

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный
исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева»

Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова
Кафедра Химической и биохимической инженерии

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Синтез композитных криогелей с гидроксиапатитом»
6B05101– Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2024

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный
исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева»
Институт геологии и нефтегазового дела им. К. Турысова
Кафедра Химической и биохимической инженерии

ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой
Химической и биохимической
инженерии: Ph.D

Амитова А. А.
Ф.И.О.
«13» июня 2024 г.



ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Синтез композитных криогелей с гидроксиапатитом»
6B05101– Химическая и биохимическая инженерия

Выполнил

Байжан Л.С.

Рецензент: д.н.б., профессор
кафедры биотехнологии,
факультета биологии и
биотехнологии, КазНУ им. Аль-
Фараби

Научный руководитель:
Ph. D, Ассоциированный
профессор кафедры химической
и биохимической инженерии,
КазННТУ им К. И. Сатпаева


Подпись

Иващенко А. Т.
Ф.И.О.

«13» июня 2024 г.


Подпись

Берилло Д. А.
Ф.И.О.

«13» июня 2024 г.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казакский национальный
исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева»

Институт геологии и нефтегазового дела

Кафедра химической и биохимической инженерии

6B05101– химической и биохимической инженерии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

Химической и биохимической инженерии

Ph. D



Амитова А. А.

подпись

Ф.И.О.

«13» июня 2024 г.

ЗАДАНИЕ

на выполнение дипломной работы

Обучающемуся Байжан Лаура Серікқызы

Тема: «Синтез композитных криогелей с гидроксиапатитом»

Утверждена приказом МОН РК №125 от «18» марта 2008 г.

Срок сдачи законченной работы: «14» июня 2024г.

Исходные данные к дипломной работе: Научная литература о криогелях, композитных биоматериалах, гидроксиапатите, методах синтеза криогелях. Краткое содержание дипломной работы: Дипломная работа посвящена синтезу и исследованию композитных криогелей.

Для выполнения цели дипломной работы были поставлены задачи:

- Изучить понятие о криогелях
- Разработать метод синтеза композитных криогелей
- Провести экспериментальные исследования, направленные на оценку пористости
- Анализ результатов

Перечень графического материала: представлены слайдов презентации работы

Рекомендуемая основная литература: из _____ наименований

ГРАФИК

подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Формулирование цели и задачи	20.11.2023	Выполнено
Литературный обзор	15.02.2024	Выполнено
Материалы и методика	07.03.2024	Выполнено
Результаты исследования	24.04.2024	Выполнено
Обсуждение экспериментальных данных	30.05.2024	Выполнено

Подписи

консультантов и нормоконтролера на законченную дипломную работу с указанием относящихся к ним разделов работы

Наименования разделов	Консультанты, Ф.И.О. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Формулирование цели и задачи	доктор PhD, Ассоциированный профессор, Берилло Д. А.	20.11.2023	
Литературный обзор	доктор PhD, Ассоциированный профессор, Берилло Д. А.	29.03.2024	
Материалы и методика	доктор PhD, Ассоциированный профессор, Берилло Д. А.	07.04.2024	
Результаты исследования	доктор PhD, Ассоциированный профессор, Берилло Д. А.	24.04.2024	
Обсуждение экспериментальных данных	доктор PhD, Ассоциированный профессор, Берилло Д. А.	30.05.2024	

Научный руководитель


подпись

Берилло Д. А.

Ф.И.О.

Задание принял к исполнению обучающийся


подпись

Байжан Л. С.

Ф.И.О.

Дата

«13» июня 2024г

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	8
1. Литературный обзор	
1.1. Введение в криогели.....	9
1.1.1. Определение и характеристики криогелей	9
1.1.2. Процесс синтеза композитных криогелей.....	16
1.2. Альбумин из куриного яичного белка в процессе формирования криогеля.....	19
1.2.1. Свойства альбумина из куриного яичного белка	19
1.2.2. Криогели на основе альбумина из куриного яичного белка.....	23
1.3. Гидроксиапатит в композитных криогелях	25
1.3.1. Определение гидроксиапатита	25
1.3.2. Свойства гидроксиапатита	27
1.3.3. Роль гидроксиапатита в составных криогелях	33
2. Экспериментальная часть	40
2.1. Описание материалов и методов.....	40
3. Результаты и обсуждения.....	43
4. Заключение и выводы.....	49
Список использованной литературы.....	50

Аннотация

Дипломная работа посвящена исследованию и синтезу композитных криогелей. Теоретическая часть работы посвящена исследованию понятия о криогелях, их свойствах методах синтеза. Экспериментальная часть посвящена разработке метода синтеза криогелей. Полученные результаты имеют большой потенциал применения в биомедицинской инженерии.

Ключевые слова: криогели, альбумин из куриного яичного белка, бензальдегид.

Основной целью данной дипломной работы является разработка новых методов синтеза композитных креогелей и исследование их физико-химических для оценки их потенциала применения в биомедицинских технологиях.

Для выполнения цели дипломной работы были поставлены задачи:

1. Разработка и оптимизация метода синтеза композитных криогелей.
2. Изучение физико-химических свойств криогелей.
3. Анализ результатов проведенных физико-химических исследований.

Андатпа

Дипломдық жұмыс композиттік криогельдерді зерттеу мен синтездеуге арналған. Жұмыстың теориялық бөлігі криогельдер ұғымын, олардың қасиеттерін синтездеу әдістерін зерттеуге арналған. Эксперименттік бөлім криогельді синтездеу әдісін жасауға арналған. Алынған нәтижелер биомедициналық инженерияда қолданудың үлкен әлеуетіне ие.

Түйін сөздер: криогельдер, тауық жұмыртқасының ақ альбумині, бензальдегид.

Бұл дипломдық жұмыстың негізгі мақсаты композиттік криогельдерді синтездеудің жаңа әдістерін әзірлеу және биомедициналық технологияларда қолдану әлеуетін бағалау үшін олардың физика-химиялық әдістерін зерттеу болып табылады.

Дипломдық жұмыстың мақсатын орындау үшін міндеттер қойылды:

1. Композиттік криогельдерді синтездеу әдісін әзірлеу және оңтайландыру.
2. Криогельдердің физика-химиялық қасиеттерін зерттеу.
3. Жүргізілген физика-химиялық зерттеулердің нәтижелерін талдау.

Annotation

The thesis is devoted to the research and synthesis of composite cryogels. The theoretical part of the work is devoted to the study of the concept of cryogels, their properties and synthesis methods. The experimental part is devoted to the development of a cryogel synthesis method. The results obtained have immense potential for application in biomedical engineering.

Keywords: cryogels, albumin from chicken egg white, benzaldehyde.

The main purpose of this thesis is to develop new methods for the synthesis of composite cryogels and to study their physico-chemical properties to assess their potential for use in biomedical technologies.

To fulfill the purpose of the thesis, the following tasks were set:

1. Development and optimization of the method of synthesis of composite cryogels.
2. Study of the physico-chemical properties of cryogels.
3. Analysis of the results of the conducted physico-chemical studies.

ВВЕДЕНИЕ

Современная медицина и биотехнология сталкиваются с постоянным запросом к инновационным материалам, способным улучшить методы лечения, диагностики и реабилитации. В этом контексте синтез биоматериалов играет ключевую роль, предоставляя новые возможности для создания продвинутых медицинских изделий и технологий. Биоматериалы, обладающие специальными свойствами, могут быть использованы для восстановления поврежденных тканей, улучшения диагностики заболеваний, создания тканевых инженерных конструкций и многого другого.

Композитные криогели с представляют собой один из типов биоматериалов, которые привлекают внимание исследователей. Их уникальные свойства, такие как пористость, биосовместимость и способность к взаимодействию с биологическими тканями, делают их перспективными для широкого спектра медицинских приложений, включая восстановление костной ткани, лекарственную доставку и тканевую инженерию. Синтез композитных криогелей с гидроксиапатитом в целом представляет собой интересное направление исследований по многим причинам.

Актуальность данного исследования обусловлена необходимостью поиска новых материалов, способных эффективно взаимодействовать с биологическими системами и обеспечивать оптимальные условия для регенерации тканей в организме.

Научная новизна работы заключается в разработке нового метода синтеза полимерных матриц с использованием альбумина куриного яичного белка и пара-бромбензальдегида для создания амфотерных креогелей.

Теоретической и методологической основой работы служат современные исследования в области биомедицинских материалов, методы синтеза и исследования композитных материалов, а также базовые принципы биологии клеток и тканей.

Практическая база написания работы включает в себя проведение экспериментов по синтезу композитных креогелей, физико-химическому и анализу полученных материалов, а также интерпретацию результатов их испытаний.

Литературный обзор

1.1. Введение в криогели

1.1.1 Определение и характеристики криогелей

Криогели — это макропористые гидрогели, образующиеся в процессе, известном как криотропное гелеобразование. В ходе этого процесса раствор полимера замораживается, а при оттаивании образуется высокопористая структура [1].

Отличительной особенностью криогелей является их взаимосвязанная сеть макропор. Эти поры образуются кристаллами льда, которые действуют как порообразователи на этапе замораживания. По мере образования кристаллов льда они удаляют полимерные цепочки, в результате чего вокруг кристаллов льда образуется концентрированная полимерная фаза. При оттаивании лед тает, оставляя после себя сеть пустот в полимерной матрице. Эти пустоты образуют макропоры размером от нескольких микрометров до нескольких сотен микрометров. Эта уникальная структура придает криогелям свойства, которые делают их пригодными для различных применений, включая тканевую инженерию, доставку лекарств и восстановление окружающей среды [2][3][4].

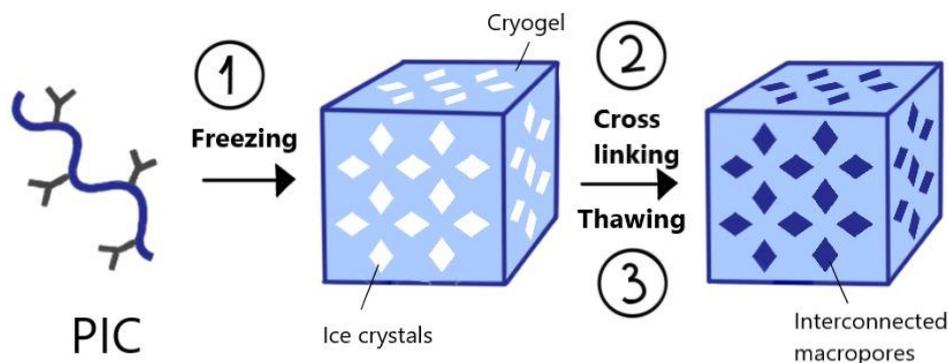


Рисунок 1.1 - Образование макропор в процессе криогелирования

Синтез криогелей включает в себя несколько важных этапов, которые определяют их конечные характеристики и потенциальное применение. Процесс начинается с приготовления полимерного раствора, который может содержать природные или синтетические полимеры. Обычно используются такие, как поливиниловый спирт (PVA), полиакриламид (PAAm) и различные биополимеры, такие как желатин и хитозан [3]. Для стабилизации полимерной сетки часто добавляют сшивающие вещества. Реакции полимеризации и сшивания протекают в основном в этих жидких микродоменах, которые не замораживаются. Когда раствор оттаивает, лед тает и оставляет после себя пористую структуру с соединенными каналами. Размер и распределение пор можно регулировать, изменяя скорость замораживания, концентрацию полимера и тип используемых мономеров и сшивающих веществ [5][6].

Пористое строение криогелей является важнейшей характеристикой, которая существенно влияет на их функциональность и область применения в различных областях. Как правило, размеры пор в криогелях варьируются от 10 до 200 микрон, что обеспечивает большую площадь поверхности в сочетании с низким сопротивлением диффузии [1][3]. Эта уникальная структура облегчает применение в самых разных областях, особенно в тех, где требуется быстрый массообмен и минимальное сопротивление потоку. Крупные поры в криогелях способствуют свободному течению жидкостей и транспортировке растворенных веществ. Это делает криогели подходящими для применений, требующих быстрого массообмена и низкого сопротивления потоку. Кроме того, взаимосвязанный характер пор придает криогелям механическую прочность и гибкость. Это позволяет им выдерживать деформацию и сжатие, не разрушаясь [7].

Структурные характеристики криогелей определяются несколькими факторами, в том числе типом используемого полимера, наличием сшивающих агентов и условиями процесса образования криогеля [8]. Выбор полимера оказывает существенное влияние на свойства получаемого криогеля. Например, синтетические полимеры, такие как PVA и PAAm, обладают высокой механической прочностью и химической стабильностью, что делает их пригодными для различных промышленных применений [9]. С другой стороны, природные полимеры, такие как хитозан и желатин, обладают превосходной биосовместимостью и биоразлагаемостью, что делает их идеальными для применения в биомедицине. Например, желатин, производное коллагена, обладает превосходной биосовместимостью, способствуя адгезии и пролиферации клеток и делая его пригодным для тканевой инженерии. Криогели имеют сильно взаимосвязанную пористую структуру с размерами пор от 50 до 150 микрон, что идеально подходит для проникновения в клетки и обмена питательными веществами [6].

Помимо типа полимера, выбор сшивающего агента имеет решающее значение для определения конечных свойств криогелей. Сшивающие агенты играют решающую роль в стабилизации полимерной сетки и улучшении механических свойств криогелей [10]. Некоторые из наиболее часто используемых сшивающих агентов включают глутаровый альдегид для синтетических полимеров и генипин для природных полимеров. Степень сшивания непосредственно влияет на механические свойства, характер набухания и скорость разложения криогелей. Более высокая плотность сшивки обычно приводит к получению более прочных и менее разбухающих криогелей, в то время как более низкая плотность сшивки приводит к получению более гибких и разбухающих криогелей [10].

Криогели могут быть разработаны таким образом, чтобы включать различные функциональные группы, улучшающие их взаимодействие с конкретными биомолекулами [3][11]. Например, криогели, обогащенные

гликозаминогликанами, поддерживают прикрепление и пролиферацию клеток, что делает их полезными для тканевой инженерии. Кроме того, включение наночастиц или других упрочняющих материалов может улучшить механические свойства и функциональность криогелей [12].

