



BIOPOLIMERLAR XUSUSAN KOLLAGEN-XITIZAN MATRITSASIDA GIDROKSIAPATIT NANOZARRACHALARINI SINTEZI, OLISH USULLARI

Sayfullayeva Mardona Said qizi

*Nizomiy nomidagi O'MPU, Aniq va tabiiy fanlarni o'qitish
metodikasi (kimyo) yo'nalishi magistranti*

Annotatsiya: Ushbu maqolada kollagen-xitizan biopolimer matritsasında gidroksiapatit (GAp) nanozarrachalarini sintez qilish usullari va ularning to'qima muhandisligi hamda regenerativ tibbiyotdagi ahamiyati ko'rib chiqilgan. Gidroksiapatitni olishning kimyoviy cho'ktirish, zol-gel, gidrotermal va biomimetik usullari tahlil qilinib, ularning material xossalariga ta'siri yoritilgan. Kollagen-xitizan matritsasında in situ minerallanish jarayonining afzalliklari, organik va noorganik fazalar o'rtasidagi o'zaro ta'sirlar hamda hosil bo'lgan kompozitlarning biofaolligi, osteokonduktivligi va biodegradatsiya xususiyatlari bayon etilgan.

Kalit so'zlar: gidroksiapatit, kollagen, xitizan, biopolimer kompozitlar, in situ minerallanish, to'qima muhandisligi, regenerativ tibbiyot.

1. Kirish

To'qima muhandisligi va regenerativ tibbiyot bu tez rivojlanayotgan ilmiy sohalardir va ular almashtirish materiallarini ishlab chiqishga imkon yaratadi. Materialshunoslikda, GAp va kollagen suyak regeneratsiyasini yaxshilashda muhim omillar sifatida tanilgan. GAp keramika va kollagen o'z ichiga olgan kompozitlar o'ziga xos xususiyatlarga ega, jumladan biodegradatsiya va mexanik kuchga ega bo'lishi kerak. Bunday kompozitlar biodegradatsiya qiluvchi, zaharli bo'lmagan, immunogen bo'lmagan bo'lib, almashtiradigan to'qimalar bilan bir xil mexanik kuchni ko'rsatishi lozim [1]. Bu ikkita materialning birgalikda ishlatilishi osteokonduktiv effektini kuchaytiradi. Eng yaxshi natijalarga kollagen-GAp komp Biopolimer tizimlarda gidroksiapatit (GAp) sintezi uchun turli kimyoviy va biomimetik yondashuvlar qo'llaniladi. Har bir usul olinadigan materialning kristallik darajasi, zarracha o'lchami, morfologiyasi, dispersligi va biokompozitdagi taqsimlanishiga bevosita ta'sir ko'rsatadi.

2. Tajriba ishlari

GAp sintezida eng ko'p qo'llaniladigan usullardan biri **suyuq fazali yoki "nam" usullar** bo'lib, ular suvli muhitda kalsiy va fosfat manbalari o'rtasidagi reaksiyalarga asoslanadi [2]. Bu guruhga **kimyoviy cho'ktirish usuli** kiradi; u kalsiy va fosfor tuzlarining nazorat qilinadigan pH, odatda ishqoriy muhitda o'zaro reaksiyasi orqali GAp hosil qilishga asoslangan eng keng tarqalgan usullardan biridir. **Gidrotermal usul** avtoklav sharoitida yuqori harorat va bosimda olib boriladi hamda kristallik darajasi

