

Фундаментальные проблемы современного материаловедения. 2025. Т. 22. № 4. С. 430-444

Fundamental'nye problemy sovremennogo materialovedenia (Basic Problems of Material Science (BPMS)). 2025; 4(22): 430-444

Научная статья

1.3.8. Физика конденсированного состояния (физико-математические науки)

УДК 691.175.5/.8 + 669.891

doi: 10.25712/ASTU.1811-1416.2025.04.006

КОМПОЗИЦИОННЫЕ БИОСОВМЕСТИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ КОСТЕЙ

Рустам Талгатович Садыков¹, Дарья Николаевна Лыткина²,
Ирина Александровна Курзина³

Национальный исследовательский Томский государственный университет, пр. Ленина, 36, 634050, Томск, Россия

¹nate_river_2017@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0821-3292>

²lytkinadn@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7458-6265>

³kurzina99@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4976-2295>

Аннотация. Материалы для костных имплантатов играют значительную роль в современном биомедицинском материаловедении в связи с ростом заболеваний костей. Одним из перспективных материалов в этой области являются биокомпозиты на основе фосфатов кальция. Однако эти материалы в чистом виде имеют ряд недостатков, таких как недостаточная биологическая активность, что открывает возможность модификации кальций-фосфатных цемента полимерными материалами, способными улучшить физико-химические и биологические свойства этих материалов. Таким образом, в данной работе был синтезирован композиционный материал на основе брусита/хитозана и гидроксиапатита/хитозана с массовым содержанием хитозана 0,05 мас.%; 0,2 мас.%; 0,4 мас.%. Фазовый и компонентный составы определяли методами рентгенофазового анализа (РФА) и инфракрасной Фурье-спектроскопии (ИК-Фурье). Морфологию и структуру композитов характеризовали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Краевой угол смачивания и поверхностную энергию измеряли методом лежащей капли. Растворимость оценивали путем инкубации образцов в физиологическом растворе с последующим титрованием. Биосовместимость проверяли на моноцитах человека.

Ключевые слова: брусит, гидроксиапатит, хитозан, морфология, фазовый состав, материалы для регенерации костей

Благодарности: Исследования были поддержаны Министерством науки и высшего образования (FSWM-2020-0037).

Для цитирования: Садыков Р.Т., Лыткина Д.Н., Курзина И.А. Композиционные биосовместимые материалы на основе хитозана и фосфатов кальция для реконструкции костей // Фундаментальные проблемы современного материаловедения. 2025. Т. 22, № 4. С. 430-444. doi: 10.25712/ASTU.1811-1416.2025.04.006.

Original article

COMPOSITE BIOCOMPATIBLE MATERIALS BASED ON CHITOSAN AND CALCIUM PHOSPHATES FOR BONE RECONSTRUCTION

Rustam T. Sadykov¹, Daria N. Lytkina², Irina A. Kurzina³

National Research Tomsk State University, Lenin Ave., 36, 634050, Tomsk, Russia

¹nate_river_2017@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0821-3292>

²lytkinadn@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7458-6265>

³kurzina99@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4976-2295>

Abstract. Bone implant materials play a significant role in modern biomedical materials science due to the increasing incidence of bone diseases. Calcium phosphate-based biocomposites are one of the promising materials in this field. However, these materials in their pure form have a number of drawbacks, such as insufficient biological activity, which opens up the possibility of modifying calcium phosphate cements with polymeric materials that can improve the physicochemical and biological properties of these materials. Thus, in this work, a composite material based on brushite/chitosan and hydroxyapatite/chitosan with a chitosan mass content of 0.05 wt.%; 0.2 wt.%; 0.4 wt.% was synthesized. The phase and component compositions were determined by X-ray diffraction analysis (XRD) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The morphology and structure of the composites were characterized using scanning electron microscopy (SEM). The contact angle and surface energy were measured using the sessile drop method. Solubility was assessed by incubating samples in saline followed by titration. Biocompatibility was tested using human monocytes.

Keywords: brushite, hydroxyapatite, chitosan, morphology, phase composition, materials for bone regeneration

Acknowledgements: Studies were supported by the Ministry of Science and Higher Education (FSWM-2020-0037).

For citation: Sadykov R.T., Lytkina D.N. & Kurzina I.A. (2025). Composite biocompatible materials based on chitosan and calcium phosphates for bone reconstruction. *Fundamental'nye problemy sovremennogo materialovedeniya (Basic Problems of Material Science (BPMS))*, 22(4), 430-444. (In Russ.). doi: 10.25712/ASTU.1811-1416.2025.04.006.

Введение

Изучение биоматериалов на основе фосфата кальция [1-3] активно развивалось в области тканевой инженерии из-за их высокой биосовместимости [4], биорезорбируемости [5] и биоактивности [6]. Например, для разработки костных цементов [7,8], покрытий для имплантатов [9-11] и систем доставки лекарств [12, 13]. Гидроксиапатит – это встречающийся в природе минерал, который является членом группы апатита с общей химической формулой $A_5[ХО_4]_3Z$ и принадлежит к той же гексагональной пространственной группе $P6_3/m$ [14]. Проводятся исследования по контролю пористости, механической прочности, биоактивности и простоты использования [15,16]. Имплантаты на основе ГА медленно или частично резорбируются при физиологическом уровне pH 7,4, что подтверждает, что ГА является наиболее стабильным фосфатом кальция [17,18]. Брушит $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ – это кислый ортофосфат кальция, который метастабильна в физиологических условиях. По этой причине брушитовые

цементы резорбируются и схватываются гораздо быстрее, чем апатитовые, хотя было показано, что *in vivo* брушит имеет тенденцию превращаться в апатит [19, 20].

Различные методы модификации поверхности, ионной обработки и создания фосфатно-полимерных композитов позволяют получать функционализированные фосфаты [6, 21, 22]. В последнем случае композиты приобретают функциональные преимущества как полимера, так и фосфата. Свойства цементов можно улучшить, добавив полимерную фазу и тем самым изменив время схватывания, когезию/сопротивление выщелачиванию, инъектируемость, макропористость, механические свойства, долгосрочную деградацию, свойства высвобождения лекарственных средств и биологическую реакцию. Однако необходимо изучить концентрацию, тип полимера и т. д., чтобы определить его влияние на герметизирующий композит [23]. Полимеры, используемые для достижения биосовместимости и биоразлагаемости в процессах ремоделирования костей, включают природные полимеры [24], такие как

коллаген [25,26], хитозан [27], желатин [28], фиброин шелка [29], альгинат [30], целлюлоза [31,32] и крахмал [33]. Хитозан, деацетилированное производное хитина, представлен в качестве полимера для широкого спектра применений вместо хитина благодаря своей растворимости в кислых водных растворах [34]. Будучи линейным катионным полиэлектролитом с высокой плотностью заряда, состоящим из D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина, связанных β (1 \rightarrow 4) гликозидными связями, он может взаимодействовать с отрицательно заряженными поверхностями, такими как белки и анионные полисахариды [35]. Биомедицинские свойства, такие как противовоспалительные и антибактериальные, определили дальнейшее применение хитозана [36-38]. Биосовместимость композитов на основе фосфата кальция и хитозана была исследована *in vitro* и *in vivo* путем варьирования массовых соотношений компонентов [39], условий синтеза [40, 41], добавления биоактивных молекул [42, 43] и легирования гидроксиапатита ионами [44]. Такие подходы могут улучшить остеогенез, уменьшить воспаление и усилить прикрепление и пролиферацию клеток. Свойства композитов сильно зависят от ряда факторов, таких как: форма наполнителя, размер и распределение по размерам, свойства наполнителя и его объемная доля, свойства матрицы (например, молекулярная масса), дисперсия частиц наполнителя в полимерной матрице и состояние интерфейса наполнитель/матрица. Образование композитов на основе гидроксиапатита (ГА) и полимерной матрицы обычно сопровождается агрегацией частиц ГА и потерей адгезии между двумя фазами. Гомогенность диспергированных частиц в полимерной матрице играет ключевую роль в механических свойствах [45]. Проблема агрегации частиц ГА в полимерной матрице решалась методами гибридизации *in situ* [46] (т.е. в полимерной матрице), *ex situ* [47], а также микрофлюидной технологии и прямого щелочного гелеобразования [48].