От пористой структуры криогелей зависят их уникальные механические свойства. Большая площадь поверхности криогелей является прямым следствием их сверхпористой природы. Такая большая площадь является преимуществом для таких применений, как адсорбция, катализ и доставка лекарств, где взаимодействие со значительным объемом материала имеет решающее значение. Низкое сопротивление диффузии обеспечивает быстрое проникновение растворенных веществ в матрицу криогеля, повышая эффективность процессов, которые зависят от быстрой транспортировки и обмена [1][3].

Криогели имеют большие поры, которые обеспечивают свободный поток жидкостей и эффективную транспортировку растворенных веществ. Эта особенность особенно полезна в таких областях применения, как биореакторы и системы фильтрации, где быстрое перемещение жидкости имеет решающее значение [10]. Соединенные поры обеспечивают минимальное сопротивление потоку жидкости, что обеспечивает высокую производительность и эффективность обработки [8].

Взаимосвязанный характер пор в криогелях также способствует их механической прочности и гибкости [9]. В отличие от традиционных гидрогелей, криогели способны выдерживать значительную деформацию и сжатие без разрушения. Такая упругость делает их пригодными для применения в динамичных механических средах, например, в тканевых каркасах, которые должны выдерживать механические нагрузки, испытываемые человеческим организмом [9]. Механическую прочность криогелей можно регулировать, варьируя плотность сшивок и тип используемого полимера [9]. Природные полимеры, такие как хитозан и желатин, обеспечивают биосовместимость и способность к биологическому разложению, в то время как синтетические полимеры, такие как поливиниловый спирт и полиакриламид, обладают повышенной механической прочностью и химической стабильностью [5][9].

Исследования показали, что криогели из альгинатного-белка, сшитые кальцием, сохраняют свою структурную целостность в условиях высокой текучести, демонстрируя свою механическую прочность [13]. Было установлено, что эти криогели эффективны при фильтрации окружающей среды благодаря их способности выдерживать динамические механические нагрузки [8].

Одним из главных преимуществ криогелей является их замечательная биосовместимость с мезенхимальными стволовыми клетками и остеобластами, что делает их пригодными для широкого спектра биомедицинских применений

[10][14]. Большой размер пор и высокая пористость этих материалов способствуют проникновению в клетки, транспортировке питательных веществ и удалению отходов, что делает их отличными каркасами для тканевой инженерии [8][10][15]. Кроме того, поверхность криогелей может быть легко модифицирована различными биологически активными веществами, такими как факторы роста, ферменты и антитела, для повышения их эффективности и адаптации к конкретным биомедицинским требованиям. Эта возможность настраивать химический состав поверхностей из криогеля открывает возможности для разработки материалов, специально предназначенных для доставки лекарств, культивирования клеток и биосепарацию [10][13][16].

Биосовместимость криогелей в значительной степени обусловлена материалами, используемыми при их синтезе. Синтетические полимеры, могут быть модифицированы для улучшения их биосовместимости путем включения биоактивных молекул или смешивания с природными полимерами. Природные полимеры, такие как хитозан, желатин и альгинат, по своей природе являются биосовместимыми и биоразлагаемыми, что делает их идеальными кандидатами для применения в биомедицине. Функционализация криогелей биоактивными молекулами может усилить адгезию, пролиферацию и дифференцировку клеток, что делает эти материалы высокоэффективными для тканевой инженерии и регенеративной медицины [5][10][14].

Было показано, что криогели, обогащенные наночастицами, такими как гидроксиапатит, поддерживают регенерацию костной ткани, способствуя адгезии и пролиферации остеобластов. Аналогичным образом, криогели, в состав которых входят биокерамические волокна, продемонстрировали улучшенные остеоиндуктивные свойства, что делает их пригодными для применения в инженерии костной ткани [17][18].

Благодаря своим уникальным характеристикам криогели имеют широкий спектр потенциальных применений. Некоторые ключевые области включают тканевую инженерию, доставку лекарств и очистку окружающей среды. Кроме того, криогели используются в процессах хроматографии и биосепарации для эффективной очистки белков, нуклеиновых кислот и других биологических молекул [9][17].

В тканевой инженерии криогели служат каркасами, поддерживающими рост и дифференцировку клеток. Их взаимосвязанные макропоры облегчают обмен питательными веществами, что необходимо для жизнеспособности и функционирования клеток. Эти трехмерные структуры обеспечивают благоприятную среду для роста и дифференцировки остеобластов и мезенхимальных стволовых клеток [8]. Крупные поры в криогелях способствуют эффективному обмену и газам, что положительно для поддержания жизнеспособности клеток и поддержки регенерации тканей. Криогели обычно изготавливаются из биосовместимых материалов, таких как желатин, хитозан и коллаген. Эти материалы обладают высокой

эффективностью в стимулировании прикрепления, роста и дифференцировки различных типов клеток, включая стволовые клетки, остеобласты и фибробласты [5][14].

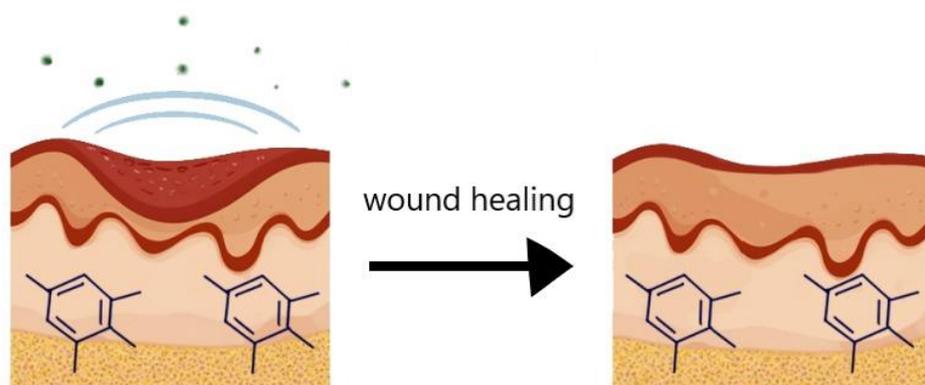


Рисунок 1.2-Криогели в тканевой инженерии

Существенным преимуществом криогелей в области тканевой инженерии является их способность воспроизводить внеклеточный матрикс (ВКМ), который содержится в природных тканях. Эта биомиметическая характеристика улучшает взаимодействие между клетками и каркасом, способствуя развитию функциональной ткани [5]. Кроме того, криогели могут быть функционализированы биологически активными молекулами, такими как факторы роста, пептиды и белки, для дальнейшего повышения их биологической активности и поддержки специфических клеточных процессов. Например, криогели, которые были функционализированы костными морфогенными белками (ВМР), продемонстрировали способность стимулировать остеогенную дифференцировку и регенерацию кости, что делает их идеальными для применения в инженерии костной ткани [19][20].

Криогели широко используются в системах доставки лекарств благодаря своей высокой пористости и регулируемым механическим свойствам. Большая площадь поверхности криогелей, обусловленная их высокой пористостью, значительно повышает их способность загружать лекарственные препараты. Обширная сеть пор обеспечивает контролируемое и длительное высвобождение терапевтических агентов. Скорость высвобождения лекарственных препаратов из криогелей можно регулировать, регулируя размер пор, степень сшивки и физико-химические характеристики полимерной сетки[20][21]. Эта универсальность делает системы на основе криогеля пригодными для доставки широкого спектра лекарственных препаратов, включая небольшие молекулы, белки и нуклеиновые кислоты [13].

Помимо высокой переносимости лекарств и контролируемого высвобождения, криогели обладают рядом других преимуществ для доставки

лекарств. Эти материалы являются биосовместимыми и могут разлагаться на нетоксичные побочные продукты, что сводит к минимуму риск неблагоприятных побочных эффектов [22].

Кроме того, криогели могут быть сконструированы таким образом, чтобы реагировать на конкретные физиологические условия, такие как изменение: pH, температуры или присутствия определенных ферментов, что облегчает целенаправленное введение лекарственных средств в конкретное место. Такая адаптивная природа повышает терапевтическую эффективность препарата и снижает системное воздействие, тем самым сводя к минимуму риск побочных эффектов [16].

Например, криогели, функционализированы метакрилоилом, продемонстрировали значительно улучшенные механические свойства и хорошо контролируемую структуру пор, что делает их пригодными для применения с пролонгированным высвобождением лекарственных средств. Другое исследование продемонстрировало использование криогелей на основе нановолокон целлюлозы и альгината для эффективной очистки белка, подчеркнув их потенциал для доставки терапевтического белка [17] [23].

Криогели также нашли применение в области экологии, в частности, для удаления загрязняющих веществ из воды. Материалы, характеризующиеся высокой площадью поверхности и пористостью, являются эффективными адсорбентами различных загрязняющих веществ, включая тяжелые металлы, красители и органические соединения [19].

Взаимосвязанная сеть пор в криогеле способствует быстрому переносу загрязняющих веществ к местам адсорбции, повышая эффективность их удаления. Это конструктивное свойство особенно полезно для очистки значительных объемов загрязненной воды, поскольку обеспечивает высокую пропускную способность и эффективное улавливание загрязняющих веществ [1][3].

В одном из исследований была использована технология функционализации альбуминовых криогелей, основанная на изучении мидий, для усиления синергетической антибактериальной и антиоксидантной активности, а также для образования костеподобного апатита. Это демонстрирует потенциал этих материалов для применения в окружающей среде и биомедицине [24].

Другим примером исследования является разработка гибридных альгинатно-белковых криогелей, которые могут быть использованы для эффективной очистки антител к иммуноглобулину G (IgG). Это иллюстрирует их потенциальное применение в процессах биоразделения и для защиты окружающей среды [1].

1.1.2 Процесс синтеза криогелей

Синтез криогелей начинается с приготовления раствора полимера. Затем этот раствор замораживают в тщательно контролируемых условиях. В процессе замораживания образуются кристаллы льда, вокруг которых полимеры становятся сшитыми. В результате образуется сетчатая структура. После завершения процесса замораживания лед тает, оставляя после себя макропористый криогель [4]. Этот процесс включает в себя следующие этапы:

1. **Подготовка полимерного раствора:** полимеры, такие как поливиниловый спирт, хитозан, желатин и другие биосовместимые материалы, растворяются в воде или других подходящих растворителях. Например, хитозан является одним из наиболее часто используемых полимеров натуральных благодаря своей биосовместимости и биоразлагаемости [2].
2. **Добавление сшивающих агентов:** для усиления механических свойств и стабильности криогеля в раствор добавляются сшивающие агенты, такие как глутаральдегид или другие ковалентные сшивающие агенты.
3. **Замораживание:** раствор замораживается при определенной температуре (-10°C -20°C), что приводит к образованию ледяных кристаллов, вокруг которых происходит сшивка полимеров. Температура замораживания является критическим параметром, определяющим размер и распределение пор в криогелях.
4. **Оттаивание:** после завершения процесса замораживания лед оттаивает, оставляя пористую структуру криогеля. Существуют различные методы оттаивания, включая медленное и быстрое оттаивание, и их влияние на конечные свойства криогеля [4].

На процесс образования криогеля большое влияние оказывает целый ряд физических и химических факторов, включая температуру замораживания, тип и концентрацию полимера, тип и концентрацию сшивающего вещества, а также условия, при которых происходит оттаивание [2].

Температура, при которой вещество замерзает, оказывает существенное влияние на размер и распределение пор в криогеле. Более низкие температуры замерзания приводят к образованию более мелких кристаллов льда, что, в свою очередь, приводит к уменьшению размеров пор в конечном продукте из криогеля. Например, при замораживании растворов на основе желатина и хитозана при температуре -20 градусов Цельсия полученный криогель имеет меньший размер пор по сравнению с тем, который получается при замораживании тех же растворов при более низкой температуре -10 градусов Цельсия [20].

Выбор полимеров и их концентрация в растворе играют решающую роль при разработке матрицы криогеля. Высокомолекулярные полимеры, такие как

PVA и хитозан, создают более прочные и долговечные сетки, улучшая механические характеристики криогелей. Увеличение концентрации полимера приводит к созданию более плотной и менее пористой структуры. Исследование, посвященное изучению влияния концентрации хитозана на состав и свойства криогелей, показало, что увеличение содержания хитозана приводит к повышению механической прочности, но уменьшению пористости [2].

Сшивающие агенты, такие как глутаровый альдегид или диальдегидный крахмал, используются для улучшения механических характеристик криогелей за счет создания ковалентных связей между полимерными нитями. Концентрация этих сшивающих агентов непосредственно влияет на степень сшивки и, следовательно, на прочность и долговечность механических свойств криогелей.

Более высокая концентрация этих веществ приводит к образованию более плотной и жесткой сетки, которая может уменьшить пористость и увеличить время, необходимое для разложения криогеля в биологических условиях. Это подчеркивает важность использования различных концентраций этих веществ для регулирования размера пор и прочности криогеля, что необходимо для их использования в биомедицинских целях [19].

Сшивающие агенты, такие как глутаровый альдегид и диальдегидный крахмал, используются для улучшения механических свойств криогелей за счет образования ковалентных связей между полимерными цепями. Количество сшивающего агента напрямую влияет на степень сшивки и, следовательно, на прочность и стабильность криогеля. Более высокая концентрация сшивающего агента приводит к образованию более плотной и жесткой сетки, что уменьшает пористость и увеличивает время разложения в биологических условиях. Изменение концентрации сшивающего агента позволяет контролировать размер пор и механические свойства криогелей, что делает их пригодными для различных биомедицинских применений [22].

Процесс оттаивания также является важным фактором в формировании окончательной структуры криогеля. Медленная скорость оттаивания может привести к более равномерному распределению пор и улучшению механических свойств, в то время как быстрая скорость оттаивания может способствовать образованию более крупных пор и снижению механической прочности. Изучение влияния различных методов размораживания на свойства криогелей показало, что при медленном размораживании, как правило, получаются более прочные и стабильные структуры [1].

