


Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

 Заведующий кафедрой
Е. И. Шишацкая
инициалы, фамилия

« 23 » июня 2017 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01–Биология

"Конструирование полимерных микрочастиц для инкапсулирования
лекарств"

Научный руководитель

подпись, дата

Выпускник

подпись, дата




д.б.н., доцент Е.И. Шишацкая

Д.А. Чернова

Содержание

Введение	2
1 Обзор литературы	5
1.1 Материалы, используемые для замещения костной ткани	7
1.2 Хитин-содержащие биологические соединения	10
1.3 Полигидроксиалканоаты – биodeградируемые полимеры	13
1.4 Гидроксиапатит	16
1.5 Композитные материалы	18
2. Материалы и методы	23
2.1 Создание композитных матриц	24
2.2.1 Санитарно-химические испытания (рН)	25
2.2.2 Определение характеристик поверхности трехмерных матриц	26
2.2.3 Исследование суммарной пористости.	28
2.2.4 Исследование влагопоглощения композитов	29
2.2.5 Испытание на сжатие.	29
2.3 Оценка биологических свойств – цитотоксичность	30
3 Результаты	31
Заключение	Ошибка! Закладка не определена.
Список использованных источников	32

Введение

Одним из приоритетов новых технологий является разработка и исследование материалов нового поколения с заданными свойствами. На современном этапе развития медицины в области хирургии и стоматологии для восстановления костной ткани человека широко используются материалы на основе фосфатов кальция. Существует необходимость в улучшении их физико-химических (механических, оптических, сорбционных) и биохимических свойств. Считается, что идеальные имплантаты, керамика и стоматологические цементы должны иметь структуру, состав и морфологию, идентичные костной ткани человека.

С помощью современных методов биотехнологии получено множество экологичных материалов для медицинских применений – функциональные имплантируемые изделия, лекарства нового поколения направленного действия, технологии для замещения дефектов тканей и функций органов и систем.

Существует необходимость поиска специальных биосовместимых материалов для клеточной и тканевой инженерии, что обуславливает актуальность исследования [1].

Зачастую, большое количество полезных свойств материалов не получается совместить в изделии, которое состоит из какого-то одного материала. Тогда используют композиции, которые содержат в себе материалы из разных групп – полимеры, керамики, металлы, и др. Чаще всего соотношение структур компонентов в композитах неодинаковое, один из них является наполнителем, а другой выполняет роль связующего. С помощью подбора состава и свойств наполнителя и матрицы, их количественного соотношения и пространственной ориентации элементов наполнителя, можно создать композиционные материалы, которые обладают требуемыми физико-механическими и биологическими свойствами.

Разработка биоразрушаемого композита состоит из ряда стандартных шагов – лабораторное исследование свойств компонентов в отдельности и

композитов с различным их соотношением, проведение санитарно-химических испытаний; оценка биологических свойств - токсичности, иммуногенности, аллергенности, биосовместимости, гемосовместимости, биоразрушаемости; оценка функциональности на моделях с использованием лабораторных животных и далее в клинических испытаниях изделий медицинского назначения.

Цель:

Создание композитных матриц на основе поли-3-гидрокбутирата (ПЗГБ) в сочетании с гидроксиапатитом (ГА) и хитозаном (Х) в различных соотношениях, изучение свойств полученных композитов и оценка перспективы их использования в инженерии костной ткани.

Задачи:

- С помощью метода прямого холодного прессования получить композиты из ПГА (с добавлением хитозана и ГА).
- Оценить санитарно-химические и физико-механические свойства полученных образцов.
- Провести анализ биосовместимости полученных композитных образцов по цитотоксичности и гемосовместимости в сравнении с чистым ПГА.

Объекты исследований: таблетированные формы из ПГА, ГА и хитозана.

Предмет работы: свойства (санитарно-химические, физико-механические и цитотоксические) композиционных материалов, полученных из ПГА, ГА и хитозана.

В работе проведены исследования:

- Изучение физико-механических свойств при сжатии на тестовой системе Instron 5564.
- Определение посредством электронной микроскопии характеристик поверхности трёхмерных матриц.
- Исследование гидрофильности поверхности образцов.

1 Обзор литературы

Материалы биомедицинского назначения, предназначенные для контакта со средой живого организма, должны иметь сочетание необходимых биологических и физико-механических свойств. Например, биологическая совместимость на уровне культур клеток, а также тканей макроорганизма [2]; отсутствие токсичности изделия и образуемых продуктов его биodeградации; материал должен обладать каркасной функцией, обеспечивать свободный доступ в зону имплантации субстратов и отток продуктов метаболизма. Так же материал должен быть пригоден для стерилизации общепринятыми способами, обладать устойчивостью к воздействию агрессивных компонентов внутренней среды тела; важным аспектом технологии такого материала является наличие конструкционных свойств – такой материал должен быть пригоден к переработке в изделия с использованием доступного оборудования общепринятыми методами.

К материалам, пригодным для использования в восстановительной хирургии и трансплантологии, относятся материалы с разными функциональными характеристиками и базовыми свойствами и композиты на их основе. Высокомолекулярные полимерные соединения являются одним из наиболее предпочтительных классов таких материалов, так как они разнообразны, пластичны и имеют различную структуру и свойства, обладают высокой способностью к композиции и смешению с материалами из различных групп. Полимерные материалы, которые способны к биоразрушению, являются особо востребованными для целей тканевой инженерии [8].

Способы разработки каркасов для ТИ должны позволять конструировать матрицы для заселения клетками с заданными свойствами и имплантировать их с сохранением исходных свойств конструкций. Применение таких биоконструкций – scaffold+клетки, с применением факторов стимулирования регенерации ткани, в том числе ее соответствующей дифференцированности и неоваскуляризации представляет современное

революционное направление в реконструктивной хирургии и терапии неизлечимых заболеваний [33]; ТИ имеет огромные перспективы для лечения патологий опорно-двигательного аппарата с критическими дефектами костной и хрящевой тканей; полимеры при использовании в композициях для костной пластики позволяют варьировать свойства конечных изделий и подбирать их комплекс к ситуации каждого клинического случая.

Свойства полимерных материалов по отношению к механическим и температурным нагрузкам, химическая структура/стабильность в агрессивных средах, скорость биodeградации важны для работы с ними. По отношению к воздействию температуры полимеры классифицируются на два типа: термоотверждаемые и термопластичные [20]. Термопластичные полимеры могут быть использованы для получения имплантатов различной конфигурации из расплавов путем формования, прессования, экструзии.

Термопласты не имеют межмолекулярных связей и чаще всего состоят из линейных полимерных цепей. Термоотверждаемые полимеры полимеризуются, приняв свою окончательную форму, и не могут быть переформованы с целью изменения формы в результате нагрева.

По способу получения полимеры делятся на аддитивные (полимеры, полученные ступенчатой полимеризацией) и конденсационные. Аддитивными полимерами являются, полиэтилен, полиметилметакрилат, они синтезируются в реакции присоединения свободного радикала из ненасыщенных мономеров, содержащих двойные углеродно-углеродные связи. Конденсационные полимеры образуются путем совместной реакции двух полимеров, в результате которой выделяется вещество с небольшим молекулярным весом [16]. К ним относятся полиамиды [17, 18, 19]. Некоторые конденсационные полимеры могут быть биоразрушаемыми.