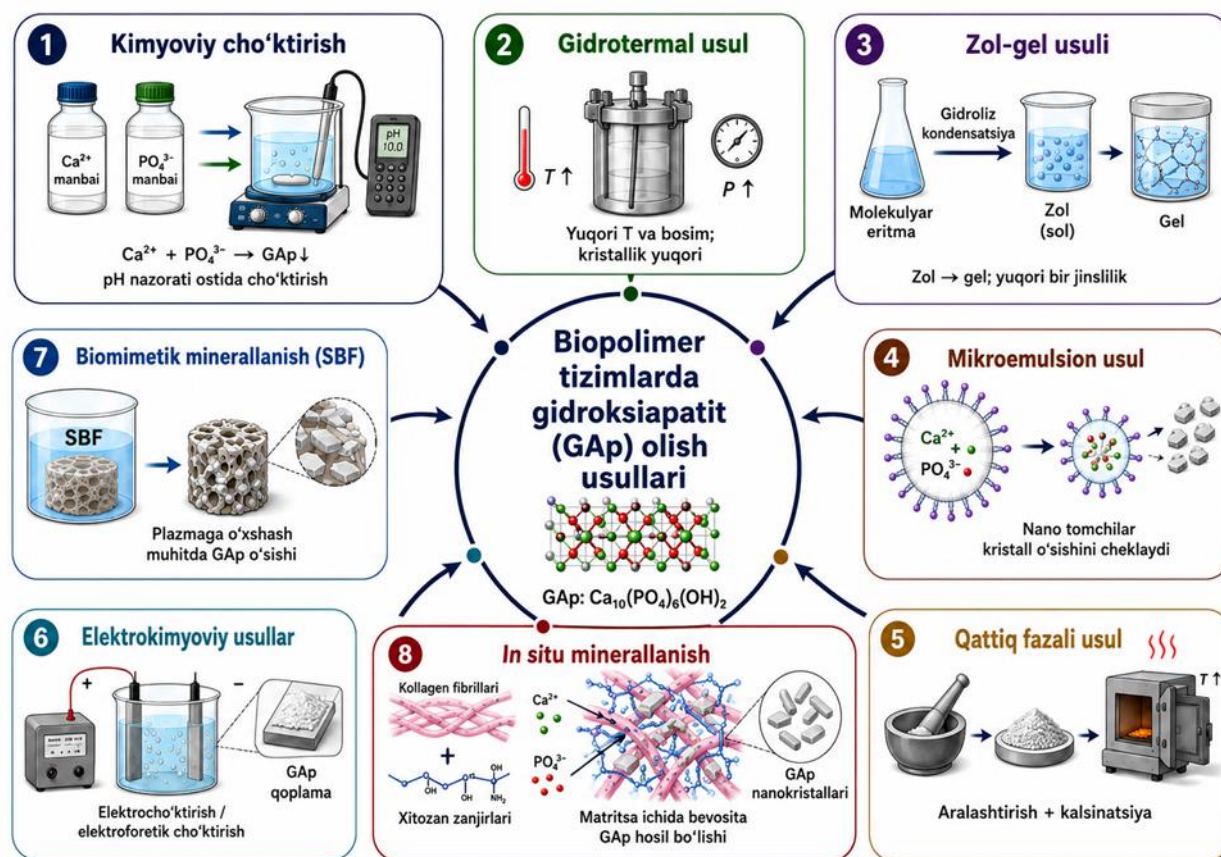


yuqori, morfologiyasi nazorat qilinadigan GAp nanozarrachalarini olish imkonini beradi. **Zol-gel usuli** kolloid sistema - zol hosil bo'lishi va uning keyinchalik gel holatiga o'tishiga asoslanib, molekulyar darajada bir jinsli va yuqori tozalikdagi material olishga yordam beradi. **Mikroemulsion usul** esa teskari mitsellalar yoki nanoo'lchamli tomchilar ichida kristall o'sishini chegaralash orqali mayda dispers GAp zarrachalarini hosil qilishga imkon beradi [3].

Gidroksiapatit olishda **qattiq fazali yoki "quruq" usullar** ham qo'llaniladi. Bu yondashuvlarda boshlang'ich prekursorlar yoki tabiiy xomashyolar, masalan, suyak, baliq tangachasi yoki tuxum po'chog'i kabi kalsiyga boy manbalar yuqori haroratda, ba'zan 1000 °C gacha qizdirish yoki kalsinatsiya qilish orqali qayta ishlanadi. Bunday usullar nisbatan oddiy bo'lsa-da, ular yuqori harorat talab qiladi va ba'zan zarracha o'lchami hamda faza tarkibini nozik nazorat qilishni qiyinlashtiradi [4]. **Elektrokimyoviy usullar**, jumladan elektrocho'ktirish va elektroforetik cho'ktirish, GAp ni polimer qoplamalar yoki metall implantlar yuzasida xona haroratiga yaqin sharoitda hosil qilish uchun ishlatiladi. **Biomimetik minerallanish usuli** esa polimer karkaslarni qon plazmasi tarkibiga yaqin bo'lgan sun'iy biologik suyuqlik - SBF eritmasiga botirish orqali amalga oshiriladi; bunda GAp kristallari polimerlarning funksional guruhlarini yuzasida nukleatsiyalanib o'sadi.

