

© Романов Д. П.^{*}, Хрипунов А. К.^{**}, Баклагина Ю. Г.^{**}, Северин А. В.^{***},
Лукашева Н. В.^{**}, Толмачев Д. А.^{**}, Лаврентьев В. К.^{**}, Ткаченко А. А.^{****},
Архарова Н. А.^{****}, Клечковская В. В.^{*****}

**НАНОТЕКСТУРЫ КОМПОЗИТОВ, ОБРАЗУЮЩИЕСЯ
ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ГИДРОКСИАПАТИТА
И ЦЕЛЛЮЛОЗЫ *GLUCONACETOBACTER XYLINUS***

^{*}Институт химии силикатов им. И. В. Гребенщикова РАН,
Россия, 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 2,
e-mail: dprot@mail.ru

^{**}Институт высокомолекулярных соединений РАН,
Россия, 199004, Санкт-Петербург, Большой пр., 31

^{***}Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Россия, 119991, Москва, Воробьевы горы

^{****}Санкт-Петербургский государственный университет,
Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

^{*****}Институт кристаллографии им. А. В. Шубникова РАН,
Россия, 119333, Москва, Ленинский пр. 59

Получены органо-неорганические композиционные материалы с различной нанотекстурой тремя способами на основе двух наноразмерных и биосовместимых веществ — целлюлозы *Glucosacetobacter xylinus* (ЦГХ) и гидроксиапатита $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ (ГАП). Методами рентгеновской дифракции, электронной микроскопии и компьютерного моделирования исследована структура исходных компонентов и их композитов. При совместном агрегировании водных суспензий ГАП и ЦГХ обнаружено явление их адсорбции, в процессе которой ось c кристаллов ГАП ориентируется параллельно плоскости (-110) микрофибрилл ЦГХ. Изменяя количественное соотношение компонентов и способы введения ГАП в композиты, можно получить широкий спектр материалов для медицинской практики.

Ключевые слова: органо-неорганический биосовместимый композит, нанотекстуры, фосфат кальция, целлюлоза *Glucosacetobacter xylinus*, биомедицинское применение, наночастицы.

Введение. Созданию органо-неорганических композиционных материалов медицинского назначения, сочетающих в себе биосовместимость, биоактивность и механические характеристики (прочность, упругость и другие) уделяется чрезвычайное внимание в последнее время [1—10]. Актуальность таких исследований связана с необходимостью решения проблемы кальциевого дефицита, лечения у населения заболеваний костной ткани и восстановления нарушенных функций отдельных частей организма. Наиболее целесообразно создавать подобные материалы на основе веществ, входящих в состав организма человека или близких к ним по физико-химическим и физиологическим свойствам [1, 2, 10].

В работах зарубежных и отечественных авторов приводится большое количество способов синтеза органо-неорганических композиционных материалов — прекурсоров костной ткани. Для получения такого материала необходим тщательный подбор и всесторонний контроль синтезированных исходных компонентов различного состава. В медицинской практике наибольший интерес представляют гидроксиапатит $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ (ГАП), трикальциевый фосфат $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (ТКФ), а также органо-неорганический композиционный материал на основе первых двух соединений, биоактивность которых зависит от их соотношения [5—9].

Много работ связано с заменой в композиционных материалах коллагена, который является органической составляющей натуральной кости, различными полимерами: полиэтиленом, полиамидом [10], хитином [11], хитозаном [12], желатином [13—15], хлопком [16], шелком [17], а также бактериальной целлюлозой [3—9]. Особый интерес представляют обзоры [18—20], в которых отмечаются широкие возможности применения для практических целей наноцеллюлозных материалов и композитов на их основе. Белорусские исследователи предлагают использовать в качестве альтернативного варианта пористой керамики нанокомпозиционный материал на основе биоактивного ксерогеля гидроксиапатита [21, 22]. В этом случае пленочные композиты, полученные на основе ГАП и полимерных растворов, наносятся на целлюлозные волокна или металлические подложки, создавая на них биопокрывтия для медицинских целей.

Как указывалось выше, в ряде работ изучались композиты, органической компонентой которых являлась бактериальная целлюлоза *Gluconacetobacter xylinus* (ЦГХ). Многолетний опыт наших исследований показал, что гель-пленка данной целлюлозы (штамм N1629 CALU) [23], полученная в процессе статического культивирования, обладает уникальными физико-механическими и сорбционными характеристиками [5—9]. Этот материал способен удерживать большое количество воды (соотношение сухая ЦГХ: вода $\sim 1 : 100$), имеет внутреннюю удельную поверхность не менее $500 \text{ м}^2/\text{г}$ и высокую механическую прочность, равную $\sim 2 \text{ кг/см}^2$.

По сравнению с другими природными полимерами бактериальная целлюлоза обладает набором свойств, которые делают ее чрезвычайно комфортной к раневой поверхности (эластичность, необходимое содержание воды, легкая формованность при сложном рельефе тела и другие), что позволяет использовать ее в качестве основы (скаффолда) в тканевой инженерии. Биосовместимость такого материала была изучена нами и шведскими учеными при его подкожном имплантировании на длительное время крысам с последующим гистологическим контролем [24, 25]. Кроме того, на основе ЦГХ и полиакриламидных гидрогелей получен искусственный хрящ, превосходящий известные зарубежные аналоги по механическим характеристикам и биосовместимости [26].

