0,383 мг/мл.

Отже, синтез із застосуванням MW опромінення (600 Вт) скорочує час утворення гідрогелю HA-CS із 24 годин до 3 хвилин, не впливає на структуру макромолекул CS, водночас призводить до агломерації кристалітів HA. Дані XRD і FTIR підтвердили утворення кальцій-дефіцитного карбонат-заміщеного HA (Ca/P = 1,63).

Збільшення вмісту C₆₀ дозволяє підвищити механічну стійкість гранул. Дослідження ВЕРХ доводить, що CS і C₆₀ забезпечують пролонговане вивільнення анестезину до 18 днів завдяки міжмолекулярним гідрофобним взаємодіям. Утворення зони пригнічення росту мікроорганізмів (ZOI) виявляє антимікробну дію композитів, що містять 0,004 мг/мл C₆₀ щодо *S. aureus* ATCC 25923 та *E. coli* ATCC 25922 (ZOI 16 ± 1 мм та 10 ± 2 відповідно). Тест на життєздатність клітин указує на відсутність токсичності композитів, які містять 0,3 мг/мл і 0,15 мг/мл фулерену C₆₀.

3.2. Остеопластичний композит на основі хітозанової матриці, мінералізованої поліфазними ортофосфатами кальцію, з підвищеною біоактивністю

Гібридний композит (HC) на основі хітозанової матриці, мінералізованої поліфазним кальцій фосфатним (CaP) компонентом, був отриманий гідротермальним синтезом під дією мікрохвильового опромінення (MW) за температури реакційного розчину 60 °С і близьких до фізіологічних значень рН [227]. Зміна співвідношення Ca/CS і дія MW під час синтезу впливають на початкову нуклеацію та кількісний вміст окремих CaPs у HC. XRD демонструє наявність DCPD, OCP, cdHA, CPP після спікання за 750 °С, які мають різний ступінь резорбції. MW-індукований нагрів реакційної суміші порівняно з класичним конвекційним нагріванням помітно впливає на властивості гібридного ком-

позиту: модуль Юнга збільшується з 517 МПа під дією конвекції до 780 МПа (під дією MW підвищується механічна стабільність, зменшується ступінь набрякання. Формування НС, за даними фотолюмінісцентного аналізу, супроводжується фрагментацією макромолекул CS, викликаною розривом глікозидних зв'язків у CS. Підвищення Ca/CS сприяє більш ефективній оборотній багаточаровій адсорбції амінокислоти триптофану, яка контролюється СаР-компонентом і відповідає ізотермі Фрейндліха. Дослідження *in vivo* демонструють високу біосумісність НС із кістковою тканиною через наявність у композиті поліфазного СаР, який сприяє формуванню та проростанню новоутвореної кістки в навколишні тканини вже через 30 діб після імплантації. Матеріал цього розділу побудовано на узагальненні отриманих наукових результатів, які детально описано в опублікованій статті [61].

Відомо, що серед усіх ортафосфатів кальцію (ОФК) дефіцитний за кальцієм гідроксиапатит (кдНА), так званий біоапатит, є основним мінеральним компонентом твердих кісткових тканин, який у поєднанні з колагеновими волокнами утворює міцну композитну наноструктуру, здатну витримувати механічні навантаження. Одним із важливих чинників успішної імплантації біоматеріалу поряд з остеопровідністю та пористістю є співвідношення швидкості резорбції біоматеріалу до швидкості утворення нової кісткової тканини. ОФК, пов'язані з кістковими тканинами хребетних, а саме дикальцієвий фосфат дигідрат (DCPD-брушит), дикальцієвий фосфат ангідрат (DCPA-монетит), β -трикальційфосфат β -TCP), кдНА та октакальцієвий фосфат (ОСР) з розчинністю ($\log K_s$, моль/л, рН7, 25 °С), яка становить 6,59, 6,9, 85, 96,6 відповідно, відомі як біоматеріали для кісткоутворення через їхню біосумісність та остеоіндуктивні властивості [228]. Завдяки сайтам PO_4^{3-} і Ca^{2+} НА легко зв'язується з білками й тому його широко використо-

вують у біоінженерії [63]. Але стехіометричний НА, як і кдНА, мають низьку швидкість резорбції й тому залишаються в організмі тривалий час, запобігаючи повній реконструкції живої кісткової тканини. На відміну від цього, β -ТСР демонструє високий рівень резорбції в біологічних умовах [67]. ОСР є попередником нанокристалів біоapatиту завдяки своїй структурі. Ця сполука, у якій шари апатиту, паралельні площині (100), чергуються з гідратованими шарами, де найімовірнішим є приєднання різних іонів і молекул [70], досить швидко перетворюється в аморфний ОФК (АФК), який повільно трансформується в кдНА – більш термодинамічно стабільну фазу [71]. Також учені розглядають можливість використання пірофосфату кальцію (β -СРР, β -Ca₂P₂O₇) як альтернативного біоматеріалу для заповнення кісткових дефектів. Ця сполука біоактивна, нетоксична з біорозкладністю, значення якої лежить між НА та β -ТСР [229]. Основними вимогами до матеріалів для заміщення кісток є їхня біоактивність і здатність створювати міцні зв'язки із природною кісткою. Згідно з медичною практикою керамічний матеріал може залишити кістковий дефект і мігрувати в навколишнє середовище через погану остеопровідність та остеоіндуктивність. Гібридні органічно-неорганічні матеріали на основі тривимірної сітки біомакромолекул із включеними наночастинками ОФК можуть подолати такі недоліки. Завдяки синергії функцій вихідних компонентів гібридні матеріали набувають нових характеристик [11]. Існує два класи органічно-неорганічних гібридних матеріалів, компоненти яких з'єднані: і) лише слабкими міжмолекулярними взаємодіями (Н-зв'язки, Ван-дер-Ваальсові взаємодії, π - π -взаємодія або електростатичні сили); ii) міцні хімічні зв'язки (ковалентні або іон-іонні зв'язки). Компоненти, зазвичай, наближуються один до одного в масштабах менше ніж 1 мкм [13].

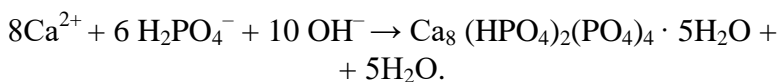
Молекула CS має три реакційноздатні групи: первинну та вторинну гідроксильні групи та аміногрупу, що наділяє її потенційною універсальністю [230]. Одним із найважливіших завдань під час створення гібридного HA-CS-матеріалу є отримання рівномірної дисперсії неорганічної фази в матриці CS [231]. Висока питома площа тривимірних пористих скафолдів є відмінним середовищем для адгезії, диференціації та проліферації клітин, які беруть участь у побудові нової кістки [232]. Особливу увагу під час синтезу приділено дії мікрохвильового опромінення (MW), що може значно покращити кінетику хімічної реакції завдяки збільшенню зародження та зростанню кристалів за короткий час. Наші нещодавні *in vivo* дослідження довели оптимальність композиту на основі cdHA та CS у вигляді гранул для заповнення кісткових дефектів складної геометрії [216]. Біоматеріал на основі механічної суміші cdHA та CS у формі гранул мав певні механічні властивості і здатність поглинати та вивільняти ліки. Рівномірна дисперсія cdHA в CS-матриці є критичною проблемою під час підготовки cdHA-CS-композиту.

Отже, дослідження, описане в цьому розділі, мало на меті моделювання та вивчення процесу *in situ* отримання гранульованої форми гібридного композиту, що складається із CS-матриці із включенням поліфазних ОФК із різним ступенем резорбції та дослідження впливу масового співвідношення Ca/CS та потужності MW на фазовий склад HC, його механічні властивості та біоактивність.

Технологія приготування зразків. Стоковий 6 % розчин хітозану (CS) був приготований розчиненням відповідної кількості CS в 1 % оцтовій кислоті за температури 37 °C протягом 6 годин. Утворений розчин додавали до 0,5, М розчину кальцію ацетату за різних вагових співвідношень Ca/CS, а саме 0,15, 0,45, 0,75. Після перемішування протягом 3 годин за 37 °C отриману суспензію покрупельно вносили в 0,3 М

розчин NaH_2PO_4 ($\text{pH} = 7,2$). Унаслідок взаємодії протонуваних аміногруп хітозану, ортофосфатних груп PO_4^{3-} та іонів кальцію утворювалася полімерна матриця у формі гранул з імобілізованими кальцій-фосфатними частинками, які формувалися синхронно взаємодією між наявними в розчині іонами кальцію та ортофосфатними групами. Реакція тривала 2 години, після чого частина зразків була піддана MW-випромінненню (300 W) протягом 75 секунд (5 разів по 15 секунд). Після охолодження NaH_2PO_4 розчин був замінений на 1 % розчин триполіфосфату $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ (TPP, $\text{pH} \approx 9,0$) для набуття механічної стабільності за допомогою зшивання вільних функціональних груп CS і TPP. Через 12 годин гранули були промиті дистильованою водою та висушені за 37°C . Відповідно до Ca/CS-співвідношення (0,15, 0,45, 0,75) зразки було позначено як 1C, 2C, 3C. Зразки, синтезовані під впливом мікрохвильового випроміннення, позначено 1C_MW, 2C_MW, 3C_MW.

Реакція та умови синтезу, застосовані в цій роботі, спрямовані, насамперед, на отримання октакальцій фосфатної (ОСР) фази, однією з переваг якої є підвищена розчинність порівняно із стехіометричним НА, як і кдНА [233]



Із кристалохімічного погляду ОСР можна подати як чергування вздовж осі *a* прошарків апатиту $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \times 0,5\text{H}_2\text{O}$, структурно подібного до НА, і гідратного «водного» шару $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ зі структурою брушиту (DCPD). Три фосфат-іони перебувають на стику «водного» і «апатитного» шарів. Фосфат-іон у шарі «води» та один на стику між шарами протонуються [219]. Результати свідчать, що карбонат може заміщати HPO_4^{2-} у «водному» шарі або PO_4^{3-} у шарі «апатиту», у такий спосіб генеруючи карбонат-заміще-

ний ОСР, що покращує вплив на регуляцію активності остеобластів у формуванні кісткової тканини [234]. Однак наявність макромолекул хітозану з різним його співвідношенням до кальцію та застосування MW під час синтезу вносять певні корективи в процес нуклеації та формування фази ОСР. Загалом ці чинники впливають на вагове співвідношення утворюваних ОФК-фаз після термічного оброблення зразка. Для збільшення роздільної здатності піків отриманих рентгенограм зразки були відпалені. Рентгенівські дифрактограми, зібрані з порошкоподібних зразків, синтезованих як конвекційним нагріванням, так і під впливом MW та відпалу за 750 °C протягом 1 години, подано на рисунку 3.8 А, Б. XRD-спектри демонструють наявність у зразках декількох фаз ОФК, а саме НА (JCPDS 9-432), ОСР (JCPDS 01-074-1301), DCPA (JCPDS 2-1350), CPP (JCPDS 35-0002).