Криогели представляют из себя универсальный и перспективный класс материалов с уникальными структурными и механическими свойствами. Они образуются в процессе криогелирования, в результате которого образуется пористая сеть с высокой степенью взаимосвязи. Эта сеть полезна для

применений, требующих эффективного массообмена, механической гибкости и биосовместимости. Возможность адаптировать свойства криогелей путем выбора различных полимеров, сшивающих агентов и условий синтеза расширяет их потенциальное применение в биомедицинских, экологических и промышленных целях.

Криогели имеют большие перспективы в решении текущих задач и оптимизации их свойств для конкретных применений. Это требует разработки масштабируемых методов синтеза, повышения механической прочности и стабильности, а также обеспечения биосовместимости и безопасности для медицинского применения. Благодаря постоянным исследованиям и междисциплинарному сотрудничеству они обладают потенциалом революционизировать различные области науки и техники. Криогели способны обеспечить решение некоторых наиболее важных задач в области здравоохранения, охраны окружающей среды и промышленных процессов. Они потенциально могут оказать существенное влияние на эти области.

Процесс синтеза криогеля — это сложная, многоэтапная процедура, которая зависит от различных физических и химических параметров. Благодаря тщательному управлению этими параметрами можно создавать криогели с особыми характеристиками, что делает их привлекательным материалом для различных применений. Продолжающиеся работы по синтезу, определению характеристик и применению этих материалов будут способствовать дальнейшему углублению нашего понимания и использования криогелей. Будут разработаны новые криогельные материалы и изучены новые области их применения, что приведет к дальнейшему прогрессу в этой области.

1.1.3 Альбумин из куриного яичного белка в процессе формирования криогеля

1.1.3.1 Свойства альбумина куриного яичного белка

Альбумин из куриного яичного белка (альбумин) (albumin) — это универсальный и широко изученный белок, который играет важную роль в различных биохимических и биотехнологических применениях. Его уникальные свойства и функциональные возможности делают его незаменимым компонентом во многих научных и промышленных процессах [25].

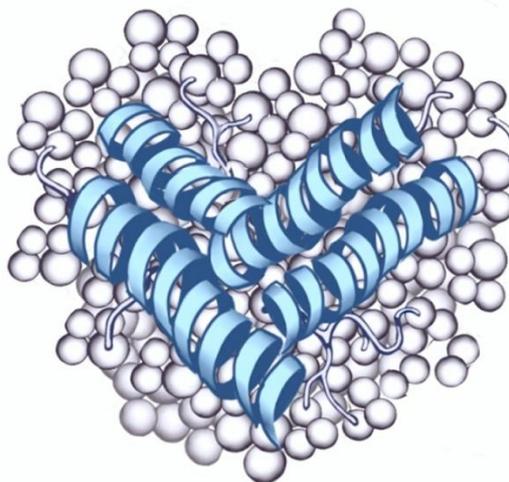


Рисунок 3-Структура альбумина

Структура альбумина состоит из трех гомологичных доменов, каждый из которых состоит из двух подобластей. Такое расположение доменов позволяет альбумину принимать различные конформации, облегчая его взаимодействие с широким спектром лигандов. Универсальность структурной организации альбумина еще более усиливается благодаря его способности претерпевать конформационные изменения в ответ на внешние факторы, такие как уровень pH, ионная сила и температура [26].

Поверхность альбумина содержит высокую концентрацию остатков лизина, что обеспечивает многочисленные реакционноспособные участки для химической модификации. Это свойство особенно полезно при синтезе функциональных материалов, поскольку оно облегчает ковалентное присоединение различных молекул, тем самым повышая функциональную универсальность систем на основе альбумина. [27].

Одной из основных функций альбумина является его способность связывать и транспортировать широкий спектр эндогенных и экзогенных молекул. Эта способность альбумина к связыванию может быть объяснена наличием множества лиганд-связывающих сайтов, расположенных в трех его структурных доменах. Эти участки связывания проявляют различную степень

средства к различным типам молекул, таким как жирные кислоты, гормоны, лекарственные препараты и ионы металлов [26].

Альбумин известен своим сильным средством к длинноцепочечным жирным кислотам. Способность связывать жирные кислоты необходима для транспортировки и метаболизма этих молекул в крови. Каждая молекула альбумина может связывать до семи жирных кислот, что способствует их растворимости и транспортировке к тканям-мишеням. Взаимодействие между альбумином и жирными кислотами происходит главным образом за счет гидрофобных взаимодействий, при которых цепочки жирных кислот встраиваются в гидрофобные карманы в структуре альбумина [26].

Способность альбумина взаимодействовать с широким спектром соединений делает его ценным модельным белком для фармакологических исследований. Взаимодействие лекарств с альбумином влияет на их распределение, доступность и выведение из организма. Альбумин может взаимодействовать как с гидрофобными, так и с гидрофильными соединениями посредством различных механизмов, включая гидрофобные силы, водородные связи и ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Средство и способность альбумина к действию на конкретные лекарственные препараты зависят от молекулярной структуры этих препаратов и структурного состояния альбумина [25].

Альбумин также обладает сильным средством к ионам двухвалентных металлов, включая кальций, цинк и медь. Эти незаменимые ионы металлов играют важную роль в различных биологических процессах, а способность BSA связывать и транспортировать их жизненно важна для поддержания равновесия ионов металлов в организме. Места связывания этих ионов металлов на BSA включают остатки гистидина, цистеина и аспарагиновой кислоты, которые взаимодействуют с ионами металлов посредством механизмов ионной и координационной связи [27].

Также альбумин известен своей исключительной стабильностью в различных условиях окружающей среды. Его прочная третичная структура, поддерживаемая дисульфидными связями, позволяет ему противостоять разрушению, вызванному нагреванием, изменениями pH и химическими веществами. Такая стабильность является решающим фактором широкого использования альбумина в различных областях применения, поскольку она гарантирует целостность и работоспособность систем на базе альбумина в различных условиях [28].

Альбумин демонстрирует замечательную термическую стабильность с температурой плавления в диапазоне приблизительно 64–67 °C. Такая повышенная температура плавления указывает на способность белка сохранять свою структурную целостность при повышенных температурах, что делает его пригодным для применения при термическом воздействии [28].

Термическая стабильность альбумин дополнительно усиливается за счет его способности подвергаться обратимой термической денатурации и повторному сворачиванию, что позволяет ему вернуться к своей естественной форме после термической дестабилизации [28].

Альбумин обладает стабильностью в широком диапазоне значений рН, от кислых до щелочных. Его изоэлектрическая точка составляет приблизительно 4 до 8, что указывает на то, что альбумин несет суммарный отрицательный заряд при физиологическом уровне рН. Такое распределение заряда помогает предотвратить агрегацию и осаждение альбумин, способствуя его растворимости и стабильности в водных растворах.

Способность альбумин сохранять свою структурную и функциональную целостность при различных значениях рН необходима для его использования в качестве стабилизатора в различных биохимических и фармацевтических препаратах. Стабильность рН альбумина обеспечивает сохранение его биологической активности и предотвращает нежелательные взаимодействия с другими компонентами препарата [25].

Химическая стабильность альбумина также заслуживает внимания, поскольку она устойчива к денатурации различными химическими агентами, включая детергенты, хаотропные соли и восстановители. Эта стабильность объясняется компактной структурой белка с высокой степенью поперечных сшивок, которая защищает молекулу от химического разрушения. Благодаря своей стойкости к химической денатурации альбумина является идеальным компонентом для рецептур, требующих длительной стабильности и сохранности [26].

Недавние исследования продемонстрировали разнообразие применений и функциональных возможностей альбумина . Например, криогели, содержащие альбумин, были разработаны для использования в области доставки лекарств и тканевой инженерии, что подчеркивает их потенциал в биомедицине [22].

В одном исследовании было продемонстрировано использование композитного криогеля на основе альбумин-гидроксиапатита для создания костной ткани. Добавление гидроксиапатита (НА) к криогелю повышает его механическую прочность и биологическую активность, способствуя адгезии и пролиферации остеобластов [29].

В другом случае гибридные криогели на основе BSA были использованы для очистки антител к IgG, продемонстрировав их эффективность в биокатализе и терапевтических применениях. Интеграция альгината и альбумин в эти гибридные структуры криогеля позволила получить биосовместимое и функциональное вещество, пригодное для высокоэффективных процедур очистки [18].

В ходе дальнейших исследований было изучено применение функционализированных наночастиц альбумин в антимикробных целях. Альбумин в сочетании с наночастицами золота или серебра продемонстрировал повышенную антибактериальную активность, что делает его пригодным для использования в целях заживления ран и борьбы с инфекциями. Эти исследования демонстрируют потенциал материалов на основе альбумина в разработке передовых терапевтических и диагностических инструментов [30].

1.2.2 Криогели на основе альбумина из куриного яичного белка

Синтез криогелей на основе альбумина из куриного яичного белка включает в себя формирование трехмерной сетчатой структуры путем сшивания молекул альбумина. Этот процесс необходим для создания криогелей, обладающих желаемыми механическими, химическими и биологическими характеристиками, что делает их полезными в различных биомедицинских областях применения [26].

Ключевым аспектом процесса синтеза является использование сшивающих агентов. Пара-бромбензальдегид является одним из таких агентов благодаря его эффективной реакции с аминогруппами в альбумине, что приводит к образованию прочных связей между молекулами. Выбор условий реакции, таких как температура, тип растворителя и концентрация реагента, существенно влияет на конечные свойства получаемых криогелей [31].

Процесс сшивания при синтезе криогелей из альбумина включает химическую реакцию, которая существенно влияет на структурные и функциональные характеристики получаемого материала. Фундаментальным аспектом этого процесса является образование оснований Шиффа, которые действуют как основные агенты для сшивки между молекулами альбумина [32].

Основание Шиффа, также называемое иминной связью, образуется в результате реакции конденсации между аминогруппами альбумина и альдегидными группами в пара-бромбензальдегиде. Реакция начинается с нуклеофильной атаки аминогруппы (-NH₂) альбумина на электрофильный атом углерода пара-бромбензальдегида, в результате чего образуется относительно нестабильный карбиноламиноновый посредник. Этот промежуточный продукт впоследствии подвергается дегидратации, высвобождая молекулу воды с образованием стабильного основания Шиффа (иминовая связь) [27].

Общая реакция может быть представлена следующим образом:



Эта реакция обычно проводится в растворе изопропанола, который служит растворителем для создания однородной реакционной среды, обеспечивающей эффективное взаимодействие между молекулами альбумина и пара-бромбензальдегида. Использование изопропанола также способствует растворению реагентов, тем самым облегчая процесс сшивания [31].

Образование оснований Шиффа играет решающую роль в механизме сшивки, поскольку эти иминовые связи обеспечивают необходимую структурную поддержку сети криогеля. Основания Шиффа действуют как сшивки, которые соединяют молекулы альбумина, создавая стабильный и взаимосвязанный каркас. Этот каркас отвечает за механическую прочность, эластичность и общую долговечность криогеля. Жесткость ароматической структуры пара-бромбензальдегида способствует этим характеристикам,

повышая прочность криогеля на сжатие и делая его сравнимым по прочности с натуральной костью, как показали исследования композитных криогелей НА-РВА [29][32].

Условия реакции, такие как температура и состав растворителя, оказывают значительное влияние на конечные свойства криогелей. Как правило, синтез проводят при низких температурах в процессе, известном как криогелирование. В ходе этого процесса реакционная смесь подвергается замораживанию, что приводит к разделению фаз, при этом кристаллы льда выступают в качестве порообразователей. Когда смесь оттаивает, эти кристаллы льда образуют макропористую структуру, характерную для криогелей. Такая медленная кинетика реакции при низких температурах также обеспечивает формирование четко очерченной и однородной сетчатой структуры [1].

Роль пара-бромбензальдегида в этом процессе выходит за рамки простого сшивающего агента. Благодаря своей высокой реакционной способности по отношению к аминогруппам он обеспечивает эффективное образование оснований Шиффа, которые необходимы для создания плотной и стабильной сетки. Химическая стабильность иминовых связей, образующихся при взаимодействии с пара-бромбензальдегидом, обеспечивает долговременное сохранение структуры криогеля даже в физиологических условиях. Эта стабильность необходима для биомедицинских применений, особенно при длительной имплантации, где целостность структуры имеет первостепенное значение [31].

Кроме того, присутствие пара-бромбензальдегида в структуре криогеля повышает его биологическую активность. Криогели, содержащие пара-бромбензальдегид, способствуют адгезии, пролиферации и дифференцировке клеток, что является важным свойством для применения в тканевой инженерии. Биологическая активность этих криогелей делает их пригодными для стимулирования регенерации тканей и интеграции с тканями организма хозяина, что продемонстрировано в таких областях применения, как инженерия костной ткани [22].

Гидроксиапатит, который часто входит в состав криогелей на основе альбумина, взаимодействует с механизмом сшивания на основе Шиффа, что еще больше улучшает свойства этих криогелей. НА обеспечивает дополнительное механическое упрочнение, значительно повышая прочность на сжатие и трещиностойкость. Такое взаимодействие между частицами НА и сеткой альбумина помогает более равномерно распределять приложенные напряжения, снижая риск разрушения материала при механической нагрузке [31].

НА также повышает биологическую активность криогелей, способствуя остеокондукции и способствуя росту новой костной ткани вокруг имплантата. Благодаря синергии между сшивками на основе НА и Шиффа получают

композитные криогели с улучшенными механическими и биологическими свойствами, которые подходят для различных биомедицинских применений [33].

В заключение можно отметить, что образование оснований Шиффа в результате реакции между альбумином из куриного яичного белка и пара-бромбензальдегидом лежит в основе механизма сшивания в криогелевых структурах на основе альбумина. Этот процесс не только обеспечивает структурную поддержку и механическую прочность, но и повышает химическую стабильность и биологическую активность криогеля [27]. Введение НА еще больше усиливает эти свойства, делая альбумин-криогель универсальным и перспективным биоматериалом для различных биомедицинских применений [29].

Сложная взаимосвязь между сшиванием и образованием основания Шиффа имеет решающее значение для оптимизации синтеза и характеристик криогелей на основе альбумина, чтобы обеспечить их эффективность в терапевтических и регенеративных медицинских целях [22].