Исследовано влияние изменения соотношения твердая/жидкая фаза (Т/Ж), концентрации и молекулярной массы хитозана на механическую прочность композитов на основе гидроксиапатита. В работе автора [49] увеличение соотношения приводило к увеличению прочности на сжатие, а увеличение количества (от 1 до 5 мас.%) и молекулярной массы полимера увеличивало механическую прочность композита. В работе [50] соотношение Ж/Ж не влияло на формирование структуры, тогда как добавление полимерного комплекса приводило к образованию новых макропор внутри цемента. В идеале скорость биодеградации брушитовых цементов должна соответствовать скорости

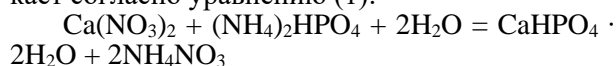
новообразованной кости [51, 52], и этот аспект брушитовых цементов в основном изучается наряду с механической прочностью [53] и температурно-временным профилем схватывания этих материалов [54]. В настоящее время существует несколько методов контроля скорости деградации брушитовых цементов: изменение соотношения твердой и жидкой фаз, увеличение пористости и ингибирование фазового превращения [55]. Исследования композитов на основе гидроксиапатита, брушита и хитозана остаются актуальными, поскольку позволяют оптимизировать свойства композитов и определить оптимальное применение каждого из них в медицинских изделиях: для долгосрочных имплантатов или для временных матриц для заживления кости [56]. Мы фокусируемся на морфологии и структурных параметрах как брушита, так и композитов на основе гидроксиапатита, поскольку эти характеристики определяют их функциональные свойства и биосовместимость. Исследования композитов фосфат/полимерного типа для гидроксиапатита обычно фокусируются на проблемах агрегации частиц, тогда как для брушита основное внимание уделяется скорости деградации. Однако комплексные исследования, рассматривающие оба материала одновременно, редки, несмотря на их важность для разработки композитов с оптимальными свойствами.

Поэтому данное исследование было направлено на синтез композитных материалов на основе гидроксиапатита и брушита, модифицированных хитозаном. Также были изучены фазовый и компонентный состав, морфология поверхности и элементный состав, растворимость и поверхностная энергия композитов.

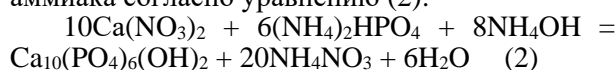
Методы и материалы

Для синтеза кальцийфосфатных цементов использовали $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, закупленные у Sigma-Aldrich. Для поддержания кислой среды при синтезе брушита использовали азотную кислоту HNO_3 (15 %). Хитозан был закуплен у Xi'an Pincredit Bio-tech Co., Ltd, степень деацетилирования хитина составила 85 %. Дистиллированную воду получали из медицинского аквадистиллятора «Liquam». Синтез композиционных материалов проводили в лабораторных условиях. Для синтеза композита хитозан/брушит готовили растворы гидрофосфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (0,25 моль/л) и нитрата кальция $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0,25 моль/л) по 100 мл каждого при температуре 25 °C. Синтез композиционных материалов проводили в лабораторных условиях. Для синтеза композита хитозан/брушит готовили растворы гидрофосфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (0,25 моль/л) и нитрата

кальция $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0,25 моль/л) объемом по 100 мл при температуре 25 °С. В колбы с раствором гидрофосфата аммония добавляли соответственно 0,1, 0,4, 0,8 г хитозана. pH доводили до 5,5 15%-ным раствором HNO_3 . Реакция протекает согласно уравнению (1):



Композит хитозан/гидроксиапатит получали аналогичным образом: к раствору $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (0,2 моль/л) добавляли раствор $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ той же концентрации, масса добавленного полимера составляла 0,1, 0,4 и 0,8 г, но pH доводили до 12 добавлением 25% раствора аммиака согласно уравнению (2):



Растворы $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ и $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ смешивали, затем к полученным растворам гидроксиапатита и брусита добавляли суспензию хитозана и перемешивали магнитной мешалкой в течение 15 мин. Образовавшийся белый осадок выдерживали в течение 72 часов, затем фильтровали, промывали и высушивали в эксикаторе при температуре 80 °С до полного удаления воды. В результате были получены образцы с массовой долей хитозана 0,05, 0,2 и 0,4 мас.% соответственно. Образцы высушивали до постоянной массы и измельчали в порошок, для целей исследования вводили сокращенное наименование образцов.

Табл.1. Обозначение образцов

Tab.1. Designation of samples

Образец	Обозначение
$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ / хитозан 0,05 мас. %	$\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.05$
$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ / хитозан 0,2 мас. %	$\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.2$
$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ / хитозан 0,4 мас. %	$\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.4$
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ / хитозан 0,05 мас. %	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.05$
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ / хитозан 0,2 мас. %	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.2$
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ / хитозан 0,4 мас. %	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.4$

Исследование фазового состава и структурных параметров образцов проводили на дифрактометре XRD-6000 (Япония) на CuK_α -излучении. Анализ фазового состава осуществляли с использованием базы данных PDF 4+ и программы полнопрофильного анализа POWDER CELL. Условия съемки: диапазон углов отражения $2\theta=3\div100$, шаг съемки 3°/мин,

напряжение 40 кВ. По данным рентгенофазового анализа рассчитывали средний размер кристаллитов (ОКР) по формуле Шеррера (3).

$$L_{hkl} = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (3)$$

Морфологию и элементный состав полученных композитов исследовали с помощью системы электронно-фокусированных ионных пучков Quanta 200 3D (США) при напряжении 5 кВ, размеры частиц рассчитывали методом «секущих» по уравнению (4):

$$\bar{D} = \frac{a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_n}{N} \quad (4)$$

ИК-спектры исследуемых образцов регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре Bruker Tensor 27 (США) в диапазоне 370–6000 cm^{-1} (на приставке «Алмаз на КРС-5»), $D=4 \text{ cm}^{-1}$, 128 накоплений методом нарушенного полного внутреннего отражения. Краевой угол смачивания и поверхностную энергию измеряли на приборе для измерения краевого угла смачивания DSA25 фирмы KRUSS (Германия) с использованием программного обеспечения ADVANCE. Измерения проводили методом сидящей капли, суть которого заключается в нанесении капель жидкости на поверхность образцов и измерении краевого угла смачивания. Поверхностную энергию рассчитывали после измерения краевого угла смачивания водой и глицерином. Удельную поверхность анализировали методом низкотемпературной газовой адсорбции на приборе TriStar 3020 (США). В качестве адсорбционного газа использовали азот. Температура измерения составляла 100 °С, анализ проводили в течение двух часов в вакууме. Исследование растворимости проводили путем инкубации образцов в физиологическом растворе (0,9 мас.% раствор NaCl) в течение 4 недель при температуре 37°С в термостате. Для расчета средней концентрации ионов кальция ($\text{C}(\text{Ca}^{2+})$ моль/л) и доверительного интервала (при $\text{RD} = 0,95$) измерения проводили каждые семь дней в трех параллелях методом трилометрического титрования. Титрование проводили 0,01 молярным раствором динатриевой соли этилендиамина тетрауксусной кислоты (трилоном Б) в присутствии аммиачного буфера с $\text{pH} = 9\text{--}10$. В качестве индикатора использовали эриохром черный Т.

Оценку жизнеспособности клеток иммунной системы после инкубации на поверхности исследуемых материалов проводили следующим образом: в ходе анализа на образцы сначала высевали моноциты, выделенные из крови

человека. Моноциты выделяли из крови 5 доноров. Осадок клеток ресуспендировали в бесывороточной среде Macrophage или X-Vivo в концентрации 1×10^6 клеток/мл. Клетки высевали в 12-луночные планшеты с образцами (2 мл на лунку). Затем образцы инкубировали при температуре 37 °C в течение 6 суток. После этого из каждой лунки отбирали супернатант, оставляя в лунке по 500 мкл среды с клетками. В лунки добавляли реагент AlamarBlue (соотношение объемов AlamarBlue/клеточной среды 1/10 по 50 мкл). Клетки с AlamarBlue инкубировали в течение 3 ч при температуре 37 °C в темном месте. После инкубации клеточную среду с AlamarBlue добавляли в 96-луночный планшет (по три лунки для каждого образца). Интенсивность флуоресцентного сигнала измеряли с помощью микроридера Tecan Infinite 200

(Tecan Group Ltd., Маннедорф, Швейцария) при длине волны 540 нм.

Результаты эксперимента и обсуждение

По результатам рентгенофазового анализа установлено, что в двух образцах композиционных материалов основными фазами являются брусшит/хитозан и гидроксиапатит/хитозан соответственно (рис. 1). Независимо от изменения концентрации хитозана фазовый состав не меняется, следовательно, в образцах отсутствуют другие соединения, кроме указанных выше. Однако для композита хитозан/брусшит наблюдается смещение рефлексов, что может свидетельствовать об изменении межплоскостного расстояния за счет встраивания хитозана в структуру брусшита с образованием твердого раствора заполнения.