Kollagen-xitozan matritsada **in situ minerallanish usuli** GAp ni polimer matritsa hosil bo'lish jarayonida yoki mavjud biopolimer tarmoq ichida bevosita sintez qilishga asoslanadi. Ushbu yondashuv oddiy mexanik aralashtirish, ya'ni ex situ usulga nisbatan bir qator afzalliklarga ega. Avvalo, in situ minerallanish GAp nanozarrachalarining organik matritsa ichida bir tekis taqsimlanishini ta'minlaydi va ularning agregatsiyalanishini kamaytiradi. Bu holat ayniqsa kollagen va xitozan kabi funksional guruhlariga boy biopolimerlar ishtirokida muhim bo'lib, mineral fazaning polimer zanjirlari bilan bevosita bog'lanishiga sharoit yaratadi.

In situ minerallanish vaqtida kollagenning -COOH , C=O va amid guruhlarini, xitozanning -NH_2 va -OH guruhlarini hamda GAp tarkibidagi Ca^{2+} , PO_4^{3-} va OH^- markazlari o'rtasida vodorod bog'lari, elektrostatik tortishishlar va koordinatsion "kalsiy ko'priklari" hosil bo'ladi. Ushbu o'zaro ta'sirlar organik va noorganik fazalarni mustahkam bog'lab, kompozitning strukturaviy yaxlitligini oshiradi. Polimer matritsa GAp kristallarining haddan tashqari yiriklashishini cheklaydi, ularni nanoo'lchamda saqlaydi va ayrim hollarda kristallarning c-o'qi kollagen fibrillalari bo'ylab yo'nalishiga yordam beradi [5].



Gidroksiapatitning sintez usullari

Kollagen va xitozan gidroksiapatit (GAP) hosil bo'lishida biomimetik matritsalar sifatida qaraladi, chunki ular suyak to'qimasining tabiiy hujayralararo matritsasi tarkibi va strukturaviy tashkil topishiga yaqin sharoit yaratadi. Bu biopolimerlar mineral fazaning hosil bo'lishi uchun faqat passiv asos emas, balki nukleatsiya, kristall o'sishi va fazoviy yo'nalishni boshqaruvchi faol muhit vazifasini bajaradi [6].

I-tip kollagen suyakning asosiy organik komponenti bo'lib, organik matritsaning taxminan 90% qismini tashkil etadi. Uning o'z-o'zidan fibrillalarga yig'ilish xususiyati mineral faza cho'kishi uchun tabiiy karkas hosil qiladi. Xitozan esa kationli polisaxarid bo'lib, kimyoviy tuzilishi va biologik funksiyalari jihatidan hujayralararo matritsaning muhim komponentlari hisoblangan glikozaminoglikanlarga o'xshashdir. Shu sababli kollagen-xitozan matritsasi hujayralar adgeziyasi, proliferatsiyasi va osteogen differensiallanishi uchun qulay mikro muhit hosil qiladi.

3. Natija

Kollagen va xitozan gidroksiapatit kristallanishini, avvalo, funksional guruhlar orqali boshqaradi. Xitozan tarkibidagi protonlangan amin guruhlar $-\text{NH}_3^+$ manfiy zaryadlangan fosfat ionlari PO_4^{3-} bilan elektrostatik ta'sirlashib, kristall yadrolari hosil bo'lishi uchun faol markazlar yaratadi. Kollagen tarkibidagi karboksilat $-\text{COO}^-$ va karbonil $\text{C}=\text{O}$ guruhlar esa Ca^{2+} ionlarini koordinatsiyalab, minerallanishning boshlanishiga yordam beradi. Bu jarayon organik matritsa va noorganik mineral faza orasida mustahkam bog'lanishlar hosil bo'lishini ta'minlaydi.