Особенность надмолекулярной организации ЦГХ, а именно, сеточная структура, образованная наноразмерными лентами, и наличие наноканалов между соседними нанофибриллами в этих лентах дают возможность сорбировать в такую систему не только кластеры серебра и селена [27, 28], но и наночастицы фосфатов кальция, в том числе и гидроксиапатита [3—9]. Рентгеновские и электронографические исследования пленок ЦГХ показали, что в образцах формируется четко выраженная плоскостная текстура [6, 7], а морфологическая особенность фосфатов кальция зависит от способа синтеза, фазового состава и структурных характеристик нанокристаллов.

Известно, что в зависимости от условий синтеза гидроксиапатит образует нанокристаллы пластинчатой, игольчатой или овальной форм [29, 30], а ЦГХ обладает плоскостной текстурой. Можно ожидать, что энергия связи между неорганическими и органическими компонентами будет определяться как различием кристаллографических плоскостей ГАП, взаимодействующих с лентами ЦГХ, так и способом получения композита. Ранее было показано, что в материале, полученном совместным

агрегированием ГАП и ЦГХ, формируется нанокompозит в результате адсорбции пластинчатых наночастиц фосфатов кальция на гидроксилсодержащей поверхности лент ЦГХ [5—9].

Настоящая работа посвящена детальному изучению структурно-морфологических особенностей ГАП, определяющих его взаимодействие с лентами ЦГХ, а также структуры композиционных материалов, сформированных на их основе, для создания прекурсора костной ткани.

Экспериментальная часть. Синтез бактериальной целлюлозы осуществлялся с использованием штамма *Gluconacetobacter xylinus* N 1629 CALU при 29—30 °С в течение 5—12 сут на среде, описанной ранее [4, 5]. Гель-пленку ЦГХ отделяли от культуральной среды, очищали от бактериальных клеток кипячением в 0.5 % растворе NaOH (с многократной сменой раствора) и тщательным промыванием дистиллированной водой. Образцы хранились в воде при 5 °С или герметически закрытыми после стерилизации.

Синтез ГАП $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ осуществляли путем постепенного добавления раствора фосфорной кислоты с концентрацией $\text{H}_3\text{PO}_4 = 7.93$ моль/л в водную суспензию CaO при стехиометрическом соотношении Ca/P = 1.67. Масса навески CaO и количество воды рассчитывали таким образом, чтобы при постоянном интенсивном перемешивании в результате реакции образовывалась 5%-я суспензия целевого продукта. Контроль за синтезом осуществляли по изменению pH раствора; реакция считалась законченной при достижении pH = 6.5—7 [30].

Получение органо-неорганического композита осуществлялось тремя способами: 1) совместным агрегированием суспензий ГАП в процессе диспергирования нано-гель пленок ЦГХ; 2) введением суспензии ГАП в питательную среду при биосинтезе ЦГХ; 3) проведением синтеза ГАП в среде диспергированной ЦГХ.

Для реализации способа 1 исходную нано-гель пленку ЦГХ диспергировали в течение 15 мин при скорости вращения лопастей лабораторного блендера 2000 об./мин, затем вносили в нее суспензию ГАП и перемешивали еще 15 мин. В результате получали композиционную массу с концентрацией 0.5 мас. %, в которой мольное отношение ГАП к 100 глюкозным звеньям целлюлозы варьировалось от 40 : 100 до 300 : 100. Полученную массу сушили на стекле при 140 °С, придавая ей форму пленки, блока или трубки.

Применение способа 2 основано на введении суспензии ГАП в питательную среду, используемую при синтезе биоцеллюлозы. В этом случае синтез нано-гель пленки ЦГХ проводили по ранее описанной методике [23] в условиях статического культивирования на средах, содержащих глюкозу, дрожжевой экстракт с включением этанола или без него. По завершении биосинтеза пленки освобождались от бактериальных клеток ЦГХ, как описано выше, кипячением в 0.5 % водных растворах NaOH с его многократной сменой до отсутствия азота и затем тщательно промывались дистиллированной водой до нейтральной реакции. По данным рентгеновского анализа такая обработка не нарушает химического взаимодействия между ГАП и ЦГХ в органо-неорганическом композите.

Для формирования композита по способу 3 смесь водной суспензии CaO и диспергированной бактериальной целлюлозы предварительно гомогенизировали при интенсивном перемешивании в течении 10 мин. Затем в полученной среде проводился синтез гидроксиапатита по вышеописанному методу.

Структура и морфология исходных компонентов и синтезированных композитов были исследованы рентгеновским методом, а также с помощью сканирующей (CamScan, Япония) и просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения (Jeol JEM-100-B и Jeol JEM 2100, Япония). Для определения удельной поверхности и пористости образцов использовали метод тепловой десорбции азота с обработкой результатов по модели Бранауэра—Эммета—Тейлора (БЭТ) на уста-

новке (Quantachrome NovaWin 7, США) [31]. Рентгеновские исследования проводились на дифрактометрах ДРОН-2 и ДРОН-3М (CuK_α -излучение). Учитывая наличие текстуры у исходных гель-пленок ЦГХ, рентгеновскую съемку композиционных образцов осуществляли на просвет и отражение.

Обсуждение результатов. На электронно-микроскопическом изображении (рис. 1, *а*) видно, что нанокристаллы синтезированного гидроксиапатита имеют вытянутую уплощенную форму, средний размер которых $100 \times 20 \times 2$ нм [30].

