

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский
Томский государственный университет»

На правах рукописи

РАССКАЗОВА ЛЮДМИЛА АЛЕКСЕЕВНА

**ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ МАГНИЙ- И КРЕМНИЙ-
МОДИФИЦИРОВАННЫХ ГИДРОКСИАПАТИТОВ И
БИОРЕЗОРБИРУЕМЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИМЕРОВ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ**

Специальность

05.17.11 – Технология силикатных и тугоплавких неметаллических материалов

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель
д-р, техн. наук, профессор В.В. Козик

Томск 2015

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ГА – гидроксиапатит

ГА_{ж/ф} – гидроксиапатит, полученный классическим жидкофазным способом

ИК – инфракрасный

ИЛ-4 – цитокин интерлейкин-4

ИНФ γ – цитокин интерферон гамма

ИФА – иммуноферментный анализ

КФС – кальций-фосфатный слой

ЛКЦ – льюисовский кислотный центр

ОКР – область когерентного рассеяния

ПМ – полимерная матрица

ПМК – полимеры молочной кислоты (мономер – молочная кислота)

ПЛ – полилактид (мономер – лактид)

ПР – произведение растворимости

n-ТСК – паратолуолсульфо кислота

РСМА – рентгеноспектральный микроанализ

РФА – рентгенофазовый анализ

SBF-раствор (Simulated Body Fluid) – раствор, имитирующий внеклеточную жидкость по минеральному составу

СВЧ – сверхвысокочастотный

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ТЭОС – тетраэтоксисилан

ЭДТА – этилендиаминтетраацетат (натрия), трилон Б, комплексон

ФНО α – цитокин фактор некроза опухоли

ФК – фосфаты кальция

MgГА – магний-модифицированный гидроксиапатит

MnГА – марганец-модифицированный гидроксиапатит

S_{уд} – удельная поверхность

SiГА – кремний-модифицированный гидроксиапатит

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ЗАМЕНЫ КОСТНОЙ ТКАНИ. СОСТАВ, СВОЙСТВА И ОСОБЕННОСТИ МОДИФИЦИРОВАНИЯ	12
1.1 Состав и структура костной ткани. Современные требования к костным имплантатам	12
1.2 Ортофосфаты кальция.....	18
Применения, классификация, получение, свойства.....	18
1.3 Способы и особенности синтеза гидроксиапатита	25
1.4 Структура гидроксиапатита, возможности модифицирования	30
1.5 Изоморфные замещения в апатитах	31
1.5.1 Анионные замещения	31
1.5.2 Катионные замещения	35
1.6 Полимеры, применяемые в реконструктивной медицине.....	37
1.7 Полимерные композиты на основе гидроксиапатита	38
1.8 Постановка цели и задач исследования.....	43
ГЛАВА 2. ИСХОДНЫЕ ВЕЩЕСТВА, МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	45
2.1 Характеристика веществ, использованных для синтеза и исследования свойств материалов на основе гидроксиапатита	45
2.2 Особенности применения СВЧ-излучения в ходе синтеза неорганических веществ.....	47
2.3 Методы исследования дисперсных и композиционных полимерных материалов.....	48
2.3.1 Метод рентгенофазового анализа.....	48
2.3.2 Метод ИК спектроскопии.....	50
2.3.3 Методы определения элементного состава	50
2.3.3 Метод гель-проникающей хроматографии.....	51
2.3.5 Измерение площади удельной поверхности	51
2.3.6 Методы определения морфологии и размеров частиц материалов	52
2.3.7 Определение растворимости образцов в физиологическом растворе методом комплексонометрического титрования	53
2.3.8 Методы определения кислотно-основных свойств поверхности.....	54
2.3.9 SBF-исследования биомиметических свойств	55