Kollagen–xitozan matritsasi GAP kristallarining fazoviy yo‘nalishini ham nazorat qiladi. Hidroksiapatit nanokristallari odatda ignasimon yoki plastinkasimon shaklda bo‘lib, ularning kristallografik c-o‘qi kollagen fibrillalarining uzun o‘qiga parallel joylashadi. Bunday yo‘nalgan o‘shish tabiiy suyakning iyerarxik organik-mineral tuzilishini takrorlashga imkon beradi.

Biopolimer kompozitlar, jumladan kollagen, xitozan va boshqa tabiiy polimerlar asosidagi tizimlarda hidroksiapatit (GAP) sintez usulini tanlash yakuniy materialning morfologiyasi, kristallik darajasi, zarracha o‘lchami, fazaviy tozaligi va funksional xossalariga bevosita ta’sir ko‘rsatadi. Amaliyotda socho‘ktirish, zol-gel, gidrotermal va ultratovushli sintez usullari eng ko‘p qo‘llaniladigan yondashuvlar qatoriga kiradi.

Zol-gel sintezi kolloid sistema - zol hosil bo‘lishi va uning keyinchalik gel holatiga o‘tishiga asoslangan usuldir. Ushbu yondashuv “yumshoq kimyo” usuli sifatida qaraladi, chunki jarayon an’anaviy yuqori haroratli usullarga nisbatan pastroq haroratlarda olib boriladi. Bu holat biopolimerlarning tuzilishini saqlash uchun muhimdir. Zol-gel usuli molekulyar darajada yuqori bir jinslilikni ta’minlaydi, toza va g‘ovak tuzilishga ega GAP hosil qilish imkonini beradi. Biroq uning kamchiliklari ham mavjud: ishlatiladigan prekursorlar, ayniqsa alkoksidlar, ko‘pincha qimmat bo‘ladi; gelning qarishi, qurishi va keyingi ishlov bosqichlari uzoq vaqt talab qiladi. Harorat, pH yoki gidroliz-kondensatsiya sharoitlari buzilganda CaO , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ yoki boshqa ikkilamchi fazalar hosil bo‘lish xavfi ortadi [7].

Gidrotermal sintez yuqori harorat va bosim sharoitida, odatda avtoklavlarda amalga oshiriladi. Bu usulning asosiy afzalligi yuqori kristallik darajasiga ega, aniq morfologiyali GAP olish imkoniyatidir. Gidrotermal sharoitda ignasimon, tayoqchasimon yoki boshqa nazorat qilinadigan shakldagi nano- va mikrokristallar hosil bo‘lishi mumkin. Shuningdek, kristallarning o‘lchami, g‘ovakligi va fazaviy tarkibini boshqarish imkoniyati yuqori bo‘ladi. Kamchiligi esa maxsus bosimga chidamli reaktorlar - avtoklavlar talab qilinishidir. Bundan tashqari, yuqori haroratlarda ayrim termosezgir biopolimerlar, masalan kollagen yoki ayrim modifikatsiyalangan xitozan tizimlari bilan in situ sintezda mos kelmasligi mumkin.

Ultratovushli yoki sonokimyoviy sintez ultratovush nurlanishi ta’sirida kimyoviy reaksiyalarni faollashtirish va zarracha o‘lchamini boshqarishga asoslanadi. Bu usul nanoo‘lchamli GAP kristallarini tor o‘lcham taqsimoti bilan olish imkonini beradi. Ultratovush dispersiyalash zarrachalar agregatsiyasini kamaytiradi va ularning xitozan kabi qovushqoq biopolimer eritmalarida bir tekis taqsimlanishiga yordam beradi. Bundan tashqari, ultratovush ta’siri GAP kristallik darajasini boshqarish va ayrim hollarda fazaviy tozaligi yuqori mahsulot olish imkonini beradi. Uning asosiy kamchiligi katta hajmdagi tizimlarni qayta ishlashda yuqori quvvatli ultratovushli dispersatorlar talab qilinishi va energiya sarfining ortishidir.