С помощью рентгеноструктурного анализа (отметившего в 2012 г. столетний юбилей, и продолжающего оставаться одним из основных методов изучения кристаллических структур) по соотношению интенсивности определенного ряда рефлексов ГАП в композиционных образцах можно оценить наличие преимущественной ориентации этих кристаллов на поверхности целлюлозных микрофибрилл. Этим методом ранее уже исследовали закономерность сорбции минеральных нанокристаллов на микрофибриллярных лентах ЦГХ [3—10].

Дифрактограммы композиционных пленок с соотношением ГАП : ЦГХ = 40 : 100, полученных совместным агрегированием исходных компонентов, приведены на рис. 2. Можно видеть, что дифракционная картина снятая на просвет (рис. 2, *а*) существенно отличается от дифрактограммы на отражение (рис. 2, *б*). Наблюдаемое в области углов $2\theta = 10\text{—}50^\circ$ изменение интенсивности рефлексов -110 , 110 и 004 моноклинной ячейки ЦГХ ($P2_1$, $a = 0.801$, $b = 0.817$, $c = 1.0365$ нм, $\gamma = 83^\circ$) свидетельствует о преимущественной ориентации нанофибриллярных лент параллельно поверхности образца [8, 9]. Кроме того, на этих дифрактограммах (помимо рефлексов



Рис. 1. Электронные микрофотографии синтезированного нанокристалла гидроксиапатита (*а*) и сорбированных на фибриллярной поверхности бактериальной целлюлозы нанокристаллов гидроксиапатита при соотношении ГАП : ЦГХ = 41 : 100 (*б*).

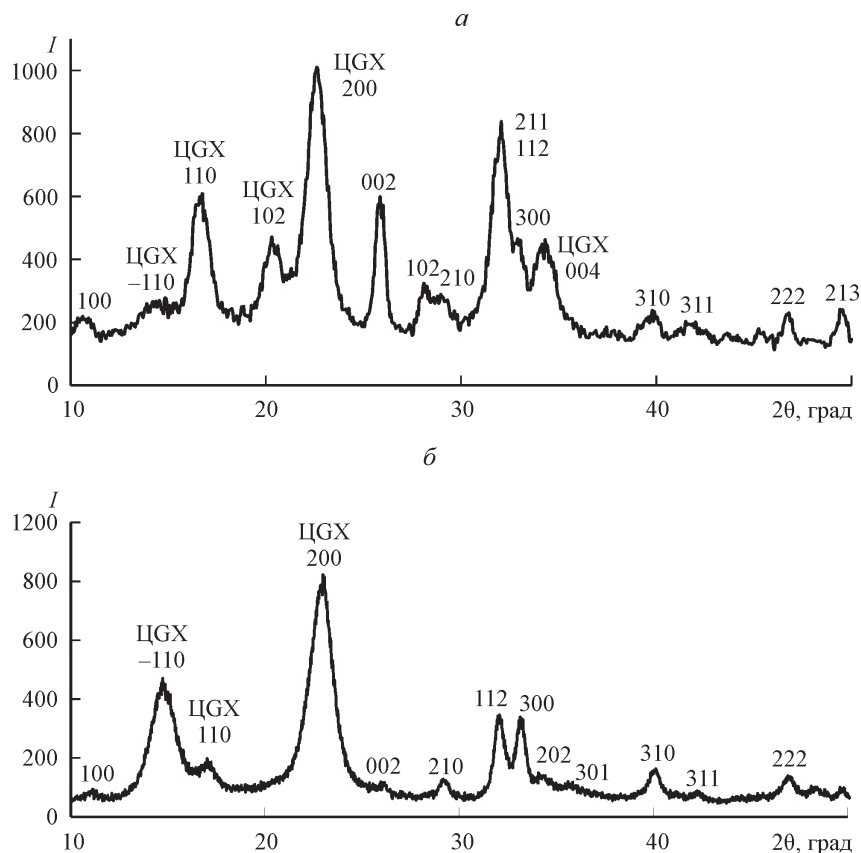


Рис. 2. Дифрактограммы композитов, полученных совместным агрегированием суспензий гидроксиапатита (ГАП) и целлюлозы (ЦГХ), снятые при прохождении (а) и отражении (б) рентгеновского луча относительно поверхности пленки ЦГХ.

целлюлозы) идентифицируются отражения, принадлежащие гексагональному гидроксиапатиту ($P6_3/m$, $a = 0.942$, $c = 0.684$ нм) [32]. Как и в случае ЦГХ, рефлексы минеральной составляющей в области углов отражения $2\theta = 25\text{—}50^\circ$ заметно изменяют свою интенсивность при переходе от одного способа съемки к другому. Видно, что рефлекс ГАП 002 ($2\theta = 26^\circ$), обладающий значительным структурным фактором интенсивности, практически исчезает при съемке на отражение. Аналогичное изменение происходит и с другими рефлексами ГАП: 102 ($2\theta = 28.3^\circ$), 112 ($2\theta = 32.4^\circ$), а также 004 ($2\theta = 53.1^\circ$), который находится за пределом углов отражения, приведенных на этих рисунках. Следует обратить внимание на исчезновение рефлекса целлюлозы 004 ($2\theta = 35^\circ$), характеризующего периодичность полимерной цепи ЦГХ. Такие изменения на дифрактограммах (рис. 2, а, б) могут быть связаны с закономерной ориентацией уплотненных кристаллов гидроксиапатита на плоскостях (-110) микрофибриллярных лент целлюлозы, способствующих преимущественному расположению кристаллов ГАП вдоль оси c .