Зважаючи на загальну площу відповідних піків на рентгенівських дифрактограмах, був розрахований фазовий склад зразків (табл. 3.1). Оскільки піки ОСР і НА перекриваються за $2\theta \sim 30^\circ$, ці дві фази були розраховані разом. Розрахунок за формулою Шерера [21] доводить, що MW сприяє зменшенню середнього розміру кристалітів (L). Також під впливом MW і з підвищенням Ca/Cs середній вміст НА/ОСР збільшується на 5, 7, 10 мас%, а частка CPP зменшується на 13 %, 12 % та 14 % у 1C_MW, 2C_MW, 3C_MW зразках відповідно, порівняно з тими значеннями, які відповідають зразкам, синтезованим за допомогою конвекційного нагріву. Нагрівання через MW відбувається внаслідок діелектричних втрат, а деградація реакційних іонів сприяє швидкому утворенню більш стабільних ортофосфатів кальцію (НА, ОСР, DCPD), ніж АСР. Відомо, що пірофосфати можуть утворюватися за допомогою конденсації після нагрівання АСР, які містять HPO_4^{2-} , від 400 °C до 700 °C [235].

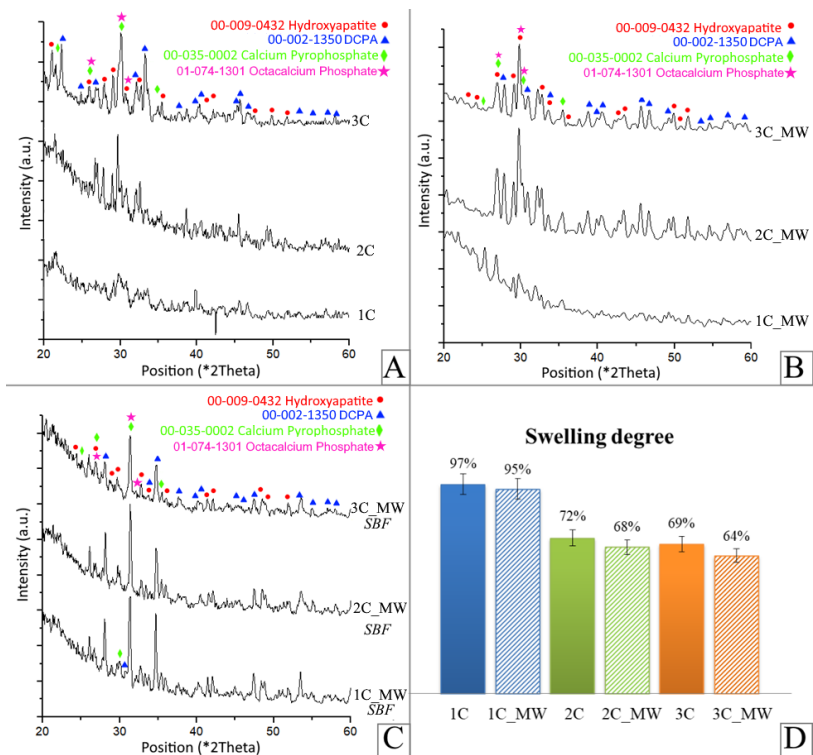


Рисунок 3.8 – Рентгенограми з відпалених за 750 °С зразків, синтезованих: А – за допомогою конвекційного нагріву; В – під впливом MW; С – після перебування у SBF протягом 28 днів; D – ступінь набряку у SBF [227]

Таблиця 3.1 – Склад неорганічної СаР-фракції експериментальних композитів [227]

Фаза	Склад неорганічної фракції після відпалу за 750 °С								
	Са/CS 0,15			Са/CS 0,45			Са/CS 0,75		
	СН	MW	MW після SBF	СН	MW	MW після SBF	СН	MW	MW після SBF
Неорганічна фракція всього, ваг%, у т. ч.	13,16±0,58	10,2±0,42	12,4±0,44	24,26±0,98	23,7±0,95	25,6±1,02	34,0±0,87	34,5±0,95	36,1±0,98
НА/ОСР	37	42	46	42	49	51	41	51	58
ДСРА	40	48	38	33	38	22	32	36	22
СРР	23	10	16	25	13	27	27	13	29
Серійний розмір кристалітів НА (L), нм	44,24±0,50	37,27 ±0,42	н/д	37,67±0,33	35,94 ±0,47	н/д	34,77 ±0,32	33,19 ±0,45	н/д

¹ СН – синтез із застосуванням конвекційного нагрівання.

² MW – синтез із застосуванням мікрохвильового опромінення.

н/д – немає даних.

Набрякання отриманих композитів у фізіологічному розчині було в першу добу, після чого тривало постійно протягом усього часу дослідження. Варто зазначити, що досліджувані CS-вмісні гібридні композити мають відносно низький ($< 100\%$) ступінь набрякання як для матеріалів з органічною складовою. Збільшення співвідношення Ca/Cs і вплив MW зменшують цей показник (див. рис. 3.8 D).

Біоактивність, яка означає здатність гібридного матеріалу взаємодіяти з навколишнім середовищем і провокувати появу та ріст кристалів ОФК *in vivo*, оцінювали за допомогою експозиції зразків у розчині SBF протягом 28 днів. SEM-мікрофотографії гібридів 3C_MW до та після їхнього перебування у SBF подано на рисунку 3.9 А, В. Наявне зображення хвилеподібної морфології. Наночастинки ОФК розподілені в полімерній матриці (рис. 3.9 D). Після перебування у SBF на поверхні композитів наявні новоутворені агрегати макрочастинок ОФК.

Також відзначено збільшення вмісту Ca^{2+} приблизно вдвічі, а вагове співвідношення Ca/P різко зростає в десять разів і становить 1,275, 1,136, 1,157 у зразках 1C_MW, 2C_MW, 3C_MW відповідно. Істотної різниці у фазовому складі новоутвореного у SBF шару ОФК на зразках, синтезованих як під впливом MW, так і без нього, не виявлено. Ці факти свідчать про високий ступінь біоактивності гібридних композицій.

Міцність на стиск. На рисунку 3.10 подано механічні властивості під час стискання зразків із співвідношенням Ca/Cs = 0,75, синтезованих як під впливом MW (3C_MW), так і за умов конвекційного нагрівання (3C). Зразок 3C набував сплющеного стану за умови стискання навантаженням 85 МПа.

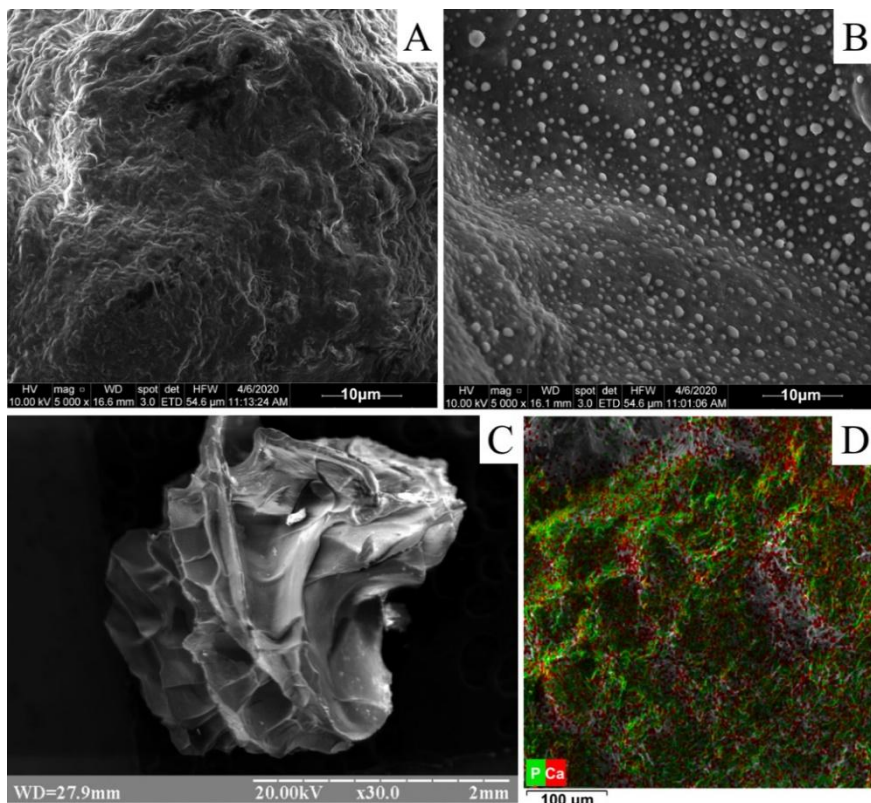


Рисунок 3.9 – SEM-зображення 3C_MW: А – до; В – через 28 днів перебування у SBF; С – загальний вигляд ліофілізованої гібридної гранули, дослідженої за допомогою оптичного мікроскопа Primo star (Karl Zeiss Group); D-EDX – карта розподілу кальцію та фосфору в матриці CS [227]

Фрагментації зразка не відбувалося, виникали відносно великі пластичні деформації ($\epsilon_{\text{dest}} \sim 0,24$), що може призвести до пластичного руйнування. Зразок із 3C_MW демонстрував значно меншу міцність на стиск (~ 40 МПа) порівняно з конвекційно синтезованим зразком і руйнувався за навантаження 40 МПа.