Таким образом, альбумин является высокоэффективной матрицей для формирования криогелей, обеспечивающей сочетание биосовместимости, функциональных свойств и универсальности, что имеет решающее значение для биомедицинских применений. Детальное понимание механизма сшивки, роли пара-бромбензальдегида и введения гидроксипатита — все это способствует оптимизации синтеза и улучшению свойств криогелей на основе альбумина из куриного яичного белка.

1.3 Гидроксиапатит в композитных криогелях

1.3.1 Определение гидроксиапатита

Гидроксиапатит (НА) — это природная форма фосфата кальция, имеющая химическую формулу $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$. Чаще всего он представлен формулой $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Эта формула указывает на то, что основная часть кристаллической структуры состоит из двух основных элементов: кальция и фосфата, а ионы гидроксида стабилизируют структуру [34].

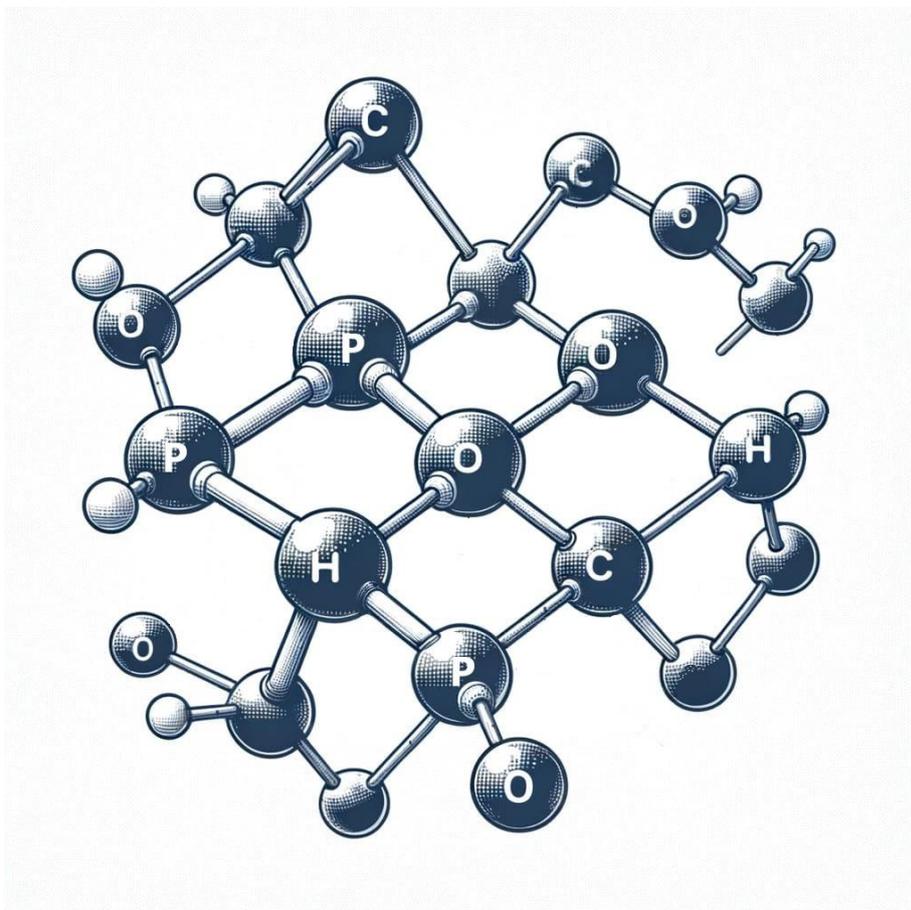


Рисунок 1.3.1-Структура гидроксиапатита

НА является важнейшим компонентом костей и зубов человека, способствующим их жесткости и долговечности. Также его свойства находят полезными в биомедицине, особенно в области инженерии костной ткани и регенеративной медицины. Глубокое понимание свойств гидроксиапатита, включая его структурные, механические, химические, биологические и функциональные характеристики, дает представление о его разнообразном применении и потенциале в качестве биоматериала в различных областях медицины и науки [25].

Гидроксиапатит обладает гексагональной кристаллической структурой, которая придает ему уникальные характеристики, делающие его пригодным для использования в биомедицинской области. Размеры элементарной ячейки составляют $a = b = 9,42$ ангстрем (\AA) и $c = 6,88$ \AA , что очень напоминает

минеральную составляющую кости, что еще больше повышает ее пригодность в качестве биоматериала. Расположение гексагональной решетки облегчает замещение ионов без существенных структурных нарушений, позволяя внедрять такие элементы, как стронций, магний, цинк и кремний [34]. Эти замены улучшают биологическую активность и механические свойства гидроксиапатита, делая его пригодным для различных биомедицинских применений [28].

Гексагональное расположение кристаллической решетки материала позволяет внедрять ионы без существенного нарушения структуры. Это позволяет включать в структуру материала различные элементы, такие как стронций, магний, цинк и кремний. Ионное замещение в кристаллической решетке гидроксиапатита имеет решающее значение для его потенциального применения в конкретных биомедицинских областях [34].

Например, включение стронция в кристаллическую структуру гидроксиапатита может повысить его остеокондуктивность и способствовать формированию кости. К примеру, включение стронция в структуру НА может улучшить его остеокондуктивные свойства и стимулировать формирование кости [28][5].

Магний, с другой стороны, обладает потенциалом для повышения биологической активности и растворимости гидроксиапатита. Включение магния в структуру гидроксиапатита повышает его биосовместимость и стимулирует клеточную активность, тем самым способствуя более быстрому восстановлению костей. Это делает гидроксиапатит, легированный магнием, привлекательным материалом для использования в имплантатах и костных наполнителях [23].

1.3.2 Свойства гидроксиапатита

Пористость и структурные характеристики.

Пористость является важным структурным свойством гидроксиапатита, которая существенно влияет на его функциональные характеристики. Естественно, кость имеет пористую структуру, и воспроизведение этой особенности в синтетическом НА может улучшить ее интеграцию с прилегающей костной тканью. Пористые гидроксиапатитовые каркасы создают благоприятную среду для проникновения, пролиферации и дифференцировки клеток, способствуя тем самым образованию новой кости и васкуляризации. При проектировании каркасов НА для конкретных применений в тканевой инженерии крайне важно контролировать размер и распределение пор, чтобы оптимизировать эти биологические процессы [28].

Пример из литературы демонстрирует разработку криогелей на основе гиалуроновой кислоты НА с повышенной биологической активностью и остеокондуктивностью за счет модификации поверхности дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК). Эта модификация направлена на улучшение интеграции НА с тканями хозяина и придание им антимикробных свойств, тем самым снижая риск заражения, связанный с имплантируемыми медицинскими устройствами [29].

Процесс начинается с синтеза частиц НА с использованием стандартных методов осаждения. Затем эти частицы вводят в криогель для формирования матрицы. Затем криогель НА погружают в раствор, содержащий молекулы ДНК. Затем молекулы ДНК сшиваются с частицами НА посредством ультрафиолетового облучения, образуя внутри криогеля взаимосвязанную сетчатую структуру [29].

Механические свойства гидроксиапатита

Механические свойства гидроксиапатита очень выгодны для применений, требующих высокой несущей способности, таких как костные трансплантаты и имплантаты. Высокая прочность при сжатии НА, сравнимая с натуральной костью, позволяет ей выдерживать физиологические нагрузки, что делает ее подходящим кандидатом для процедур восстановления костей [34].

Например, исследование НА, полученного из яичной скорлупы, продемонстрировало его потенциал для регенерации челюстно-лицевой кости. Эффективность этого НА была сопоставима с показателями коммерчески доступного синтетического гидроксиапатита, что подтверждает его эффективность и экономическую целесообразность [33].

Механические свойства гидроксиапатита могут быть значительно улучшены путем введения различных ионов и изменения условий синтеза. Некоторые методы повышения механической прочности НА включают использование наночастиц и композитных материалов [28].

Например, добавление ионов цинка в НА может повысить его прочность при сжатии и твердость, делая его более устойчивым к механическим воздействиям. Однако присущая НА хрупкость и низкий предел прочности при растяжении ограничивают его применение в условиях высоких нагрузок. Чтобы устранить эти ограничения, НА часто комбинируют с другими материалами, такими как полимеры или металлы, для создания композиционных материалов с улучшенными механическими свойствами [34][5].

Химическая стабильность гидроксиапатита

Химическая стабильность гидроксиапатита в физиологических условиях имеет решающее значение для его использования в качестве биоматериала. Он обладает низкой растворимостью ($K_{sp} = 2,34 \times 10^{-59}$), что указывает на устойчивость к растворению в нормальных физиологических условиях. Такая стабильность гарантирует, что имплантаты на основе НА остаются неповрежденными и функциональными в течение длительного времени, обеспечивая долгосрочную поддержку процессов регенерации и восстановления костной ткани [28].

Химический состав поверхности НА играет важную роль во взаимодействии с биологическими системами. Поверхности НА могут адсорбировать белки, факторы роста и другие биомолекулы, влияя на реакцию клеток и способствуя интеграции в ткани. Гидроксильные группы на поверхности НА обеспечивают места для образования водородных связей и электростатических взаимодействий, облегчая адсорбцию биомолекул. Кроме того, ионы кальция и фосфата на поверхности НА могут взаимодействовать с рецепторами клеточных мембран, способствуя адгезии и пролиферации клеток [25].

Химическая модификация поверхности еще больше расширяет возможности применения НА. Такие методы, как поверхностная пластика полимерами, пептидами или другими биологически активными молекулами, могут повысить биологическую активность и остеокондукцию НА, способствуя лучшей интеграции с тканями хозяина. В статье [27] поверхность НА была модифицирована путем покрытия ее пептидом аргинилглицил аспарагиновой кислотой (RGD), известным своими свойствами стимулировать клеточную адгезию. Модифицированный демонстрировал значительно улучшенную клеточную адгезию по сравнению с обычным НА. Пролиферация клеток остеобластов была выше на модифицированной поверхности, что указывает на улучшенную биологическую активность и способность к интеграции с костной тканью.

Функционализация поверхности также может придать НА антимикробные свойства, снижая риск инфицирования, связанного с имплантируемыми устройствами. Возможность настраивать химический

состав поверхности НА расширяет ее потенциал для различных биомедицинских применений [34].

Примером может служить исследование, в котором изучается разработка криогелей из гидроксиапатита с улучшенной биологической активностью и остеокондуктивностью за счет модификации поверхности ДНК. Основной целью этой модификации является усиление интеграции НА с тканями хозяина и обеспечение антимикробных свойств, что снижает риск инфекций, связанных с имплантируемыми устройствами [35].

Для синтеза НА-криогелей сначала получают частицы гидроксиапатита стандартным методом осаждения. Затем эти частицы вводят в криогели для создания желаемой матрицы. Для модификации поверхности НА-криогель погружают в раствор, содержащий молекулы ДНК. Под воздействием ультрафиолетового излучения молекулы ДНК сшиваются с поверхностью частиц НА, образуя взаимопроникающую сетчатую структуру внутри матрицы криогеля. Этот инновационный подход привел к значительному повышению биологической активности криогелей. Криогели на основе ДНК-функционализированной НА показали улучшенную адгезию, пролиферацию и дифференцировку остеобластоподобных клеток по сравнению с неизменной НА. Эти улучшения объясняются биологически активными свойствами ДНК, которые способствуют лучшей интеграции с тканями хозяина [36].

Биологическая активность

Гидроксиапатит известен своей биосовместимостью и биологической активностью, что делает его идеальным материалом для биомедицинских применений. Химический состав НА очень близок к составу природного костного минерала, что способствует его бесшовной интеграции с костной тканью. НА не вызывает значительных иммунных реакций, что сводит к минимуму риск воспаления и отторжения при использовании в качестве материала для имплантации. Биологическая активность НА характеризуется ее способностью непосредственно связываться с костной тканью путем образования на ее поверхности слоя гидроксикарбонат апатита, аналогичного по составу природному минералу для костей. Этот слой способствует формированию новой кости [23]. Этот процесс включает растворение НА в месте имплантации с последующим осаждением ионов кальция и фосфата из жидкостей организма, что укрепляет связь между НА и кость-носитель [37].

Доказано, что гидроксиапатит поддерживает прикрепление, пролиферацию и дифференцировку клеток, которые необходимы для интеграции и регенерации тканей. Было обнаружено, что поверхности НА способствуют адгезии остеобластов, которые являются типом клеток, необходимых для формирования новой кости. Кроме того, НА может способствовать пролиферации этих клеток и их дифференцировке в остеогенные клетки. Это также способствует процессу регенерации костной ткани [36]. Способность НА усиливать эти клеточные

реакции может быть частично объяснена ее топографией поверхности и химическим составом. Эти особенности обеспечивают клеточную адгезию и передачу сигналов, способствуя желаемым биологическим реакциям [38].

Синтез гидроксиапатита

Гидроксиапатит может быть синтезирован как природными, так и синтетическими методами, каждый из которых имеет свой набор преимуществ и проблем. Синтетические методы получения гидроксиапатита включают химические процессы, которые позволяют точно контролировать состав, чистоту и структуру материала [39].

Существует три основных синтетических метода синтеза гидроксиапатита. У каждого из них есть свои положительные и отрицательные моменты [40].

Метод химического осаждения

Технология химического осаждения является хорошо зарекомендовавшим себя и широко используемым методом получения гидроксиапатита. Этот процесс включает смешивание водных растворов солей кальция и фосфата при тщательно контролируемых параметрах pH и температуры для получения кристаллов HA [41].

Процесс начинается со смешивания реагентов в подходящем водном растворе, при нормальных условиях с pH от 10 до 12, что способствует образованию HA. После этого полученный осадок оставляют настаиваться на определенный период времени. Затем он фильтруется для удаления любых примесей. Наконец, кристаллы HA при желании можно высушить и нагреть при повышенных температурах, чтобы улучшить их кристаллическую структуру и чистоту [42].