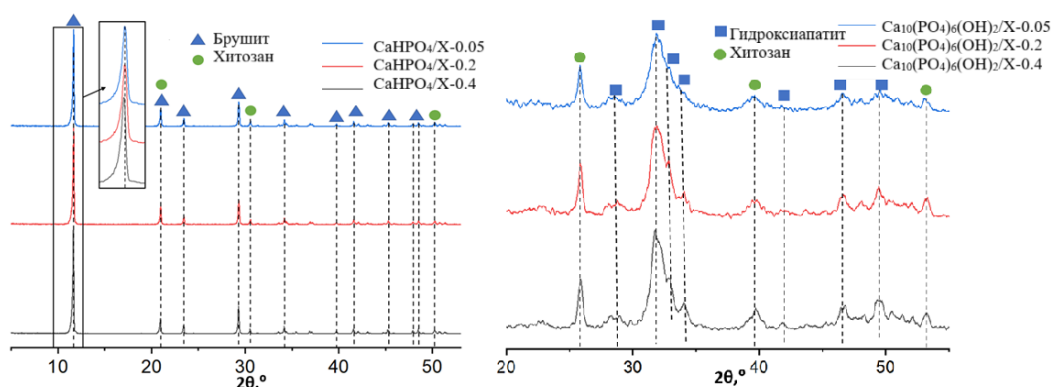


Рис.1. Дифрактограммы образцов а) хитозан/брусшит б) хитозан/гидроксиапатит

Fig. 1. Diffraction patterns of samples a) chitosan/brushite b) chitosan/hydroxyapatite

Зависимость значения областей когерентного рассеяния от состава композитов хитозан/гидроксиапатит показала, что средний размер кристаллитов изменяется с увеличением содержания полимера; мы предполагаем, что это может быть связано с тем, что хитозан способствует образованию большего количества центров кристаллизации, что способствует уменьшению размера кристаллитов. В случае образцов хитозан/гидроксиапатит ОКР существенно не меняется с концентрацией хитозана (таблица 2).

Табл. 2. Зависимость размеров кристаллитов от состава композитов

Tab.2. Dependence of crystallite size on the composition of composites

Образец	ОКР, нм
CaHPO ₄ /X-0.05	102
CaHPO ₄ /X-0.2	91
CaHPO ₄ /X-0.4	84
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ /X-0.05	16
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ /X-0.2	18
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ /X-0.4	23

Исследование показало, что все полученные композиты имеют характерные полосы поглощения, обусловленные антисимметричными валентными колебаниями (1024 и 1154 см⁻¹) связей О-Р-О. Полосы при 530 см⁻¹ и 574 см⁻¹ соответствуют колебаниям в тетраэдрах. Широкая полоса в области 3489–3583 см⁻¹ и пик при 3142 см⁻¹ могут быть отнесены к валентным колебаниям связей Н-О-Н и ОН- соответственно (рисунок 2).

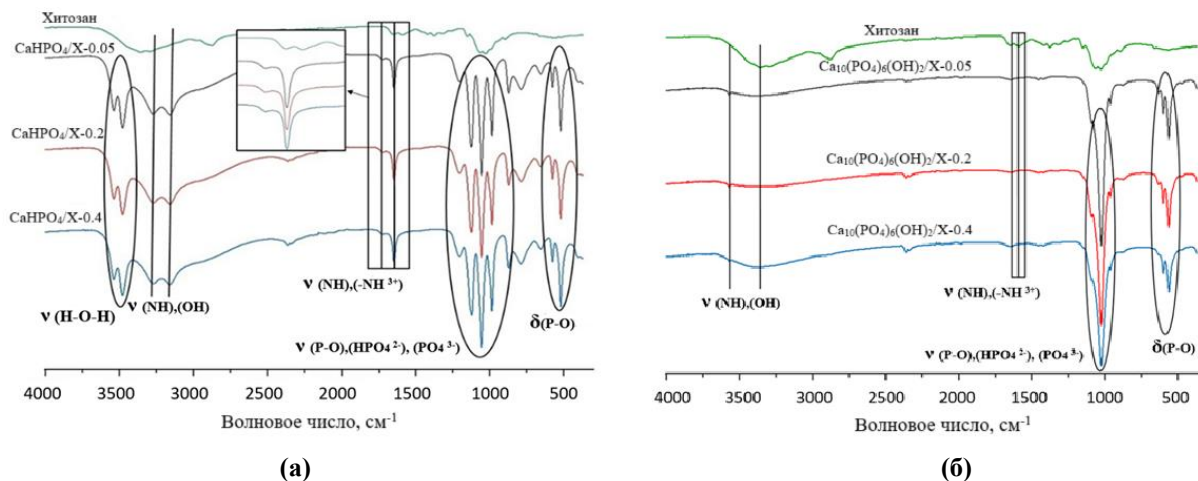


Рис.2. ИК-спектры композитов а) хитозан/брушит, б) хитозан/гидроксиапатит

Fig. 2. IR spectra of composites a) chitosan/brushite, b) chitosan/hydroxyapatite

Для хитозана широкая полоса поглощения при 3290 см^{-1} может быть отнесена к валентным и деформационным колебаниям групп -OH и -NH_2 , которые участвуют во внутри- и межмолекулярных связях. Антисимметричные валентные колебания связи C-N в метиленовых компонентах хитозана проявляются при 2876 см^{-1} . Деформационные колебания связанной аминогруппы NH_3^+ в молекулах хитозана соответствуют частоте 1663 см^{-1} . Для образцов хитозан/гидроксиапатит колебания связи O-C-O проявляются при 877 см^{-1} (рис. 26). По смещению полос, соответствующих аминогруппам хитозана в композитах хитозан/брушит, можно предположить, что происходит фосфорилирование хитозана фосфат-ионами, схема представлена на рисунке 3.

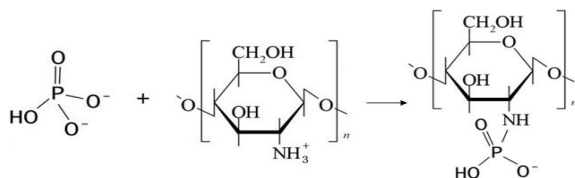


Рис.3. Схема фосфорилирования хитозана ионами фосфата в композитах хитозан/брушит

Fig. 3. Scheme of chitosan phosphorylation by phosphate ions in chitosan/brushite composites

В композиционных материалах на основе гидроксиапатита фосфорилирование не происходит, так как среда щелочная, а в результате депротонирования аминогрупп хитозана возможно образование хелатного комплекса гидроксиапатита кальция с NH_2 -группами полимера (рис. 4).

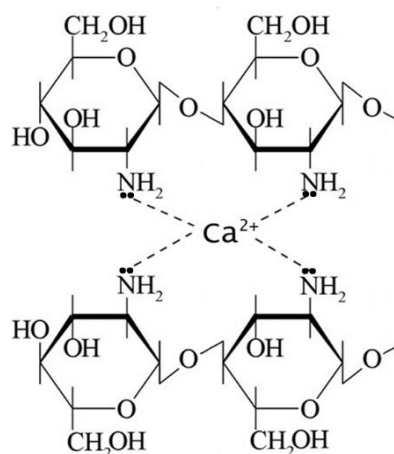


Рис.4. Хелатное соединение кальция с аминогруппами в композитах хитозан/гидроксиапатит

Fig. 4. Calcium chelate compound with amino groups in chitosan/hydroxyapatite composites

Исследование показало, что образцы хитозана/брушита представлены пластинчатыми частицами (рисунок 5). Средний размер частиц находится в диапазоне 5–6 мкм. Распределение частиц мономодальное.

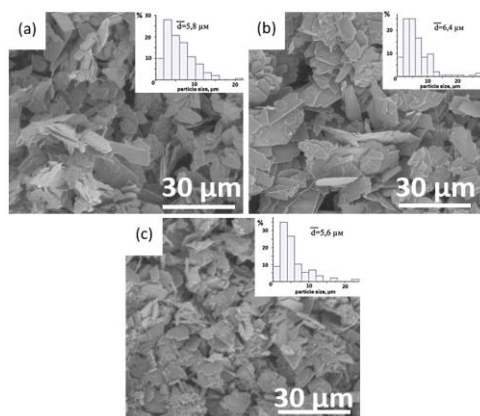


Рис. 5. СЭМ-изображения поверхности композитов хитозан/брушит
а) $\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.05$; б) $\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.2$;
в) $\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.4$

Fig. 5. SEM surface images of chitosan/brushite composites а) $\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.05$; б) $\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.2$;
в) $\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.4$

Образцы композитов хитозан/гидроксиапатит представлены агрегатами частиц неопределенной формы, что можно увидеть на рисунке 6. Размеры частиц находятся в диапазоне 5–8 мкм.

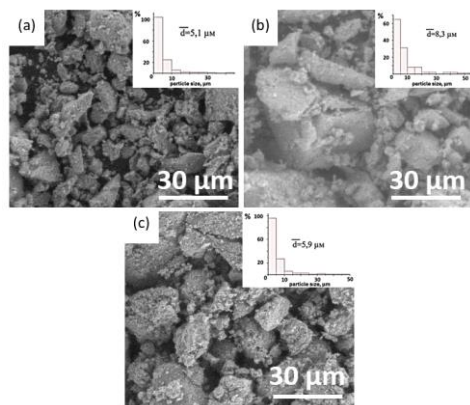


Рис. 6. СЭМ-изображения поверхности композитов хитозан/гидроксиапатит а) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.05$;
б) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.2$; в) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.4$

Fig. 6. SEM images of the surface of chitosan/hydroxyapatite composites
а) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.05$; б) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.2$;
в) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.4$

Атомное содержание элементов в образцах обоих типов изменяется в зависимости от соотношения компонентов материалов. С увеличением содержания хитозана в материалах увеличивается содержание углерода и уменьшается содержание кальция.