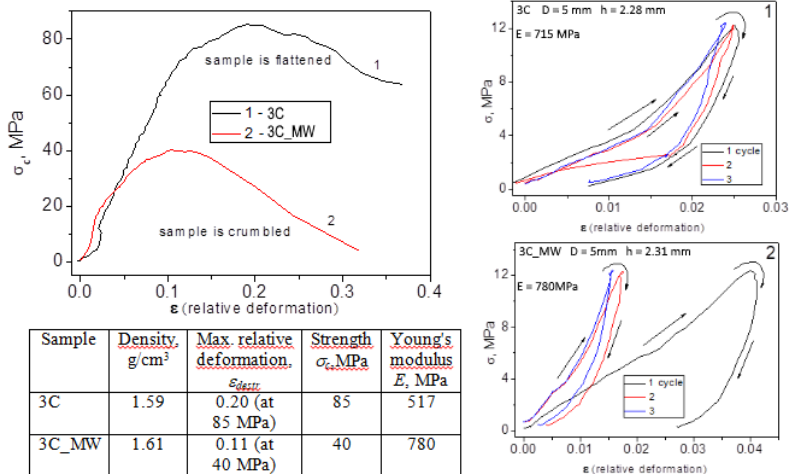


Рисунок 3.10 – Міцність 3С-зразків із співвідношенням Ca/Cs = 0,75. Діаграми «навантаження – розвантаження» зразків, виміряних за одноосного стиснення протягом трьох циклів навантаження [227]

Модуль Юнга визначають як відношення величини навантаження до величини пружної деформації зразка $E = \sigma_c / \epsilon_{elast}$. Відносну деформацію зразка за умови стискання визначено як $\epsilon = \Delta l / l_0$, де l_0 – початковий лінійний розмір зразка в напрямку дії сили; Δl – зміна розміру зразка за умови дії навантаження. Для отримання модуля Юнга проводили три цикли «навантаження – розвантаження» до невеликих значень навантаження ($\sigma_c = 12$ МПа в цьому разі), щоб мінімізувати пластичні (тобто незворотні) деформації зразка (ϵ_{plast}), які зазвичай відбуваються для композитів після першого циклу навантаження паралельно із пружними деформаціями, і $\epsilon = \epsilon_{elast} + \epsilon_{plast}$. За третього циклу навантаження до тих самих значень ϵ_c пластичні деформації практично відсутні (через певний час після зняття навантаження розмір зразка відновлюється до значень на початку 3-го циклу), тобто можна вважати, що $\epsilon \approx \epsilon_{elast}$, і визнача-

емо модуль Юнга як $E \approx \sigma_c / \varepsilon$. Оцінювання модуля Юнга (E) довело, що значення E для 3С_MW дорівнює 780 МПа, що набагато вище порівняно із зразком 3С (517 МПа). Результати свідчать про відсутність прямого зв'язку між модулем Юнга (що відповідає за пружні деформації зразка) і міцністю зразка: у композитних матеріалах, крім пружної деформації (яка може бути невеликою за невеликих значень модуля Юнга), може відбуватися і пластична деформація за умови стиснення, і в'язко-пружне руйнування зразка за значно вищих навантажень, незважаючи на невисокий модуль Юнга, що й можна спостерігати для зразка 3С – він розплющився (див. рис. 3.10, крива 1).

На рисунку 3.11 подано спектри фотолюмінесценції (PL) для CS та експериментальних композитів із співвідношенням Ca/CS 0,15, 0,45 та 0,75, синтезованих за допомогою конвекційного нагрівання та під впливом MW. Можна побачити, що спектри PL CS, а також композитів складаються з декількох компонентів, які відповідають електронним переходам між зв'язувальними та незв'язувальними електронними орбіталями.

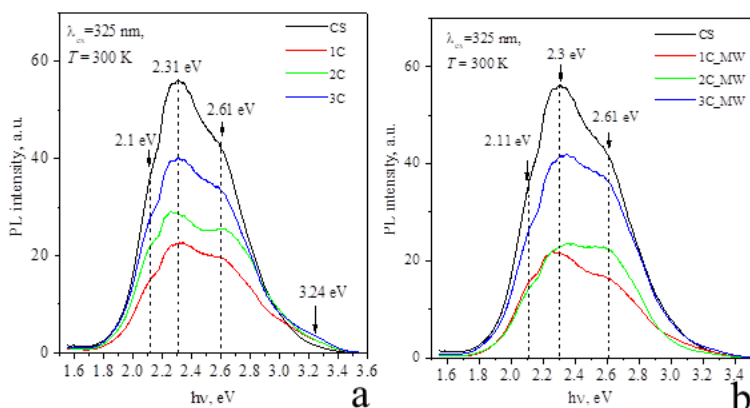


Рисунок 3.11 – Спектри PL експериментальних композитів та CS із різним співвідношенням Ca/CS, синтезованих за допомогою конвекційного нагрівання (А) і MW (В) [227]

Смуга PL за умови 2,3 еВ відповідає переходу $\pi^* \rightarrow n$, смуга за умови 2,61 еВ – переходу $\pi^* \rightarrow \pi$, смуга за умови 3,0 еВ – переходу $\sigma^* \rightarrow n$ і за умови 3,24 еВ – $\sigma^* \rightarrow \sigma$. Інтегральна інтенсивність PL є найбільшою у спектрах чистого CS як із MW, так і без MW. Для смуг за умови 2,1 еВ, 2,31 еВ, 2,61 еВ зміни інтенсивності PL обумовлено різним вмістом ОКФ. Зразки із $Ca/CS = 0,15$ демонструють значне зменшення інтегральної інтенсивності PL, що відповідає зменшенню молекулярної маси біополімеру. Це можна пояснити тим, що як конвекційний нагрів, так і MW спричиняють значне збільшення величини молекулярної вібрації, що збільшує контакт і тертя між молекулами CS та ОКФ. Це дозволяє легко розривати глікозидні зв'язки CS, зменшуючи молекулярну масу CS. Збільшення співвідношення Ca/CS збільшує частку утвореного ОКФ, що, зі свого боку, зменшує гнучкість ланцюга CS, запобігаючи фрагментації макромолекул, що проявляється в монотонному збільшенні інтенсивності PL (спектри зразків 2C, 3C, 2C_MW і 3C_MW).

***In vivo* дослідження на модельних щурах.** Попередні дослідження *in vivo* щодо біосумісності НС довели, що вже після 30 днів імплантації матеріал був локально в зоні дефекту без міграції частинок у червоний кістковий мозок. НС була щільно оточена новоутвореною кістковою тканиною, яка у вигляді піків проникала в її крайові частини, замінюючи резорбований НС (рис. 3.12 А). Сильний контакт НС із кістковою тканиною свідчить про високі остеointegraційні властивості. Неоднорідна структура НС обумовлена просоченням тканинною рідиною та резорбцією (рис. 3.12 В).

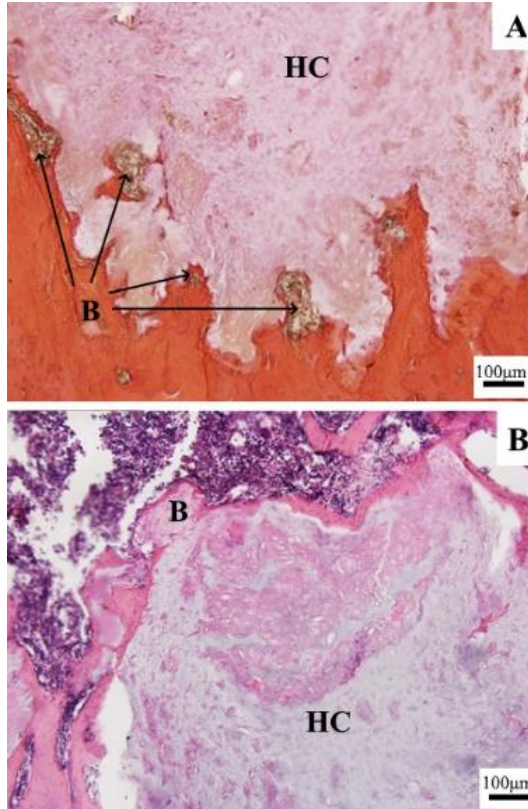


Рисунок 3.12 – Синтезований композитний матеріал, розташований у зоні дефекту (А), густо оточений новоутвореною кістковою тканиною – В, яка проникає в його крайові ділянки, замінюючи композит.
Van Gieson; Hematoxylin and eosin [227]

Отже, дослідження на експериментальних тваринах довели, що імплантований матеріал є біологічно сумісним із нативною кістковою тканиною та не проявляє токсичних властивостей.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

Розглянуті в монографії характеристики апатит-біо-полімерних композитів, легованих неорганічними наночастинками різного походження, демонструють значний потенціал таких біоматеріалів для їхнього потенційного використання в практичній медицині. Катіонні / аніонні властивості хітозану / альгінату сприяють міжмолекулярним взаємодіям цих макромолекул з іншими компонентами (органічними, неорганічними, наночастинками, лікарськими засобами) під час утворення скафолдів із заданою остеопродівністю та остеокондуктивністю. Водночас необхідні подальші зусилля для підвищення ефективності біоматеріалів через вивчення молекулярних механізмів остеогенезу з використанням новостворених технологій і методів дослідження. Природне кісткове відновлення – це складний, поетапний процес, до якого мають адаптуватися синтезовані біоматеріали, на створення яких постійно будуть спрямовані зусилля науковців. До нагальних проблем, які потрібно розв'язати в найближчій перспективі, належить забезпечення біоматеріалів системами контрольованого та пролонгованого вивільнення лікарських засобів, навантаження активними біомолекулами, зокрема ростовими чинниками. Також актуальним є питання біосумісності, відсутності токсичності біоматеріалів, а також вивчення їхнього впливу на людський організм загалом.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Best T. M. et al. Effectiveness of Sports Massage for Recovery of Skeletal Muscle From Strenuous Exercise. *Clinical Journal of Sport Medicine*. 2008. Vol. 18, № 5. P. 446–460.
2. Song C. et al. Research progress on the design and performance of porous titanium alloy bone implants. *Journal of Materials Research and Technology*. 2023. Vol. 23. P. 2626–2641.
3. Wang B., Yu W., Fu L. Bioactive porous ZrO₂-based ceramics with a hierarchical porosity for artificial bone scaffolds. *Ceram Int*. 2023. Vol. 49, № 9. P. 13752–13761.
4. Hench L. L., Polak J. M. Third-Generation Biomedical Materials. *Science*. 1979. 2002. Vol. 295, № 5557. P. 1014–1017.
5. Itokawa H. et al. A 12 month in vivo study on the response of bone to a hydroxyapatite-polymethylmethacrylate cranioplasty composite. *Biomaterials*. 2007. Vol. 28, № 33. P. 4922–4927.
6. Darjanki C. M. et al. Expression of VEGF and BMP-2 in Osteoblast cells exposed to a combination of polymethylmethacrylate (PMMA) and hydroxyapatite (HAp). *J Oral Biol Craniofac Res*. 2023. Vol. 13, № 2. P. 243–248.
7. Кумеда М. О. Вплив мікрохвильового опромінення на структуру, склад, морфологію та кінетику вивільнення гідрофобних лікарських засобів з 3D матриць на основі біоапатиту та біополімерів : дисертація на здобуття ступеню доктора філософії. Суми : Сумський державний університет, 2023. 161 с.
8. Chandra G., Pandey A. Biodegradable bone implants in orthopedic applications: a review. *Biocybern Biomed Eng*. 2020. Vol. 40, № 2. P. 596–610.
9. Morsada Z. et al. Recent progress in biodegradable and bioresorbable materials: From passive implants to active electronics. *Appl Mater Today*. 2021. Vol. 25. P. 101257.