Величина молекулярной массы и степень полимеризуемости являются важнейшими характеристиками полимеров. Реакции полимеризации приводят к распределению отрезков цепи в полимере и к распределению молярной массы (M_n).

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – класс активно изучаемых природных полимеров, синтезируемых микроорганизмами. ПГА - линейные полиэфиры, синтезируемые микроорганизмами, их активно изучают с конца 80-х – начала 90-х годов XIX века. Этот класс полимеров имеет широкие перспективы применения в различных сферах (медицина, фармакология). Активно ПГА изучают с целью применения в медицине в качестве материала для изготовления хирургических имплантируемых элементов, тканевой инженерии и создания биоискусственных органов, а также для иммобилизации и депонирования биологически-активных молекул и лекарственных средств. В связи с высокой биосовместимостью, медленной биодegradацией и высокой механической прочностью ПГА имеют широкие перспективы для применения в ортопедии и травматологии.

Кристаллические полимеры не могут быть получены на 100% кристаллическими, они не имеют строго определенной точки плавления (ТМ) и плавятся в некотором диапазоне температур. Кристалличность влияет на многие свойства полимеров, - с увеличением кристалличности снижается проницаемость полимера для диффузии жидкостей, так как диффузия малых молекул часто может происходить только через аморфные части [29].

1.1 Материалы, используемые для замещения костной ткани

Возрастающий интерес к увеличению качества и продолжительности человеческой жизни является основной чертой нашего века. Создание материалов для искусственных органов и тканей может помочь достичь подобную цель. За последние 30 лет использовано более 40 различных материалов для лечения, восстановления и замены более 40 различных частей человеческого тела (кожные покровы, кровеносные сосуды, нервные и мышечные волокна, костная ткань) [3]. По словам проф. Л. Хенча, разработка заменителей костной ткани знаменует революционный этап в развитии человечества: “Тысячелетия тому назад открытие того, что огонь может

превратить бесформенную глину в керамическую утварь, привело к возникновению земледельческой цивилизации и радикально улучшило качество и продолжительность жизни. Другая революция произошла уже в наши дни в области использования керамики в медицинских целях. Это инновационное применение специально спроектированных керамических материалов для замены и лечения больных или поврежденных частей тела” [5]. Эту область современного материаловедения называют биокерамикой, она охватывает материалы для эндопротезов в травматологии и ортопедии, пломбирочные материалы в стоматологии, имплантаты в челюстно-лицевой хирургии, медико-косметические средства [9].

Сейчас рынок биокерамики имеет емкость ~2.3 млрд.\$, прогнозируемый годовой прирост составляет 7-12 %, объемы требуемых материалов оцениваются на уровне десятков тонн. Число больных, нуждающихся в операциях по восстановлению целостности кости, достаточно большое: для США эта цифра составляет порядка 1 млн. человек.

В настоящее время показано, что ГАП-керамика с высокоорганизованной пористой структурой коралла резорбируется значительно быстрее, чем ГАП керамика с хаотично распределенными пораами. Плотная керамика из ГАП, ТКФ или их комбинации показывает слабую тенденцию к биорезорбции. Пористая ТКФ керамика резорбируется быстрее, чем ГАП керамика с аналогичной структурой материала.

Микропористость в некоторых пределах способствует биорезорбции материала, но при ее высокой степени может приводить к воспалительной реакции окружающих тканей [14].

Некоторые вопросы применения ГАП в клинике остаются невыясненными, несмотря на большое количество информации, полученной из экспериментов на животных с ГАП имплантатами. В случае пористых имплантатов в виде блоков, результаты исследований на животных подтверждают, что существуют ограничения скорости и глубины, на которую кость может проникать в эти материалы. В исследованиях на животных

показана возможность применения этих материалов для сегментарного замещения длинных костей, но следует отметить, что эти эксперименты проводили для малых по объему полостей, а также то, что скорость прорастания костной ткани у животных больше, чем у людей.

В исследованиях показано, что остатки имплантируемых материалов в ряде случаев сохраняются через продолжительный период после имплантации. Сохранение этих остатков не исключает возможной эффективности этих материалов, так как при аллоимплантации иногда возникают аналогичные ситуации.

В выборе характеристик биорезорбции существует два подхода. Одни утверждают, что имплантируемый материал, который позволяет более или менее быстро прорасти новой костной тканью, более предпочтителен, так как место имплантации заполняется костной тканью через минимальное время. Другие утверждают, что лучше имплантат, который допускает первоначальное проникновение и созревание костной ткани, а затем резорбируется. Это мнение основано на предположении, что при данном типе имплантата допустимо увеличение нагрузки на место имплантации в течение долгого периода заживления.

В случае с нерезорбируемыми пористыми ГАП имплантатами, есть подтверждения, что в период до года костная ткань глубоко проникает внутрь их структуры. Но здесь возникает проблема изменения структуры костной ткани, которая находится в порах керамического материала и не испытывает нагрузок, ведь нужно помнить, что для сохранения жизнеспособности кость должна испытывать механические нагрузки.

Костная ткань не врастает в плотные ГАП-материалы. Эти материалы нельзя применять для замещения дефектов в частях, которые подвержены напряжениям на изгиб и растяжение. Их можно использовать в местах, которые испытывают напряжение сжатия.

Из всех известных синтетических материалов материалы на основе фосфатов кальция являются наиболее биосовместимыми с костной тканью.

Имплантаты из ГАП/ТКФ материалов не вызывают реакции воспаления. Также, эти материалы обладают остеокондуктивными свойствами. Их применение в качестве заместителей костной ткани ограничивает недостаточная надёжность и недолговечность, что обусловлено их низкой механической прочностью и трещиностойкостью.

Введение в ГАП-керамику клеток костного мозга или факторов роста значительно увеличивает вращение костной ткани в керамику, повышает скорость резорбции керамики и ее остеогенные свойства.

1.2 Хитин-содержащие биологические соединения

Впервые хитин был обнаружен в грибах в 1811 году профессором Генри Брекнотом, когда он являлся профессором естественной истории и директором ботанических садов при Академии наук в Нанси (Франция) [4]. В 1830-е годы это вещество было выделено у насекомых и названо хитином. Профессор С. Роже обнаружил хитозан в 1859 году, хотя свое нынешнее название хитозан получил в 1894 году. На протяжении следующего столетия было проведено множество фундаментальных исследований этих соединений. Повышенный интерес к этим веществам возник в 30-е годы и в начале 40-х годов двадцатого века, свидетельством чему служат почти 50 патентов, однако дефицит соответствующих производственных мощностей и конкуренция со стороны синтетических полимеров помешали коммерческому развитию применения хитина и хитозана [6]. В первой половине 20 века к хитину и его производным был проявлен заслуженный интерес, в частности к нему имели непосредственное отношение три Нобелевских лауреата: Е. Fischer (1903) - синтезировал глюкозамин, Р. Karrer (1929) - провел деградацию хитина с помощью хитиназ, и, наконец, W.N. Haworth (1939) установил абсолютную конфигурацию глюкозамина.