2.3.10 Метод иммуноферментного анализа.....	55
ГЛАВА 3. СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ НЕМОДИФИЦИРОВАННОГО ГИДРОКСИАПАТИТА	58
3.1 Подбор условий СВЧ-синтеза гидроксиапатита	58
3.2 Влияние условий синтеза гидроксиапатита на его состав	60
3.3 Сравнение свойств гидроксиапатита, полученного по классической методике и при СВЧ-воздействии.....	65
ГЛАВА 4. МОДИФИЦИРОВАНИЕ ГИДРОКСИАПАТИТА.....	69
ИОНАМИ Mg^{2+} и SiO_4^{4-}	69
4.1 Синтез магний- и кремний-модифицированных гидроксиапатитов.....	69
4.2 Идентификация состава модифицированных гидроксиапатитов.....	70
4.3 Физико-химические свойства модифицированных гидроксиапатитов	78
4.4 Оценка резорбируемости и биомиметические свойства модифицированных гидроксиапатитов	82
ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА И ПОЛИМЕРОВ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ	87
5.1 Получение композиционных материалов на основе гидроксиапатита и полимеров молочной кислоты низкой молекулярной массы.....	87
5.2 Идентификация состава композитов и исследование взаимодействия между гидроксиапатитом и молочной кислотой в процессе формирования композитов с полимерами молочной кислоты низкой молекулярной массы .	89
5.3 Получение композитов на основе гидроксиапатита с полимерами молочной кислоты высокой молекулярной массы.....	92
5.5 Биосовместимость полимерных композитов на основе гидроксиапатита на клетках иммунной системы человека	97
5.6 Технология получения биорезорбируемых композиционных материалов на основе гидроксиапатита	99
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	102
ВЫВОДЫ.....	104
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	106
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	132
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	133
ПРИЛОЖЕНИЕ 3	133
ПРИЛОЖЕНИЕ 4	135
ПРИЛОЖЕНИЕ 5	136

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Биологическая совместимость, уникальная биоактивность, структурное и химическое подобие костной ткани человека позволяют синтетическому гидроксипатиту ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, ГА) – аналогу неорганической компоненты костного материала – находить широкое применение в современной медицине и материаловедении.

Трудоемкость и длительность процессов жидкофазного синтеза ГА заставляет химиков и технологов проводить поиск новых методов его получения и разрабатывать упрощенные технологии синтеза ГА. Так, за последние 15 лет количество статей, посвященных разработкам новых методов синтеза ГА, возросло ~ в 3 раза. В этом плане преимущества применения сверхвысокочастотного (СВЧ) излучения при получении ГА очевидны: малая длительность синтеза, быстрый нагрев реакционной смеси, хорошая воспроизводимость, а также значительный выход и высокая степень чистоты продукта. Но материалы на основе чистого ГА в настоящее время имеют ограниченное применение, что связано с его низкой растворимостью (и как следствие, резорбируемостью) в жидкостях организма, а также высокой хрупкостью. Для целенаправленного получения новых биоматериалов на основе ГА с необходимым набором физико-химических характеристик и функциональных свойств новые возможности открываются при изоморфном замещении ГА и использовании полимерных композитов на его основе. Введение ионов Mg^{2+} и SiO_4^{4-} в структуру ГА позволяет управлять процессами биорезорбции с одной стороны и, с другой стороны, способствует формированию костного вещества (кальций-фосфатного слоя, КФС) на поверхности материала. Материалы на основе магний- и кремний-модифицированного ГА проявляют высокую биоактивность и резорбируемость, способствуют ускорению процессов биоминерализации и интеграции имплантатов в области костных дефектов.

Для приближения свойств ГА к свойствам натуральной кости, которая представляет собой композит ГА-коллаген, в настоящее время актуальна разработка полимерных композитов на основе ГА. Особый интерес представляют полимеры молочной кислоты (ПМК), что связано с их способностью к биодegradации в организме с оптимальной скоростью резорбции, нетоксичностью продуктов распада (CO_2 , H_2O) и высокой механической прочностью.

Степень разработанности диссертационной работы

В работе проанализированы сведения о современном состоянии исследований в области получения, изучения, практического использования биоматериалов на основе фосфатов кальция, в частности ГА, разработанных в ведущих научно-исследовательских центрах РФ и за рубежом. Диссертационная работа выполнена в направлении получения биосовместимых материалов на основе фосфатов кальция и биодegradируемых полимеров молочной кислоты (ПМК). Осуществлена разработка экспрессного и недорогого метода синтеза ГА (в т.ч. ион-модифицированного) как наполнителя полимерных композитов с одновременной возможностью управления его функциональными свойствами. Относительная новизна и недостаточная изученность поведения ПМК в сочетании с ГА делают целесообразными исследования композитов на их основе. В работе получены композиционные материалы на основе ГА и ПМК и исследованы их свойства.