10. Nguyen K. T., Zhao Y. Engineered Hybrid Nanoparticles for On-Demand Diagnostics and Therapeutics. *Acc Chem Res.* 2015. Vol. 48, № 12.
11. Zima A. Hydroxyapatite-chitosan based bioactive hybrid biomaterials with improved mechanical strength. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2018. Vol. 193. P. 175–184.
12. Matsunaga K. First-principles study of substitutional magnesium and zinc in hydroxyapatite and octacalcium phosphate. *Journal of Chemical Physics.* 2008. Vol. 128, № 24.
13. Alemán J. V. et al. Definitions of terms relating to the structure and processing of sols, gels, networks, and inorganic-organic hybrid materials (IUPAC Recommendations 2007). *Pure and Applied Chemistry.* 2007. Vol. 79, № 10. P. 1801–1829.
14. Egbo M. K. A fundamental review on composite materials and some of their applications in biomedical engineering. *Journal of King Saud University – Engineering Sciences.* 2021. Vol. 33, № 8.
15. Zhang H. et al. Developing natural polymers for skin wound healing. *Bioact Mater.* 2024. Vol. 33. P. 355–376.
16. Sukhodub L. Metal Ions Doped Chitosan Nanoparticles. *Journal of Nano- and Electronic Physics.* 2014. Vol. 6, № 4.
17. Pogorielov M. V et al. Trace elements sorption by the chitosan-based materials. *J. Clin. Exp. Med. Res.* 2014. Vol. 2, № 1. P. 88–99.
18. Costa E. M. et al. Study of the effects of chitosan upon *Streptococcus mutans* adherence and biofilm formation. *Anaerobe.* 2013. Vol. 20. P. 27–31.
19. Hafdani F., Sadeghinia N. A review on application of chitosan as a natural antimicrobial. *World Acad Sci Eng Technol.* 2011. Vol. 74. P. 257–261.

20. Schneider H.-J., Kato K., Strongin R. Chemomechanical Polymers as Sensors and Actuators for Biological and Medicinal Applications. *Sensors*. 2007. Vol. 7, № 8. P. 1578–1611.
21. Chen A. H. et al. The chemically crosslinked metal-complexed chitosans for comparative adsorptions of Cu(II), Zn(II), Ni(II) and Pb(II) ions in aqueous medium. *J Hazard Mater*. 2009. Vol. 163, № 2–3.
22. Wang J., Zhuang S. Chitosan-based materials: Preparation, modification and application. *Journal of Cleaner Production*. 2022. Vol. 355.
23. Deng C. et al. Application of chitosan-based biomaterials for blood vessel regeneration. *Macromolecular Symposia*. 2010. Vol. 297, № 1.
24. Zheng L. Y., Zhu J. F. Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydr Polym*. 2003. Vol. 54, № 4.
25. Cui Z. et al. Electrospinning and crosslinking of polyvinyl alcohol / chitosan composite nanofiber for transdermal drug delivery. *Advances in Polymer Technology*. 2018. Vol. 37, № 6.
26. Talebi N. et al. Natural polymeric nanofibers in transdermal drug delivery. *Applied Materials Today*. 2023. Vol. 30.
27. Zhang X. et al. Highly conductive PEDOT:PSS transparent electrode prepared by a post-spin-rinsing method for efficient ITO-free polymer solar cells. *Solar Energy Materials and Solar Cells*. 2016. Vol. 144.
28. Mendes A. C. et al. Hybrid electrospun chitosan-phospholipids nanofibers for transdermal drug delivery. *Int J Pharm*. 2016. Vol. 510, № 1.
29. Najafi-Taher R. et al. Preparation of an ascorbic acid / PVA-chitosan electrospun mat: A core / shell transdermal delivery system. *RSC Adv*. 2015. Vol. 5, № 62.

30. Smith A. M., Miri T. Alginates in Foods. *Practical Food Rheology: An Interpretive Approach*. 2010.
31. Haug A. et al. A Study of the Constitution of Alginic Acid by Partial Acid Hydrolysis. *Acta Chem Scand*. 1966. Vol. 20.
32. Mahmoud G. A., Mohamed S. F. Removal of lead ions from aqueous solution using (sodium alginate / itaconic acid) hydrogel prepared by gamma radiation. *Aust J Basic Appl Sci*. 2012. Vol. 6, № 6.
33. Sikorski P. et al. Evidence for egg-box-compatible interactions in calcium – Alginate gels from fiber x-ray diffraction. *Biomacromolecules*. 2007. Vol. 8, № 7.
34. Donati I. et al. New hypothesis on the role of alternating sequences in calcium-alginate gels. *Biomacromolecules*. 2005. Vol. 6, № 2.
35. Mørch Y. A. et al. Effect of Ca²⁺, Ba²⁺, and Sr²⁺ on alginate microbeads. *Biomacromolecules*. 2006. Vol. 7, № 5.
36. Skjåk-Bræk G., Grasdalen H., Smidsrød O. Inhomogeneous polysaccharide ionic gels. *Carbohydr Polym*. 1989. Vol. 10, № 1.
37. Boateng J. S. et al. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008. Vol. 97, № 8.
38. Sukhodub L. et al. Metal ions doping effect on the physicochemical, antimicrobial, and wound healing profiles of alginate-based composite. *Carbohydr Polym*. 2023. Vol. 304.
39. Pawar S. N., Edgar K. J. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials*. 2012. Vol. 33, № 11.
40. Taemeh M. A. et al. Fabrication challenges and trends in biomedical applications of alginate electrospun nanofibers. *Carbohydrate Polymers*. 2020. Vol. 228.
41. Fu R. et al. A novel electrospun membrane based on moxifloxacin hydrochloride / poly(vinyl alcohol) / sodium

alginate for antibacterial wound dressings in practical application. *Drug Deliv.* 2016. Vol. 23, № 3.

42. Abid S. et al. A novel double-layered polymeric nanofiber-based dressing with controlled drug delivery for pain management in burn wounds. *Polymer Bulletin.* 2019. Vol. 76, № 12.

43. Milano F. et al. Current Trends in Gelatin-Based Drug Delivery Systems. *Pharmaceutics.* 2023. Vol. 15, № 5.

44. Hulmes D. J. S. Building collagen molecules, fibrils, and suprafibrillar structures. *Journal of Structural Biology.* 2002. Vol. 137, № 1–2.

45. Wang X., Huang Y., Liu C. A combined rotational mold for manufacturing a functional liver system. *J Bioact Compat Polym.* 2015. Vol. 30, № 4.

46. El-Seedi H. R. et al. Gelatin nanofibers: Recent insights in synthesis, bio-medical applications and limitations. *Heliyon.* 2023. Vol. 9, № 5.

47. Foox M., Zilberman M. Drug delivery from gelatin-based systems. *Expert Opinion on Drug Delivery.* 2015. Vol. 12, № 9.

48. Karim A. A., Bhat R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids.* 2009. Vol. 23, № 3.

49. de Wolf F.A. Chapter V Collagen and gelatin. *Progress in Biotechnology.* 2003. Vol. 23, № C.

50. Su K., Wang C. Recent advances in the use of gelatin in biomedical research. *Biotechnology Letters.* 2015. Vol. 37, № 11.

51. Hou J. et al. Multi-layered polyamide/collagen scaffolds with topical sustained release of N-Acetylcysteine for promoting wound healing. *Int J Nanomedicine.* 2020. Vol. 15.

52. Abdul Khodir W. et al. Encapsulation and Characterization of Gentamicin Sulfate in the Collagen Added

Electrospun Nanofibers for Skin Regeneration. *J Funct Biomater*. 2018. Vol. 9, № 2.

53. Afewerki S. et al. Gelatin-polysaccharide composite scaffolds for 3D cell culture and tissue engineering: Towards natural therapeutics. *Bioeng Transl Med*. 2019. Vol. 4, № 1.

54. Kavya K. C. et al. Fabrication and characterization of chitosan /gelatin/ nSiO₂ composite scaffold for bone tissue engineering. *Int J Biol Macromol*. 2013. Vol. 59.

55. Sahraee S. et al. Physicochemical and antifungal properties of bio-nanocomposite film based on gelatin-chitin nanoparticles. *Int J Biol Macromol*. 2017. Vol. 97.

56. Campa-Siqueiros P. et al. Nanofibers of gelatin and polyvinyl-alcohol-chitosan for wound dressing application: fabrication and characterization. *Polimeros*. 2020. Vol. 30, № 1.

57. Chen C. et al. Highly transparent chitin nanofiber / gelatin nanocomposite with enhanced mechanical properties. *Cellulose*. 2018. Vol. 25, № 9.

58. Leite L. S. F. et al. Effect of Tannic Acid and Cellulose Nanocrystals on Antioxidant and Antimicrobial Properties of Gelatin Films. *ACS Sustain Chem Eng*. 2021.

59. Zyman Z. Z. Calcium-phosphate biomaterials. Kharkiv : V. N. Karazin Kharkiv National University, 2018. 288 p.

60. Eliaz N., Metoki N. Calcium Phosphate Bioceramics: A Review of Their History, Structure, Properties, Coating Technologies and Biomedical Applications. *Materials*. 2017. Vol. 10, № 4. P. 334.

61. Sukhodub L. et al. Hybrid composite based on chitosan matrix mineralized by polyphasic calcium orthophosphates with enhanced bioactivity and protein adsorption capacity. *Mater Today Commun*. 2022. Vol. 31.

62. LeGeros R. Z. Biological and Synthetic Apatites. *Hydroxyapatite and Related Materials*. CRC Press. 2017. P. 3–28.

63. Haider A. et al. Recent advances in the synthesis, functionalization and biomedical applications of hydroxyapatite: a review. *RSC Adv.* 2017. Vol. 7, № 13. P. 7442–7458.

64. Nga N. K., Thuy Chau N. T., Viet P. H. Facile synthesis of hydroxyapatite nanoparticles mimicking biological apatite from eggshells for bone-tissue engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2018. Vol. 172.

65. Subramanian R. et al. Effect of piperine on size, shape and morphology of hydroxyapatite nanoparticles synthesized by the chemical precipitation method. *J King Saud Univ Sci.* 2019. Vol. 31, № 4.

66. Xiong H. et al. Mitochondria and nuclei dual-targeted heterogeneous hydroxyapatite nanoparticles for enhancing therapeutic efficacy of doxorubicin. *Biomaterials.* 2016. Vol. 94.

67. Arcos D. et al. The relevance of biomaterials to the prevention and treatment of osteoporosis. *Acta Biomater.* 2014. Vol. 10, № 5.

68. Roohani-Esfahani S. I. et al. A bioceramic with enhanced osteogenic properties to regulate the function of osteoblastic and osteoclastic cells for bone tissue regeneration. *Biomedical Materials (Bristol).* 2016. Vol. 11, № 3.

69. Daculsi G. et al. Formation of carbonate-apatite crystals after implantation of calcium phosphate ceramics. *Calcif Tissue Int.* 1990. Vol. 46, № 1.

70. Wang K. et al. Study of protein adsorption on octacalcium phosphate surfaces by molecular dynamics simulations. *J Mater Sci Mater Med.* 2012. Vol. 23, № 4. P. 1045–1053.

71. Qi C. et al. Calcium-based biomaterials for diagnosis, treatment, and theranostics. *Chem Soc Rev.* 2018. Vol. 47, № 2.