4. Muhokama





Kollagen–xitozan–gidroksiapatit gibrid kompozitlarining yuqori biologik faolligi ularning morfologik, mexanik va kimyoviy xossalari uyg'unligi bilan belgilanadi. Ushbu tizim tabiiy suyak to'qimasining organik-mineral tarkibini taqlid qiladi: I-tip kollagen va gidroksiapatit (GAp) suyakning asosiy komponentlariga mos keladi, xitozan esa hujayralararo matritsa tarkibidagi glikozaminoglikanlarga o'xshash polisaxarid sifatida ishtirok etadi. Shu sababli bunday material hujayralar tomonidan biologik jihatdan mos muhit sifatida qabul qilinadi.

Bunday kompozitlarning muhim xususiyatlaridan biri ularning iyerarxik tuzilishga ega bo'lishidir. GAp nanokristallari kollagen fibrillalari bo'ylab yo'nalgan holda joylashishi mumkin, bu esa tabiiy suyak nanostrukturasiga yaqin organik-noorganik arxitektura hosil qiladi. Bunday tartiblangan tuzilish hujayralarga mexanik signallar uzatilishi, osteoblastlar adgeziyasi va mineral matritsa shakllanishi uchun qulay sharoit yaratadi.

Kollagen–xitozan–GAp kompozitlarining g'ovak arxitekturasi ham ularning biologik samaradorligini oshiradi. Yuqori porozlik, odatda 90–98% gacha bo'lishi, hamda 20–350 mkm oralig'idagi g'ovaklar hujayralarning material ichiga kirib borishi, qon tomirlarining o'sishi, oziqa moddalari, kislorod va metabolitlar almashinuvi uchun zarur muhitni ta'minlaydi. G'ovaklarning o'zaro tutashgan tuzilishi scaffold ichida biologik suyuqliklar harakatini yengillashtiradi [8].

Kompozit tarkibidagi –OH, –NH₂ va –COOH kabi gidrofil funksional guruhlar materialning suv yutish va bo'kish qobiliyatini oshiradi. Ayrim scaffoldlar quruq massasiga nisbatan 50–60 baravar ko'p suvni yutishi mumkin. Bunday gidrofillik hujayra adgeziyasini yaxshilaydi, biologik faol moddalar yoki dori vositalarini kiritish va ularning nazoratli ajralishini ta'minlash uchun qulay sharoit yaratadi.

Mexanik barqarorlik kollagen, xitozan va gidroksiapatitning sinergik ta'siri bilan shakllanadi. Gidroksiapatit kompozitga qattqlik, siqilishga chidamlilik va elastiklik modulini beradi, kollagen esa materialga egiluvchanlik va nisbiy plastiklik xususiyatini kiritadi. Xitozan esa polimer matritsaning yaxlitligini oshiradi. Fazalararo mustahkamlik vodorod bog'lari, elektrostatik tortishishlar va GAp yuzasidagi Ca²⁺ ionlari bilan polimerlarning –COOH, –OH, –NH₂ guruhlari o'rtasidagi koordinatsion "kalsiy ko'priklari" orqali ta'minlanadi.

Gidroksiapatitning mavjudligi kompozitning biofaolligi va osteokonduktivligini kuchaytiradi. Biologik suyuqliklar yoki SBF muhitida GAp yuzasi yangi suyakga o'xshash apatit qatlamining cho'kishi uchun shablon vazifasini bajaradi. Bu jarayon implantning suyak to'qimasi bilan integratsiyasini tezlashtiradi. Kollagen tarkibidagi RGD kabi biofaol aminokislota ketma-ketliklari osteoblastlarning membrana retseptorlari orqali yuzaga birikishini rag'batlantiradi. Xitozan esa mezenximal ildiz hujayralarining ko'payishi va osteogen yo'nalishda differensiallanishiga qo'shimcha ijobiy ta'sir ko'rsatishi mumkin [59].

Ushbu kompozitlarning yana bir muhim xususiyati - boshqariladigan biodegradatsiyadir. Materialning organizmdagi parchalanish tezligini komponentlar nisbati, polimerlarning tikilish darajasi yoki mineral faza miqdorini o'zgartirish orqali tartibga solish mumkin. Ideal holatda kompozitning degradatsiya tezligi yangi suyak to'qimasi hosil bo'lish tezligiga mos kelishi kerak. Kollagen-xitozan-GAp uch komponentli tizimlari ana shu talabga mos ravishda rezorbsiyalanadigan biomateriallar yaratish imkonini beradi.