Объекты исследований биосовместимые композиционные материалы на основе гидроксиапатита, в т.ч. модифицированного ионами Mg^{2+} , SiO_4^{4-} , и полимеров молочной кислоты.

Предмет исследований – физико-химические процессы получения и свойства биосовместимых композиционных материалов на основе гидроксиапатита.

Цель работы – разработка технологии получения и исследование физико-химических свойств биорезорбируемых материалов на основе синтезированного при СВЧ воздействии модифицированного ГА и композитов немодифицированного ГА с полимерами молочной кислоты.

Задачи, поставленные в работе, выполняемые для достижения цели:

- разработка и определение условий СВЧ-синтеза немодифицированного ГА; установление влияния СВЧ-излучения на фазовый состав, растворимость и физико-химические свойства ГА;
- синтез магний- и кремний- модифицированных гидроксиапатитов (MgГА и SiГА) с использованием СВЧ-излучения, исследование их качественного и количественного состава; определение влияния ионов Mg^{2+} и SiO_4^{4-} на дисперсность, растворимость порошков в физиологическом растворе (рН 7, 25 °С, ω (NaCl) = 0,9 %);
- установление влияния ионов Mg^{2+} и SiO_4^{4-} на кислотно-основные свойства поверхности ГА, способность MgГА и SiГА формировать кальций-фосфатный слой (КФС) на своей поверхности в SBF-растворе (от англ. – Simulated Body Fluid – искусственная межтканевая жидкость) при 37 °С;
- установление состава и технологических режимов создания биорезорбируемых композитов на основе ГА и полимеров молочной кислоты низкой молекулярной массы (ПМК); исследование растворимости полученных композитов в физиологическом растворе и способности формировать КФС;
- разработка технологической схемы получения биосовместимых композитов на основе ГА и полимера молочной кислоты большой молекулярной массы (полилактид, ПЛ); исследование их биосовместимости на клетках иммунной системы человека и способность формировать КФС на своей поверхности.

Научная новизна работы

1. Установлено, что синтез под воздействием СВЧ-излучения обеспечивает получение однофазных порошков ГА, значительно сокращая время их синтеза, повышая дисперсность и растворимость порошков ГА в физиологическом растворе. Показано, что суммарная концентрация ионов Ca^{2+} в насыщенных растворах увеличивается на 28 % в случае магний-модифицированного ГА (MgГА) и на 47 % в случае кремний-модифицированного ГА (SiГА) по сравнению с немодифицированным ГА, что объясняется микронапряжениями в

кристаллической решетке ГА за счет образования твердых растворов замещения и появлением вторичных фаз витлокита и ларнита.

2. Установлено, что на поверхности образцов ГА, MgГА и SiГА имеются Льюисовские кислотные центры (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Si^{4+}), сила и концентрация которых в образцах ион-модифицированных гидроксиапатитов убывает в следующем ряду: SiГА > MgГА > ГА, что связано с большим значением электроотрицательностей магния и кремния относительно кальция.

3. Установлено, что получение композита на основе ГА и полимеров молочной кислоты низкой молекулярной массы (ПМК) происходит с формированием фазы CaHPO_4 , наличие которой обуславливает повышенную относительно чистого ГА растворимость композита.

4. Установлена зависимость скорости роста кальций-фосфатного слоя на поверхности материалов при 37 °С в модельном SBF-растворе от состава материалов: SiГА > MgГА > ГА > ГА-полилактид > ГА-ПМК.

Теоретическая значимость работы заключается в развитии представлений о процессах и способах получения биосовместимых полимерных материалов, содержащих неорганический наполнитель; расширении представлений в области жидкофазного СВЧ-синтеза неорганических соединений; обобщении практических знаний о строении, функциональных свойствах и применении биорезорбируемых полимерных материалов на основе фосфатов кальция.