Поверхностную энергию композиционных материалов рассчитывали через начальные углы смачивания (табл. 3), поскольку образцы являются гидрофильными и капли жидкости не успевают стабилизироваться на поверхности образцов.

Табл. 3. Угол смачивания θ для чистых образцов и композитных материалов

Table 3. Wetting edge angle θ for pure samples and composite materials

Образец	θ вода, °	θ глицерин, °
Хитозан	80,57	74,04
CaHPO_4	15,19	28,16
$\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.05$	21,53	32,37
$\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.2$	15,49	20,05
$\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.4$	20,31	23,51
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	17,9	29,22
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.05$	14,09	18,35
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.2$	15,9	21,6
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2/\text{X}-0.4$	15,37	23,7

Значения поверхностной энергии, полярной и дисперсионной составляющих представлены в таблице 4. В образцах CaHPO_4/X значение поверхностной энергии уменьшается с ростом концентрации полимера в композитах, а дисперсионная составляющая энергии увеличивается, что может быть связано с увеличением числа неполярных углеродных цепей хитозана в материалах. Следовательно, согласно соотношениям, значения составляющих стремятся к значениям исходного хитозана, что говорит о полноте покрытия минеральных частиц полимером.

Табл. 4. Поверхностная энергия компонентов и композитов

Table 4. Surface energy of components and composites

Образец	σ^D , мДж/м ²	σ^P , мДж/м ²	σ , мДж/м ²
Хитозан	13,32	12,58	25,89
CaHPO_4	9,03	64,82	73,85
$\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.05$	8,46	62,99	71,45
$\text{CaHPO}_4/\text{X}-0.2$	13,62	57,7	71,32

CaHPO ₄ /X-0.4	13,54	55,82	69,36
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	9,19	63,45	72,64
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ /X-0.05	14,02	57,65	71,67
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ /X-0.2	12,94	58,48	71,42
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ /X-0.4	11,62	60,57	72,19

В композиционных материалах на основе гидроксиапатита значения поверхностной энергии практически не меняются с изменением количества добавленного полимера. Однако наблюдается увеличение полярной составля-

щей энергии, что свидетельствует об ионных взаимодействиях в полученных композитах.

Методом трилометрического титрования установлено, что с увеличением концентрации хитозана в композитах на основе брусита увеличивается количество высвобождающихся ионов кальция, что представлено на рисунке 7. Предполагается, что увеличение растворимости может быть связано с протонированием аминогрупп хитозана кислой солью гидрофосфата кальция.

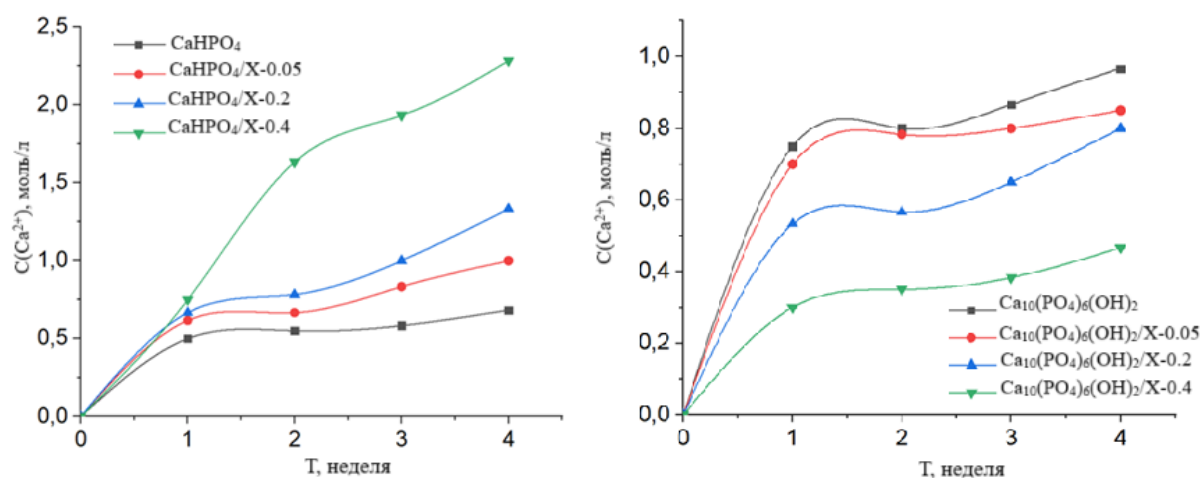


Рис. 7. Изменение концентрации Ca^{2+} в композиционных материалах а) хитозан/брусит, б) хитозан/гидроксиапатит

Fig. 7. Change in the concentration of Ca^{2+} in composite materials a) chitosan/brushite, b) chitosan/hydroxyapatite

На рисунке 7б представлен график изменения концентрации ионов кальция, высвобождающихся в процессе измерения растворимости образцов на основе гидроксиапатита. Исследование показало, что композиты хитозан/гидроксиапатит снижают растворимость с увеличением содержания полимера. При этом хитозан не протонирован, а представляет собой полимерное покрытие гидроксиапатита, что затрудняет диффузию в структуре композитов, что приводит к снижению выхода ионов кальция.

Для всех образцов была рассчитана площадь удельной поверхности $S_{\text{уд}}$ (таблица 5). В композитах на основе гидроксиапатита $S_{\text{уд}}$ уменьшается с увеличением содержания полимера. Это можно объяснить тем, что полимер заполняет поры в фосфате кальция. В образцах на основе брусита величина $S_{\text{уд}}$ также уменьшается с увеличением концентрации хитозана. В композитном материале на основе брусита с

максимальным содержанием хитозана поры не обнаружены, поэтому рассчитать $S_{\text{уд}}$ не представляется возможным.

Табл. 5. Площадь удельной поверхности $S_{\text{уд}}$

Table 5. Specific surface area of composite materials

Образец	$S_{\text{уд}}$, $\text{м}^2/\text{г}$
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	82.4626 ± 0.2714
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ /X-0.05	81.5073 ± 0.1864
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ /X-0.2	82.1257 ± 0.1940
Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ /X-0.4	67.8303 ± 0.1334
CaHPO ₄	15.5804 ± 0.0753
CaHPO ₄ /X-0.05	6.9261 ± 0.0427
CaHPO ₄ /X-0.2	4.7343 ± 0.0701
CaHPO ₄ /X-0.4	-

Исследование жизнеспособности макрофагов в присутствии материалов показало, что добавление хитозана улучшает биосовместимость

минерального компонента (рисунок 8). Особенно это заметно в случае гидроксиапатита.

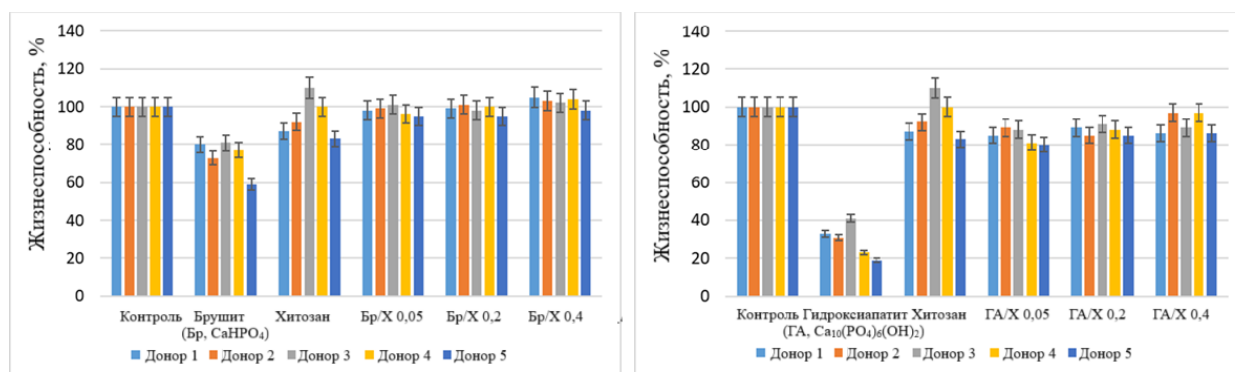


Рис.8. Изменение концентрации Ca^{2+} в композиционных материалах а) хитозан/брушит, б) хитозан

Fig. 8. Viability of macrophages in the presence of materials a) chitosan/brushite, b) chitosan/hydroxyapatite

Жизнеспособность клеток в присутствии чистого хитозана является самой высокой среди всех материалов, а у некоторых доноров даже выше, чем в контрольном образце. Чистый брушит показывает значения 60–80 %, однако добавление хитозана в концентрации 0,05–0,4% повышает жизнеспособность клеток до значений, сопоставимых с контрольным образцом. Внутри серии наблюдается увеличение жизнеспособности с увеличением концентрации хитозана, образец $\text{СаНРО}_4/\text{Х}-0.4$ показывает самые высокие значения 98–105%. Чистый гидроксиапатит демонстрирует низкую жизнеспособность макрофагов. В наших предыдущих исследованиях с гидроксиапатитом мы получили схожие результаты: в присутствии чистого ГА большинство макрофагов погибало, но покрытие поверхности ГА полимером значительно улучшало его биосовместимость [57, 58]. В данном случае мы имеем схожий результат: добавление хитозана даже в минимальной концентрации позволяет повысить показатель жизнеспособности до 80–90 %. При сравнении двух групп материалов можно отметить, что материалы на основе гидроксиапатита обладают более низкой жизнеспособностью клеток, чем материалы на основе брушита. Это может быть связано с характером химического взаимодействия компонентов системы на поверхности образцов, поскольку концентрации исходных компонентов и элементный состав материалов близки. Однако при разных значениях pH среды взаимодействие происходит по-разному. С точки зрения биосовместимости образование

брушита и фосфорилирование являются более предпочтительным процессом, однако растворимость таких материалов происходит значительно быстрее, чем у материалов на основе гидроксиапатита, и в некоторых случаях этот фактор может быть более существенным, при разнице в жизнеспособности в пределах 10–15 %.