Преимущества этого метода заключаются в его относительной простоте. Он может быть реализован с использованием базового лабораторного оборудования, что делает его привлекательным вариантом для крупномасштабного производства. Несмотря на свою экономичность, этот метод может подходить не для каждого применения из-за необходимости тщательного контроля pH и температуры. Кроме того, в результате процесса могут получаться продукты различной степени чистоты, в зависимости от условий эксплуатации. Примеси в исходных материалах могут влиять на чистоту и совместимость конечного продукта, что требует тщательного учета этих факторов [43].

Гидротермальный синтез

Процесс гидротермальный синтеза включает получение кристаллов гидроксиапатита из водных растворов при повышенных температурах и

давлении. Этот метод известен своей способностью получать НА с высоким уровнем кристалличности и чистоты [35].

Начало синтеза это приготовление исходных материалов, которые обычно включают источники кальция и фосфатов, такие как нитрат кальция или фосфорная кислота, растворенные в воде. Затем эти растворы переносятся в герметичный реактор, где они подвергаются воздействию высоких температур в диапазоне от 120 до 250 градусов Цельсия и давления [44].

В таких гидротермальных условиях НА начинает кристаллизоваться, образуя высококристаллические и однородные частицы. Полученный НА обладает превосходными механическими свойствами, а также превосходной биологической активностью [36].

Одним из главных преимуществ этого метода является его способность достигать высокого уровня чистоты синтезируемого НА, что делает его идеальным для применений, где чистота имеет решающее значение. Кроме того, в результате этого процесса получается НА с однородными размерами частиц, что может быть полезно в определенных областях применения [39].

К ограничениям этого процесса относится необходимость использования специализированного оборудования высокого давления. Одним из ключевых аспектов нашего процесса является его высокая энергоемкость, которая является результатом повышенных температур и давлений. Важным достижением является наш успешный синтез гидроксипатита с помощью гидротермальной обработки, который демонстрирует сложность и ресурсоемкость процесса [41].

Метод Золь-гель

Золь-гель процесс является важной технологией, используемой в материаловедении, химии и биомедицинской инженерии. Он переводит систему из жидкого состояния (золь) в твердое (гель), что позволяет точно контролировать химический состав и микроструктуру получаемого НА [41].

Чтобы инициировать процесс золеобразования, алкоксиды металлов, такие как алкоксид кальция, подвергаются гидролизу в среде на спиртовой основе. В результате образуется золь, представляющий собой коллоидную суспензию. Затем золь подвергается реакции поликонденсации, в результате которой образуются ковалентные связи между алкоксидом металла и фосфорной кислотой. Этот этап превращает золь в гель, что является ключевым этапом золь-гель процесса [40].

Затем гель подвергают сушке и прокаливанию при повышенных температурах, в результате чего получается НА с желаемыми свойствами.

Золь-гель метод позволяет точно контролировать химический состав гиалуриновой кислоты, обеспечивая последовательность и надежность ее

рецептуры. Кроме того, возможность введения различных добавок в НА является значительным преимуществом, поскольку позволяет улучшить ее свойства. Универсальность золь-гель технологии в сочетании с ее эффективностью в достижении однородности делают ее ценным преимуществом при производстве материалов на основе НА[44].

Ограничения процесса могут быть сложными и отнимать много времени. Использование алкоксидов металлов и органических растворителей может привести к увеличению стоимости производства. Однако успешный синтез гидроксиапатита Чжоу и Ли золь-гель методом представляет собой значительное достижение. Этот метод позволил получить материалы с высокой чистотой и контролируемой пористостью, которые имеют решающее значение для их использования в биомедицине [36].

1.3.3 Роль гидроксиапатита в композитных криогелях.

Включение НА в составы криогеля повышает, как и биологическую активность, так и механические свойства, что делает их в высшей степени подходящими для стимулирования клеточной адгезии, пролиферации и дифференцировки в тканевой инженерии [22].

Гидроксиапатит значительно повышает прочность при сжатии композитных криогелевых материалов, что делает их пригодными для применений, требующих высокой несущей способности. Например, композитные криогели на основе поливинилового спирта (PVA) демонстрируют значительное повышение прочности при сжатии по сравнению с криогелями из чистого PVA [45].

Прочность композитных криогелей при сжатии является может иметь большое значение для их использования в несущих конструкциях, особенно в области ортопедии и стоматологии. Это улучшение обусловлено сильным взаимодействием между наночастицами НА и полимерной матрицей, которое обеспечивает дополнительную поддержку и стабильность, позволяя криогелям выдерживать более высокие нагрузки без деформации [46].

Частицы гидроксиапатита действуют как армирующие наполнители в полимерной сетке криогелей. При воздействии сжимающих усилий частицы НА принимают на себя значительную часть нагрузки, более равномерно распределяя напряжение по всей матрице. Такое распределение уменьшает локальные концентрации напряжений, которые обычно являются слабыми точками, где начинается деформация и разрушение [47]. Прочная межфазная связь между частицами НА и полимерными цепями имеет решающее значение для такого механизма передачи нагрузки. Это взаимодействие гарантирует, что композитный материал при напряжении ведет себя как единое целое, а не как отдельные фазы [2].

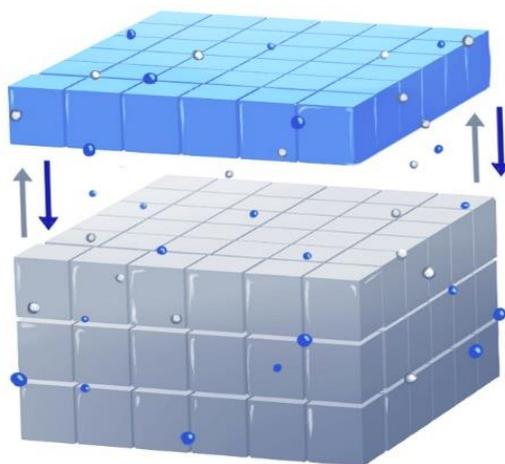


Рисунок 1.3.2-Частицы гидроксиапатита в матрице криогеля

Прочность при сжатии композитных криогелей на основе гидроксиапатита можно точно регулировать, регулируя концентрацию НА в полимерной матрице. Например, увеличение содержания НА обычно приводит к повышению прочности при сжатии благодаря повышенной несущей способности упрочненной матрицы. Тем не менее, существует оптимальный диапазон концентрации НА; превышение этого порога может привести к агрегации, что может привести к концентрации напряжений и возможным повреждениям материала [3].

Исследования показали, что композитные криогели НА-PVA с концентрацией гидроксиапатита приблизительно 20–30% по массе обладают прочностью на сжатие, сравнимой с прочностью натуральной кости. Это сходство необходимо для обеспечения механической совместимости с тканями организма-хозяина, что является решающим фактором успеха ортопедических имплантатов [20]. Например, криогелевый композит НА-PVA с содержанием 25% НА продемонстрировал прочность на сжатие, равную приблизительно 15 МПа, что близко соответствует прочности на сжатие губчатой кости человека [2].

Таблица 1-Влияние гидроксиапатита на прочность при сжатии криогеля

	Концентрация НА	Прочность при сжатии	Результаты
1	0	0.1	Нет НА
2	5	0.5	Незначительное улучшение
3	10	1.2	Умеренное улучшение
4	15	1.8	Значительное улучшение
5	20	2.0	Оптимальное улучшение
6	25	1.9	Незначительное снижение из-за агрегации
7	30	1.5	Значительное снижение из-за агрегации

Повышенная прочность при сжатии композитных криогелевых материалов на основе гидроксиапатита также способствует их долговечности и долговечному использованию. Эти материалы менее подвержены механической усталости, которая может привести к образованию трещин и, в итоге, к выходу из строя в тех случаях, когда они подвергаются нагрузкам. Наличие НА не только улучшает первоначальные механические свойства материалов, но и помогает поддерживать эти свойства с течением времени. Такая стабильность особенно важна для имплантатов, которые должны функционировать в течение многих лет [46].

Кроме того, возможность регулировать прочность на сжатие за счет изменения содержания НА позволяет разрабатывать индивидуальные

имплантаты, отвечающие уникальным механическим требованиям отдельных пациентов. Например, имплантаты для молодых и активных людей, могут требовать более высокой прочности при сжатии, чтобы выдерживать повышенные механические нагрузки. В то время как имплантаты для пожилых людей могут обладать другими свойствами, такими как биосовместимость и остеоиндукцию[22].

Еще стоит отметить, что повышенный предел прочности при сжатии композитных криогелей на основе гидроксиапатита не является самостоятельным свойством; она работает в сочетании с другими характеристиками, такими как эластичность и стойкость при образовании трещин. Включение гидроксиапатита не только повышает прочность криогеля на сжатие, но и повышает его общую механическую стойкость. Повышенная эластичность позволяет материалу эффективно поглощать и рассеивать энергию, снижая вероятность хрупкого разрушения. Аналогичным образом, повышенная стойкость предотвращает легкое распространение трещин, тем самым повышая устойчивость материала к катастрофическому разрушению[2].

Эластичность - еще одно важное механическое свойство, которое улучшается за счет включения гидроксиапатита в состав композитных криогелей. Материалы с эластичными свойствами могут выдерживать многократные механические нагрузки без остаточной деформации, что имеет решающее значение для применений, связанных с динамическими нагрузками. Введение НА-PVA (поливинилового спирта) или НА-желатина в состав композитных криогелевых структур приводит к повышению эластичности, что делает эти материалы пригодными для использования в областях, подверженных циклическим механическим воздействиям, например, при замене суставов [46].

Повышенная эластичность композитных криогелей на основе гидроксиапатита является результатом синергетического взаимодействия между гибкой полимерной матрицей и жесткими частицами НА. Такое взаимодействие позволяет композитному криогелю более эффективно поглощать и рассеивать энергию, предотвращая образование микроскопических трещин и повышая его устойчивость к усталости [47].

Введение гидроксиапатита в полимерную матрицу криогелей позволяет получить композитный материал, сочетающий гибкость полимеров с жесткостью минералов. При механическом воздействии полимерная матрица деформируется, распределяя усилие между частицами НА. Эти частицы НА выполняют функцию точек упрочнения, препятствуя чрезмерному растяжению и разрушению полимерных цепей. Этот процесс упрочнения жизненно важен для сохранения структурной целостности криогеля в условиях повторяющихся нагрузок [3].

Жесткая структура гидроксиапатита обеспечивает каркас, который противостоит деформации, в то время как полимерная матрица поглощает приложенное напряжение за счет упругой деформации. Этот двойной механизм распределения напряжения и рассеивания энергии повышает общую гибкость композитных криогелей. Присутствие частиц НА способствует закреплению полимерных цепей, уменьшая их подвижность и предотвращая крупномасштабные деформации. Это взаимодействие не только повышает гибкость, но и повышает прочность и долговечность криогелевых материалов [20].

В исследовании, опубликованном в журнале, исследовалась эластичность криогеля из композита гидроксиапатит НА-желатин. Авторы обнаружили, что добавление нанопроволок НА значительно увеличило модуль упругости криогеля. Это улучшение эластичности было связано с эффективной передачей нагрузки между нанопроволок НА и желатиновой матрицей, что предотвратило образование микротрещин и повысило сопротивление усталости. Композитный криогель продемонстрировал отличные эксплуатационные характеристики в условиях динамической нагрузки, что делает его пригодным для использования в биомедицине [26].

Повышенная эластичность композитных криогелей на основе ГК в значительной степени способствует их долговременной эффективности и стабильности в биомедицинских приложениях. Долгосрочная стабильность композиционных криогелей на основе НА также обеспечивается их устойчивостью к механическим повреждениям. Совместное взаимодействие между гибкой полимерной матрицей и жесткими наночастицами ГК предотвращает постепенную потерю структурной целостности, которая может произойти в результате многократного нагружения. Такая устойчивость к износу гарантирует, что имплантаты и каркасы сохраняют свою эффективность в течение всего предполагаемого срока службы, снижая необходимость в повторных хирургических вмешательствах и улучшая результаты лечения пациентов [3].

Химическая стабильность гидроксиапатита и биологическая активность, имеют решающее значение для повышения эффективности композитных криогелей. Гидроксиапатит обладает очень низкой растворимостью, что важно для его химической стабильности в биологических средах. Это свойство обеспечивает структурную целостность композитных криогелей на основе гидроксиапатита с течением времени. Стабильность гидроксиапатита позволяет этим материалам функционировать в качестве эффективных имплантатов в течение длительного времени без существенного разрушения или потери механической прочности [47]. В физиологических условиях, когда жидкости организма постоянно взаимодействуют с материалами имплантатов, низкая растворимость гидроксиапатита препятствует его быстрому растворению. Эта характеристика особенно важна для имплантатов, предназначенных для

регенерации костной ткани, поскольку она гарантирует, что структурная опора остается неизменной на протяжении всего процесса заживления [44].

Постоянное присутствие гидроксиапатита в составе композитного криогеля обеспечивает непрерывную поддержку для формирования новой кости и интеграции с тканями организма-хозяина [20].

Исследование подчеркивает химическую стабильность НА в композитных криогелях. Исследователи продемонстрировали, что композитные криогели НА-PVA сохраняют свою структурную целостность и механические свойства после длительного воздействия физиологических условий. Такая стабильность была обусловлена низкой растворимостью НА, которая предотвращала значительное растворение и деградацию каркаса. В ходе исследования был сделан вывод о том, что химическая стабильность НА является решающим фактором долгосрочного успеха композитных криогелей на основе НА в области инженерии костной ткани [17].

Еще одной из наиболее заметных биологически активных особенностей гидроксиапатита НА является его способность образовывать слой гидроксикарбонатапатита при имплантации в организм. Это ГХА-покрытие сравнимо по составу с минеральным компонентом кости и выполняет важнейшую функцию, способствуя формированию новой костной ткани и ее интеграции с естественной костной структурой [48].

Формирование покрытия из НСА включает в себя разрушение НА на поверхности имплантата, за которым следует повторное осаждение ионов кальция и фосфата из окружающих биологических жидкостей. Это динамическое взаимодействие усиливает связь между имплантатом на основе НА и костной тканью, что способствует интеграции и стабильности [42].