72. Suzuki O. Octacalcium phosphate (OCP)-based bone substitute materials. *Japanese Dental Science Review*. 2013. Vol. 49, № 2.

73. Zhu W. et al. Study on clinical application of nano-hydroxyapatite bone in bone defect repair. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2015. Vol. 43, № 6.

74. El-Ghannam A. Bone reconstruction: From bioceramics to tissue engineering. *Expert Review of Medical Devices*. 2005. Vol. 2, № 1.

75. Kamitakahara M., Ohtsuki C., Miyazaki T. Review paper: Behavior of ceramic biomaterials derived from tricalcium phosphate in physiological condition. *Journal of Biomaterials Applications*. 2008. Vol. 23, № 3.

76. Polini A. et al. Osteoinduction of human mesenchymal stem cells by bioactive composite scaffolds without supplemental osteogenic growth factors. *PLoS One*. 2011. Vol. 6, № 10.

77. Yang Z., Best S. M., Cameron R. E. The influence of α -tricalcium phosphate nanoparticles and microparticles on the degradation of poly(D,L-lactide-co-glycolide). *Advanced Materials*. 2009. Vol. 21, № 38–39.

78. Suárez-González D. et al. Mineral coatings modulate β -TCP stability and enable growth factor binding and release. *Acta Biomater*. 2012. Vol. 8, № 3.

79. Dinarvand P. et al. New approach to bone tissue engineering: Simultaneous application of hydroxyapatite and bioactive glass coated on a poly(L-lactic acid) scaffold. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2011. Vol. 3, № 11.

80. Lee J. H. et al. Comparison of Clinical Outcomes and Computed Tomography Analysis for Tunnel Diameter After Arthroscopic Bankart Repair With the All-Suture Anchor and the Biodegradable Suture Anchor. *Arthroscopy – Journal of Arthroscopic and Related Surgery*. 2019. Vol. 35, № 5.

81. Huang B. et al. Absorbable implants in sport medicine and arthroscopic surgery: A narrative review of recent development. *Bioactive Materials*. 2024. Vol. 31.

82. Fischetti T. et al. 3d printing and bioprinting to model bone cancer: The role of materials and nanoscale cues in directing cell behavior. *Cancers*. 2021. Vol. 13, № 16.

83. Clarissa W. H. Y. et al. Recent advancement in 3-D printing: nanocomposites with added functionality. *Progress in Additive Manufacturing*. 2022. Vol. 7, № 2.

84. Lee J. et al. Use of Surfactants for Continuous Operation of Aqueous Electrochemical Flow Capacitors. *Energy Technology*. 2016. Vol. 4, № 1.

85. Loss D. Editorial: Quantum phenomena in Nanotechnology. *Nanotechnology*. 2009. Vol. 20, № 43.

86. Joudeh N., Linke D. Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology*. 2022. Vol. 20, № 1.

87. Murphy E. A. et al. Nanoparticle-mediated drug delivery to tumor vasculature suppresses metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008. Vol. 105, № 27.

88. Kovács D. et al. Core-shell nanoparticles suppress metastasis and modify the tumour-supportive activity of cancer-associated fibroblasts. *J Nanobiotechnology*. 2020. Vol. 18, № 1.

89. Abuwatfa W. H., AlSawaftah N. M., Hussein G. A. Block copolymer micelles as long-circulating drug delivery vehicles. *Polymeric Micelles for Drug Delivery*. 2022.

90. Guerrero-Hernández L. et al. Gemini and Bicephalous Surfactants: A Review on Their Synthesis, Micelle Formation, and Uses. *Int J Mol Sci*. 2022. Vol. 23, № 3.

91. Solubilization of Drugs in Aqueous Media. *Encyclopedia of Pharmaceutical Science and Technology, Fourth Edition*. 2020.

92. Alsawaftah N., Pitt W. G., Husseini G. A. Dual-Targeting and Stimuli-Triggered Liposomal Drug Delivery in Cancer Treatment. *ACS Pharmacology and Translational Science*. 2021. Vol. 4, № 3.
93. Sarkar N., Bose S. Liposome-Encapsulated Curcumin-Loaded 3D Printed Scaffold for Bone Tissue Engineering. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2019. Vol. 11, № 19.
94. Bose S., Sarkar N., Majumdar U. Micelle encapsulated curcumin and piperine-laden 3D printed calcium phosphate scaffolds enhance in vitro biological properties. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2023. Vol. 231.
95. Al Sawaftah N. M., Pitt W. G., Husseini G. A. Incorporating nanoparticles in 3D printed scaffolds for bone cancer therapy. *Bioprinting*. 2023. Vol. 36. P. e00322.
96. Jiao M. et al. Recent advancements in biocompatible inorganic nanoparticles towards biomedical applications. *Biomaterials Science*. 2018. Vol. 6, № 4.
97. Arias L. S. et al. Iron oxide nanoparticles for biomedical applications: A perspective on synthesis, drugs, antimicrobial activity, and toxicity. *Antibiotics*. 2018. Vol. 7, № 2.
98. Zengin A., Sutthavas P., Van Rijt S. Inorganic nanoparticle-based biomaterials for regenerative medicine. *Nanostructured Biomaterials for Regenerative Medicine*. 2019.
99. Deshmukh S. P. et al. Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Materials Science and Engineering C*. 2019. Vol. 97.
100. Dong Y. et al. Antibacterial activity of silver nanoparticles of different particle size against *Vibrio Natriegens*. *PLoS One*. 2019. Vol. 14, № 9.
101. Tang S., Zheng J. Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles: Structural Effects. *Advanced Healthcare Materials*. 2018. Vol. 7, № 13.
102. Monte J. P. et al. Recent advances in hydroxyapatite / polymer / silver nanoparticles scaffolds with

antimicrobial activity for bone regeneration. *Mater Lett.* 2023. Vol. 338.

103. Gaetke L. M., Chow-Johnson H. S., Chow C. K. Copper: toxicological relevance and mechanisms. *Archives of Toxicology.* 2014. Vol. 88, № 11.

104. Sirelkhatim A. et al. Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters.* 2015. Vol. 7, № 3.

105. Li Q. et al. Controlling hydrogel mechanics via bio-inspired polymer-nanoparticle bond dynamics. *ACS Nano.* 2016. Vol. 10, № 1.

106. Zhang L. et al. Nanomaterial integrated 3D printing for biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B.* 2022. Vol. 10, № 37.

107. Jiang Y. et al. Bioinspired adhesive and tumor microenvironment responsive nanoMOFs assembled 3D-printed scaffold for anti-tumor therapy and bone regeneration. *Nano Today.* 2021. Vol. 39.

108. Azizi-Lalabadi M. et al. Carbon nanomaterials against pathogens; the antimicrobial activity of carbon nanotubes, graphene/graphene oxide, fullerenes, and their nanocomposites. *Adv Colloid Interface Sci.* 2020. Vol. 284. P. 102250.

109. Jastaneyah Z. et al. A Comparative Analysis of Standard and Nano-Structured Glass for Enhancing Heat Transfer and Reducing Energy Consumption Using Metal and Oxide Nanoparticles: A Review. *Sustainability (Switzerland).* 2023. Vol. 15, № 12.

110. Yu K. et al. Patterning vertically oriented graphene sheets for nanodevice applications. *Journal of Physical Chemistry Letters.* 2011. Vol. 2, № 6.

111. Priya Swetha P. D., Manisha H., Sudhakaraprasad K. Graphene and Graphene-Based

Materials in Biomedical Science. *Particle and Particle Systems Characterization*. 2018. Vol. 35, № 8.

112. Razaq A. et al. Review on Graphene-, Graphene Oxide-, Reduced Graphene Oxide-Based Flexible Composites: From Fabrication to Applications. *Materials*. 2022. Vol. 15, № 3.

113. Xu Y., Li X., Dong J. Infrared and Raman spectra of AA-stacking bilayer graphene. *Nanotechnology*. 2010. Vol. 21, № 6.

114. Qu Y. et al. Advances on graphene-based nanomaterials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*. 2018. Vol. 90.

115. You P. et al. Graphene Oxide-Based Nanocarriers for Cancer Imaging and Drug Delivery. *Curr Pharm Des*. 2015. Vol. 21, № 22.

116. Liu Z. et al. PEGylated nanographene oxide for delivery of water-insoluble cancer drugs. *J Am Chem Soc*. 2008. Vol. 130, № 33.

117. Chung C. et al. Biomedical applications of graphene and graphene oxide. *Acc Chem Res*. 2013. Vol. 46, № 10.

118. Li M. et al. Graphene oxide / hydroxyapatite composite coatings fabricated by electrophoretic nanotechnology for biological applications. *Carbon N Y*. 2014. Vol. 67.

119. Zhou T., Zhou X., Xing D. Controlled release of doxorubicin from graphene oxide based charge-reversal nanocarrier. *Biomaterials*. 2014. Vol. 35, № 13.

120. Sukhodub L. B. et al. The effect of graphene oxide on the properties and release of drugs from apatite-polymer composites. *Journal of Nano- and Electronic Physics*. 2020. Vol. 12, № 4.

121. Sukhodub L. B. et al. The effect of graphene oxide on the properties and release of drugs from apatite-polymer composites. *Journal of Nano- and Electronic Physics*. 2020. Vol. 12, № 4.

122. Prylutskyy Y. I. et al. On the origin of C60 fullerene solubility in aqueous solution. *Langmuir*. 2014. Vol. 30, № 14.

123. Zhang M. et al. Variation in the internalization of differently sized nanoparticles induces different DNA-damaging effects on a macrophage cell line. *Arch Toxicol*. 2011. Vol. 85, № 12.

124. Markovic Z., Trajkovic V. Biomedical potential of the reactive oxygen species generation and quenching by fullerenes (C60). *Biomaterials*. 2008. Vol. 29, № 26. P. 3561–3573.

125. Anilkumar P. et al. Fullerenes for Applications in Biology and Medicine. *Curr Med Chem*. 2012. Vol. 18, № 14.

126. Sun T., Xu Z. Radical scavenging activities of α -alanine C60 adduct. *Bioorg Med Chem Lett*. 2006. Vol. 16, № 14.

127. Li Q. et al. Graphene oxide-fullerene C60 (GO-C60) hybrid for photodynamic and photothermal therapy triggered by near-infrared light. *Biosens Bioelectron*. 2017. Vol. 89.

128. Aram E., Mehdipour-Ataei S. Carbon-based nanostructured composites for tissue engineering and drug delivery. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2021. Vol. 70, № 16. P. 1167–1188.

129. Lalwani G. et al. Porous three-dimensional carbon nanotube scaffolds for tissue engineering. *J Biomed Mater Res A*. 2015. Vol. 103, № 10. P. 3212–3225.