Qo'shimcha funksional xossalardan biri xitozanning antimikrob faolligidir. Uning musbat zaryadlangan amin guruhlarini $-NH_3^+$ bakterial hujayra membranalarining manfiy zaryadlangan komponentlari bilan o'zaro ta'sirlashib, patogen mikroorganizmlar rivojlanishini cheklashi mumkin. Bu esa implantatsiyadan keyingi infeksiya xavfini kamaytirishda muhim ahamiyatga ega. Ayrim kollagen-xitozan-GAp tizimlari tana haroratida gel holatiga o'tish xususiyatiga ega bo'lib, ularni murakkab shakldagi suyak nuqsonlarini to'ldirish uchun in'eksion, kam invaziv materiallar sifatida qo'llash imkonini beradi.

Nima uchun $Ca/P = 1,67$ nisbati implant barqarorligi uchun muhim hisoblanadi?

Ca/P , ya'ni kalsiy va fosfor nisbati 1,67 ga teng bo'lishi suyak implantlarining barqarorligi va funksional xossalarini belgilovchi muhim ko'rsatkichlardan biridir. Bu nisbat mineral fazaning tarkibi, eruvchanligi, fazaviy tozaligi va biologik muhitdagi xatti-harakatiga bevosita ta'sir qiladi [11].

$Ca/P = 1,67$ qiymati stexiometrik toza gidroksiapatitning nazariy molyar nisbatiga mos keladi. Gidroksiapatitning kimyoviy formulasi $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ bo'lib, ushbu tarkibda kalsiy va fosfor o'rtasidagi nisbat aynan 1,67 ni tashkil etadi. Sintez jarayonida bu nisbatning saqlanishi fazaviy jihatdan toza gidroksiapatit hosil bo'lishiga yordam beradi va CaO , brushit yoki boshqa kalsiy-fosfat fazalari kabi nomaqbul aralashmalar paydo bo'lish xavfini kamaytiradi [12].

$Ca/P = 1,67$ nisbati gidroksiapatitni inson suyagi va tishlarining mineral tarkibiga yaqinlashtiradi. Shu sababli bunday material biomimetik xususiyatga ega bo'lib, organizm hujayralari, ayniqsa osteoblastlar tomonidan suyakga yaqin muhit sifatida qabul qilinadi. Mineral fazaning kristall panjarasi va element tarkibi tabiiy suyak mineraliga qanchalik yaqin bo'lsa, materialning biofaolligi va osteointegratsiya qobiliyati shunchalik yuqori bo'ladi [13].

Ushbu nisbat materialning bioresorbsiya tezligini ham boshqaradi. Agar Ca/P nisbati 1,67 dan past bo'lsa, kalsiyga defitsit gidroksiapatit hosil bo'ladi; bunday material kamroq kristallangan, ko'proq eruvchan va organizmda tezroq rezorbsiyalanadi. Ma'lum darajadagi kalsiy defitsiti yangi suyak hosil bo'lishini tezlashtirish uchun foydali bo'lishi mumkin, biroq implant karkasi juda tez yemirilsa, uning dastlabki mexanik barqarorligi pasayadi. Shu sababli 1,67 qiymati barqaror mineral faza uchun asosiy mezon sifatida qaraladi.

Ca/P nisbatining me'yordan keskin og'ishi noxush ikkilamchi fazalar hosil bo'lishiga olib kelishi mumkin. Masalan, $\text{Ca/P} \approx 1,0$ bo'lganda brushit, $\text{Ca/P} \approx 1,5$ atrofida esa trikalsiyfosfat fazasi shakllanishi ehtimoli ortadi. Bu fazalar gidroksiapatitga nisbatan tezroq eriydi va boshqa mexanik xossalarga ega bo'ladi. Natijada implantning erta davrdagi mustahkamligi va fiziologik muhitdagi barqarorligi buzilishi mumkin [14].