Биологическая активность гидроксиапатита является решающим фактором его эффективности в качестве компонента композитных криогелей, используемых в инженерии костной ткани. Способность НА образовывать слой способствует не только формированию новой кости, но и повышает общую биологическую активность этих композитных криогелей [36].

Эта биологическая активность необходима для регенерации костных дефектов и успешной интеграции имплантатов в ткани организма. Непрерывное высвобождение ионов кальция и фосфата с поверхности НА стимулирует остеобласты и другие костеобразующие клетки, способствуя дальнейшей регенерации кости [28].

Химическая стабильность и биологическая активность гидроксиапатита в совокупности повышают эффективность композитных криогелевых материалов в биомедицинских приложениях. Стабильность НА гарантирует, что материал каркаса остается неповрежденным и функциональным в течение длительного периода времени, в то время как его биологическая активность

способствует регенерации новой костной ткани и успешной интеграции имплантата в кость хозяина. Эти комбинированные свойства делают композитные гидрогелевые материалы на основе НА высокоэффективными для использования в инженерии костной ткани и других медицинских процедурах [44].

Длительное высвобождение ионов кальция и фосфата с поверхности НА способствует стабильности и биологической активности композитных криогелей. Высвобождение этих ионов помогает поддерживать структурную целостность каркаса, одновременно стимулируя клеточные реакции, которые необходимы для регенерации костной ткани. Эта двойная функция высвобождения ионов гарантирует, что композитные криогели на основе НА могут обеспечивать непрерывную поддержку заживления и интеграции костей, что делает их очень подходящими для долговременных имплантатов [49].

Химическая стабильность гидроксиапатита предотвращает преждевременное разрушение каркаса, гарантируя, что композитные криогели сохраняют свои механические свойства и структурную целостность на протяжении всего процесса заживления. Такая стабильность особенно важна для применения в несущих конструкциях, где каркас должен выдерживать значительные механические нагрузки без ущерба для целостности конструкции. Включение НА в состав композитных криогелей помогает достичь этого, обеспечивая стабильный и долговечный каркас, способный выдерживать динамические воздействия человеческого организма [50].

В целом гидроксиапатит является важнейшим компонентом композитных криогелевых материалов, значительно повышающим их биологическую активность и механические свойства. Это делает их пригодными для использования в инженерии костной ткани. Включение НА в состав композитного криогеля повышает его прочность на сжатие, эластичность и сопротивление разрушению, обеспечивая его механическую надежность и долговечность при применении в условиях повышенной нагрузки.

Химическая стабильность НА позволяет композитному криогелю сохранять свою структурную целостность и функциональные характеристики в течение длительного периода времени, обеспечивая устойчивую поддержку процессов регенерации костной ткани.

Биологическая активность гидроксиапатита НА, характеризующаяся образованием слоя гидроксикарбонатапатита и высвобождением ионов кальция (Ca^{2+}) и фосфата (PO_4^{3-}), способствует клеточной адгезии, пролиферации и дифференцировке. Это улучшает интеграцию имплантатов с костью хозяина, что делает композиты на основе НА высокоэффективными для различных биомедицинских применений. К ним относятся, в частности, костные трансплантаты, каркасные материалы и системы доставки лекарств.

Ожидается, что продолжение исследований и разработок в области композитных криогелевых материалов на основе гидроксиапатита приведет к значительным достижениям в области инженерии костной ткани и регенеративной медицины. Инновационные технологии производства и стратегии модификации поверхности еще больше улучшат эксплуатационные характеристики и универсальность этих материалов, позволяя создавать индивидуальные решения, отвечающие широкому спектру медицинских требований. Значительная роль гидроксиапатита в качестве компонента этих композиционных материалов подчеркивает его важность как важнейшего компонента при разработке биоматериалов будущего поколения, обладающих терапевтическим и диагностическим потенциалом.

2. Экспериментальная часть

2.1 Описание материалов и методов

Материалы:

В работе были использованы Albumin from chicken egg white (Sigma) (#038K0706), сухой п-парабромбензальдегид (98%) (BzH), изопропиловый спирт(98%), мочевины, L-цистеин, додецилсульфат натрия, карбонат натрия.

Методика:



Приготовление смеси пара-бромбензальдегида и albumin:

В качестве основы для будущего криогеля были приготовлены 5%-ный водный раствор альбумина из куриного яичного белка и 1,5%-ный раствор пара-бромбензальдегида в изопропанол. Один гр альбумина из куриного яичного белка смешивали с 20 мл дистиллированной воды и тщательно перемешивали до получения однородной эмульсии. Для приготовления раствора изопропилового спирта 20 мг пара-бромбензальдегида смешивали с 1,6 мл изопропанола.

Для ингибирования реакции сшивания и улучшения физико-химических показателей криогеля в albumin, основу, в разные образцы были добавлены: 5мг сухого додецилсульфат натрия, 120мг и 240мг сухой мочевины, 25мг карбоната натрия, 0.4мл водного раствора L-цистеина.

Проведение экспериментов и исследований

В ходе экспериментальной части было проведено ряд экспериментов. Из которых успешными были только три.

Таблица 2-Сводная таблица проведенных экспериментов

№	Состав	Результат получения геля
1	5ml albumin + 5 mg BzH (сухой)	Образец не получился
2	5ml albumin + 5mg BzH (сухой) + 5mg SDS	Образец не получился
3	5ml albumin + 5mg BzH (0,4ml)	Образец не получился
4	5ml albumin + 5mg BzH (0,4ml) + 5mg SDS	Образец не получился
5	4ml albumin + 4mg BzH + 4,8mg L-Cys (сухой) + 120mg Urea	Образец не получился
6	4ml albumin + 4mg BzH + 4,8mg L-Cys (сухой) + 240mg Urea	Образец не получился
7	5ml albumin + 5mg Benz(0,32ml) + 5mg SDS + 25mg Na ₂ CO ₃	Образец не получился
8	4ml albumin + 4mg BzH + 4,8mg L-Cys + 240mg Urea + 25mg Na ₂ CO ₃	Образец не получился
10	4ml albumin + 4mg BzH + 4,8mg L-Cys (4,8 ml) + 120mg Urea	Образец получился
11	5ml albumin + 5mg BzH (0,4ml) + 5mg SDS+ 25mg Na ₂ CO ₃	Образец получился
12	5ml albumin + 5mg BzH (0,4ml)	Образец получился

Для образца 12 был приготовлен 5 мл 5%-ного водный раствор albumin, в который добавили 5 мг VzH, растворенного в 0,4 мл изопропанола. Смесь перемешали до растворения всех компонентов.

Для образца 11 был приготовлен 5 мл 5%-ный водный раствор albumin, в который добавили 5 мг VzH, растворенного в 0,4 мл изопропанола. Затем добавили 5 мг сухого додецилсульфат натрия (SDS) и 25 мг карбоната натрия (Na_2CO_3).

Для образца под номером 10 был приготовлен 4 мл 5%-ный водный раствор albumin, в который добавили 4 мг VzH и 4,8 мг L-цистеина, растворенного в 4,8 мл дистиллированной воды. Также добавили 120 мг сухой мочевины, и тщательно перемешали.

После получения однородной эмульсии все образцы были помещены в морозильную камеру. Криогелирование происходило в течение 24 часов.

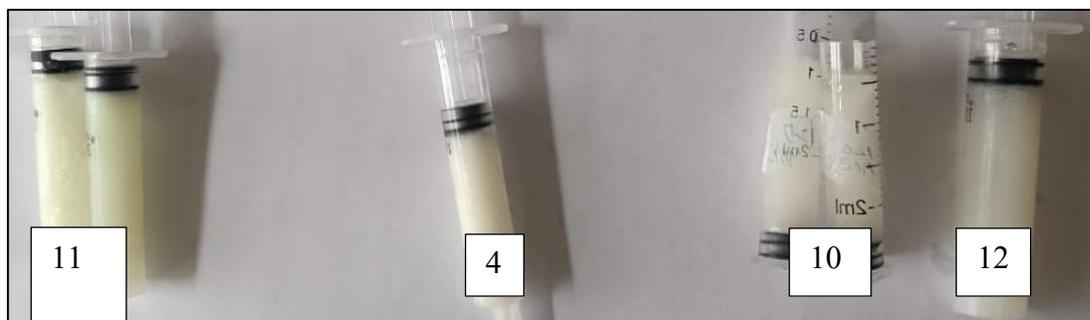


Рисунок 2.1.1-Полученные образцы в замороженном состоянии

Измерение степени набухания криогеля проходило в карбонатном буфере ($\text{pH} \leq 7.4$). Для начала измерялась масса криогеля. А также масса тары, в которой криогель будет помещен в карбонатный буфер. И общая масса криогеля в таре. Образцы криогеля помещаются в карбонатный буфер. Затем в течение 3 часов, регистрировалось изменение массы криогелей, каждые 30 минут.



Рисунок 2.1.2-Криогели в карбонатном буфере

Таблица 3-Изменение массы криогеля с течением времени (Без массы тары)

	0,5ч	1ч	1,5ч	2ч	2,5ч	3ч
12	0,85	0,82	0,69	0,53	0,29	0,50
11	0,77	0,76	0,70	0,72	0,74	0,84
10	1,77	1,96	1,72	1,50	1,40	1,36

Для расчета степени набухания (a) была использована следующая формула:

$$a = \frac{m - m_0}{m_0}$$

- m — вес насыщенного криогеля.
- m_0 — вес высушенного криогеля.

Таблица 4: Результаты степени набухания полученных образцов

	Масса влажного криогеля	Масса сухого криогеля (выход 100%)	0,5ч	1ч	1,5ч	2ч	2,5ч	3ч
12	1,09	0,054	14,7	14,1	11,7	8,81	4,37	8,2
11	0,56	0,028	26,5	26,1	24	24,7	25,4	30,7
10	1,59	0,079	21,4	25,8	20,7	17,9	16,7	16,2

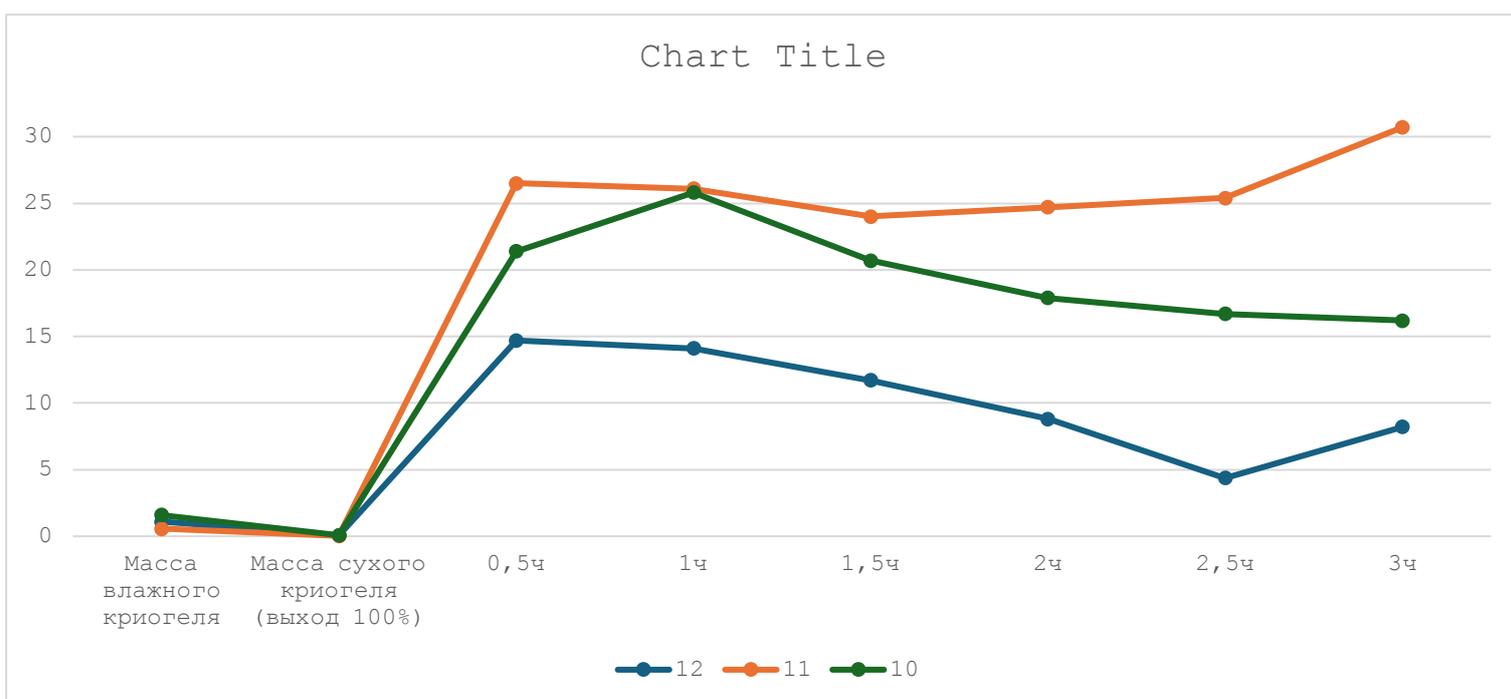


Рисунок 2.1.3- Степень изменения набухания

3. Результаты и обсуждения

Эксперимент был проведен для оценки степени набухания и стабильности образцов криогеля в карбонатном растворе (рН 7,4) в течение времени. Полученные результаты свидетельствуют о различной степени стабильности и структурной целостности трех различных составов криогеля.

Так как образцы замораживались при -20°C , а концентрация изопропанола в образцах составляет не более 5%, то можно сделать вывод, что все образцы были успешно заморожены. Данный вывод мы делаем, потому что температура замерзания изопропанола при 5% концентрации составляет от -1°C .

Образец 12

Образец 12, состоящий только из бычьего сывороточного альбумина 5% (albumin), пара-бромбензальдегида (1,25%) и изопропанола (4,72%) полностью распался, что указывает на недостаточную стабильность без добавления сшивающих агентов.