Хитозан — аминсахар, макромолекулы состоят из случайно-связанных β -(1-4) D-глюкозаминовых звеньев и N-ацетил-D-глюкозамин. По своей

химической структуре хитозан относится к полисахаридам. Молекула хитозана содержит в себе большое количество свободных аминогрупп, что позволяет ему связывать ионы водорода и приобретать избыточный положительный заряд. Отсюда и идёт свойство хитозана, как хорошего катионита [10].

Это также объясняет способность хитозана связывать и прочно удерживать ионы различных металлов (в том числе и радиоактивных изотопов, а также токсичных элементов).

Хитозан получают из панцирей красноногих крабов или из низших грибов путём удаления ацила, который придаёт жёсткость хитину.

В России около 40 лет назад были начаты широкие исследования хитина и хитозана. За это время в нашей стране проведено 8 конференций, посвященных перспективам применения этих полимеров в различных областях. В 2000 г. организовано Российское Хитиновое Общество. На европейском и международном уровнях регулярно проводятся конгрессы по хитину и хитозану, что свидетельствует о всё возрастающем интересе к этим биополимерам. Хитозан получают из хитина деацетилированием с помощью щелочей. Деацетилирование - это реакция обратная ацетилированию, т.е. замещение атомом водорода ацетильной группы CH_3CO . Поэтому хитозан может иметь структурную неоднородность, которая обусловлена неполной завершённостью реакции деацетилирования. Содержание остаточных ацетильных групп CH_3CO может достигать 30% и характер распределения этих групп может заметно влиять на некоторые физико-химические свойства хитозана. Таким образом, при неполноацетилировании молекула хитозана состоит из случайно-связанных N-ацетил- β -D-глюкозаминовых звеньев (основные звенья) и β -D-глюкозаминовых звеньев (остаточные звенья) [21].

Внешне хитозан представляет собой чешуйки размером менее 10 мм или порошки различной тонины помола, от белого до кремового цвета, часто с желтоватым, сероватым или розоватым оттенком, без запаха. Другими свойствами сухого хитозана являются электризуемость и вязущий вкус. По токсичности хитозан относится к 4-му классу и считается безопасным. Хитозан

показал себя как эффективный радиопротектор, сорбент токсинов и тяжелых металлов в организме, элемент лечебно-профилактического питания, средство защиты растений, иммуномодулятор в ветеринарии, а также в других областях [22, 23, 24, 25]. В наше время известно более 70 направлений применения хитозана. Японские специалисты назвали хитозан веществом XXI века.

Для расширения сферы применения хитозана в медицине большое значение имеет его растворимость при нейтральных значениях pH, что может быть обеспечено снижением его молекулярной массы. Молекулярная масса хитозанов, получаемых из панциря ракообразных химическими и ферментативными способами, высока и составляет до 103 кДа. Такие хитозаны растворимы только в водных растворах органических и минеральных кислот, что не всегда удобно. Для получения хитозана, растворимого в нейтральных растворах (при pH = 7), исходный хитозан подвергают гидролизу с помощью химических реагентов или ферментов. В качестве гидролизующего реагента чаще всего применяется пергидроль в виде 3-10% водного раствора при умеренном нагревании до 30-50°C [28]. Гидролиз снижает молекулярную массу хитозана и улучшает его растворимость в слабокислых водных растворах. При этом получается полидисперсный по молекулярной массе продукт, растворимый в разбавленных растворах кислот при pH > 5.

В качестве ферментных препаратов для деградации хитина и хитозана применяют комплексы ферментов различного происхождения. Это могут быть ферментные комплексы гепатопанкреаса краба или криля, а также панкреатин из поджелудочной железы крупного рогатого скота. Но чаще для этой цели применяют ферментные комплексы с хитинолитической активностью микробиологического происхождения. Применение ферментных препаратов для деградации хитозана позволяет получать низкомолекулярные хитозаны, растворимые в воде и обладающие при этом на порядок более высокой биологической активностью по сравнению с высокомолекулярными хитозанами. Такие свойства низкомолекулярных хитозанов существенно расширяют сферу их применения в качестве медицинских полимеров.

Например, на основе низкомолекулярных хитозанов разработаны эффективные радиопротекторы, хиральные селекторы различных субстанций медицинского назначения, антикоагулянты с высокой гепариновой активностью.

В настоящее время известно более 70 направлений использования хитина и хитозана в различных сферах жизнедеятельности человека. Наиболее важными среди них являются медицина (в составе лечебных препаратов, мазей, раневых покрытий, для изготовления хирургических нитей); сельское хозяйство (в составе удобрений, средств защиты растений и стимуляторов роста); текстильная промышленность (при шлихтовке, противоусадочной и водоотталкивающей обработке тканей); производство косметических средств (в составе кремов, лосьонов, гелей, шампуней); пищевая промышленность (как осветлитель, стабилизатор, эмульгатор); бумажная промышленность (производство бумаги, для улучшения свойств фотоматериалов); атомная промышленность (локализация радиоактивных отходов); виноделие (в качестве препарата, повышающего стабильность напитков) [26],[34],[22],[31].

Следовательно, возможности и перспективы применения хитозана в различных областях чрезвычайно разнообразны. Наряду с высокой эффективностью, хитозан безвреден, что делает его особенно привлекательным для исследований. Не зря хитозан называют биополимером XXI века.

1.3 Полигидроксиалканоаты – биodeградируемые полимеры

Биodeградируемые полимеры – это материалы, разрушаемые под действием естественных причин (микробиологическое или биохимическое воздействие).

Впервые ПГА были идентифицированы французским микробиологом Maurice Lemoigne в 1925 г., он открыл полигидроксибутират (ПГБ), один из самых изученных в настоящее время.

ПГА являются биополимерами ациклических гидроксикислот, которые синтезируются многими прокариотическими микроорганизмами в специфических условиях несбалансированного роста, при избытке углеродного

и энергетического субстрата в среде и дефиците минеральных элементов (азота, серы, фосфатов и др.), а также кислорода. Среди наиболее перспективных продуцентов ПГА известны виды *Azotobacter*, *Bacillus*, *Methylmonas*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*.

Полигидроксиалканоаты применяются в производстве упаковки одноразового пользования (продукты бытовой химии, личной гигиены и пищевая упаковка), медицине и фармакологии, сельском хозяйстве. ПГА синтезируется многими микроорганизмами (например, *Alcaligenes eutrophus*, *Azotobacter chroococcum*, *Ralstonia eutropha*) и отдельными растениями, обладающими широким спектром физико-механических свойств, которые позволяют производить из них практически все типы полимерных изделий. Они быстро разлагаются в природных условиях, но в то же время устойчивы к действию горячей воды. Некоторые полигидроксиалканоаты (например, полигидроксибутират) используются бактериями как внутриклеточные источники углерода и энергии [13].