Для более детального изучения структуры композиционного материала было проведено компьютерное моделирование межфазных областей методом молекулярной механики с использованием структурных моделей целлюлозы и гидроксиапатита [8, 9]. Цель моделирования заключалась в определении вариантов взаимодействий, отвечающих за формирование межфазных областей с наиболее выгодной ориен-

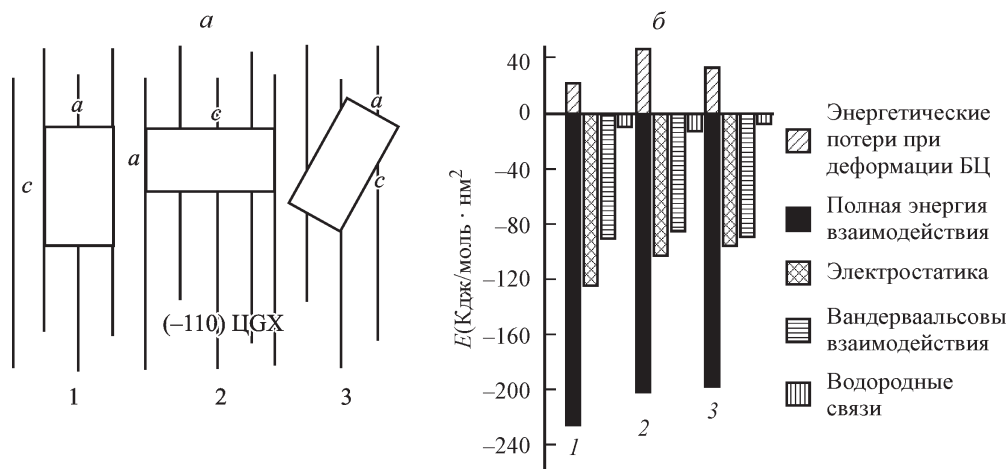


Рис. 3. Схематическое представление рассмотренных ориентаций кристалла ГАП на поверхности микрофибриллярной ленты ЦГХ (а) и гистограмма (б) энергий взаимодействия между кристаллическими поверхностями ГАП и ЦГХ для различных ориентаций (1, 2, 3).

тацией кристаллов ГАП на поверхности микрофибриллярных лент ЦГХ. Исходя из результатов рентгеноструктурного анализа, были рассмотрены взаимодействия между поверхностями, параллельными кристаллографическим граням (100) для гидроксиапатита и (–110) для целлюлозы. Структуры компонентов композита построены на основе кристаллографических данных [33, 34]. Модель ЦГХ представляет собой мономолекулярный поверхностный слой, состоящий из 8 молекул, каждая из которых сформирована восемью мономерами. Используемый для расчета модельный кристалл ГАП имел толщину слоя 0.64 нм и площадь активной поверхности 1.53 нм².

Для описания внутри- и межмолекулярных взаимодействий в структуре ЦГХ был использован набор потенциалов Ambers [35]. Параметры, характеризующие взаимодействие целлюлозной фазы с минеральной [36], рассчитаны на основании методики, предложенной для учета специфики взаимодействий между органическими и неорганическими соединениями [37]. Были рассмотрены три ориентации кристаллов ГАП на поверхности ЦГХ (рис. 3, а).

В процессе формирования наиболее выгодных контактов между ЦГХ и ГАП изначальные ориентации кристаллов сохранялись, так как их угловые изменения не превышали 1–8°. Взаимодействие целлюлозы с ГАП приводило к деформациям ее поверхностного слоя в результате конформационных изменений в молекуле ЦГХ (менялись значения валентных и торсионных углов). В результате моделирования показано, что основной вклад в межфазное взаимодействие вносит электростатика (50–56 %) (рис. 3, б). Вклад вандер-ваальсовых взаимодействий составляет 40–46 %, а оставшиеся 2–7 % приходятся на водородные связи. Оказалось, что наиболее выгодной является ориентация ГАП, при которой ось *c* кристалла направлена вдоль молекулярных цепей ЦГХ (рис. 3, а, 1). Такая ориентация (1), по сравнению с другими вариантами (2, 3), приводит к наиболее сильному связыванию двух фаз при наименьших деформациях поверхностного слоя ЦГХ.

Второй способ получения композита ГАП–ЦГХ связан с введением водной суспензии ГАП в питательную среду, используемую в процессе биосинтеза ЦГХ. Показано, что гидроксиапатит не удаляется из композита в процессе отмыwania образцов от бактериальных клеток при кипячении в растворе щелочи. Рентгенографически подтвержден факт формирования на поверхности целлюлозных микрофибрилл час-