Альбумин представляет собой глобулярный протеин с молекулярной массой около 45 KDa, состоящий из 385 аминокислот, 20 из которых лизиновые. Он имеет третичную структуру в форме клубка, стабилизированную 4 дисульфидными связями. Следует отметить, что у бычьего сывороточного альбумина 17 дисульфидных связей. Эти дисульфидные связи обеспечивают высокую стабильность белка и устойчивость к денатурации в различных физических и химических условиях.

Количественный расчет концентрации бензальдегида :

$$C = \frac{50\text{г/л}}{4500} = 0,0011 \text{ моль/л}$$

$$C = 0,0011 * 20 = 0,0222 \text{ моль/л}$$

$$v = \frac{5 \text{ мл} * 0,0222}{1000} = 0,000111 \text{ моль}$$

$$\frac{0,000021}{0,000111} * 100\% = 0,189\%$$

По результатам расчетов мы видим, что с этим количеством бензальдегида взаимодействовало 0,19% аминогрупп альбумина. Это указывает на то, что реакция сшивания была неэффективной и недостаточной для формирования прочной сетки, что и стало причиной распада криогеля. Низкая степень взаимодействия аминогрупп с бензальдегидом означает, что недостаточное количество поперечных связей было образовано, что не позволило криогелю достичь необходимой стабильности.

Образец 10

С другой стороны, образец 10, который содержит albumin, пара-бромбензальдегид в изопропанол, L-цистеин и 120 мг мочевины(27.27%), сохранил свою стабильность, продемонстрировав, что введение L-цистеина и мочевины способствуют хорошей стабильности структуры и формы.

Количественный расчет концентрации L-цистеина.

$$\nu = \frac{0,00048\text{г}}{121,16} = 0,00000396 \text{ моль}$$
$$0,0044 \frac{\text{МОЛЬ}}{\text{Л}} * 4\text{мл} = 0,0000176 \text{ моль}$$
$$\nu = \frac{\nu_{\text{прак.}}}{\nu_{\text{теор.}}} = \frac{0,00000396\text{моль}}{0,0000176 \text{ моль}} * 100\% = 22.5\%$$

L-цистеин — это аминокислота, которая действует как вспоминающее вещество при образовании криогелей благодаря своей тиольной группе, которая способна участвовать в окислительно-восстановительных реакциях и образовывать дисульфидные связи. Он играет важную роль в синтезе криогеля, повышая эффективность сшивки и обеспечивая дополнительные функциональные группы для дальнейших модификаций [28]

L-цистеин способствует образованию поперечных связей за счет образования дисульфидных связей между остатками цистеина в белках, тем самым способствуя стабильности структуры криогеля. Кроме того, его тиольная функциональная группа может вступать в реакцию с альдегидными функциональными группами, тем самым усиливая реакцию поперечного сшивания [18].

Образование дисульфидных связей играет важную роль в определении механической прочности и упругости криогелей. Криогели, сшитые L-цистеином, обладают повышенной прочностью на разрыв и устойчивостью к механической деформации по сравнению с другими типами криогелей.

Дисульфидные связи способствуют химической стабильности матрицы криогеля, обеспечивая устойчивость к разрушению в окислительных условиях. Это свойство особенно полезно для применений, где материал может подвергаться воздействию активных форм кислорода[22].

L-цистеин повышает биологическую активность криогелей, обеспечивая тиоловые группы, которые могут быть использованы для функционализации различных биологически активных молекул. Этот процесс способствует адгезии, пролиферации и дифференцировке клеток, что делает криогели, модифицированные L-цистеином, пригодными для использования в тканевой инженерии [22].

Мочевина является широко используемым вспомогательным веществом в синтезе криогелей благодаря своей способности улучшать растворимость белков и способствовать эффективному сшиванию. Она действует как хаотропный агент, разрушая водородные связи в белках, повышая их реакционную способность. Этот процесс способствует образованию оснований Шиффа между аминокруппами в белках, таких как альбумин, и альдегидными группами в сшивающих веществах, таких как пара-бромбензальдегид [22].

Мочевина взаимодействует со структурой белка, разрушая внутримолекулярные водородные связи и обнажая реакционноспособные группы. Повышенная реакционная способность обеспечивает более эффективное сшивание с альдегидами, образуя стабильную сетку криогеля. Разрушение водородных связей усиливает диффузию сшивающих агентов, обеспечивая равномерное сшивание по всей гелевой матрице[27].

Мочевина способствует образованию плотной и стабильной сетки, тем самым повышая прочность криогелей на сжатие и эластичность. Исследования показали, что криогели, синтезированные с использованием мочевины, обладают повышенной механической прочностью, что делает их пригодными для применения в условиях повышенной нагрузки[18][27].

Повышенная эффективность сшивки, достигаемая за счет использования мочевины, обеспечивает создание химически стабильной структуры, устойчивой к разложению в физиологических условиях. Такая стабильность необходима для биомедицинских имплантатов и каркасов для тканевой инженерии, которые требуют длительной функциональности[28].

Мочевина не оказывает негативного влияния на биологически активные свойства криогеля, сохраняя его биосовместимость и способность поддерживать адгезию и пролиферацию клеток[27].

Образец 11

Образец 11, содержащий albumin, пара-бромбензальдегид в изопропанол, додецилсульфат натрия и Na_2CO_3 продемонстрировал, что наличие этих катализаторов значительно повышает стабильность и структурную целостность геля.

Додецилсульфат натрия является анионным поверхностно-активным веществом, которое обычно используется в качестве вспомогательного вещества и эмульгатора при синтезе криогелей. Его основная функция заключается в повышении растворимости гидрофобных соединений и содействии образованию однородных структур криогеля[28].

SDS взаимодействует с гидрофобными участками белков и сшивающих агентов, образуя мицеллы, которые повышают растворимость и дисперсию этих компонентов в водных растворах. Эта реакция способствует равномерному сшиванию и созданию стабильных структур криогеля[18].

SDS повышает однородность структуры криогеля, улучшая его механические свойства. Криогели, синтезированные с использованием SDS, обладают повышенной прочностью на сжатие и эластичностью, что делает их пригодными для различных биомедицинских применений[30].

Добавление SDS улучшает химическую стабильность криогелей, способствуя равномерному образованию поперечных связей и предотвращая разделение фаз. Эта повышенная стабильность необходима для поддержания долговременной функциональности криогелей в физиологических условиях.

SDS обладает потенциалом влиять на биологическую активность криогелей благодаря своей способности модулировать свойства их поверхности. Поверхностно-активное вещество SDS может усиливать адсорбцию биологически активных молекул на поверхности криогеля, тем самым способствуя адгезии и пролиферации клеток[18].

Карбонат натрия — это неорганическое соединение, которое используется в качестве вспомогательного вещества при синтезе криогелей. Он играет решающую роль в этом процессе, регулируя уровень pH реакционной среды, способствуя эффективному образованию поперечных связей между полимерными цепями и улучшая общие механические свойства получаемых криогелей [22].

Карбонат натрия выполняет функцию буфера, поддерживая уровень pH на оптимальном уровне для реакций сшивания. Регулируя pH, карбонат натрия обеспечивает эффективное образование связей на основе оснований Шиффа между белками и сшивающими агентами, что приводит к образованию стабильной сетки криогеля [33].

Добавление Na_2CO_3 в процесс синтеза приводит к улучшению механических свойств криогелей благодаря буферному эффекту, который он оказывает на процесс сшивания. Криогели, изготовленные с использованием Na_2CO_3 , обладают повышенной прочностью на сжатие и эластичностью, что делает их хорошо подходящими для применений, требующих высокой несущей способности[31].

Карбонат натрия (Na_2CO_3) повышает химическую стабильность криогелей за счет поддержания оптимального уровня pH для образования поперечных связей, что необходимо для обеспечения долгосрочной эффективности криогелей в различных биомедицинских областях применения[28].

Буферный эффект Na_2CO_3 может влиять на биологическую активность криогелей, поддерживая физиологически приемлемый уровень pH среды. Это может способствовать жизнеспособности и пролиферации клеток, тем самым повышая общую биологическую активность криогеля[32].

Вспомогательные вещества являются важными компонентами в синтезе криогелей и существенно влияют на их механические, химические и биологические свойства.

Стабильность образца 11 указывает на его пригодность для применений, требующих долговременной структурной целостности, таких как тканевая инженерия и системы доставки лекарств.

Влияние SDS и Na_2CO_3 на альбумин можно объяснить их физико-химическими свойствами. SDS, обладает способностью снижать поверхностное натяжение и стабилизировать эмульсии. В синтезе криогелей он способствует равномерному распределению компонентов в реакционной смеси, что позволяет формировать однородную пористую структуру криогеля. Также SDS предотвращает агрегацию альбумина, обеспечивая его равномерное распределение и взаимодействие с пара-бромбензальдегидом для эффективного кросс-линкинга.

Карбонат натрия используется для создания и поддержания щелочной среды, которая необходима для эффективной реакции между albumin и пара-бромбензальдегидом. Щелочная среда способствует денатурации альбумина, увеличивая его реакционную способность. Еще Na_2CO_3 может выступать в качестве вспомогательного вещества, ускоряя реакцию кросс-линкинга между альдегидными группами пара-бромбензальдегида и аминоклассами альбумина, что приводит к образованию прочной трехмерной структуры. Эти компоненты совместно способствуют формированию криогеля с желаемыми физико-химическими свойствами, что является важным для его дальнейшего применения в биомедицинских и других областях.

Стабильность образца 10 указывает на его пригодность для применений, требующих долговременной структурной целостности, таких как тканевая инженерия и системы доставки лекарств. Введение L-цистеина и мочевины играет ключевую роль в достижении этой стабильности.

L-цистеин является аминокислотой с тиольной группой, способной участвовать в окислительно-восстановительных реакциях и образовывать дисульфидные связи. В синтезе криогелей L-цистеин способствует образованию поперечных связей за счёт образования дисульфидных связей между остатками цистеина в белках. Эти связи повышают структурную стабильность криогеля, способствуя его механической прочности и устойчивости к деформации. Кроме того, тиольная группа L-цистеина может вступать в реакцию с альдегидными функциональными группами, усиливая реакцию поперечного сшивания.

Мочевина выступает в роли хаотропного агента, который разрушает водородные связи в белках, повышая их растворимость и реакционную способность. Этот процесс способствует образованию оснований Шиффа между аминоклассами белков, таких как альбумин, и альдегидными группами,

такими как пара-бромбензальдегид. Мочевина также взаимодействует со структурой белка, разрушая внутримолекулярные водородные связи и обнажая реакционноспособные группы, что обеспечивает более эффективное сшивание с альдегидами и образование стабильной сетки криогеля.

Эти компоненты совместно способствуют формированию криогеля с желаемыми физико-химическими свойствами, что важно для его дальнейшего применения в биомедицинских и других областях. L-цистеин и мочевина способствуют созданию плотной и стабильной сети, что повышает прочность криогелей на сжатие и эластичность. Повышенная эффективность сшивки обеспечивает создание химически стабильной структуры, устойчивой к разложению в физиологических условиях. Мочевина и L-цистеин также поддерживают биосовместимость криогеля, сохраняя его способность к адгезии и пролиферации клеток, что делает их идеальными кандидатами для применения в тканевой инженерии и системах доставки лекарств

Эти результаты демонстрируют, что оптимизация выбора и концентрации сшивающих агентов и стабилизаторов имеет важное значение для достижения стабильного образования криогеля. SDS, Na_2CO_3 , L-цистеин и мочевина играют важную роль в повышении стабильности криогелей на основе альбумина из куриного яичного белка, что подчеркивает их важность их использования в процессе синтеза.

ВЫВОДЫ

В рамках этого исследования был проведен анализ и синтез амфотерных криогелей, с целью их потенциального использования в медицине, в частности для регенерации костной ткани.

Основное внимание было уделено влиянию полимера, сшивающего агента и условий формирования на структурные свойства криогелей. Была разработана методика синтеза криогелей на основе альбумина куриного яичного белка.

Была изучена возможность использования пара-бромбензальдегида в качестве альтернативного сшивающего агента. Исследование степени криогелей показало, что возможно регулировать размер и распределение пор путем изменения условий синтеза и состава полимерной матрицы. Высокая пористость и взаимосвязанная сеть пор обеспечивают эффективную диффузию питательных веществ и клеток, что имеет решающее значение для регенерации тканей.

Существуют несколько предложений по улучшению методики. Потенциальное изменение последовательности добавления компонентов или включение дополнительных стадий, таких как предварительное растворение катализаторов или использование промежуточных стадий обработки, может улучшить структуру и характеристики конечного продукта. Внедрение мер контроля качества промежуточных продуктов позволило бы своевременно выявлять и исправлять отклонения в процессе синтеза, тем самым повышая вероятность получения высококачественного конечного продукта.

Несмотря на неудачи на экспериментальном этапе, собранные данные и выявленные ошибки дают важную информацию для будущих исследований. Следуя предложенным рекомендациям, возможно, удастся значительно усовершенствовать процедуру синтеза и достичь желаемых результатов при производстве высококачественных композитных криогелей, содержащих гидроксиапатит.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Baimenov A. et al. A review of cryogels synthesis, characterization and applications on the removal of heavy metals from aqueous solutions //Advances in colloid and interface science. – 2020. – Т. 276. – С. 102088.
2. Shiekh P. A. et al. Designing cryogels through cryostructuring of polymeric matrices for biomedical applications //European Polymer Journal. – 2021. – Т. 144. – С. 110234.
3. Saylan Y., Denizli A. Supermacroporous composite cryogels in biomedical applications //Gels. – 2019. – Т. 5. – №. 2. – С. 20.
4. Rogers Z. J., Bencherif S. A. Cryogelation and cryogels //Gels. – 2019. – Т. 5. – №. 4. – С. 46.
5. He Y. et al. An overview on collagen and gelatin-based cryogels: Fabrication, classification, properties and biomedical applications //Polymers. – 2021. – Т. 13. – №. 14. – С. 2299.
6. Li J. et al. Nanocellulose/gelatin composite cryogels for controlled drug release //ACS sustainable chemistry & engineering. – 2019. – Т. 7. – №. 6. – С. 6381–6389.
7. Memic A. et al. Latest advances in cryogel technology for biomedical applications //Advanced Therapeutics. – 2019. – Т. 2. – №. 4. – С. 1800114.
8. Razavi M., Qiao Y., Thakor A. S. Three-dimensional cryogels for biomedical applications //Journal of Biomedical Materials Research Part A. – 2019. – Т. 107. – №. 12. – С. 2736–2755.
9. Bakhshpour M. et al. Biomedical applications of polymeric cryogels //Applied Sciences. – 2019. – Т. 9. – №. 3. – С. 553.
10. Amighi F., Emam-Djomeh Z., Labbafi-Mazraeh-Shahi M. Effect of different cross-linking agents on the preparation of bovine serum albumin nanoparticles //Journal of the Iranian chemical society. – 2020. – Т. 17. – №. 5. – С. 1223-1235.
11. Eggermont L. J. et al. Injectable cryogels for biomedical applications //Trends in biotechnology. – 2020. – Т. 38. – №. 4. – С. 418-431.
12. Sultankulov B. et al. Composite cryogel with polyelectrolyte complexes for growth factor delivery //Pharmaceutics. – 2019. – Т. 11. – №. 12. – С. 650.
13. Sharma M. et al. Hybrid alginate–protein cryogel beads: efficient and sustainable bio-based materials to purify immunoglobulin G antibodies //Green chemistry. – 2020. – Т. 22. – №. 7. – С. 2225–2233.
14. Klivenko A. N. et al. Biocompatible cryogels: Preparation and application //Bull. Univ. Karaganda—Chem. – 2021. – Т. 103. – С. 4-20.