ПГА обладает многими свойствами, которые делают их перспективными в использовании в разных отраслях:

- Сырьем могут служить различные вещества, такие как сахара, спирты, органические кислоты;
- ПГА получают методом прямой ферментации, их производство не требует серии технологических этапов;
- ПГА не гидролизуются в жидких средах, так как их деградация является биологической и реализуется гуморальным и клеточным путями;
- Возможность управления свойствами ПГА (кристалличность, скорость биораспада, механическая прочность) путем варьирования в процессе ферментации состава среды или задевания той или иной химической структуры;
- Термопластичность и изменения прочности (возрастание по направлению растяжения). При нагревании молекулярные цепи в ПГА легко

сдвигаются относительно друг друга, в результате чего материал размягчается и приобретает текучесть [15, 16].

Современная биотехнология позволяет получать широкий спектр биоматериалов с высокими потребительскими свойствами. [35].

Открытие и изучение полигидроксиалканоатов явилось значимым событием для биотехнологии новых материалов. Исследование этих полимеров активно проводится всеми развитыми странами, однако многие ключевые вопросы биотехнологии и материаловедения ПГА остаются открытыми. Это вопросы, связанные с получением высокоочищенных образцов и способами получения из ПГА специализированных изделий медикобиологического назначения различных типов. Остаются не изученными в полной мере кинетика и закономерности биоразрушения этих полимеров *in vivo*. Отсутствие четких представлений о механизме взаимодействия изделий из ПГА с клетками и тканями различной структуры, а также медико-технических характеристиках и эффективности их функционирования *in vivo* делают эти вопросы первоочередными для исследований.

Это определило направление исследований настоящей работы, ориентированной на комплексное исследование ПГА применительно к конкретным биомедицинским задачам: конструирование экспериментальных изделий из ПГА медико-биологического назначения и проведение всесторонних исследований закономерностей их взаимодействия с тканями и организмом для получения доказательства биосовместимости и функциональности как необходимой основы для внедрения в практику.

Новое и актуальное направление исследований ПГА ориентировано на решение задач тканевой инженерии. Многообещающей представляется перспектива использования этих полимеров для реконструкции дефектов костных тканей. Использование потенциала клеточных технологий в реконструктивных целях реализуется с помощью основного технологически сложного подхода: создается матрикс, конструкция которого подобна костной

ткани. Матрикс имплантируют реципиентному организму. Успех вживления зависит во многом от свойств каркасов (матриков).

Лечение костных дефектов является серьезной проблемой для реконструктивной хирургии. Чтобы восстановить функцию поврежденной или больной костной ткани необходима замена кости трансплантатом (ауто трансплантат или аллотрансплантата). Однако, при трансплантации костной ткани от самого донора страдает сам пациент, ограничены поставки подходящих костных трансплантатов от других людей и к тому же есть риск передачи заболеваний от доноров костной ткани. В последние десятилетия с использованием различных искусственных биоматериалов находятся перспективные альтернативные подходы в лечении костных дефектов [28].

1.4 Гидроксиапатит

Гидроксиапатит является основным минералом костной ткани и твердых тканей зуба. Он обладает благоприятными биологическими свойствами: высокой адсорбцией протеинов, повышенной функцией остеокластов и остеобластов – клеток, участвующих в процессе ремоделирования костной ткани, и пониженной функцией конкурирующих клеток, в частности фибробластов, ответственных за формирование соединительной ткани.

Постоянно возрастающий интерес к ГА обусловлен возможностями его применения в репаративной медицине: существуют керамические материалы, цементы, пасты, суспензии, покрытия на основе этого гидроксифосфата кальция, а также многочисленные обзоры, подробно рассматривающие как недостатки, так и преимущества этих форм. В настоящее время основные усилия исследователей направлены на достижение необходимых механических характеристик новых материалов, большей биосовместимости с тканями организма, легкости практического применения.

Интерес к гидроксиапатиту кальция $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ обусловлен тем фактом, что минеральная составляющая костной ткани включает

нанокристаллы ГАП, которые содержат в структуре большое количество сторонних элементов (Na, Mg), K, Fe, Zn, Cu, Ba, F, Cl, C, S). Концентрация примесей не превышает 3-5%, но определяет биологические, механические, а в случае эмали и оптические свойства биогенного ГАП. В связи с этим создание материалов, моделирующих структуру и состав биоапатита, равно как и создание подобных синтетических материалов для восстановления кости и эмали зуба, представляют собой сложные задачи, включающие основные аспекты физики конденсированного состояния. С этой точки зрения биогенные и синтетические апатиты, содержащие примесные атомы и группы атомов в позициях структуры ГАП, рассматриваются как твердые растворы замещения, характеристики которых требуют всестороннего изучения.

Комплексность рассматриваемых задач определяется тем, что во-первых, биоапатиты присутствуют в костном матриксе в нанокристаллическом состоянии, во вторых из-за образования примесными элементами в гидроксиапатите ионных комплексов и групп, приводящих к искажению кристаллической решетки и как следствию изменению свойств ГАП, в третьих, из-за возможного образования в биогенном и синтетическом материале вторых фаз ФК с участием примеси.

Необходимо отметить, что костный матрикс выполняет роль «буферной системы» для различных ионов в процессах остеогенеза, ускоряя или замедляя образование новой костной ткани. Поэтому для задач по замене костной ткани в случае дефектов, переломов или определенных патологий и восстановления зубной эмали необходимо знать структуру, механические и оптические свойства и характеристики нанокристаллического гидроксиапатита, имеющего различные замещения в структуре.

Основываясь на исследованиях, касающихся определения элементного и фазового состава костной ткани, дентина и эмали зубов, а также на данных по биологической активности замещенных форм гидроксиапатита, можно утверждать, что образцы металл-замещенного гидроксиапатита могут быть использованы для осуществления поставленных задач по моделированию и

восстановлению твердых тканей скелета человека. Преимуществами подобных ГАП являются соответствие синтетического материала – биогенному и возможности изменения его физико-химических характеристик за счет изменения состава и концентрации ионов заместителей. Несмотря на наличие в литературе исследований, посвященных вопросам получения, определения структуры и состава гидроксиапатита и его замещенных форм, изучение влияния ионов металлов на свойства гидроксиапатита и сравнительный анализ физико-химических свойств материалов с включением таких элементов как Zn, Cu, Mg не рассматривался. В то же время изменение биологической активности гидроксиапатита, где атомы кальция замещены атомами данных элементов, известно и имеет положительные результаты.

Возможность внедрять разнообразные добавки в структуру ГАП относительно простыми способами, воздействовать на преципитат разнообразными методами (высокочастотным излучением, тепловой обработкой [19], давлением [20] и т.д.) обусловлена простотой технологии синтеза ГАП. Метод преципитации изначально не требует специальных условий таких, как высокое давление или температура. Поэтому для улучшения характеристик ГАП, а именно, пористости, биоактивности, механической прочности используют внедрение каких-либо примесей [31].

1.5 Композитные материалы

Композиты - вещества, образованные сочетанием химически разнородных компонентов с четкой границей раздела между ними. Сочетание разнородных веществ в композите дает эффект, равносильный созданию нового материала, свойства которого качественно и количественно отличаются от свойств каждого составляющего. Обычно композиционные материалы состоят из пластичной основы (матрицы) и наполнителя включений компонентов в виде частиц любой формы.

Свойства композитов определяются не только составом, но и взаимным расположением и размерами частиц различных фаз, прочностью связей на границе раздела фаз.