Закключение

Получены композиционные материалы на основе брушита и гидроксиапатита с добавлением хитозана с содержанием 0,05, 0,2, 0,4 мас.%. Установлено, что добавление хитозана не влияет на фазовую структуру материалов, появления посторонних рефлексов не наблюдается, однако наблюдается смещение рефлексов, что может свидетельствовать об образовании твердого раствора внедрения за счет встраивания хитозана в структуру брушита. Также с увеличением содержания хитозана в брушите уменьшается средний размер кристаллитов. По данным ИК-спектров, в образце хитозан/брушит наблюдается смещение полос, соответствующих аминогруппам хитозана, что может свидетельствовать о фосфорилировании аминогрупп хитозана фосфат-ионами брушита, для образца с гидроксиапатитом также наблюдается смещение полос аминогрупп, что может свидетельствовать об образовании хелатного комплекса между ионами кальция гидроксиапатита и аминогруппами хитозана. Морфология композитов на основе брушита представле-

на пластинчатыми частицами со средним размером в диапазоне 5–6 мкм, композиты на основе гидроксиапатита представлены частицами без определенной геометрической формы, со средним размером в диапазоне 5–8 мкм. Исследование $S_{уд}$ показало, что с увеличением содержания хитозана в образце с брушитом происходит уменьшение размера пор, для образца хитозан/гидроксиапатит размер пор изменяется незначительно. Измерение краевого угла и потенциальной энергии показало, что с увеличением концентрации хитозана в композитах на основе брушита компоненты поверхностной энергии стремятся к значениям исходного хитозана, тогда как в композитах на основе ГА с ростом концентрации хитозана увеличивается полярная компонента поверхностной энергии, что свидетельствует об увеличении числа ионных взаимодействий в образцах. Высвобождение ионов кальция с ростом концентрации хитозана в композитах на основе брушита увеличивается за счет протонирования аминогрупп хитозана, тогда как в образцах на основе ГА оно уменьшается из-за покрытия гидроксиапатита полимерной пленкой хитозана. Исследование жизнеспособности макрофагов в присутствии материалов показывает, что добавление хитозана значительно повышает биосовместимость этих материалов, особенно гидроксиапатита. Чистый хитозан демонстрирует наибольшую жизнеспособность клеток, часто превосходящую контрольный образец, в то время как чистые брушит и гидроксиапатит демонстрируют сравнительно более низкую жизнеспособность. Однако включение хитозана в эти материалы, даже в низких концентрациях, значительно улучшает жизнеспособность клеток, а более высокие концентрации хитозана дают еще лучшие результаты. Например, композиты брушита-хитозана с 0,4 % хитозана достигли показателей жизнеспособности 98–105 %, что сопоставимо или превышает контроль. Материалы на основе гидроксиапатита, как правило, демонстрируют более низкую жизнеспособность, чем материалы на основе брушита, вероятно, из-за различий в поверхностных взаимодействиях и химическом поведении при различных условиях pH. Хотя брушит обеспечивает лучшую биосовместимость благодаря своим химическим свойствам и процессам фосфорилирования, его более быстрая растворимость по сравнению с гидроксиапатитом может быть ограничивающим фактором в некоторых при-

ложениях. В целом, результаты подчеркивают важность хитозана в улучшении биосовместимости материалов на основе минералов, особенно при разработке материалов для биомедицинских применений, где жизнеспособность клеток и стабильность материала должны быть сбалансированы.

Список литературы

1. Chen X. Calcium Phosphate-Based Nanomaterials: Preparation, Multifunction, and Application for Bone Tissue Engineering / X. Chen, H. Li, Y. Ma, Y. Jiang // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28. – P. 4790.
2. Zhang Y. The Osteoinductivity of Calcium Phosphate-Based Biomaterials: A Tight Interaction With Bone Healing / Y. Zhang, T. Shu, S. Wang, Z. Liu, Y. Cheng, A. Li, D. Pei // *Front Bioeng Biotechnol*. – 2022. – Vol. 10. – P. 911180.
3. Tang Z. The material and biological characteristics of osteoinductive calcium phosphate ceramics / Z. Tang, X. Li, Y. Tan, H. Fan, X. Zhang // *Regen. Biomater*. – 2018. – Vol. 5. – P. 43-59.
4. Díaz-Cuenca A. Biocompatible calcium phosphate-based ceramics and composites / A. Díaz-Cuenca, D. Rabadjieva, K. Sezanova, R. Gergulova, R. Ilieva, S. Tepavitcharova // *Mater. Today*. – 2022. – Vol. 61. – P. 1217-1225.
5. Gallo M. Resorption of calcium phosphate materials: Considerations on the in vitro evaluation / M. Gallo, S. Tadier, S. Meille, J. Chevalier // *J. Eur. Ceram*. – 2018. – Vol. 38. – P. 899-914.
6. Jeong J. Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration / J. Jeong, J.H. Kim, J.H. Shim, N.S. Hwang, C.Y. Heo // *Biomater. Res*. – 2019. – Vol. 23. – P. 4.
7. Hou X. Calcium phosphate-based biomaterials for bone repair / X. Hou, L. Zhang, Z. Zhou, X. Luo, T. Wang, X. Zhao, L. Zheng // *J. Funct. Biomater*. – 2022. – Vol. 13. – P. 187.
8. Fosca M. Factors influencing the drug release from calcium phosphate cements / M. Fosca, J.V. Rau, V. Uskoković // *Bioact. Mater*. – 2022. – Vol. 7. – P. 341-363.
9. Su Y. Biofunctionalization of metallic implants by calcium phosphate coatings / Y. Su, I. Cockerill, Y. Zheng, L. Tang, Y.X. Qin, D. Zhu // *Bioact. Mater*. – 2019. – Vol. 4. – P. 196-206.
10. Nikolova M. P. Advances in multifunctional bioactive coatings for metallic bone implants / M.P. Nikolova, M.D. Apostolova // *Materials*. – 2022. – Vol. 16. – P. 183.
11. Dehghanhadikolaei A. Coating techniques for functional enhancement of metal implants for bone replacement: a review / A. Dehghanhadikolaei, B. Fotovvati // *Materials*. – 2019. – Vol. 12. – P. 1795.