5. Xulosa

Shunday qilib, Ca/P nisbatini 1,67 atrofida saqlash implant materialida fazaviy tozalik, kimyoviy barqarorlik, suyak mineraliga yaqinlik, yetarli mexanik qattqlik va biofaollik o'rtasidagi muvozanatni ta'minlaydi. Aynan shu sababli $\text{Ca/P} = 1,67$ gidroksiapatit asosidagi osteoplastik va implantatsion materiallar uchun optimal ko'rsatkich sifatida baholanadi. Kollagen-xitozan-gidroksiapatit kompozitlari yuqori biofaollik, osteokonduktivlik, biodegradatsiyalanish va biomoslik kabi muhim xususiyatlarga ega bo'lib, suyak to'qimasini regeneratsiya qilishda istiqbolli biomateriallar hisoblanadi. Gidroksiapatit sintezida $\text{Ca/P} = 1,67$ nisbatining saqlanishi esa materialning fazaviy tozaligi, barqarorligi va biologik samaradorligini ta'minlaydi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Lamarque, G., Viton, C., & Domard, A. (2004). Comparative study of the first heterogeneous deacetylation of α - and β -chitins in a multistep process. *Biomacromolecules*, 5(3), 992–1001.
2. Kaczmarek, B., Sionkowska, A., & Osyczka, A. M. (2018). *International Journal of Biological Macromolecules*, 118-son, 4 bet, 1880–1883. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.035
3. Luo, D., Sang, L., Wang, X., Xu, S., & Li, X. (2011). *Materials Letters*, 65(15-16)-son, 3 bet, 2395–2397. DOI: 10.1016/j.matlet.2011.05.010
4. Munhoz, M. A. S., Hirata, H. H., Plepis, A. M. G., Martins, V. C. A., & Cunha, M. R. (2018). *Injury*, 49-son, 7 bet, 2154–2160. DOI: 10.1016/j.injury.2018.09.018
5. Zhang, Y., Reddy, V. J., Wong, S. Y., Li, X., Su, B., Ramakrishna, S., & Lim, C. T. (2010). *Tissue Engineering - Part A*, 16(6)-son, 12 bet, 1949–1960. DOI: 10.1089/ten.tea.2009.0436
6. Türk, S., Altınsoy, I., Çelebi Efe, G., Ipek, M., Özacar, M., & Bindal, C. (2018). 3D porous collagen/functionalized multiwalled carbon nanotube/chitosan/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Materials Science & Engineering C*, 92, 757–768. DOI: 10.1016/j.msec.2018.07.020.89
7. Sukhodub, L. B., Kumeda, M., Bielai, V., & Sukhodub, L. F. (2021). Hydroxyapatite-biopolymers-ZnO composite with sustained Ceftriaxone release as a drainage system for treatment of purulent cavities. *Carbohydrate Polymers*, 266, 118137. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.118137.16



8. Ningrum, E. O., Perwitasari, T. S. E., Fahreza, N. A., Abidin, S. Z., Gotoh, T., Suprpto, S., ... & Arifin, R. (2026). Sustainable marine waste-derived hydroxyapatite/collagen/chitosan hydrogels as bioactive composite materials for bone-related applications. *Biochemical Engineering Journal*, 230, 110134. DOI: 10.1016/j.bej.2026.110134.24
9. He, H., Wang, L., Cai, X., Wang, Q., Liu, P., & Xiao, J. (2023). Biomimetic collagen composite matrix-hydroxyapatite scaffold induce bone regeneration in critical size cranial defects. *Materials & Design*, 236, 112510. DOI: 10.1016/j.matdes.2023.112510.28
10. Wang, J., & Liu, C. (2014). Biomimetic Collagen/Hydroxyapatite Composite Scaffolds: Fabrication and Characterizations. *Journal of Bionic Engineering*, 11(4), 600–609. DOI: 10.1016/S1672-6529(14)60071-8.32
11. Sionkowska, A., & Kaczmarek, B. (2017). Preparation and characterization of composites based on the blends of collagen, chitosan and hyaluronic acid with nano-hydroxyapatite. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 658–666. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.03.172.333
12. Becerra, J., Rodriguez, M., Leal, D., Noris-Suarez, K., & Gonzalez, G. (2022). Chitosan-collagen-hydroxyapatite membranes for tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 33(2), 18. DOI: 10.1007/s10856-022-06643-w.35more_horiz
13. Peniche, C., Solís, Y., Davidenko, N., & García, R. (2010). Chitosan/hydroxyapatite-based composites. *Biotecnología Aplicada*, 27(3), 202–211.43