В последние годы наиболее перспективными считаются композиты, основанные на полимерной матрице с наполнителем из гидроксиапатита или биостекла, которые предполагают использовать для замещения костной ткани. Преимущества таких композитов - остеогенный потенциал частиц ГАП, ТКФ и полимерная матрица в качестве связующего, которое предотвращает миграцию частиц. Биоактивные композиты подразделяют на деградируемые и недеградируемые системы [27].

Биоактивные недеградируемые системы, такие как полиэтилен - ГАП, разрабатывались как аналог кости, как по составу, так и по механическим свойствам. Последнее может быть важно, поскольку напряжения, возникающие на границе кость - имплантат, могут привести к резорбции кости и возможной потере имплантата.

Этот композит обладает трещиностойкостью и модулем упругости, близким к кортикальной кости.

В костных цементах смешивание полимера с ГАП-наполнителем позволяет достигнуть двух целей: понизить экзотермический эффект при смешивании и улучшить механические свойства. При смешивании ГАП с полиметилметакрилатом (РММА) повышается модуль упругости, и снижаются поля напряжений, что увеличивает время разрушения.

В композитах с недеградируемыми системами проникновение костной ткани в имплантат маловероятно и костная ткань образуется на поверхности имплантата на частицах ГАП.

Использование деградируемых полимеров в качестве матрицы " основной подход в разработке композитов, обеспечивающих прорастание костной ткани в имплантат при деградации матрицы. Деградируемые матрицы действуют как связка для предотвращения миграции ГАП - частиц из места

имплантации. Например, сульфат кальция, альгинат, полигидроксibuтират, коллаген.

Коллаген выполняет роль пассивной матрицы, препятствующей миграции частиц ГАП. Использование коллагена в составе композиционных материалов для замещения дефектов основано на оптимальном сочетании свойств, которыми он обладает:

- Коллаген обладает биологической активностью, стимулируя регенерацию поврежденной ткани;
- Экзогенный коллаген резорбируется в организме, замещаясь на собственную ткань, и время резорбции можно регулировать;
- Коллаген образует устойчивые гидрогелевые структуры, что позволяет насыщать их различными наполнителями и лекарственными средствами и формировать из них изделия.

Уникальность коллагена состоит в том, что наряду с вышеперечисленными свойствами, он обладает низкой антигенной активностью по сравнению с другими белками. При создании изделий белковой природы медицинского назначения этот аспект является наиболее важным. Иммуные свойства изделий из экзогенного коллагена зависят от антигенной активности собственно коллагена, наличия в коллагеновой субстанции сопутствующих веществ, а также от способов воздействия на коллаген в процессе технологической обработки при изготовлении изделий.

Известно, что основные антигенные свойства коллагена несут так называемые телопептиды - концевые участки молекулы коллагена, не закрученные в спираль. Телопептиды содержат тирозин и имеют аминокислотные последовательности, нетипичные для основной части молекулы. После отщепления телопептидов ферментами существенно снижаются антигенные свойства коллагена. Коллаген, полученный щелочно - солевой и кислотной обработкой, также обладает низкой антигенной активностью. При таком воздействии, аналогично ферментативной обработке,

телопептиды отщепляются от молекулы коллагена, что приводит к снижению антигенных свойств.

Спиральная часть молекулы коллагена также несет антигенную детерминанту, но активность ее менее выражена и в значительной степени зависит от стерической доступности. Таким образом, собственно коллаген при существующих способах получения свободен от телопептидов и обладает очень слабой иммуногенностью. Кроме того, при имплантации такого коллагена происходит его лизис с постоянным высвобождением подпороговых доз антигена, которые могут оказывать десенсибилизирующее действие.

Значительная доля антигенных свойств субстанции экзогенного коллагена может принадлежать сопутствующим компонентам соединительной ткани - источника выделения коллагена. В основном это касается белков неколлагеновой природы, и в особенности гликопротеинов. Поскольку известно, что именно они и, в частности, структурные гликопротеины являются активными антигенами, в наибольшей степени определяющими органную и видовую специфичность соединительной ткани. Современные способы выделения коллагена позволяют получать высокоочищенную субстанцию, свободную от сопутствующих компонентов. Однако, при этом для каждого вида соединительной ткани должен быть отработан свой, адекватный метод выделения, гарантирующий чистоту продукта, и технологический процесс не должен нарушаться.

Композиционные материалы на основе ГАП и бычьего коллагена первого типа используются в клинической практике как за рубежом (Biostite, Collagraft), так и в России (Колаост, Гапкол, Колапол).

В качестве недостатков этих материалов отмечается возникающая в некоторых случаях аллергическая реакция. Однако, это не препятствует их широкому применению для замещения костных дефектов в хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.

Коллапаналлопластический материал на основе склерального коллагена второго типа и активизированного ГАП.

Способ выделения коллагена включает щелочно-солевою и кислотную обработку склер глаз сельскохозяйственных животных. При этом получают высокоочищенную субстанцию коллагена с низким уровнем антигенных свойств, из которой далее производят изделия. При этом антигенные свойства коллагена уменьшаются на 1-2 порядка, практически до нулевого уровня. Последнее объясняется тем, что переработка субстанции в изделие включает такие стадии, как структурирование, комплексообразование, высушивание, дубление, стерилизацию и другие, которые сопровождаются возникновением множества дополнительных внутри- и межмолекулярных связей, в результате чего антигенные детерминанты становятся недоступными. Это подтверждается многочисленными экспериментальными исследованиями.

Исследования, проведенные в экспериментах на глазах кроликов, показали полную ареактивность коллагеновых пленок, полученных на основе склерального коллагена, тогда как пленки из коллагена дермы и хрящей вызывали реакцию со стороны роговицы. По-видимому, при разработанном способе щелочно-солевой обработки склеры достигается достаточно полное извлечение компонентов как белковой, так и полисахаридной природы.

Исследования субстанции склерального коллагена показали отсутствие острой и хронической токсичности, аллергенности, иммунотоксического действия и мутагенного эффекта.

Порошок ГАП, входящий в состав коллапана, синтезируют по криохимической технологии. Он характеризуется наличием карбонатных групп в его структуре, высокой дефектностью кристаллической решетки, субмикронным размером частиц и высокой удельной поверхностью.

Криохимическая технология позволяет получать порошки ГАП с высокой реакционной способностью и различным соотношением фаз (ГАП/ТКФ). Спеканием данных порошков изготавливают керамику с различным соотношением фаз (ГАП/ТКФ), различной общей пористостью (от 3 до 75%) и диаметром пор от 10 до 100 мкм. Коллапан успешно применяется во всех

областях костной хирургии. Аллергических реакций и осложнений не обнаружено.

Гидроксиапатит обладает osteoconductive свойствами, является матрицей для формирования костной ткани. [39]

Композиционные материалы на основе ГАП, хитозана, и биополимерных материалов, используемых в качестве связующего агента, имеют большие перспективы в качестве пластического материала для костей в репаративной ортопедии.