Практическая значимость

1. Разработана СВЧ-технология экспрессного получения порошков как чистого, так и магний-, кремний-модифицированного гидроксиапатитов, обладающих свойствами улучшенной биоактивности и резорбируемости.

2. Разработаны составы и технология получения биосовместимых материалов на основе ГА и полимеров молочной кислоты различных молекулярных масс, способствующие активному формированию КФС на своей поверхности.

3. Разработанная методика СВЧ-синтеза чистого, магний- и кремний-модифицированного гидроксиапатита включена в учебно-методическое

пособие «Лабораторный практикум по курсу «Современный неорганический синтез. СВЧ-синтез фосфатов кальция (магистерская программа химического факультета НИ ТГУ «Химия твердого тела», направление подготовки 020100 – Химия).

Методология и методы диссертационного исследования

Методологической основой диссертационного исследования являлся системный комплексный подход к анализу современных проблем в области создания биосовместимых материалов с использованием эффективных методов исследования.

Методы исследования. Для исследования составов материалов применены методы рентгенофазового (XRD-6000), ИК спектроскопического (Nicolet 6700, Shimadzu 8300), элементного (энергидисперсионные приставки к электронным микроскопам Zeiss Supra 55VP, Leo Supra 50VP, микроанализатор ShiftED 300) анализа. Микрофотографии получены с помощью сканирующих электронных микроскопов Carl Ziess NVision 40, Leo Supra 50VP, JEOL-7500FA, HITACHI-3000. Удельную поверхность, объем и размер пор порошков измеряли на приборе TriStar II Micromeritics. Гель-проникающей хроматографии выполнена на приборе фирмы GPC Agilent System 1100. SBF-исследования выполняли с использованием метода трилометрического титрования ионов Ca^{2+} в присутствии аммиачного буфера. Биосовместимость оценивали на клеточных культурах макрофагов с использованием метода иммуноферментного анализа (электронный фотоколориметр Infinite 200 NanoQuant).

Положения, выносимые на защиту

1. Положение об ускорении синтеза ГА под воздействием СВЧ-излучения, позволяющего получать однофазные порошки ГА с размером частиц 20-40 нм.
2. Результаты исследования процессов формирования и свойств биорезорбируемых материалов на основе Mg- и Si-модифицированных ГА, синтезированных с использованием СВЧ-излучения;

3. Технологическая схема создания биосовместимых композиционных материалов на основе ГА и полимеров молочной кислоты различной молекулярной массы.

Личный вклад автора состоит в формулировке научной проблемы, выявлении актуальных направлений исследований в результате анализа отечественной и зарубежной литературы по этой проблеме, постановке и организации эксперимента, проведении химических и физико-химических исследований, обработке результатов исследований и представлении их в виде докладов, тезисов, статей, патентных заявок на изобретения.

Достоверность полученных результатов обусловлена применением современных приборов и методов, сопоставлением полученных результатов с данными других исследований в области создания биоматериалов на основе гидроксиапатита.

Апробация работы. По результатам диссертационных исследований были сделаны доклады на следующих всероссийских и международных конференциях: IV Всероссийской конференции молодых ученых «Материаловедение, технологии и экология в третьем тысячелетии» (Томск, 2009), VI Всероссийской конференции «Физика и химия высокоэнергетических систем» (Томск, 2010), Международной научно-практической конференции «Новые технологии создания и применения биокерамики в восстановительной медицине» (Томск, 2010, 2012, 2013), I и II Международной Российско-Казахстанской конференции «Химия и химическая технология» (Томск, 2011, Караганда, 2012), XIII Всероссийской Научно-практической конференции с международным участием им. проф. Кулёва студентов и молодых ученых с международным участием «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2012, 2013), Всероссийской с международным участием научной конференции «Полифункциональные химические материалы и технологии» (Томск, 2012, 2013, 2015), Шестой каргинской конференции «Полимеры 2014» (Москва, 2014), X конференции молодых ученых с международным участием «Современные проблемы науки о полимерах» (Санкт-Петербург, 2014), XI

Международной конференции студентов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, 2014, 2015).