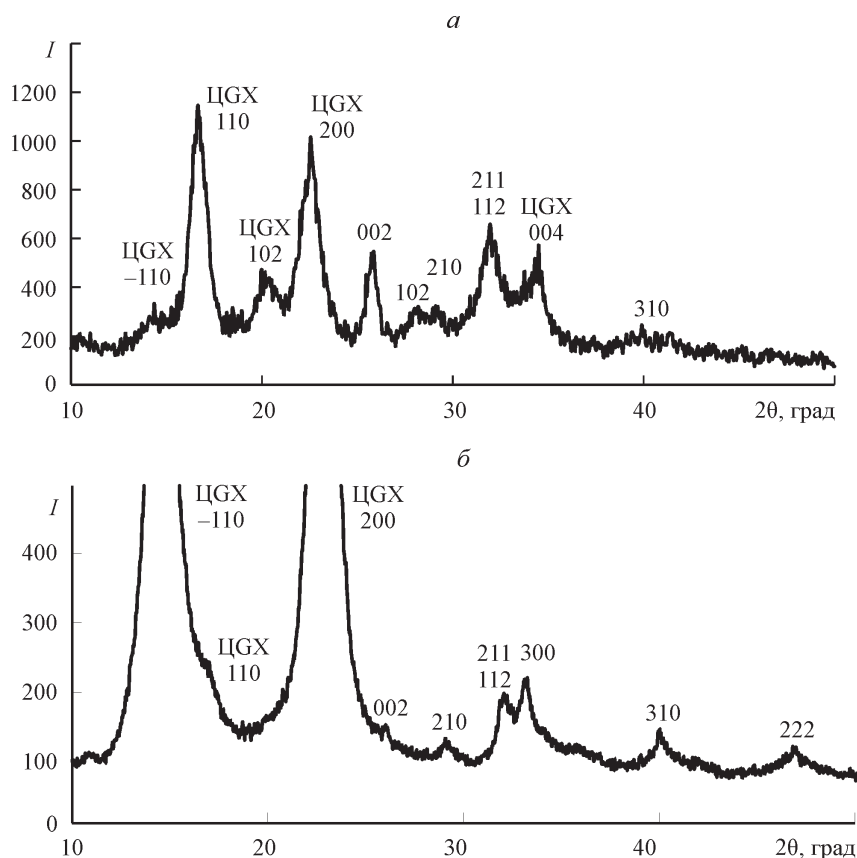


Рис. 4. Дифрактограммы композитов, полученные при введении суспензии ГАП в питательную среду биосинтеза целлюлозы и снятых при прохождении (а) и отражении (б) рентгеновского пучка относительно поверхности пленки.

тично текстурированной гидроксиапатитной составляющей. Анализируя дифракционные картины (рис. 4, а, б) можно отметить, что в процессе такого биосинтеза формируется традиционнотекстурированная гель пленка ЦГХ. Четко проявляется рефлекс целлюлозы 110 в области $2\theta = 17^\circ$ при съемке на прохождение (рис. 4, а), который практически исчезает, как и рефлексы 102 и 004 на дифрактограмме, полученной на отражение (рис. 4, б). Следует также отметить, что рефлексы, характеризующие минеральную составляющую композита, в этом случае имеют слабую интенсивность по сравнению с рефлексами целлюлозы. Кроме того, наблюдается заметное перераспределение интенсивностей рефлексов ГАП, что, по-видимому, связано с частичным текстурированием минеральной составляющей биокомпозита.

При синтезе гидроксиапатита в среде диспергированной ЦГХ (способ 3) на дифрактограмме (рис. 5, а) не выявлялось преимущественной ориентации большого количества нанокристаллов ГАП на лентах целлюлозы. Можно видеть, что соотношения интенсивностей рефлексов гидроксиапатита на дифрактограмме композита ГАП : ЦГХ = 800 : 100 (рис. 5, а) и индивидуально синтезированного образца ГАП (рис. 5, б) практически идентичны. В отличие от композита, получаемого при совместном диспергировании ЦГХ и ГАП, в рассматриваемом случае перераспределение интенсивности рефлексов минеральной составляющей (002, 112 и 004) на дифрактограммах, полученных на отражение, не проявлялось. Это может быть связано с малым

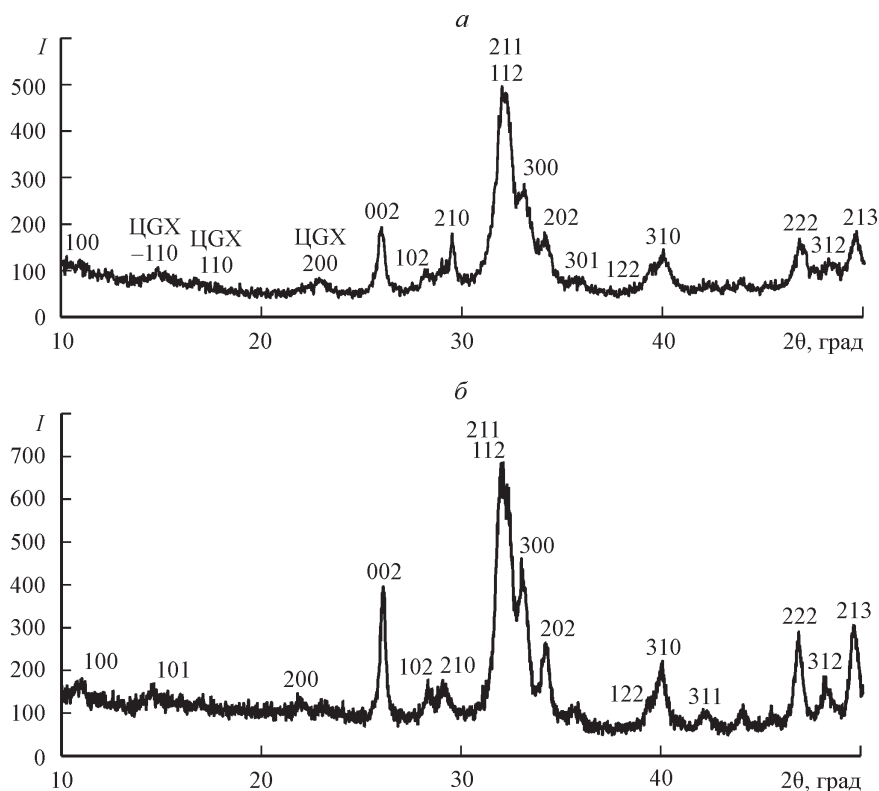


Рис. 5. Дифрактограммы, снятые на отражение: *а* — композита, полученного в процессе синтеза гидроксиапатита в среде диспергированной целлюлозы с мольным соотношением компонентов ГАП : ЦГХ = 800 : 100; *б* — гидроксиапатита, синтезированного таким же методом в отсутствие ЦГХ.