2. Материалы и методы

Используемый ПГБ синтезирован в лаборатории биотехнологии новых материалов СФУ, в специфических условиях роста штамма *Alcaligenes eutrophus* В 5786. Хитозан приобретён у компании-производителя Mageric в виде стерильного порошка, расфасованного в герметичные пластиковые колбы. Состав ПГБ определяли с применением хромато-масс-спектрометра «Agilent Technologies» 7890А (США). ПГБ измельчали с помощью лабораторной мельницы, с последующим анализом фракционного и гранулометрического состава, с помощью просеивающей машины AC 200 control.

Таблетированные образцы получали методом прямого холодного прессования в лаборатории биотехнологии новых материалов. Для получения образцов диаметром 3 мм и толщиной 1 мм использовали ручной лабораторный пресс ПР-Т1, а также электромеханического пресса Carver - для получения образцов диаметром 13 мм и толщиной 2 мм.

Использовали гидроксиапатит с характеристиками: размер частиц $<200 \text{ nm}$, $\geq 97\%$, synthetic.

Насыпную плотность порошков ПГБ, ГА и хитозана определяли с помощью тестера плотности утряски РТ-TD200 PHARMATEST (Германия).

Свойства поверхности полученных композитных матриц оценивали по гидрофильности поверхности с помощью прибора для

измерения краевых углов DSA-25E (Krüss, Германия) с использованием программного обеспечения DSA-4 для Windows.

Физико-механические характеристики образцов регистрировали на универсальной электромеханической испытательной машине Instron 5565 KN (Великобритания) с использованием программного обеспечения BlueHill.

Санитарно-химические испытания проведены стандартными методами с оценкой pH водных вытяжек образцов композитов.

Биосовместимость образцов определяли по цитотоксичности, с оценкой морфологии и пролиферации культуры фибробластов NIH3T3 при прямом контакте с поверхностью образцов.

2.1 Создание композитных матриксов

Для получения таблетированных трехмерных форм использовали материалы в виде порошков. Получали смеси порошков в отношениях ПЗГБ/ГА/Хитозан как 80/10/10, 60/20/20, 50/25/25, 40/30/30, 33,33/33,33/33,33.

Использовали метод холодного прессования на электромеханическом прессе Carver для получения композитных образцов толщиной 2 мм и диаметром 13 мм.



Рисунок 1 – Прессованные образцы с различным соотношением компонентов ПЗГБ/ГА/Хитозан.

2.2.1 Санитарно-химические испытания (рН)

Санитарно-химические испытания – это первый этап оценки физико-механических свойств. Для их проведения необходимы:

1. Образцы полимеров.
2. Водные экстракты полимеров.

Ход работы по приготовлению водных экстрактов полимеров:

1. Экстракты готовят из материалов в соотношении единицы площади к единице объема дистиллированной воды (1см : 1 мл)
2. Готовить экстракт в течение 3 суток при $t = 37^{\circ}\text{C}$.
3. Контрольным раствором служит дистиллированная вода, которая является основой для экстракта, термостатируемая без образцов.
4. Для приготовления экстракта из биополимеров, необходимо придать им форму таблеток при помощи прессы.

2.2.1.1 Определение рН

Данные методы не относятся к биологической оценке, однако они позволяют понять природу реакции организма и относятся к обязательным тестам.

Компоненты, необходимые для определения рН:

- рН-метр.
- Водные экстракты полимеров.
- Сухо-жаровой шкаф.
- Прессформа для микропланшетов ручной винтовой пресс.

Ход работы:

Выполнить измерения рН вытяжек из образцов полимера.

Регистрируемым параметром является изменение рН (ΔpH):

$$\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{выт.}} - \text{pH}_{\text{контр.}},$$

где рН выт. - значение рН вытяжки, рН контр. - значение рН контрольного раствора.

Материал пригоден для общей хирургии, если изменение рН не более ± 1 .

рН водных вытяжек измеряли в сравнение с контролем (дистиллированная вода, используемая для приготовления вытяжек, экспонируемая в аналогичных условиях) на рН-метре (Sartorius, Meter, Германия). рН-метр укомплектован сетевым адаптером (блока питания), позволяющим работать от сети переменного тока; имеется автоматическая компенсация температуры от -5°C до 105°C . Калибровка до 5 буферов с определением 10. Сохранение до 200 результатов; выбор диапазона разрешения; рН: от -2 до 18 с точностью до 0,01; mV: $\pm 1999,9$ с точностью до 0,01; температура от -5 до 105 с точностью 0,3. Электрод пригоден для использования в жидкостях; диапазон рН от 0 до 14; сенсор температуры; диапазон температуры от 0 до 80°C ; размеры диам. 12 x 120 мм. Имеется универсальный штатив, поддерживающий до 4-х сенсоров или электродов; стакан и жидкости для хранения электрода.

2.2.2 Определение характеристик поверхности трехмерных матриц

Определение проводили на базе измерения контактного угла смачивания. Гидрофильность поверхности исследовали с помощью прибора для измерения краевых углов DSA-25E (Kruss, Германия) с использованием программного обеспечения DSA-4 для Windows. Прибор для измерения краевого угла DSA25 пришел на смену модели EasyDrop. Система DSA25

предназначена для измерения краевого угла, расчета свободной энергии поверхности, а также межфазного натяжения методом висящей капли. На сегодняшний день это базовая модель в линейке приборов KRUSS.

Новый прибор для измерения краевого угла DSA25 имеет подвижную каретку для двух дозирующих систем (шприцов). Теперь пользователь может работать с двумя стандартными жидкостями, не тратя время на замену шприца. Ему достаточно переместить каретку с нужным шприцом в зону дозирования. Данная опция удобна при определении свободной энергии поверхности на многочисленных образцах.

Прибор краевого угла DSA25 имеет модульную конструкцию, что позволяет пользователям решать различные задачи при использовании дополнительных опций. Кроме того, систему можно оснастить камерами для поддержания атмосферы (температуры и/или влажности). Стандартные опции для приборов краевого угла включают иглы, шприцы, держатели для образцов.

Определение характеристик поверхности мерных матриц проводили на базе измерения контактного угла смачивания: (q , град); вычисляли свободную поверхностную энергию (γS), свободную энергию межфазовой поверхности (γSL) и величину сил сцепления (WSL) (эрг/см²), используя известные уравнения[36]. Для определения контактных (краевых) углов смачивания водой образцы помещали на предметное стекло и с помощью автоматической микропипетки наносили на поверхность таблетки капли дистиллированной воды объемом 100мкл, по 3 каждого объема. С помощью цифровой камеры получали компьютерное изображение капли и определяли величину угла (находили среднее значения величины угла из измерения 3-х капель каждого объема).

Свободную поверхностную энергию (эрг/см²) находили из уравнения: $\gamma_s = \gamma_L(1 + \cos q)^2 / 4$, где γ_L -свободное поверхностное натяжение воды, равное 72.8 эрг/см².

Свободную энергию межфазовой поверхности «полимер-вода» (γSL , эрг/см²) –по уравнению: $\gamma SL = \gamma S + \gamma L - WSL$, где: γSL –критерий остаточной

межфазовой энергии; γ_S и γ_L -, соответственно, свободная энергия поверхности пленки и воды.