15. Eigel D., Werner C., Newland B. Cryogel biomaterials for neuroscience applications // *Neurochemistry international*. – 2021. – T. 147. – C. 105012.
16. Mehwish N. et al. Mussel-inspired surface functionalization of porous albumin cryogels supporting synergistic antibacterial/antioxidant activity and bone-like apatite formation // *Gels*. – 2022. – T. 8. – №. 10. – C. 679.
17. Ghiasi B. et al. Hydroxyapatite as a biomaterial—a gift that keeps on giving // *Drug development and industrial pharmacy*. – 2020. – T. 46. – №. 7. – C. 1035-1062.
18. Gu L. et al. Hydroxyapatite nanowire composited gelatin cryogel with improved mechanical properties and cell migration for bone regeneration // *Biomedical Materials*. – 2019. – T. 14. – №. 4. – C. 045001.
19. Zhao S. et al. 3D cryogel composites as adsorbent for isolation of protein and small molecules // *Talanta*. – 2019. – T. 191. – C. 229-234.
20. Basu S. et al. Fabricating tough interpenetrating network cryogels with dna as the primary network for biomedical applications // *ACS Macro Letters*. – 2020. – T. 9. – №. 9. – C. 1230-1236.
21. Yu Y. et al. Multifunctional and recyclable photothermally responsive cryogels as efficient platforms for wound healing // *Advanced Functional Materials*. – 2019. – T. 29. – №. 35. – C. 1904402.
22. Omidian H., Dey Chowdhury S., Babanejad N. Cryogels: Advancing biomaterials for transformative biomedical applications // *Pharmaceutics*. – 2023. – T. 15. – №. 7. – C. 1836.
23. Xu M., Mehwish N., Lee B. H. Facile fabrication of transparent and opaque albumin methacryloyl gels with highly improved mechanical properties and controlled pore structures // *Gels*. – 2022. – T. 8. – №. 6. – C. 367.
24. Niu X., Lin M., Lee B. H. An Engineered Protein-Based Building Block (Albumin Methacryloyl) for Fabrication of a 3D In Vitro Cryogel Model // *Gels*. – 2022. – T. 8. – №. 7. – C. 404.
25. Patel D. K., Kim M. H., Lim K. T. Synthesis and characterization of eggshell-derived hydroxyapatite bioceramics // *Journal of Biosystems Engineering*. – 2019. – T. 44. – C. 128-133.
26. Li Z. et al. Functional properties and extraction techniques of chicken egg white proteins // *Foods*. – 2022. – T. 11. – №. 16. – C. 2434.
27. Chaux-Gutiérrez A. M. et al. Cryogels from albumin and low methoxyl amidated pectin as a matrix for betalain encapsulation // *Journal of Food Processing and Preservation*. – 2020. – T. 44. – №. 11. – C. e14843.
28. Villard P. et al. Autoclavable and injectable cryogels for biomedical applications // *Advanced healthcare materials*. – 2019. – T. 8. – №. 17. – C. 1900679.

29. Lett J. A. et al. Recent advances in natural polymer-based hydroxyapatite scaffolds: Properties and applications //European Polymer Journal. – 2021. – T. 148. – C. 110360.
30. Bratskaya S. et al. Cryogels of carboxyalkylchitosans as a universal platform for the fabrication of composite materials //Carbohydrate polymers. – 2019. – T. 209. – C. 1-9.
31. Fan J. P. et al. Preparation and characterization of protein molecularly imprinted poly (ionic liquid)/calcium alginate composite cryogel membrane with high mechanical strength for the separation of bovine serum albumin //Molecules. – 2022. – T. 27. – №. 21. – C. 7304.
32. Zhao S. et al. Ecofriendly construction of enzyme reactor based on three-dimensional porous cryogel composites //Chemical Engineering Journal. – 2019. – T. 361. – C. 286-293.
33. Shi H. et al. Hydroxyapatite based materials for bone tissue engineering: A brief and comprehensive introduction //Crystals. – 2021. – T. 11. – №. 2. – C. 149.
34. Irfan M., Irfan M. Overview of hydroxyapatite; composition, structure, synthesis methods and its biomedical uses //Biomedical Letters. – 2020. – T. 6. – №. 1. – C.17-22

ОТЗЫВ

НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

На дипломную работу «Синтез композитных криогелей с гидроксиапатитом»

(аккредитованное наименование работы)

Байжан Лауры Серікқызы

(Ф.И.О. обучающегося)

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

(цифры и наименование ОП)

Дипломная работа Лауры посвящена исследованию криогелей, синтезированных из яичного альбумина. Тема актуальна и важна для развития биомедицинских материалов, особенно для применения в костной тканевой инженерии. Работа структурирована логично и последовательно. Введение четко формулирует цель и задачи исследования, которые раскрываются в последующих разделах. Теоретическая часть охватывает широкий спектр современных исследований по криогелям и гидроксиапатиту, демонстрируя хорошее понимание автором актуального состояния науки. Немного широкий фокус литературного обзора от криогелей до гидроксиапатита.

В экспериментальной части описаны методики получения криогелей. Байжан Лаура применил различные методы синтеза и провел анализ степени набухания, хотя этот объем работы маленький и должен был включать спектрофотометрическое исследование и определение выхода гелевой фракции. Научная новизна работы заключается в разработке новых композитных криогелей с гидроксиапатитом, которые должны были обладать улучшенными механическими и биологическими свойствами.

Хотя в названии прописаны криогели с гидроксиапатитом, но в работе есть только описание некомпозитных криогелей из альбумина и бензальдегида. Практическая значимость исследования заключается в возможности применения полученных материалов в тканевой инженерии и других биомедицинских областях. Желательно было бы показать степень связывания бензальдегида с альбумином спектрофотометрически, для верификации представленных концентраций альдегидного производного. Аналогичные расчеты нужно сделать и для дисульфидных мостиков и соответственно использование цистеина. Несмотря на некоторое отклонение от траектории темы работы эта работа является законченным исследованием с достаточным уровнем новизны.

Результаты дипломной работы могут быть основой для дальнейших исследований в области синтеза и применения биомедицинских материалов.

Рекомендуется в будущем провести дополнительные доклинические испытания для оценки биосовместимости. Дипломная работа Байжан Лауры на тему "Синтез композитных криогелей с гидроксиапатитом" выполнена на удовлетворительном уровне и соответствует требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам. Рекомендуется к защите с оценкой 65.

Научный руководитель

Ph. D.

Ассоциированный профессор
кафедры химической и биохимической инженерии,
КазНТУ им К. И. Сатпаева

(подпись, инициалы, фамилия)



Берилло Д. А.

(инициалы)

13.0 Мая 2019 г.

РЕЦЕНЗИЯ

На дипломную работу «Синтез композитных криогелей с гидроксиапатитом»

(наименование вида работы)

Байжан Лауры Серікқызы

(Ф.И.О. обучающегося)

6N051001-Химическая и биохимическая инженерия

(шифр и наименование ОП)

Дипломная работа Лауры посвящена исследованию криогелей, синтезированных из яичного альбумина. Тема актуальна и важна для развития биомедицинских материалов, особенно для применения в костной тканевой инженерии. Работа структурирована логично и последовательно

ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

В работе показан широкий фокус литературного обзора от криогелей до гидроксиапатита. В названии прописаны криогели с гидроксиапатитом, но в работе есть только описание некомпозитных криогелей из альбумина и бензальдегида. Желательно было бы показать степень связывания бензальдегида с альбумином спектрофотометрически, для верификации представленных концентраций альдегидного производного. Аналогичные расчеты нужно сделать и для дисульфидных мостиков и соответственно использование цистеина. Несмотря на некоторое отклонение от траектории темы работы эта работа является законченным исследованием с достаточным уровнем новизны. Также стоит отметить, что слабо описаны ранее исследованные работы, посвященные гелям на основе альбуминов для лучшего понимания научной новизны этого исследования.

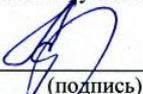
Оценка работы

Дипломная работа Байжан Лауры на тему “Синтез композитных криогелей с гидроксиапатитом” выполнена на удовлетворительном уровне и соответствует требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам. Рекомендуются к защите с оценкой 60.

Рецензент

д.н.б., профессор кафедры биотехнологии,
факультета биологии и биотехнологии,
КазНУ им. Аль-Фараби

(должность, уч. степень, звание)



Иващенко А. Т.

(подпись)

«13» июня 2024.



Метаданные

Название

Синтез композитных криогелей с гидроксипатитом

Автор

Байжан Лаура Серікқызы

Научный руководитель / Эксперт

Дмитрий Берилло

Подразделение

ИГиНГД

Тревога

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся текстовых искажений. Эти искажения в тексте могут говорить о ВОЗМОЖНЫХ манипуляциях в тексте. Искажения в тексте могут носить преднамеренный характер, но чаще, характер технических ошибок при конвертации документа и его сохранении, поэтому мы рекомендуем вам подходить к анализу этого модуля со всей долей ответственности. В случае возникновения вопросов, просим обращаться в нашу службу поддержки.

Замена букв		2
Интервалы		0
Микропробелы		6
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		1

Объем найденных подобиий

КП-ия определяют, какой процент текста по отношению к общему объему текста был найден в различных источниках. Обратите внимание! Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.



КП1

25

Длина фразы для коэффициента подобия 2



КП2

10592

Количество слов



KЦ

88830

Количество символов

Подобия по списку источников

Ниже представлен список источников. В этом списке представлены источники из различных баз данных. Цвет текста означает в каком источнике он был найден. Эти источники и значения Коэффициента Подобия не отражают прямого плагиата. Необходимо открыть каждый источник и проанализировать содержание и правильность оформления источника.

10 самых длинных фраз

Цвет текста

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL (НАЗВАНИЕ БАЗЫ)	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	https://disser.spbu.ru/files/disser2/1715/aftoreferat/p9FNWV9n7C.pdf	10	0.09 %
2	https://referat.ru/referat/prostranstvennye-razlichiya-v-effektivnosti-izbiratelnyh-kompaniy-na-vyborah-v-zakonodatelnoe-sobranie-sankt-peterburga-3-go-sozyva-14519	6	0.06 %
3	https://referat.ru/referat/prostranstvennye-razlichiya-v-effektivnosti-izbiratelnyh-kompaniy-na-vyborah-v-zakonodatelnoe-sobranie-sankt-peterburga-3-go-sozyva-14519	5	0.05 %
4	https://referat.ru/referat/prostranstvennye-razlichiya-v-effektivnosti-izbiratelnyh-kompaniy-na-vyborah-v-zakonodatelnoe-sobranie-sankt-peterburga-3-go-sozyva-14519	5	0.05 %

5	https://referat.ru/referat/prostranstvennye-razlichiya-v-effektivnosti-izbiratelnyh-kompaniy-na-vyborah-v-zakonodatelnoe-sobranie-sankt-peterburga-3-go-sozyva-14519	5	0.05 %
6	https://referat.ru/referat/prostranstvennye-razlichiya-v-effektivnosti-izbiratelnyh-kompaniy-na-vyborah-v-zakonodatelnoe-sobranie-sankt-peterburga-3-go-sozyva-14519	5	0.05 %
7	https://referat.ru/referat/prostranstvennye-razlichiya-v-effektivnosti-izbiratelnyh-kompaniy-na-vyborah-v-zakonodatelnoe-sobranie-sankt-peterburga-3-go-sozyva-14519	5	0.05 %
8	http://lib-5.ru/urok3/urok-266143.php	5	0.05 %
9	https://referat.ru/referat/prostranstvennye-razlichiya-v-effektivnosti-izbiratelnyh-kompaniy-na-vyborah-v-zakonodatelnoe-sobranie-sankt-peterburga-3-go-sozyva-14519	5	0.05 %
10	https://referat.ru/referat/prostranstvennye-razlichiya-v-effektivnosti-izbiratelnyh-kompaniy-na-vyborah-v-zakonodatelnoe-sobranie-sankt-peterburga-3-go-sozyva-14519	5	0.05 %

из базы данных RefBooks (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	---

из домашней базы данных (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	---

из программы обмена базами данных (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	----------	---

из интернета (0.67 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	https://referat.ru/referat/prostranstvennye-razlichiya-v-effektivnosti-izbiratelnyh-kompaniy-na-vyborah-v-zakonodatelnoe-sobranie-sankt-peterburga-3-go-sozyva-14519	51 (10)	0.48 %
2	https://disser.spbu.ru/files/disser2/1715/aftoreferat/p9FNWv9n7C.pdf	10 (1)	0.09 %
3	http://lib-5.ru/urok3/urok-266143.php	10 (2)	0.09 %

Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	СОДЕРЖАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	------------	---