количеством органической составляющей, участвующей в формировании композита, что приводит к ограничению сорбирования наночастиц ГАП на целлюлозных лентах. В то же время осажденные на лентах ЦГХ нанокристаллы ГАП являются, как и в способе 1, центрами их дальнейшей агрегации. Результат такого процесса приведен на электронно-микроскопическом снимке (рис. 6). В случае изменения мольного соотношения органо-неорганических компонентов (как и в способе 1) ГАП : ЦГХ = 41 : 100, на целлюлозных лентах наблюдается четкая ориентация удлиненных кристаллов гидроксиапатита размером порядка 100×20 нм (рис. 1, б).

Все три предложенных способа получения органо-неорганических композиционных материалов представляют практический интерес. На данном этапе исследования, целью которого был выбор оптимальных условий для создания прекурсора костной ткани, наиболее предпочтительным следует считать способ совместного агрегирования суспензий гидроксиапатита и бактериальной целлюлозы.

По данным порометрии (БЭТ) удельная поверхность композиционного образца, полученного способом 1 составила $50.5 \text{ м}^2/\text{г}$, а удельный объем пор — $0.24 \text{ см}^3/\text{г}$. В случае композита, полученного способом 3, изменилась как удельная поверхность ($70.1 \text{ м}^2/\text{г}$) образца, так и удельный объем пор ($0.37 \text{ см}^3/\text{г}$). Судя по результатам, сорбированные на структурных элементах ЦГХ наночастицы ГАП в дальнейшем являются центрами их агрегации и роста кристаллов, что приводит к образованию более разреженной текстуры целлюлозных волокон с большей удельной поверхностью.

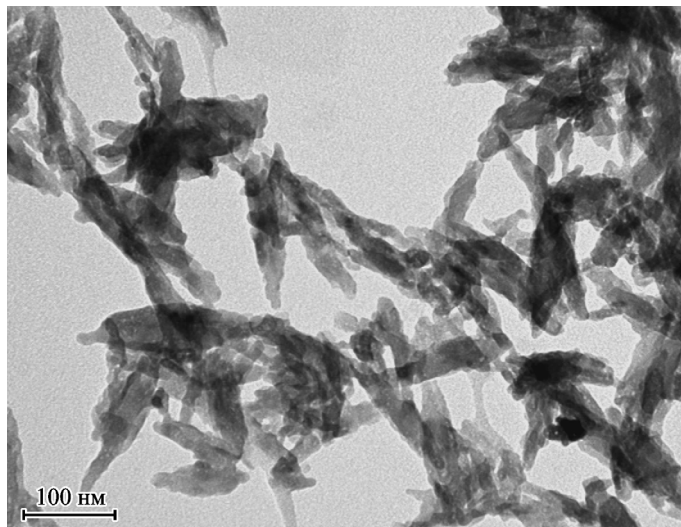


Рис. 6. Электронная микрофотография нанокompозита, полученного синтезом гидроксиапатита в среде диспергированной целлюлозы при соотношении компонентов ГАП : ЦГХ = 800 : 100.

Таким образом, используя различные способы формирования органо-минерального композита на основе нанотекстурированной бактериальной целлюлозы, при этом сохраняющей свои исходные структурные характеристики, можно расширить применение таких материалов в медицинской практике.

Заключение. Изучены структурно-морфологические характеристики органо-неорганических композитов на основе бактериальной целлюлозы ЦГХ и гидроксиапатита (ГАП), полученных тремя способами: 1) совместным агрегированием суспензий ГАП и ЦГХ; 2) введением суспензии ГАП в питательную среду биосинтеза целлюлозы; 3) проведением синтеза ГАП в среде диспергированной целлюлозы.

В композитах, полученных по способу 1, обнаружено явление закономерной адсорбции наночастиц гидроксиапатита на фибриллярные ленты целлюлозы, при этом удлиненные по оси c кристаллы ГАП ориентированы параллельно плоскости (-110) целлюлозных лент. Компьютерное моделирование органо-неорганических областей методом молекулярной механики также показало энергетическое преимущество такого взаимодействия компонентов.

В композитах, получаемых в процессе биосинтеза целлюлозы при введении в питательную среду водной суспензии гидроксиапатита (способ 2), происходит одновременное формирование микрофибриллярных лент ЦГХ и частичное текстурирование кристаллов ГАП на их поверхности.

В процессе синтеза гидроксиапатита в среде диспергированной целлюлозы (способ 3) ориентация нанокристаллов ГАП на фибриллярных лентах ЦГХ определяется количественным соотношением органической и неорганической составляющих в композите.