Силу сцепления, характеризующую прочность адгезионного шва между фазами, вычисляли из зависимости: $WSL \approx 2\sqrt{\gamma_S\gamma_L}$ (эрг/см²).

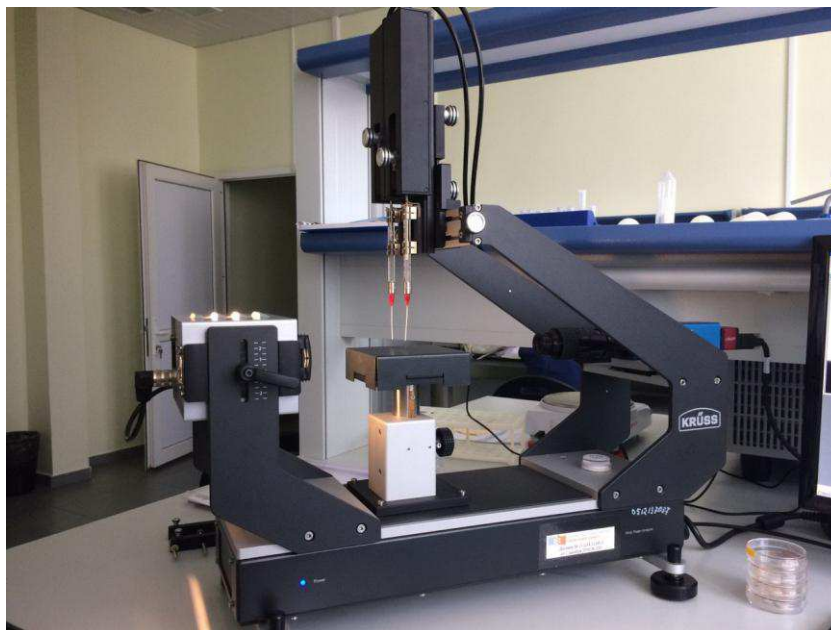


Рисунок 2 – прибор для измерения краевых углов DSA-25E

2.2.3 Исследование суммарной пористости.

Суммарную пористость высчитывали по формуле $V \Sigma = G_{BM} - G_{cm} / G_{cm} \times \rho_v$, где:

G_{cm} – вес сухого матрикса,

G_{BM} – вес матрикса после помещения в жидкость,

ρ_v – плотность воды (принимается за 1 г/см³)

Эффективность всех материалов зависит от их пористых характеристик, поскольку пористая структура управляет потоком и кинетикой биохимических процессов. Имплантаты, например, должны иметь строго определенный размер пор для кровеносных сосудов во время роста тканей. Также поры, размер которых больше или меньше критического, могут препятствовать росту

кровеносных сосудов. Поэтому важно знать, как именно будет меняться пористая структура вещества при внешнем воздействии.

2.2.4 Исследование влагопоглощения композитов.

Влагопоглощение высчитывается по формуле $WC = \frac{W_s - W_d}{W_s} \times 100$, где

W_d – вес сухого матрикса,

W_s – вес матрикса после помещения в жидкость.

Влагопоглощение – это способность материала впитывать и удерживать влагу; зависит от величины открытой пористости и смачиваемости материала. Влагопоглощение определяли методом в холодной воде.

Ход работы:

Образцы высушивают в сухо-жаровом шкафу в течение 24 ч при температуре $50 \pm 3^\circ\text{C}$. После сушки образцы охлаждают и досушивают в эксикаторе и взвешивают, с точностью 0,001г. В стеклянный стакан наливают дистиллированную воду и помещают в него образцы так, чтобы они были полностью покрыты водой и не соприкасались между собой и стенками стакана.

Образцы выдерживают в воде при температуре $23 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. После этого их вынимают из воды, промокают фильтровальной бумагой и взвешивают. Время от момента извлечения до момента взвешивания не должно превышать 1 мин. За результат принимают среднее арифметическое значение трех экспериментов и округляют до 0,1%.

2.2.5 Испытание на сжатие.

Высокоточным испытанием для определения физико-механических свойств материалов на основе пластиков является испытание на сжатие.

Данное испытание служит для определения модуля упругости, напряжения при текучести, прочности при сжатии и деформации за пределом текучести.

Сопротивление растяжению образцов при деформации измеряли на тестовой системе Instron 5564. Области применения данной тестовой системы разнообразны: испытание прочности на растяжение, испытание прочности на сжатие, испытания на усталость, испытания прочности на изгиб, испытание на ударную прочность.



Рисунок 3 – Универсальная испытательная машина Instron 5564

2.3 Оценка биологических свойств – цитотоксичность.

Биологические свойства композитов оценены в линейной культуре фибробластов мыши, выживаемость клеток во всех образцах на уровне контроля – полистирол культурального планшета. Цитотоксичность – это способность химических веществ (включая медикаменты, вирусы и антитела) повреждать клетки тканей. Цитотоксичность устанавливается в тестах *in vitro* на определенных клетках-мишенях.

3 Результаты

Из текста ВКР изъяты результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 Brandl H. Plastics from bacteria and for bacteria: poly (-3-hydroxyalkanoates) as natural, biocompatible, and biodegradable polyesters / Adv.Biochem. Eng. Biotechnol.1990. - Vol.41. -P. 77-93.

2 Halm, S.K. Recovery and Characterization of Poly(3-Hydroxybutyric Acid) Synthesized in *Alcaligenes eutrophus* and Recombinant *E.coli* / S.K. Hahn, Y.K. Chang, S.Y. Lee //Appl. Environ. Microbiol.1995.-Vol.61.-P.34-39.

3 Henstock, J. Controlled mechanotransduction in therapeutic MSCs: can remotely controlled magnetic nanoparticles regenerate bones / J. Henstock, A. Haj // Regenerative Medicine. – 2015. – № 10(4) – P. 377-380.

4 Simple large-scale synthesis of hydroxyapatite nanoparticles: in situ observation of crystallization process / D. W. Kim, I-S. Cho, J. Y. Kim, H. L. Jang, G. S. Han , H-S. Ryu, H. Shin , H. S. Jung, H. Kim, K. S. Hong [Текст] // Langmuir. – 2010. – V.4. –I.1. – P. 384-388.

5 Larry L. Hench.Bioceramics./J.Am.Ceram.Soc., 1998.- Vol. 81. – P. 1705

6 Lee, S.Y. Production of poly (3-hydroxybutyric acid) by recombinant *Escherichia coli* strains: genetic and fermentation studied/ S.Y. Lee,. H.N. Chang//CanJ. Microbiol.-1995.-Vol. 41 Suppl 1.-P. 207-215.

7 Preparation and Characterization of Homogeneous Hydroxyapatite/Chitosan Composite Scaffolds via In-Situ Hydration / H. Li [and et.al.] // Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology. – 2010. – № 1. – P. 42-

8 Muzzarelli R.A.A. New derivatives of chitin and chitosan: properties and applications / R.A.A.Muzzarelli // New Dev. Ind. Polysaccharides Proc.Conf. – N.Y.: Gordon & Breach, 1985. – P. 207-231.