12. Qiu C. Preparation and application of calcium phosphate nanocarriers in drug delivery / C. Qiu, Y. Wu, Q. Guo, Q. Shi, J. Zhang, Y. Meng, J. Wang // *Materials Today Bio.* – 2022. – Vol. 17. – P. 100501.
13. Huang D. Calcium phosphate nanocarriers for drug delivery to tumors: imaging, therapy and theranostics / D. Huang, B. He, P. Mi // *Biomater. Sci.* – 2019. – Vol. 7. – P. 3942-3960.
14. Dorozhkin S. V. Biological and medical significance of calcium phosphates / S.V. Dorozhkin, M. Epple // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2002. – Vol. 41. – P. 3130-3146.
15. Osuchukwu O. A. Synthesis techniques, characterization and mechanical properties of natural derived hydroxyapatite scaffolds for bone implants: A review / O.A. Osuchukwu, A. Salihi, I. Abdullahi, B. Abdulkareem, C.S. Nwannenna // *SN Applied Sciences.* – 2021. – Vol. 3. – P. 1-23.
16. Kumar R. Hydroxyapatite: a versatile bioceramic for tissue engineering application / R. Kumar, S. Mohanty // *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* – 2022. – Vol. 32. – P. 4461-4477.
17. Sakai S. Comparative study on the resorbability and dissolution behavior of octacalcium phosphate, β -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite under physiological conditions / S. Sakai, T. Anada, K. Tsuchiya, H. Yamazaki, H.C. Margolis, O. Suzuki // *Dent. Mater. J.* – 2016. – Vol. 35. – P. 216-224.
18. Kuranov G. Solubility of hydroxyapatite as a function of solution composition (experiment and modeling) / G. Kuranov, K. Mikhelson, A. Puzyk // *Springer International Publishing.* – 2020. – P. 39-58.
19. Ginebra M. P. Cements as bone repair materials / M.P. Ginebra, E.B. Montufar // *Bone repair biomaterials.* – 2019. – P. 233-271.
20. Theiss F. Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement / F. Theiss, D. Apelt, B. Brand, A. Kutter, K. Zlinszky, M. Bohner, B. Von Rechenberg // *Biomaterials.* – 2005. – Vol. 26. – P. 4383-4394.
21. Shi H. Hydroxyapatite based materials for bone tissue engineering: A brief and comprehensive introduction / H. Shi, Z. Zhou, W. Li, Y. Fan, Z. Li, J. Wei // *Crystals.* – 2021. – Vol. 11. – P. 149.
22. Ielo I. Recent advances in hydroxyapatite-based biocomposites for bone tissue regeneration in orthopedics / I. Ielo, G. Calabrese, G. De Luca, S. Conoci // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23. – P. 9721.
23. Eliaz N. Calcium phosphate bioceramics: a review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications / N. Eliaz, N. Metoki // *Materials.* – 2017. – Vol. 10. – P. 334.
24. Guo L. The role of natural polymers in bone tissue engineering / L. Guo, Z. Liang, L. Yang, W. Du, T. Yu, H. Tang, H. Qiu // *J. Control Release.* – 2021. – Vol. 338. – P. 571-582.
25. Zhang D. The development of collagen based composite scaffolds for bone regeneration / D. Zhang, X. Wu, J. Chen, K. Lin // *Bioact. Mater.* – 2018. – Vol. 3. – P. 129-138.
26. Mallick M. An overview of collagen/bioceramic and synthetic collagen for bone tissue engineering / M. Mallick, R.P. Are, A.R. Babu // *Materialia.* – 2022. – Vol. 22. – P. 101391.
27. Soundarya S. P. Bone tissue engineering: Scaffold preparation using chitosan and other biomaterials with different design and fabrication techniques / S.P. Soundarya, A.H. Menon, S.V. Chandran, N. Selvamurugan // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2018. – Vol. 119. – P. 1228-1239.
28. Hussin M. S. F. A bibliometric analysis of the global trend of using alginate, gelatine, and hydroxyapatite for bone tissue regeneration applications / M.S.F. Hussin, A. Mohd Serah, K.A. Azlan, H.Z. Abdullah, M.I. Idris, I. Ghazali, A.A. Zakaria // *Polymers.* – 2021. – Vol. 13. – P. 647.
29. Farokhi M. Silk fibroin/hydroxyapatite composites for bone tissue engineering / M. Farokhi, F. Mottaghtalab, S. Samani, M.A. Shokrgozar, S.C. Kundu, R.L. Reis, D.L. Kaplan // *Biotechnol. Adv.* – 2018. – Vol. 36. – P. 68-91.
30. Sahoo D. R. Alginate and its application to tissue engineering / D.R. Sahoo, T. Biswal // *SN Applied Sciences.* – 2021. – Vol. 3. – P. 30.
31. Janmohammadi M. Cellulose-based composite scaffolds for bone tissue engineering and localized drug delivery / M. Janmohammadi, Z. Nazemi, A.O.M. Salehi, A. Seyfoori, J.V. John, M.S. Nourbakhsh, M. Akbari // *Bioact. Mater.* – 2023. – Vol. 20. – P. 137-163.
32. Torgbo S. Bacterial cellulose-based scaffold materials for bone tissue engineering / S. Torgbo, P. Sukyai // *Appl. Mater. Today.* – 2018. – Vol. 11. – P. 34-49.
33. Mohd Roslan M. R. The state of starch/hydroxyapatite composite scaffold in bone tissue engineering with consideration for dielectric measurement as an alternative characterization technique / M.R. Mohd Roslan, N.L. Mohd Kamal, M.F. Abdul Khalid, N.F. Mohd Nasir, E.M. Cheng, C.Y. Beh, M.S. Mohamed // *Materials.* – 2021. – Vol. 14. – P. 1960.
34. Salama A. Recent progress in preparation and applications of chitosan/calcium phosphate composite materials / A. Salama // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2021. – Vol. 178. – P. 240-252.
35. Pighinelli L. Chitosan-hydroxyapatite composites / L. Pighinelli, M. Kucharska // *Carbohydr. Polym.* – 2013. – Vol. 93. – P. 256-262.
36. Kedir W. M. Pharmaceutical and drug delivery applications of chitosan biopolymer and its

- modified nanocomposite: A review / W.M. Kedir, G.F. Abdi, M.M. Goro, L.D. Tolesa // *Heliyon*. – 2022. – Vol. 8. – P. e10174.
37. Islam M. M. Chitosan based bioactive materials in tissue engineering applications-A review / M.M. Islam, M. Shahrizzaman, S. Biswas, M.N. Sakib, T.U. Rashid // *Bioact. Mater.* – 2020. – Vol. 5. – P. 164-183.
38. Ressler A. Chitosan-based biomaterials for bone tissue engineering applications: a short review / A. Ressler // *Polymers*. – 2022. – Vol. 14. – P. 3430.
39. He X. Enhanced healing of rat calvarial defects with MSCs loaded on BMP-2 releasing chitosan/alginate/hydroxyapatite scaffolds / X. He, Y. Liu, X. Yuan, L. Lu // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9. – P. e104061.
40. Oliveira J. M. Novel hydroxyapatite/chitosan bilayered scaffold for osteochondral tissue-engineering applications: Scaffold design and its performance when seeded with goat bone marrow stromal cells / J.M. Oliveira, M.T. Rodrigues, S.S. Silva, P.B. Malafaya, M.E. Gomes, C.A. Viegas, R.L. Reis // *Biomaterials*. – 2006. – Vol. 27. – P. 6123-6137.
41. Biazar E. Bone reconstruction in rat calvarial defects by chitosan/hydroxyapatite nanoparticles scaffold loaded with unrestricted somatic stem cells / E. Biazar, S. Heidari Keshel, M.R. Tavirani, R. Jahandideh // *Artif. cells nanomed. biotechnol.* – 2015. – Vol. 43. – P. 112-116.
42. Li L. Synergistic anti-inflammatory and osteogenic n-HA/resveratrol/chitosan composite microspheres for osteoporotic bone regeneration / L. Li, M. Yu, Y. Li, Q. Li, H. Yang, M. Zheng, L. Gui // *Bioact. Mater.* – 2021. – Vol. 6. – P. 1255-1266.
43. Xue Z. Rapid construction of polyetheretherketone (PEEK) biological implants incorporated with brushite and antibiotics for anti-infection and enhanced osseointegration / Z. Xue, Z. Wang, J. Huang, W. Wu, M. Chen, X. Hao, S. Weng // *Mater. Sci. Eng. C*. – 2020. – Vol. 111. – P. 110782.
44. Ghorbani F. M. PCL/chitosan/Zn-doped nHA electrospun nanocomposite scaffold promotes adipose derived stem cells adhesion and proliferation / F.M. Ghorbani, B. Kaffashi, P. Shokrollahi, E. Seyedjafari, A. Ardeshirylajimi // *Carbohydr. Polym.* – 2015. – Vol. 118. – P. 133-142.
45. Šupová M. Problem of hydroxyapatite dispersion in polymer matrices: a review / M. Šupová // *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* – 2009. – Vol. 20. – P. 1201-1213.
46. Hu Q. Preparation and characterization of biodegradable chitosan/hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: a potential material as internal fixation of bone fracture / Q. Hu, B. Li, M. Wang, J. Shen // *Biomaterials*. – 2004. – Vol. 25. – P. 779-785.
47. Chacon E. L. Collagen-chitosan-hydroxyapatite composite scaffolds for bone repair in ovariectomized rats / E.L. Chacon, M.R.V. Bertolo, A.M. de Guzzi Plepis, V. da Conceição Amaro Martins, G.R. Dos Santos, C.A.L. Pinto, M.R. da Cunha // *Sci. Rep.* – 2023. – Vol. 13. – P. 28.
48. Dorozhkin S. V. Biological and medical significance of calcium phosphates / S.V. Dorozhkin, M. Epple // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2002. – Vol. 41. – P. 3130-3146.
49. Sakai S. Comparative study on the resorbability and dissolution behavior of octacalcium phosphate, β -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite under physiological conditions / S. Sakai, T. Anada, K. Tsuchiya, H. Yamazaki, H.C. Margolis, O. Suzuki // *Dent. Mater. J.* – 2016. – Vol. 35. – P. 216-234.
50. Lee H. J. Incorporation of chitosan-alginate complex into injectable calcium phosphate cement system as a bone graft material / H.J. Lee, B. Kim, A.R. Padalhin, B.T. Lee // *Mater. Sci. Eng. C*. – 2019. – Vol. 94. – P. 385-392.
51. Liu D. Biodegradable cements for bone regeneration / D. Liu, C. Cui, W. Chen, J. Shi, B. Li, S. Chen // *biot. Biomater.* – 2023. – Vol. 14. – P. 134.
52. Böhner M. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements / M. Böhner // *Injury*. – 2000. – Vol. 31. – P. 37-47.
53. Tripathi G. Fabrication and characterization of cellulose nano crystal and soya modified injectable brushite bone cement for enhanced bone regeneration / G. Tripathi, M. Park, M. Hossain, S.B. Im, B.T. Lee // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2022. – Vol. 221. – P. 1536-1544.
54. de Franca Silva Azevedo A. C. Brushite bone cement containing polyethylene glycol for bone regeneration / A.C. de Franca Silva Azevedo, O.C. Morúa, G.G. de Lima, H.N. da Silva, J. da Silva Ferreira, M.V.L. Fook, M.J.C. de Sá // *Biomater. Eng.* – 2022. – Vol. 33. – P. 221-233.
55. Lodoso-Torrecilla I. Calcium phosphate cements: Optimization toward biodegradability / I. Lodoso-Torrecilla, J.J. van den Beucken, J.A. Jansen // *Acta Biomater.* – 2021. – Vol. 119. – P. 1-12.
56. Golovanova O. A. Preparation of calcium phosphate/chitosan granules / O.A. Golovanova // *Inorg. Mater.* – 2021. – Vol. 57. – P. 950-957.
57. Lytkina D. Biocompatible Composite Materials Based on Porous Hydroxyapatite Ceramics and Copolymer of Lactide and Glycolide / D. Lytkina, L. Heinrich, E. Churina, I. Kurzina // *Materials*. – 2021. – Vol. 14. – P. 2168.
58. Lytkina D. Obtaining Biocompatible Porous Composite Material Based on Zinc-