130. Szymański T. et al. Utilization of Carbon Nanotubes in Manufacturing of 3D Cartilage and Bone Scaffolds. *Materials*. 2020. Vol. 13, № 18. P. 4039.

131. Bikmulina P. Y. et al. Beyond 2D: effects of photobiomodulation in 3D tissue-like systems. *J Biomed Opt*. 2020. Vol. 25, № 04. P. 1.

132. Zhao S. et al. Investigations of gold nanoparticles-mediated carbon nanotube reinforced hydroxyapatite

composite for bone regenerations. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2021. Vol. 25, № 7. P. 101261.

133. Ravanbakhsh H. et al. Carbon nanotube composite hydrogels for vocal fold tissue engineering: Biocompatibility, rheology, and porosity. *Materials Science and Engineering: C*. 2019. Vol. 103. P. 109861.

134. Díaz E., Martín J., León J. Carbon nanotube reinforced poly(l-lactide) scaffolds: in vitro degradation, conductivity, mechanical and thermal properties. *Compos Interfaces*. 2020.

135. Rajesh R., Dominic Ravichandran Y. Development of a new carbon nanotube- alginate-hydroxyapatite tricomponent composite scaffold for application in bone tissue engineering. *Int J Nanomedicine*. 2015. Vol. 10.

136. Rashidi E., Rezaie H., Ghassai H. The effect of carbon nanotube addition on the mechanical properties and biological functionality of poly-ether-ether-ketone-hydroxyapatite composites. *Polym Compos*. 2021. Vol. 42, № 7.

137. Esmi A. et al. PMMA-CNT-HAp nanocomposites optimized for 3D-printing applications. *Mater Res Express*. 2019. Vol. 6, № 8.

138. Mahmoud E.M. et al. In vitro and in vivo study of naturally derived alginate/hydroxyapatite bio composite scaffolds. *Int J Biol Macromol*. 2020. Vol. 165.

139. Iglesias-Mejuto A., García-González C. A. 3D-printed alginate-hydroxyapatite aerogel scaffolds for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering C*. 2021. Vol. 131.

140. Tohamy K. M. et al. Novel alginate /hydroxyethyl cellulose/ hydroxyapatite composite scaffold for bone regeneration: In vitro cell viability and proliferation of human mesenchymal stem cells. *Int J Biol Macromol*. 2018. Vol. 112.

141. Karkeh-abadi F., Saber-Samandari S., Saber-Samandari S. The impact of functionalized CNT in the network

of sodium alginate-based nanocomposite beads on the removal of Co (II) ions from aqueous solutions. *J Hazard Mater.* 2016. Vol. 312.

142. Sirajudheen P. et al. Complex interior and surface modified alginate reinforced reduced graphene oxide-hydroxyapatite hybrids: Removal of toxic azo dyes from the aqueous solution. *Int J Biol Macromol.* 2021. Vol. 175.

143. Xiong G. et al. Novel porous graphene oxide and hydroxyapatite nanosheets-reinforced sodium alginate hybrid nanocomposites for medical applications. *Mater Charact.* 2015. Vol. 107.

144. Yang F., Ranjbar A., Semirumi D. T. Enhanced knee joint treatment using a hybrid hyaluronic acid-alginate filler reinforced with hydroxyapatite-titanium nanoparticles for sports-related injuries. *Arabian Journal of Chemistry.* 2024. Vol. 17, № 1. P. 105387.

145. Lü X. et al. In vitro biomechanical and biocompatible evaluation of natural hydroxyapatite / chitosan composite for bone repair. *Journal of Applied Biomaterials and Biomechanics.* 2011. Vol. 9, № 1.

146. Sumathra M. et al. Cisplatin-Loaded Graphene Oxide /Chitosan/ Hydroxyapatite Composite as a Promising Tool for Osteosarcoma-Affected Bone Regeneration. *ACS Omega.* 2018. Vol. 3, № 11.

147. Shen J. et al. Carboxylated chitosan / silver-hydroxyapatite hybrid microspheres with improved antibacterial activity and cytocompatibility. *Materials Science and Engineering C.* 2017. Vol. 78.

148. Mohamed K.R. et al. Fabrication of hydroxyapatite-aluminum silicate / chitosan-gelatin biocomposites with In-Vitro application by preosteoblast cells (MC3T3-E1). *Egypt J Chem.* 2022. Vol. 65, № 11.

149. Mohamed K. R., Beherei H. H., El-Rashidy Z. M. In vitro study of nano-hydroxyapatite / chitosan-gelatin composites for bio-applications. *J Adv Res*. 2014. Vol. 5, № 2.
150. Neacsu I. A. et al. Biomimetic composite scaffold based on naturally derived biomaterials. *Polymers (Basel)*. 2020. Vol. 12, № 5.
151. Becerra J. et al. Chitosan-collagen-hydroxyapatite membranes for tissue engineering. *J Mater Sci Mater Med*. 2022. Vol. 33, № 2.
152. Dubnika A., Loca D., Berzina-Cimdina L. Functionalized hydroxyapatite scaffolds coated with sodium alginate and chitosan for controlled drug delivery. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*. 2012. Vol. 61, № 3.
153. Sadeghianmaryan A. et al. Fabrication of chitosan /alginate/ hydroxyapatite hybrid scaffolds using 3D printing and impregnating techniques for potential cartilage regeneration. *Int J Biol Macromol*. 2022. Vol. 204.
154. Elsayed E. W. et al. Formulation and evaluation of alginate-gelatin hydrogel scaffolds loaded with zinc-doped hydroxyapatite and 5-fluorouracil. *Int J Biol Macromol*. 2023. Vol. 237.
155. Kumar Saini R., Prasad Bagri L., Bajpai A. K. Nano-silver hydroxyapatite based antibacterial 3D scaffolds of gelatin /alginate/ poly (vinyl alcohol) for bone tissue engineering applications. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2019. Vol. 177.
156. Sharma C. et al. Fabrication and characterization of novel nano-biocomposite scaffold of chitosan-gelatin-alginate-hydroxyapatite for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering C*. 2016. Vol. 64.
157. Kuznetsov V., Sukhodub L., Sukhodub L. Structural and Substructural Features of Apatite-biopolymer Composites: the Comparison of Data Obtained Using X-Ray Diffraction and Scanning Electron Microscopy with Electron

Diffraction. *J Nano- and Electronic Physics*. 2014. Vol. 4. P. 04039–04045.

158. Arends J. et al. A calcium hydroxyapatite precipitated from an aqueous solution. An international multimethod analysis. *J Cryst Growth*. 1987. Vol. 84, № 3.

159. Kee C. C., Ismail H., Mohd Noor A. F. Effect of Synthesis Technique and Carbonate Content on the Crystallinity and Morphology of Carbonated Hydroxyapatite. *J Mater Sci Technol*. 2013. Vol. 29, № 8.

160. Neuman W. F., Toribara T. Y., Mulryan B. J. The Surface Chemistry of Bone. IX. Carbonate: Phosphate Exchange. *J Am Chem Soc*. 1956. Vol. 78, № 17.

161. Ślósarczyk A., Paszkiewicz Z., Paluszkiewicz C. FTIR and XRD evaluation of carbonated hydroxyapatite powders synthesized by wet methods. *J Mol Struct*. 2005. Vol. 744–747.

162. Fowler B. O. Infrared studies of apatites. I. Vibrational assignments for calcium, strontium, and barium hydroxyapatites utilizing isotopic substitution. *Inorg Chem*. 1974. Vol. 13, № 1.

163. Kailasanathan C., Selvakumar N., Naidu V. Structure and properties of titania reinforced nano-hydroxyapatite / gelatin bio-composites for bone graft materials. *Ceram Int*. 2012. Vol. 38, № 1.

164. Pereira R. et al. Development of novel alginate based hydrogel films for wound healing applications. *Int J Biol Macromol*. 2013. Vol. 52.

165. Malesu V. K., Sahoo D., Nayak P. L. Chitosan-sodium alginate nanocomposites blended with cloisite 30b as a novel drug delivery system for anticancer drug curcumin. *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol*. 2011. Vol. 3. P. 402–411.

166. Sukhodub L. F. et al. Synthesis and characterization of hydroxyapatite-alginate nanostructured composites for the

controlled drug release. *Mater Chem Phys*. 2018. Vol. 217. P. 228–234.

167. Sukhodub L. B. et al. Composite material based on hydroxyapatite and multi-walled carbon nanotubes filled by iron: Preparation, properties and drug release ability. *Materials Science and Engineering: C*. 2018. Vol. 93. P. 606–614.

168. Strutynska N. et al. Preparation, Characterization, and Thermal Transformation of Poorly Crystalline Sodium- and Carbonate-Substituted Calcium Phosphate. *Eur J Inorg Chem*. 2015. Vol. 2015, № 4.

169. Li A. et al. Mechanical properties, microstructure and histocompatibility of MWCNTs/HAp biocomposites. *Mater Lett*. 2007. Vol. 61, № 8–9. P. 1839–1844.

170. Li Q., Liu J., Xu S. Progress in Research on Carbon Nanotubes Reinforced Cementitious Composites. *Advances in Materials Science and Engineering*. 2015. Vol. 2015.

171. Usui Y. et al. Carbon nanotubes with high bone-tissue compatibility and bone-formation acceleration effects. *Small*. 2008. Vol. 4, № 2.

172. Constanda S. et al. Carbon Nanotubes-Hydroxyapatite Nanocomposites for an Improved Osteoblast Cell Response. *J Nanomater*. 2016. Vol. 2016.

173. Stanislavov A. S. et al. Structural features of hydroxyapatite and carbonated apatite formed under the influence of ultrasound and microwave radiation and their effect on the bioactivity of the nanomaterials. *Ultrason Sonochem*. 2018. Vol. 42.

174. Sukhodub L. B. et al. Single-walled carbon nanotubes loaded hydroxyapatite-alginate beads with enhanced mechanical properties and sustained drug release ability. *Prog Biomater*. 2020. Vol. 9, № 1–2.

175. Siddique R., Mehta A. Effect of carbon nanotubes on properties of cement mortars. *Construction and Building Materials*. 2014. Vol. 50.

176. Skwarek E. et al. Hydroxyapatite composites with multiwalled carbon nanotubes. *Adsorption Science and Technology*. 2017. Vol. 35, № 5–6.

177. Khanal S. P. et al. Improvement of the fracture toughness of hydroxyapatite (HAp) by incorporation of carboxyl functionalized single walled carbon nanotubes (CfSWCNTs) and nylon. *Materials Science and Engineering C*. 2016. Vol. 60.

178. Sukhodub L. B. et al. Graphene oxide influences on mechanical properties and drug release ability of hydroxyapatite based composite material. *Springer Proceedings in Physics*. 2020. Vol. 244. P. 139–149.

179. Kostjukov V. V. et al. Parsing of the free energy of aromatic-aromatic stacking interactions in solution. *Journal of Chemical Thermodynamics*. 2011. Vol. 43, № 10.