9 Matthew J. Dalb. The control of human mesenchymal cell differentiation using nanoscale symmetry and disorder / NikolajGadegaard, Rahul Tare,

AbhayAndar, Mathis O. Riehle, Pawel Herzyk, Chris D. W. Wilkinson & Richard O. C. Oreffo, *Nature Materials* 6,- 2007. P. 997 - 1003

10 Narayan R.: *Biomedical Materials* / Roger Narayan (Editor). — Springer, 2009. — 550 p.

11 Onsoyen E. Metal recovery using chitosan / E.Onsoyen, O. Skaugrud // *J. Chem. Technol. and Biotechnol.* – 1990. – № 4. – P. 395-404

12 Park J.: *Biomaterials Principles and Applications* / edited by Joon B. Park and Joseph D. Bronzino.-CRCPress, 2007

13 Microscopic investigations of Synthetic Biomimetic Hydroxyapatite / N. Roveri, E.Foresti, M. Lelli, I. G. Lesci, M. Marchetti // *Microscopy: Science, Technology.*

14 Shum-Tim.Tissue Engineering of Autologous Aorta Using a New Biodegradable Polymer, 1999 by The Society of Thoracic Surgeons. – 2012. – № 7 – P. 73-80

15 Sudesh, K. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters / K. Sudesh., H. Abe, Y. Doi // *Prog. Polym.Sci.* -2000.-Vol.25.-P. 1503-1555.

16 DeGennes P.G. Wetting: Statics and Dynamics//*Rev. Mod. Phys*, 1985. V. 57. P. 827—863.

17 Керамические и композиционные наноматериалы на основе ортофосфатов кальция [Текст] / А.А. Афонько, С.А. Кириллова, В.И. Альмяшев // *Наносистемы: физика, химия, математика.* – 2012. – Т.3. – №5. – С. 84–102.

18 Н.В. Бакунова, С.М. Баринов, В.С. Комлев, В.В. Смирнов, А.Ю. Федотов Пористые хитозановые матриксы, армированные биоактивными соединениями кальция для восстановления костной ткани

19 Баринов С. М. Биокерамика на основе фосфатов кальция / С. М. Баринов, В. С. Комлев; под ред. К. А. Солнцева. — М.: Наука, 2005

20 Бондаренко В.М. Воздействие хитозана на ультраструктуру клеток патогенных и условно патогенных микроорганизмов / В.М. Бондаренко, О.В. Рыбальченко, Н.Б. Вербицкая, С.Ф. Антонов // *Современные перспективы в*

исследовании хитина и хитозана: Материалы восьмой международной конференции. – М.: Изд-во ВНИ-РО, 2006. – С. 175-179

21 Буттери, Л. Введение в инжиниринг тканей / Л. Буттери, Э. Бишон//Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей / Л. Хенч,Д. Джонс. – М. :Техносфера, 2007. – С.214–222.

22 Волова, Т. Г. Полиоксикалкоанаты-биоразрушаемые полимеры для медицины / Т. Г. Волова, В. И.Севастьянов, Е. И. Шишацкая; под ред. акад.В. И. Шумакова. – Красноярск : Изд-во «Платина», 2006. – 36 п. л17ВалитовШ.М.Современныесистемныетехнологииивотрасляхэкономики. Учебноепособие./ ВалитовШ.М., Азимов Ю.И., Павлова.-раздел 16

23 Вольф, Л.А. Производство поликапроамида / Л.А. Вольф, Б.Ш. Хайтин.

24 Гальбрайт Л.С. Хитин и хитозан: строение, свойства, применение / Л.С. Гальбрайт // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т.7, № 1. – С. 51-56

25 Гепецкая М.В. Влияние хитозана на винные дрожжи / М.В. Гепецкая, Г.Г. Няникова // 4-й Международный Конгресс "Биотехнология – состояние и перспективы развития". – М.: Изд-во РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2007. – Ч. 2. – с. 169.

26 Дарашкевич О. Н. Биоцидные свойства хитозана различной степени деполимеризации / О.Н. Дарашкевич, О.В. Добролеж, Н.Б. Вербицкая Н. Б., С.Ф. Антонов, Н.Н. Золина, О.В. Рыбальченко // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана: Материалы седьмой международной конференции. – М.: Изд-во ВНИРО, 2003. – С. 239-240.

27 Дорожкин С.В. Биоматериалы: Обзор рынка /Дорожкин С.В., Агатопоулус С.// Химия и жизнь.- 2002. № 2. С. 8;

28 Коршак В.В, Васнев В.А., Грибова И.А. и др. // Высокомолекулярные соединения 1989. Т. - 31. - С. 86

29 Лэрри Хенч. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей/ Лэрри Хенч, Джулиан Джонс.-гл 4 стр 48 - 52

30 Новиков И.И., Розин К.М. Кристаллография и дефекты кристаллической решетки.-М. Металлургия.- 1990.

31 Нудьга Л.А. Получение хитозана, его производных и исследование их свойств: автореф. канд. хим. наук. – Л., 1979. –20 сее//Biotechnol. Bioeng. - 1998.-Vol.58.-P.325-328

32 Островский А. В. Osteoplastические материалы в современной пародонтологии и имплантологии / А.В Островский // Новое в стоматологии. – 1999.-№6.- С.39-52

33 Н. И. Пономарева, Т. Д. Попрыгина, С. И. Карпов, Ю. В. Соколов Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация, 2012, № 2

34 Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / под ред. К.Г. Скрыбина, Г.А. Вихоревой Г.А., В.П. Варламова. – М.: Наука, 2002. –368 с.

35 Розанова, И. Б. Биодеструкция имплантатов / И. Б. Розанова // Биосовместимость / под. ред В. И. Севастьянова – М. : ИЦ ВНИИ, 1999. – С. 212–242.

36 Сафина Н. М., Сафронова Т. В., Баринов С. М. Биокерамика в медицине // Стекло и керамика. — 2007. — № 2. — С. 34–36.

37 Селиверстов А.Ф. Сорбция металлов из водных растворов хитиносодержащими материалами /А.Ф. Селиверстов, А.Ю. Емельянов, Б.Г. Ершов //Журнал прикладной химии. – 1993. – Т. 66, вып.10. – С. 2331-2336

38 Тютюрев С. Л. Молекулярные механизмы действия хитозана в качестве средства, повышающего болезнестойчивость растений / С.Л. Тютюрев // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана: Материалы седьмой международной конференции. – М.: ВНИРО, 2003.С. 118-121.


39 Хенч, Л. Замена суставов / Л. Хенч // Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей / Л. Хенч, Д. Джонс. – М. :Техносфера, 2007. –С. 147..

40 Шишацкая Е. И. Клеточные матрицы из резорбируемых полигидроксиалканоатов // Гены и клетки. 2007. №2 С.68-75

41 Штильман М.И. Полимеры медико-биологического назначения. М., -
2006. - Академкнига, 399 с

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

 Заведующий кафедрой
Е. И. Шишацкая
инициалы, фамилия

« 23 » июня 2017 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01–Биология

"Конструирование полимерных микрочастиц для инкапсулирования
лекарств"

Научный руководитель

подпись, дата

Выпускник

подпись, дата




д.б.н., доцент Е.И. Шишацкая

Д.А. Чернова