Modified Hydroxyapatite and Lactide-Glycolide Copolymer / D. Lytkina, A. Gutsalova, D. Fedorishin, I. Kurzina // Crystals. – 2021. – Vol. 11. – P. 1519.

Информация об авторах

И. А. Курзина – доктор физико-математических наук, доцент, заведующий кафедрой природных соединений, фармацевтической и медицинской химии НИ ТГУ.

Д. Н. Лыткина – кандидат технических наук, доцент кафедры природных соединений, фармацевтической и медицинской химии НИ ТГУ.

Р. Т. Садыков – аспирант кафедры высокомолекулярных соединений, младший научный сотрудник НИ ТГУ.

References

1. Chen X. Calcium Phosphate-Based Nanomaterials: Preparation, Multifunction, and Application for Bone Tissue Engineering / X. Chen, H. Li, Y. Ma, Y. Jiang // Molecules. – 2023. – Vol. 28. – P. 4790.
2. Zhang Y. The Osteoinductivity of Calcium Phosphate-Based Biomaterials: A Tight Interaction With Bone Healing / Y. Zhang, T. Shu, S. Wang, Z. Liu, Y. Cheng, A. Li, D. Pei // Front Bioeng Biotechnol. – 2022. – Vol. 10. – P. 911180.
3. Tang Z. The material and biological characteristics of osteoinductive calcium phosphate ceramics / Z. Tang, X. Li, Y. Tan, H. Fan, X. Zhang // Regen. Biomater. – 2018. – Vol. 5. – P. 43-59.
4. Díaz-Cuenca A. Biocompatible calcium phosphate-based ceramics and composites / A. Díaz-Cuenca, D. Rabadjieva, K. Sezanova, R. Gergulova, R. Ilieva, S. Tepavitcharova // Mater. Today. – 2022. – Vol. 61. – P. 1217-1225.
5. Gallo M. Resorption of calcium phosphate materials: Considerations on the in vitro evaluation / M. Gallo, S. Tadier, S. Meille, J. Chevalier // J. Eur. Ceram. – 2018. – Vol. 38. – P. 899-914.
6. Jeong J. Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration / J. Jeong, J.H. Kim, J.H. Shim, N.S. Hwang, C.Y. Heo // Biomater. Res. – 2019. – Vol. 23. – P. 4.
7. Hou X. Calcium phosphate-based biomaterials for bone repair / X. Hou, L. Zhang, Z. Zhou, X. Luo, T. Wang, X. Zhao, L. Zheng // J. Funct. Biomater. – 2022. – Vol. 13. – P. 187.
8. Fosca M. Factors influencing the drug release from calcium phosphate cements / M. Fosca, J.V. Rau, V. Uskoković // Bioact. Mater. – 2022. – Vol. 7. – P. 341-363.
9. Su Y. Biofunctionalization of metallic implants by calcium phosphate coatings / Y. Su, I. Cockerill, Y. Zheng, L. Tang, Y.X. Qin, D. Zhu // Bioact. Mater. – 2019. – Vol. 4. – P. 196-206.
10. Nikolova M. P. Advances in multifunctional bioactive coatings for metallic bone implants / M.P. Nikolova, M.D. Apostolova // Materials. – 2022. – Vol. 16. – P. 183.
11. Dehghanghadikolaei A. Coating techniques for functional enhancement of metal implants for bone replacement: a review / A. Dehghanghadikolaei, B. Fotovvati // Materials. – 2019. – Vol. 12. – P. 1795.
12. Qiu C. Preparation and application of calcium phosphate nanocarriers in drug delivery / C. Qiu, Y. Wu, Q. Guo, Q. Shi, J. Zhang, Y. Meng, J. Wang // Materials Today Bio. – 2022. – Vol. 17. – P. 100501.
13. Huang D. Calcium phosphate nanocarriers for drug delivery to tumors: imaging, therapy and theranostics / D. Huang, B. He, P. Mi // Biomater. Sci. – 2019. – Vol. 7. – P. 3942-3960.
14. Dorozhkin S. V. Biological and medical significance of calcium phosphates / S.V. Dorozhkin, M. Epple // Angew. Chem. Int. Ed. – 2002. – Vol. 41. – P. 3130-3146.
15. Osuchukwu O. A. Synthesis techniques, characterization and mechanical properties of natural derived hydroxyapatite scaffolds for bone implants: A review / O.A. Osuchukwu, A. Salihi, I. Abdullahi, B. Abdulkareem, C.S. Nwannenna // SN Applied Sciences. – 2021. – Vol. 3. – P. 1-23.
16. Kumar R. Hydroxyapatite: a versatile bioceramic for tissue engineering application / R. Kumar, S. Mohanty // J. Inorg. Organomet. Polym. Mater. – 2022. – Vol. 32. – P. 4461-4477.
17. Sakai S. Comparative study on the resorbability and dissolution behavior of octacalcium phosphate, β -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite under physiological conditions / S. Sakai, T. Anada, K. Tsuchiya, H. Yamazaki, H.C. Margolis, O. Suzuki // Dent. Mater. J. – 2016. – Vol. 35. – P. 216-224.
18. Kuranov G. Solubility of hydroxyapatite as a function of solution composition (experiment and modeling) / G. Kuranov, K. Mikhelson, A. Puzyk // Springer International Publishing. – 2020. – P. 39-58.
19. Ginebra M. P. Cements as bone repair materials / M.P. Ginebra, E.B. Montufar // Bone repair biomaterials. – 2019. – P. 233-271.
20. Theiss F. Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement / F. Theiss, D. Apelt, B. Brand, A. Kutter, K. Zlinszky, M. Bohner, B. Von Rechenberg // Biomaterials. – 2005. – Vol. 26. – P. 4383-4394.
21. Shi H. Hydroxyapatite based materials for bone tissue engineering: A brief and comprehensive introduction / H. Shi, Z. Zhou, W. Li, Y. Fan, Z. Li, J. Wei // Crystals. – 2021. – Vol. 11. – P. 149.