Использование различных методов формирования органо-неорганического композита на основе нанотекстурированной бактериальной целлюлозы с изменением количества и способов введения гидроксиапатита дает возможность получить широкий спектр материалов для биомедицинского применения.

Список литературы

1. Puppi D., Chiellini F., Piras A. M., Chiellini E. Polymeric Materials for Bone and Cartilage Repair // Progress in Polymer Science. 2010. V. 35. P. 403—440.
2. Баринов С. М. Керамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция для медицины // Усп. химии. 2010. Т. 79. № 1. С. 15—31.
3. Wan Y. Z., Hong L., Jia S. R., Huang Y., Zhu Y., Wang Y. L., Jiang H. J. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite-Bacterial Cellulose Nanocomposites // Comp. Sci. Technol. 2006. V. 66. P. 1825—1832.
4. Хрипунов А. К., Баклагина Ю. Г., Синяев В. А., Шустикова Е. С., Парамонов Б. А., Романов Д. П., Смыслов Р. Ю., Ткаченко А. А. Исследование нанокompозитов на основе гидратированных фосфатов кальция и целлюлозы Acetobacter Xylinum // Физ. и хим. стекла. 2008. Т. 34. № 2. С. 248—258.
5. Khripunov A. K., Baklagina Yu. G., Sinjaev V. A., Shustikova E. S., Paramonov B. A., Romanov D. P., Smyslov R. Yu., Tkachenko A. A. Investigation of Nanocomposites Based on Hydrated Calcium Phosphates and Cellulose Acetobacter Xylinum // Glass Phys. Chem. 2008. V. 32. N 4. P. 192—200.
6. Романов Д. П., Баклагина Ю. Г., Губанова Г. Н., Уголков В. Л., Лаврентьев В. К., Ткаченко А. А., Синяев В. А., Суханова Т. Е., Хрипунов А. К. Формирование органо-неорганических композитных материалов медицинского назначения на основе целлюлозы Acetobacter xylinum и фосфатов кальция // Физ. и хим. стекла. 2010. Т. 36. № 4. С. 604—615.
7. Romanov D. P., Baklagina Yu. G., Gubanov G. N., Ugolkov V. L., Lavrentyev V. K., Tkachenko A. A., Sinjaev V. A., Sukhanova T. E., Khripunov A. K. Formation of Organic-Inorganic Composite Materials Based on Cellulose Acetobacter Xylinum and Calcium Phosphates for Medical Applications // Glass Phys. Chem. 2010. V. 36. N 4. P. 484—491.
8. Баклагина Ю. Г., Лукашева Н. В., Хрипунов А. К., Клеchkovskaja В. В., Архарова Н. А., Романов Д. П., Толмачев Д. А. Взаимодействие между наноразмерными кристаллическими компонентами композита на основе целлюлозы Acetobacter xylinum и фосфатов кальция // Высокомогл. соедин. Серия А. 2010. Т. 52. № 3. С. 1—13.
9. Baklagina Yu. G., Lukasheva N. V., Khripunov A. K., Klechkovskaja V. V., Archarova N. A., Romanov D. P., Tolmachev D. A. Interactions Between Nanosized Crystalline Components of a Composite Based on Acetobacter Xylinum Cellulose and Calcium Phosphates // Polymer Science. Ser. A. 2010. V. 52. N 4. P. 615—627.
10. Баринов С. М., Комлев В. С. Биокерамика на основе фосфатов кальция. М.: Наука, 2005. 201 с.
11. Wan A. A., Khor E., Hastings G. W. Hydroxyapatite Modified Chitin as Potential Hard Tissue Substitute Material // J. Biomed. Mater. Res. 1997. V. 38. P. 235—241.
12. Hu Q., Li B., Wang M., Shen J. Preparation of Bioactive Chitosan-Hydroxyapatite Nanocomposite Rods Via in Situ Hybritisation: a Potential Material As Internal Fixation of Bone Fracture // Biomater. 2004. V. 25. P. 779—785.
13. Chang M. C., Ko C. C., Douglas W. H. Preparation of Hydroxyapatite-Gelatine Nanocomposites // Biomater. 2003. V. 24. P. 2853—2862.
14. Rosseeva E. V., Buder J., Simon P., Schwarz U., Frank-Kamenetskaya O. V., Kniep R. Synthesis, Characterization and Morphogenesis of Carbonated Fluorapatite-Gelatine Nanocomposites: A Complex Biomimetic Approach Toward the Mineralization of Hard Tissues // Chem. Mater. 2008. V. 20. N 19. P. 6003—6013.
15. Россеева Е. В., Зимон П., Шварц У., Будар Я., Франк-Каменецкая О. В., Книп Р. Аналоги биологических твердых тканей. 1. Синтез и характеристика композитов. Изоморфные замещения в структуре карбонат содержащего апатита — (CaF) // Зап. РМО. 2009. Ч. CXXXVIII (88). № 4. С. 53—71.
16. Micalo M. R., Yokogawa Y., Toriyama M., Suzuki T., Kawamoto Y., Nagata F. et al. Growth of Calcium Phosphate on Surface-Modified Cotton // J. Mater. Sci. Mater. Med. 1995. V. 6. P. 597—605.
17. Wang L., Nemoto R., Senna M. Effects of Alkali Pretreatment of Silk Fibroin on Microstructure and Properties of Hydroxyapatite-Silk Fibroin Nanocomposite // J. Mater. Sci. Mater. Med. 2004. V. 5. P. 261—265.
18. Moon R. J., Martini A., Nairn J., Simonsen J., Youngblood J. Cellulose Nanomaterials Review: Structure, Properties and Nanocomposites // Chem. Soc. Rev. 2011. V. 40. N 7. P. 3941—3994.
19. Klemm D., Kramer F., Moritz S., Lindstrom T., Ankerfors M., Gray D., Dorris A. Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials // Angew. Chem. Int. Ed. 2011. V. 50. N 24. P. 5438—5466.
20. Torres F. G., Commeaux S., Troncoso O. P. Biocompatibility of Bacterial Cellulose Based Biomaterials // J. Functional Biomaterials. 2012. V. 3. N 4. P. 867—878.
21. Мусская О. Н., Кулак А. И., Крутько В. К., Лесникович Л. А., Уласевич С. А. Нанокompозитные биоматериалы на основе ксерогеля гидроксиапатита // Физ. и хим. стекла. 2011. Т. 37. № 5. С. 702—713.
22. Muskaja O. N., Kulak A. I., Krut'ko V. K., Lesnikovich L. A., Ulasevich S. A. Nanocomposite Biomaterials Based on Hydroapatites Xerogel // Glass Phys. Chem. 2011. V. 37. N 5. P. 525—532.
23. Хрипунов А. К., Ткаченко А. А. Состав питательной среды культивирования Acetobacter Xylinum для получения бактериальной целлюлозы. Пат. 2141530. Россия 1999; пат. 2189394. Россия, 2002.
24. Хрипунов А. К., Синяев В. А., Баклагина Ю. Г., Смыслов Р. Ю., Ткаченко А. А., Парамонов Б. А., Сазанов Ю. Н., Шустикова Е. С. Композиты на основе целлюлозы и аморфных фосфатов кальция — перспективные материалы для медицины // Тез. докл. Всерос. сов. «Биокерамика в медицине». Москва, 21—22 ноября, 2006. М., 2006. С. 55—56.
25. Helenius G., Bäckdahl H., Bodin A., Nannmark U., Gatenholm P., Risberg B. In Vivo Biocompatibility of Bacterial Cellulose // J. Biomed. Mater. Res. 2006. V. 76 A. N 2. P. 431—438.