Публикации результатов. По материалам диссертации опубликовано 30 печатных работ, из них статей в изданиях, индексируемых РИНЦ – 7, Scopus и WoS – 3, в сборниках трудов российских и международных конференций – 22.

Объем и структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Работа изложена на страницах, содержит рисунка, таблицы, список цитируемой литературы состоит из наименования.

Благодарность. Автор выражает огромную благодарность главному научному консультанту к.х.н., доценту каф. неорг. химии ХФ ТГУ Коротченко Н.М. за поддержку и столь неоценимую и искреннюю помощь в планировании, получении и оформлении результатов диссертационной работы. Автор также выражает благодарность д.ф.-м.н., доценту каф. физ.-кол. химии Курзиной И.А. за помощь в планировании и реализации эксперимента; руководителю (д.х.н., профессор Филимошкин А.Г.) и сотрудникам отдела полимеров и мономеров Лаборатории каталитических исследований за помощь в получении, обработке и интерпретации результатов диссертационной работы; руководителю (д.б.н., профессор Кжышковска Ю.Г.) и сотрудникам отдела врожденного иммунитета и толерантности Института трансфузионной медицины и иммунологии (г. Маннхайм, Германия); сотрудникам лаборатории кислотно-основного катализа Института катализа им. Г.К. Борескова (д.х.н., профессор Пакштис Е.А.; к.х.н., м.н.с. Ларина Т.В.) за помощь в получении и обработке результатов работы.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ЗАМЕНЫ КОСТНОЙ ТКАНИ. СОСТАВ, СВОЙСТВА И ОСОБЕННОСТИ МОДИФИЦИРОВАНИЯ

1.1 Состав и структура костной ткани. Современные требования к костным имплантатам

Разработка новых материалов для костных имплантатов требует знания химических, физических и механических свойств естественной костной ткани, на качественные и количественные характеристики которой следует опираться при создании материалов имплантатов. В последнее время активно набирает популярность подход естественной регенерации, когда материал имплантата подвергается биодеградации и рассасывается в жидкостях организма, а процесс восстановления поврежденных тканей происходит с одновременной заменой имплантата собственными тканями организма. В связи с этим перед учеными стоит задача получения материалов, наиболее близких по своим структуре и функциональным свойствам к свойствам натуральной костной ткани.

Кость состоит из трех основных частей (рис. 1.1) [1]:

- 1) живые клетки (остеобласты, остеокласты и остециты);
- 2) неживые органические вещества (коллаген, мукополисахариды);
- 3) неживые неорганические кристаллы (карбонатзамещенный гидроксиапатит).

Знание клеточного состава костной ткани позволит определить возможности исследования биологических свойств материалов (биосовместимость, клеточная адгезия, способность клетками формировать новый костный матрикс на поверхности материала и т.д.). Активно развивающиеся современные направления *трансляционной медицины* включают процесс, предусматривающий перенос открытий с фундаментальных исследований, проведенных в лабораториях, в сферу практического применения в медицине и позволяют расширять возможности

персонифицированной диагностики материалов на стадиях доклинического исследования.

Остеобласты – это молодые клетки, образующие костную ткань. В них содержится большое количество рибонуклеиновой кислоты и щелочной фосфатазы. Остеобластов в растущей кости очень много, так например, у взрослого человека, когда рост костей закончен, эти клетки встречаются только в участках восстановления костной ткани (например, при переломах и трещинах костей) [2]. После заполнения костных дефектов остеобласты превращаются в покоящиеся остеоциты, лежащие в костных лакунах, и формируют выстилающий слой, отделяющий костную поверхность от сосудов [3].