22. Ielo I. Recent advances in hydroxyapatite-based biocomposites for bone tissue regeneration in orthopedics / I. Ielo, G. Calabrese, G. De Luca, S. Conoci // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23. – P. 9721.
23. Eliaz N. Calcium phosphate bioceramics: a review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications / N. Eliaz, N. Metoki // *Materials.* – 2017. – Vol. 10. – P. 334.
24. Guo L. The role of natural polymers in bone tissue engineering / L. Guo, Z. Liang, L. Yang, W. Du, T. Yu, H. Tang, H. Qiu // *J. Control Release.* – 2021. – Vol. 338. – P. 571-582.
25. Zhang D. The development of collagen based composite scaffolds for bone regeneration / D. Zhang, X. Wu, J. Chen, K. Lin // *Bioact. Mater.* – 2018. – Vol. 3. – P. 129-138.
26. Mallick M. An overview of collagen/bioceramic and synthetic collagen for bone tissue engineering / M. Mallick, R.P. Are, A.R. Babu // *Materialia.* – 2022. – Vol. 22. – P. 101391.
27. Soundarya S. P. Bone tissue engineering: Scaffold preparation using chitosan and other biomaterials with different design and fabrication techniques / S.P. Soundarya, A.H. Menon, S.V. Chandran, N. Selvamurugan // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2018. – Vol. 119. – P. 1228-1239.
28. Hussin M. S. F. A bibliometric analysis of the global trend of using alginate, gelatine, and hydroxyapatite for bone tissue regeneration applications / M.S.F. Hussin, A. Mohd Serah, K.A. Azlan, H.Z. Abdullah, M.I. Idris, I. Ghazali, A.A. Zakaria // *Polymers.* – 2021. – Vol. 13. – P. 647.
29. Farokhi M. Silk fibroin/hydroxyapatite composites for bone tissue engineering / M. Farokhi, F. Mottaghitalab, S. Samani, M.A. Shokrgozar, S.C. Kundu, R.L. Reis, D.L. Kaplan // *Biotechnol. Adv.* – 2018. – Vol. 36. – P. 68-91.
30. Sahoo D. R. Alginate and its application to tissue engineering / D.R. Sahoo, T. Biswal // *SN Applied Sciences.* – 2021. – Vol. 3. – P. 30.
31. Janmohammadi M. Cellulose-based composite scaffolds for bone tissue engineering and localized drug delivery / M. Janmohammadi, Z. Nazemi, A.O.M. Salehi, A. Seyfoori, J.V. John, M.S. Nourbakhsh, M. Akbari // *Bioact. Mater.* – 2023. – Vol. 20. – P. 137-163.
32. Torgbo S. Bacterial cellulose-based scaffold materials for bone tissue engineering / S. Torgbo, P. Sukyai // *Appl. Mater. Today.* – 2018. – Vol. 11. – P. 34-49.
33. Mohd Roslan M. R. The state of starch/hydroxyapatite composite scaffold in bone tissue engineering with consideration for dielectric measurement as an alternative characterization technique / M.R. Mohd Roslan, N.L. Mohd Kamal, M.F. Abdul Khalid, N.F. Mohd Nasir, E.M. Cheng, C.Y. Beh, M.S. Mohamed // *Materials.* – 2021. – Vol. 14. – P. 1960.
34. Salama A. Recent progress in preparation and applications of chitosan/calcium phosphate composite materials / A. Salama // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2021. – Vol. 178. – P. 240-252.
35. Pighinelli L. Chitosan-hydroxyapatite composites / L. Pighinelli, M. Kucharska // *Carbohydr. Polym.* – 2013. – Vol. 93. – P. 256-262.
36. Kedir W. M. Pharmaceutical and drug delivery applications of chitosan biopolymer and its modified nanocomposite: A review / W.M. Kedir, G.F. Abdi, M.M. Goro, L.D. Tolesa // *Heliyon.* – 2022. – Vol. 8. – P. e10174.
37. Islam M. M. Chitosan based bioactive materials in tissue engineering applications-A review / M.M. Islam, M. Shahruzzaman, S. Biswas, M.N. Sakib, T.U. Rashid // *Bioact. Mater.* – 2020. – Vol. 5. – P. 164-183.
38. Ressler A. Chitosan-based biomaterials for bone tissue engineering applications: a short review / A. Ressler // *Polymers.* – 2022. – Vol. 14. – P. 3430.
39. He X. Enhanced healing of rat calvarial defects with MSCs loaded on BMP-2 releasing chitosan/alginate/hydroxyapatite scaffolds / X. He, Y. Liu, X. Yuan, L. Lu // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. – P. e104061.
40. Oliveira J. M. Novel hydroxyapatite/chitosan bilayered scaffold for osteochondral tissue-engineering applications: Scaffold design and its performance when seeded with goat bone marrow stromal cells / J.M. Oliveira, M.T. Rodrigues, S.S. Silva, P.B. Malafaya, M.E. Gomes, C.A. Viegas, R.L. Reis // *Biomaterials.* – 2006. – Vol. 27. – P. 6123-6137.
41. Biazar E. Bone reconstruction in rat calvarial defects by chitosan/hydroxyapatite nanoparticles scaffold loaded with unrestricted somatic stem cells / E. Biazar, S. Heidari Keshel, M.R. Tavirani, R. Jahandideh // *Artif. cells nanomed. biotechnol.* – 2015. – Vol. 43. – P. 112-116.
42. Li L. Synergistic anti-inflammatory and osteogenic n-HA/resveratrol/chitosan composite microspheres for osteoporotic bone regeneration / L. Li, M. Yu, Y. Li, Q. Li, H. Yang, M. Zheng, L. Gui // *Bioact. Mater.* – 2021. – Vol. 6. – P. 1255-1266.
43. Xue Z. Rapid construction of polyetheretherketone (PEEK) biological implants incorporated with brushite and antibiotics for anti-infection and enhanced osseointegration / Z. Xue, Z. Wang, J. Huang, W. Wu, M. Chen, X. Hao, S. Weng // *Mater. Sci. Eng. C.* – 2020. – Vol. 111. – P. 110782.
44. Ghorbani F. M. PCL/chitosan/Zn-doped nHA electrospun nanocomposite scaffold promotes adipose derived stem cells adhesion and proliferation / F.M. Ghorbani, B. Kaffashi, P. Shokrollahi,

- E. Seyedjafari, A. Ardeshtyrlajimi // *Carbohydr. Polym.* – 2015. – Vol. 118. – P. 133-142.
45. Šupová M. Problem of hydroxyapatite dispersion in polymer matrices: a review / M. Šupová // *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* – 2009. – Vol. 20. – P. 1201-1213.
46. Hu Q. Preparation and characterization of biodegradable chitosan/hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: a potential material as internal fixation of bone fracture / Q. Hu, B. Li, M. Wang, J. Shen // *Biomaterials.* – 2004. – Vol. 25. – P. 779-785.
47. Chacon E. L. Collagen-chitosan-hydroxyapatite composite scaffolds for bone repair in ovariectomized rats / E.L. Chacon, M.R.V. Bertolo, A.M. de Guzzi Plepis, V. da Conceição Amaro Martins, G.R. Dos Santos, C.A.L. Pinto, M.R. da Cunha // *Sci. Rep.* – 2023. – Vol. 13. – P. 28.
48. Dorozhkin S. V. Biological and medical significance of calcium phosphates / S.V. Dorozhkin, M. Epple // *Angew. Chem. Int. Ed.* – 2002. – Vol. 41. – P. 3130-3146.
49. Sakai S. Comparative study on the resorbability and dissolution behavior of octacalcium phosphate, β -tricalcium phosphate, and hydroxyapatite under physiological conditions / S. Sakai, T. Anada, K. Tsuchiya, H. Yamazaki, H.C. Margolis, O. Suzuki // *Dent. Mater. J.* – 2016. – Vol. 35. – P. 216-234.
50. Lee H. J. Incorporation of chitosan-alginate complex into injectable calcium phosphate cement system as a bone graft material / H.J. Lee, B. Kim, A.R. Padalhin, B.T. Lee // *Mater. Sci. Eng. C.* – 2019. – Vol. 94. – P. 385-392.
51. Liu D. Biodegradable cements for bone regeneration / D. Liu, C. Cui, W. Chen, J. Shi, B. Li, S. Chen // *biot. Biomater.* – 2023. – Vol. 14. – P. 134.
52. Bohner M. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements / M. Bohner // *Injury.* – 2000. – Vol. 31. – P. 37-47.
53. Tripathi G. Fabrication and characterization of cellulose nano crystal and soya modified injectable brushite bone cement for enhanced bone regeneration / G. Tripathi, M. Park, M. Hossain, S.B. Im, B.T. Lee // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2022. – Vol. 221. – P. 1536-1544.
54. de Franca Silva Azevedo A. C. Brushite bone cement containing polyethylene glycol for bone regeneration / A.C. de Franca Silva Azevedo, O.C. Morúa, G.G. de Lima, H.N. da Silva, J. da Silva Ferreira, M.V.L. Fook, M.J.C. de Sá // *Bio-med Mater Eng.* – 2022. – Vol. 33. – P. 221-233.
55. Lodoso-Torrecilla I. Calcium phosphate cements: Optimization toward biodegradability / I. Lodoso-Torrecilla, J.J. van den Beucken, J.A. Jansen // *Acta Biomater.* – 2021. – Vol. 119. – P. 1-12.
56. Golovanova O. A. Preparation of calcium phosphate/chitosan granules / O.A. Golovanova // *Inorg. Mater.* – 2021. – Vol. 57. – P. 950-957.
57. Lytkina D. Biocompatible Composite Materials Based on Porous Hydroxyapatite Ceramics and Copolymer of Lactide and Glycolide / D. Lytkina, L. Heinrich, E. Churina, I. Kurzina // *Materials.* – 2021. – Vol. 14. – P. 2168.
58. Lytkina D. Obtaining Biocompatible Porous Composite Material Based on Zinc-Modified Hydroxyapatite and Lactide-Glycolide Copolymer / D. Lytkina, A. Gutsalova, D. Fedorishin, I. Kurzina // *Crystals.* – 2021. – Vol. 11. – P. 1519.

Information about the authors

I. A. Kurzina – Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Natural Compounds, Pharmaceutical and Medical Chemistry at TSU.

D. N. Lytkina – Candidate of Technical Sciences, Associate Professor of the Department of Natural Compounds, Pharmaceutical and Medical Chemistry at TSU.

R. T. Sadykov – Postgraduate Student of the Department of Macromolecular Compounds, Junior Researcher at TSU.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare that there is no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 23.10.2025; одобрена после рецензирования 24.11.2025; принята к публикации 01.12.2025.

The article was received by the editorial board on 23 Oct. 2025; approved after reviewing 24 Nov. 2025; accepted for publication 01 Dec. 2025.