26. Буянов А. Л., Хрипунов А. К., Гофман И. В., Ревельская Л. Г., Ткаченко А. А., Парамонов Б. А. Искусственный хрящ на основе целлюлозы *Acetobacter Xylinum* и синтетических полимеров: функциональные свойства и перспективы применения // Тез. докл. I Межд. конф. «Современные полимерные материалы в медицине и медицинской технике». СПб., 2005. С. 92—96.
27. Баклагина Ю. Г., Хрипунов А. К., Ткаченко А. А., Копейкин В. В., Матвеева Н. А., Лаврентьев В. К., Нилова В. К., Суханова Т. Е., Смыслов Р. Ю., Занавескина И. С., Клечковская В. В., Фейгин Л. А. Сорбционные свойства гель-пленок бактериальной целлюлозы // ЖПХ. 2005. Т. 78. № 7. С. 1197—1202.
28. Баклагина Ю. Г., Хрипунов А. К., Ткаченко А. А., Суворова Е. И., Клечковская В. В., Боровикова Л. Н., Смыслов Р. Ю., Нилова В. К., Назаркина Я. И., Лаврентьев В. К., Валueva С. В., Кунпер А. И., Копейкин В. В. Взаимодействие наночастиц Se^0 , стабилизированных поливинилпироллидоном, с гель-пленками целлюлозы *Acetobacter xylinum* // Кристаллография. 2006. Т. 51. № 4. С. 659—666.
29. Мелихов И. В., Комаров В. Ф., Божьевольнов В. Е., Северин А. В. Двумерно-кристаллический гидроксипатит // ДАН. 2000. Т. 373. № 3. С. 355—358.
30. Суворова Е. И., Клечковская В. В., Комаров В. Ф., Северин А. В., Мелихов И. В., Буфа Ф. Ф. Электронная микроскопия биоматериалов на основе гидроксипатита // Кристаллография. 2006. Т. 51. № 5. С. 939—946.
31. Грег С., Синк К. Адсорбция, удельная поверхность, пористость. М.: Мир, 1984. 310 с.
32. Банк порошковых дифракционных данных PDF-2, 2002, 9-432, 18-303, 74-566.
33. Gardner K. H., Blackwell J. The Structure of Native Cellulose // Biopolymers. 1974. V. 13. P. 1975—2001.
34. Elliot J. C., Mackie P. E., Young R. A. Monoclinic Hydroxyapatite // Science (Washington, D. C.). 1973. V. 180. N 4090. P. 1055—1057.
35. Homans S. W. A Molecular Mechanical Force Field for the Conformational Analysis of Oligosaccharides: Comparison of Theoretical and Crystal Structures of $Man\alpha 1-3Man\beta 1-4GlcNAc$ // Biochemistry. 1990. V. 29. P. 9110—9118.
36. Bhowmik R., Katti K. S., Katti D. R. Molecular Modeling of Polyacrylic Acid-Hydroxyapatite Interface // Polymer. 2007. V. 48. P. 664—674.
37. Freeman C. L., Harding J. H., Cooke D. J., Elliott J. A., Lardge J. S., Duffy D. M. New Forcefields for Modeling Biomineralization Processes // J. Physical Chemistry. 2007. V. 111. (32). P. 11943—11950.