180. Tuček J. et al. Emerging chemical strategies for imprinting magnetism in graphene and related 2D materials for spintronic and biomedical applications. *Chem Soc Rev*. 2018. Vol. 47, № 11.

181. Lee C. et al. Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene. *Science (1979)*. 2008. Vol. 321, № 5887.

182. Fu S.Y. et al. Effects of particle size, particle / matrix interface adhesion and particle loading on mechanical properties of particulate-polymer composites. *Compos B Eng*. 2008. Vol. 39, № 6.

183. Ionita M., Pandele M. A., Iovu H. Sodium alginate/graphene oxide composite films with enhanced thermal and mechanical properties. *Carbohydr Polym*. 2013. Vol. 94, № 1.

184. Jiang X. et al. Self-Assembly of Reduced Graphene Oxide into Three-Dimensional Architecture by Divalent Ion Linkage. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2010. Vol. 114, № 51.

185. Sukhodub L. F. et al. Effect of magnetic particles adding into nanostructured hydroxyapatite-alginate composites for orthopedics. *Journal of the Korean Ceramic Society*. 2020. Vol. 57, № 5.

186. Hajinasab A. et al. Preparation and characterization of a biocompatible magnetic scaffold for biomedical engineering. *Mater Chem Phys*. 2018. Vol. 204.

187. Díaz E. et al. Development of Magnetically Active Scaffolds for Bone Regeneration. *Nanomaterials*. 2018. Vol. 8, № 9.

188. Cardoso V. F. et al. Advances in Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications. *Adv Healthc Mater*. 2018. Vol. 7, № 5.

189. Mailänder V., Landfester K. Interaction of nanoparticles with cells. *Biomacromolecules*. 2009. Vol. 10, № 9.

190. Ulbrich K. et al. Targeted Drug Delivery with Polymers and Magnetic Nanoparticles: Covalent and Noncovalent Approaches, Release Control, and Clinical Studies. *Chemical Reviews*. 2016. Vol. 116, № 9.

191. Hu X. et al. Cell-penetrating hyperbranched polyprodrug amphiphiles for synergistic reductive milieu-triggered drug release and enhanced magnetic resonance signals. *J Am Chem Soc*. 2015. Vol. 137, № 1.

192. Tian X. et al. Functional magnetic hybrid nanomaterials for biomedical diagnosis and treatment. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2018. Vol. 10, № 1.

193. Hervault A., Thanh N. T. K. Magnetic nanoparticle-based therapeutic agents for thermo-chemotherapy treatment of cancer. *Nanoscale*. 2014. Vol. 6, № 20.

194. Lima-Tenório M. K. et al. Magnetic nanoparticles: In vivo cancer diagnosis and therapy. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015. Vol. 493, № 1–2.
195. Périgo E. A. et al. Fundamentals and advances in magnetic hyperthermia. *Applied Physics Reviews*. 2015. Vol. 2, № 4.
196. Pogrebñjak A. et al. Composite material with nanoscale architecture based on bioapatite, sodium alginate and ZnO microparticles. *Ceram Int*. 2019.
197. Berridge M. V., Herst P. M., Tan A. S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*. 2005. Vol. 11, № SUPPL.
198. Dwivedi S. et al. Reactive Oxygen Species Mediated Bacterial Biofilm Inhibition via Zinc Oxide Nanoparticles and Their Statistical Determination. *PLoS One*. 2014. Vol. 9, № 11.
199. Sukhodub L. et al. Effect of zinc oxide micro- and nanoparticles on cytotoxicity, antimicrobial activity and mechanical properties of apatite-polymer osteoplastic material. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2024. Vol. 150. P. 106289.
200. Huang Y., Wang L. Experimental studies on nanomaterials for soil improvement: a review. *Environ Earth Sci*. 2016. Vol. 75, № 6. P. 497.
201. Sukhodub L. B. et al. Hydroxyapatite-biopolymers-ZnO composite with sustained Ceftriaxone release as a drainage system for treatment of purulent cavities. *Carbohydr Polym*. 2021. Vol. 266.
202. Nilavukkarasi M., Vijayakumar S., Prathipkumar S. Capparis zeylanica mediated bio-synthesized ZnO nanoparticles as antimicrobial, photocatalytic and anti-cancer applications. *Mater Sci Energy Technol*. 2020. Vol. 3. P. 335–343.
203. G. L. et al. Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles using fruit extract of *Cleome viscosa* L.:

Assessment of their antibacterial and anticancer activity. *Karbala International Journal of Modern Science*. 2018. Vol. 4, № 1. P. 61–68.

204. Ahmed S. et al. A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: A green expertise. *Journal of Advanced Research*. 2016. Vol. 7, № 1.

205. Alshameri A. W., Owais M. Antibacterial and cytotoxic potency of the plant-mediated synthesis of metallic nanoparticles Ag NPs and ZnO NPs: A review. *OpenNano*. 2022. Vol. 8. P. 100077.

206. Chandrasekaran S., Anusuya S., Anbazhagan V. Anticancer, anti-diabetic, antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: A comparative analysis. *J Mol Struct*. 2022. Vol. 1263.

207. He T. et al. One-step co-doping of ZnO and Zn²⁺ in osteoinductive calcium phosphate ceramics with synergistic antibacterial activity for regenerative repair of infected bone defect. *J Mater Sci Technol*. 2023. Vol. 163. P. 168–181.

208. Turlybekuly A. et al. Synthesis, characterization, in vitro biocompatibility and antibacterial properties study of nanocomposite materials based on hydroxyapatite-biphasic ZnO micro- and nanoparticles embedded in Alginate matrix. *Materials Science and Engineering: C*. 2019. Vol. 104.

209. Padmavathy N., Vijayaraghavan R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles-an antimicrobial study. *Sci Technol Adv Mater*. 2008. Vol. 9, № 3.

210. Umar H., Kavaz D., Rizaner N. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Albizia lebeck* stem bark, and evaluation of its antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities on human breast cancer cell lines. *Int J Nanomedicine*. 2018. Vol. 14. P. 87–100.

211. Song K. et al. Dynamic cytotoxicity of ZnO nanoparticles and bulk particles to *Escherichia coli*: A view

from unfixed ZnO particle:Zn²⁺ ratio. *Aquatic Toxicology*. 2020. Vol. 220. P. 105407.

212. Dobrozhan O. et al. Structural properties and chemical composition of ZnO films deposited onto flexible substrates by spraying polyol mediated nanoinks. *Superlattices Microstruct.* 2020. Vol. 140. P. 106455.

213. Uzun M., Anand S. C., Shah T. In Vitro Characterisation and Evaluation of Different Types of Wound Dressing Materials. *Journal of Biomedical Engineering and Technology*. 2013. Vol. 1, № 1. P. 1–7.

214. Pogozhykh O. et al. Towards biobanking technologies for natural and bioengineered multicellular placental constructs. *Biomaterials*. 2018. Vol. 185. P. 39–50.

215. Saxena P., Harish. Toxicity assessment of ZnO nanoparticles to freshwater microalgae *Coelastrella terrestris*. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019. Vol. 26, № 26.

216. Sukhodub L. B. et al. C60 fullerene loaded hydroxyapatite-chitosan beads as a promising system for prolonged drug release. *Carbohydr Polym.* 2019. Vol. 223.

217. DOI K. et al. Inorganic polyphosphate adsorbed onto hydroxyapatite for guided bone regeneration: An animal study. *Dent Mater J.* 2014. Vol. 33, № 2.

218. Chen C.-W. et al. Synthesis, characterization, and dispersion properties of hydroxyapatite prepared by mechanochemical-hydrothermal methods. *J. Mater. Chem.* 2004. Vol. 14, № 15.

219. Elliott J. C. Calcium Phosphate Biominerals. *Rev Mineral Geochem.* 2002. Vol. 48, № 1.

220. Palasz A. T. et al. The effect of different zwitterionic buffers and PBS used for out-of-incubator procedures during standard in vitro embryo production on development, morphology and gene expression of bovine embryos. *Theriogenology*. 2008. Vol. 70, № 9.

221. Tanase C. E., Popa M. I., Verestiuc L. Biomimetic bone scaffolds based on chitosan and calcium phosphates. *Mater Lett*. 2011. Vol. 65, № 11.

222. Oberdörster E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environ Health Perspect*. 2004. Vol. 112, № 10.

223. Goodarzi S. et al. Fullerene: biomedical engineers get to revisit an old friend. *Materials Today*. 2017. Vol. 20, № 8.

224. Lyon D. Y. et al. Antibacterial Activity of Fullerene Water Suspensions: Effects of Preparation Method and Particle Size. *Environ Sci Technol*. 2006. Vol. 40, № 14. P. 4360–4366.

225. Qi H. et al. Megator, an Essential Coiled-Coil Protein that Localizes to the Putative Spindle Matrix during Mitosis in *Drosophila*. *Mol Biol Cell*. 2004. Vol. 15, № 11.

226. Rabea E. I. et al. Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action. *Biomacromolecules*. 2003. Vol. 4, № 6.

227. Sukhodub L. et al. Hybrid composite based on chitosan matrix mineralized by polyphasic calcium orthophosphates with enhanced bioactivity and protein adsorption capacity. *Mater Today Commun*. 2022. Vol. 31.

228. Elliott J. Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates. *1st ed. Amsterdam-London-NewYork-Tokyo: Elsevier Science*. 1994. Vol. 18. undefined-404 p.

229. Brown W. E., Gregory T. M. Calcium pyrophosphate crystal chemistry. *Arthritis and Rheumatology*. 1976.

230. Patrulea V. et al. Chitosan as a starting material for wound healing applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2015. Vol. 97. P. 417–426.

231. Ying R. et al. Preparation and properties of a highly dispersed nano-hydroxyapatite colloid used as a

reinforcing filler for chitosan. *Materials Science and Engineering: C*. 2020. Vol. 110. P. 110689.

232. Ying R.-L. et al. Synthesis of ultralong hydroxyapatite micro / nanoribbons and their application as reinforcement in collagen scaffolds for bone regeneration. *Ceram Int*. 2019. Vol. 45, № 5. P. 5914–5921.

233. Yang X. et al. Facile Synthesis of Octacalcium Phosphate Nanobelts: Growth Mechanism and Surface Adsorption Properties. *The Journal of Physical Chemistry C*. 2010. Vol. 114, № 14. P. 6265–6271.

234. Shen D. et al. Synthesis and enhanced bone regeneration of carbonate substituted octacalcium phosphate. *Biomed Mater Eng*. 2017. Vol. 28, № 1. P. 9–21.

235. Bian J. J., Kim D. W., Hong K. S. Phase transformation and sintering behavior of Ca₂P₂O₇. *Mater Lett*. 2004. Vol. 58, № 3–4.

СПИСОК РОБІТ АВТОРІВ МОНОГРАФІЇ З ПРОБЛЕМАТИКИ

1. Sukhodub L. B. et al. Microwave assisted formation of the chitosan / hydroxyapatite scaffold for bone tissue regeneration. *Proceedings of the 2018 IEEE 8th International Conference on Nanomaterials: Applications and Properties, NAP 2018*. 2018.

2. Sukhodub L. B., Kumeda M. O., Sukhodub L. F. Influence of MW irradiation on the hydroxyapatite / chitosan composite structure and drug release kinetics. *IFMBE Proceedings*. 2020. Vol. 77. P. 343–348.

3. Pogrebnyak A. et al. Composite material with nanoscale architecture based on bioapatite, sodium alginate and ZnO microparticles. *Ceram Int*. 2019. Vol. 45, № 6. P. 7504–7514.

4. Sukhodub L. F. et al. Hydroxyapatite and brushite coatings on plasma electrolytic oxidized Ti6Al4V alloys obtained by the thermal substrate deposition method. *Mater Lett*. 2019. Vol. 250. P. 163–166.

5. Sukhodub L. et al. Hydroxyapatite and zinc oxide based two-layer coating, deposited on Ti6Al4V substrate. *MM Science Journal*. 2019. Vol. 2019, № December. P. 3494–3499.

6. Sukhodub L. B. et al. Single-walled carbon nanotubes loaded hydroxyapatite–alginate beads with enhanced mechanical properties and sustained drug release ability. *Prog Biomater*. 2020. Vol. 9, № 1–2.

7. Sukhodub L. B. et al. Fullerene c60-containing hydroxyapatite / polymer polyelectrolyte composite for dental applications. *Springer Proceedings in Physics*. 2020. Vol. 244. P. 129–137.

8. Sukhodub L. B. et al. The effect of graphene oxide on the properties and release of drugs from apatite-polymer

composites. *Journal of Nano- and Electronic Physics*. 2020. Vol. 12, № 4.

9. Sukhodub L. B. et al. C60 fullerene loaded hydroxyapatite-chitosan beads as a promising system for prolonged drug release. *Carbohydr Polym*. 2019. Vol. 223.

10. Sukhodub L. B. et al. Graphene oxide influences on mechanical properties and drug release ability of hydroxyapatite based composite material. *Springer Proceedings in Physics*. 2020. Vol. 244. P. 139–149.

11. Sukhodub L. F., Kumeda M. O., Sukhodub L. B. Biodegradable Conductive Nerve Conduits Based on Carbon Apatite-Biopolymer Biomaterials: Synthesis and Properties | Біорозкладні провідні нервові канали на основі вуглецево-апатит-біополімерних біоматеріалів: синтез та властивості. *Journal of Nano- and Electronic Physics*. 2023. Vol. 15, № 3.

12. Sukhodub L. F. et al. Bioactive polymer-apatite coatings with antimicrobial properties on model titanium implants. *Journal of Nano- and Electronic Physics*. 2020. Vol. 12, № 3.

13. Kumeda M. O., Sukhodub L. F. The effect of microwave irradiation on the synthesis of hydroxyapatite / biopolymer nanocomposites. *Himia, Fizika ta Tehnologija Poverhni*. 2021. Vol. 12, № 3. P. 201–215.

14. Sukhodub L. et al. ZnO coatings on Ti6Al4V substrate: Structural and antibacterial properties in literature review and research. *Management Systems in Production Engineering*. 2020. Vol. 28, № 4. P. 318–324.

15. Sukhodub L. et al. Hybrid composite based on chitosan matrix mineralized by polyphasic calcium orthophosphates with enhanced bioactivity and protein adsorption capacity. *Mater Today Commun*. 2022. Vol. 31.

16. Sukhodub L. B. et al. Hydroxyapatite-biopolymers-ZnO composite with sustained Ceftriaxone release as a

drainage system for treatment of purulent cavities. *Carbohydr Polym.* 2021. Vol. 266.

17. Kumeda M. et al. Sorption Composite Based on Hydroxyapatite and Biopolymers for Drainage of Purulent Cavities. *Proceedings of the 2020 IEEE 10th International Conference on «Nanomaterials: Applications and Properties», NAP 2020.* 2020.

18. Sukhodub L. F., Sukhodub L. B., Kumeda M. O. Physical and chemical factors influencing the porosity of apatite-biopolymer composites. *Himia, Fizika ta Tehnologija Poverhni.* 2022. Vol. 13, № 3. P. 301–310.

19. Kumeda M. et al. Biodegradable Nanostructured Nerve Conductors: Electrical Properties and Adsorption Kinetic Models. *Proceedings of the 2021 IEEE 11th International Conference «Nanomaterials: Applications and Properties», NAP 2021.* 2021.

20. Sukhodub L. et al. Freeze-Thawing Condition to Obtain the Chitosan-Calcium Phosphate Composites with Controllable Degradation Degree. *Proceedings of the 2023 IEEE 13th International Conference Nanomaterials: Applications and Properties, NAP 2023.* 2023. P. NRA031–NRA035.

21. Sukhodub L. et al. Effect of zinc oxide micro- and nanoparticles on cytotoxicity, antimicrobial activity and mechanical properties of apatite-polymer osteoplastic material. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2024. Vol. 150.

22. Sukhodub L. et al. Electrical properties of biodegradable chitosan-calcium phosphate nerve conduits doped with inorganic nanoparticles. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 2023. Vol. 678.

23. Kumeda M. O., Sukhodub L. B., Sukhodub L. F. Bioactive Calcium Phosphate-Polymer Nerve Conduits with Carbon-Based and Magnetite Nanoparticles: HPLC study. *2023 IEEE Nanotechnology Materials and Devices Conference, NMDC 2023.* 2023. P. 279–280.

24. Panda A. et al. Selection Of Materials Based On Hydroxylapatite Using The Method Of Analysis Of Hierarchy. *MM Science Journal*. 2023. Vol. 2023-June. P. 6472–6477.

25. Sukhodub L. B., Kumeda M. O., Sukhodub L. F. Effect of Metal Ions on the Porosity and Antimicrobial Properties of ZnO-Alginate-Chitosan Composites. Springer *Proceedings in Physics*. 2023. Vol. 297. P. 149–159.

26. Sukhodub L. et al. Metal ions doping effect on the physicochemical, antimicrobial, and wound healing profiles of alginate-based composite. *Carbohydr Polym*. 2023. Vol. 304.

27. Sukhodub L. et al. Influence of Carbon Nanoparticles on the Conductive Properties of Composite Material for Nerve Conductors. *AIP Conference Proceedings*. 2023. Vol. 2976, № 1.

ДОДАТОК А

Таблиця А.1 – Узагальнення результатів дослідження композитних матеріалів різного складу

Полімер	Кераміка	НЧ	Додаткові складові	Головні результати	Посилання
Альгінат	НА	–	–	Композити мали прийнятну біоактивність і здатність до біологічного розкладання	[138]
Альгінат	НА	–	–	Аерогелі проявляють текстурні та біологічні властивості, адекватні для інженерії кісткової тканини	[139]
Альгінат	НА	–	Гідроксиетил-целюлоза	Скафолд, що містить НА, довів збільшення популяцій клітин	[140]
Альгінат	НА	ВНТ	–	Адсорбційна здатність іонів Co(II) $347,8 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$	[141]
Альгінат	НА	GO	–	Адсорбційна система дотримується кінетичної моделі псевдодругого порядку та моделі ізотерми Фрейндліха	[142]
Альгінат	НА	GO	–	НА-композити доводять посилену проліферацію клітин	[143]
Альгінат	НА	НЧ Ti	Гіалуронова кислота	Наявність композитних каркасів збільшує ріст і проліферацію клітин остеобластів	[144]

Продовження таблиці А.1

Полімер	Кераміка	НЧ	Додаткові складові	Головні результати	Посилання
Хітозан	НА	–	–	Міцність на стиск 26,2–94,8 МПа	[145]
Хітозан	НА	GO	Цисплатин	Квіткова морфологія з діаметром пор від 4,5–7,2 нм. 67,34 % цисплатину було вивільнено з композиту протягом 10 днів	[146]
Хітозан	НА	НЧ Ag	–	Діапазон розмірів частинок від 1,78–4,48 мкм, співвідношення Ca/P 1,65 для 10 % CMCS/Ag-Нар. Гібридні мікросфери довели відмінну бактерицидну властивість і біосумісність	[147]
Хітозан / Желатин	НА	–	Алюмосилікат	Міцність на стиск у діапазоні від 3,1 до 7,3 МПа і модуль Юнга в діапазоні від 0,11 ГПа до 0,21 ГПа. Зразки підсилюють проліферацію преостеобластних клітин	[148]
Хітозан / Желатин	НА	–	–	Кісткоподібний апатитовий шар на композитній поверхні	[149]
Хітозан / Желатин	НА / ТКФ	–	–	Рівномірний розподіл порошку Нар і кісткової золи з порами більше ніж 100 мкм	[150]

Продовження таблиці А.1

Полімер	Кераміка	НЧ	Додаткові складові	Головні результати	Посилання
Хітозан	НА	–	Колаген	Розміри пор у діапазоні від 80 нм до 2 мкм, Са/Р 1,65. Найвищу адгезію клітин через 48 год було отримано для мембран хітозану з найвищим вмістом гідроксиапатиту та колагену	[151]
Хітозан / Альгінат	НА	–	Лідокаїну гідрохлорид	Вивільнення лідокаїну може зберігатися протягом 60 год	[152]
Хітозан / Альгінат	НА	–	–	Включення nHA підвищувало еластичні модулі, підвищувало життєздатність і прикріплення клітин	[153]
Альгінат / Желатин	Zn-НА	–	5-фторурацил	5-FU був повністю включений у гідрогель без хімічної взаємодії	[154]
Альгінат / Желатин	НА	НЧ Ag	ПВС	Міцність на стиск у межах 4,02–29,5 МПа і модуль Юнга 34–198 МПа	[155]
Хітозан / Желатин / альгінат	НА	–	–	nHAp забезпечив механічну стабільність і нанотопографічні характеристики матриці	[156]

Наукове видання

**Суходуб Людмила Борисівна,
Кумеда Марія Олександрівна,
Суходуб Леонід Федорович**

**ЛЕГОВАНІ НАНОЧАСТИНКАМИ
АПАТИТ-БІОПОЛІМЕРНІ МАТЕРІАЛИ
ДЛЯ ОСТЕОПЛАСТИКИ**

Монографія

Художнє оформлення обкладинки М. О. Кумеди
Редакторка І. О. Кругляк
Комп'ютерне верстання: Л. Б. Суходуб, М. О. Кумеда

Формат 60×84/16. Ум. друк. арк. 9,53. Обл.-вид. арк. 7,48. Тираж 300 пр. Зам. №

Видавець і виготовлювач
Сумський державний університет,
вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 3062 від 17.12.2007.