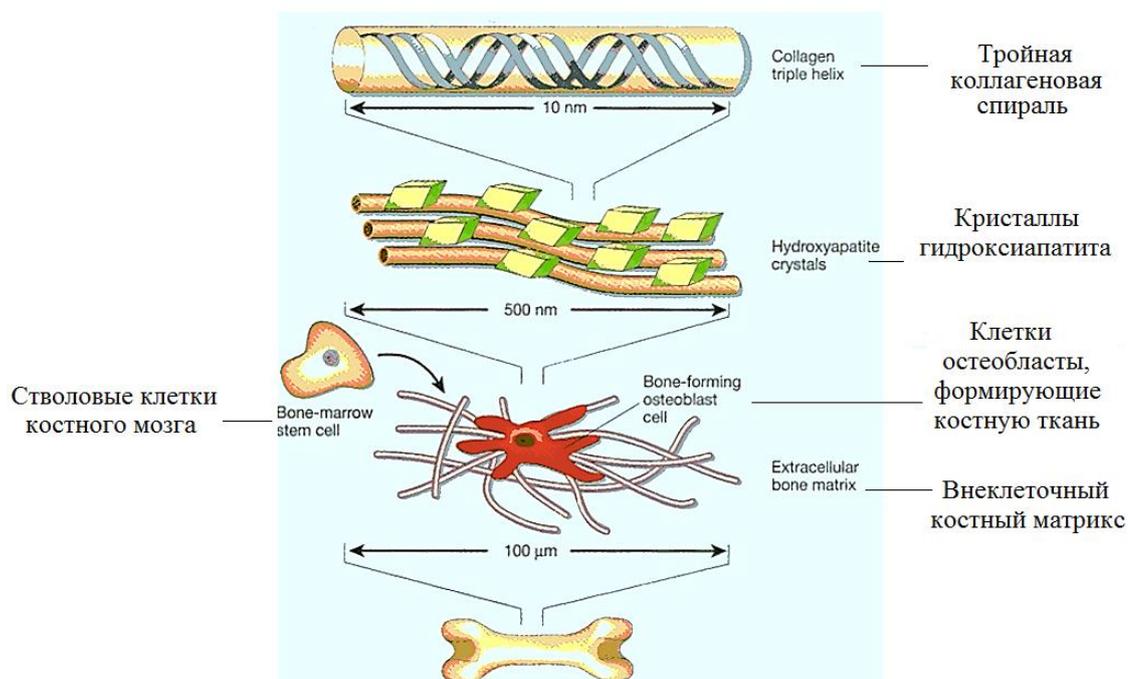


Рисунок 1.1 – Уровни организации костной ткани [1]

Остеоциты – зрелые многоотростчатые клетки, вырабатывающие межклеточное вещество и обычно замурованные в нем. Если появляется необходимость в структурных изменениях костей, остеобласты активизируются, быстро дифференцируются и превращаются в остеоциты. Система костных канальцев обеспечивает обмен веществ между остеоцитами и тканевой жидкостью [4]. В количественном отношении остеоциты преобладают, эти клетки принимают активное участие в постоянном обмене

минеральных и органических компонентов между костным матриксом и тканевой жидкостью, фильтруемой из сосудов.

Кроме вышеназванных клеток, в костной ткани находятся также *остеокласты* – гигантские многоядерные клетки, появляющиеся в местах рассасывания костных структур. Их функция заключается в удалении продуктов распада кости и лизисе минерализованных структур. Характерной особенностью остеокласта является появление некой функциональной зоны – «гофрированного края» при активизации этих клеток. Гофрированный край представляет собой спирально-скрученную мембрану клетки с множественными цитоплазматическими складками, который обращён в сторону развивающегося процесса резорбции, и является местом активного окисления тканей [5]. Группа остеокластов растворяет минеральный компонент кости, а также гидролизует органический матрикс. Разрушение кости начинается с прикрепления остеокласта к минерализованной костной поверхности «гофрированным краем», через который выделяются гидролитические ферменты и протоны, а также различные интегрины (α_1 , α_v , β_1 , β_3), участвующие в растворении кости. Другие клетки, принимающие участие в резорбции костной ткани – это моноциты и макрофаги. Они взаимодействуют с костной тканью посредством фагоцитоза и хемотаксиса, в большинстве случаев действуя как «уборщики мусора». Помимо фагоцитарной активности продуцируются цитокины (ИЛ-1, ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ФНО- α и др.), влияющие на активизацию коллагеназ, разрушающих белковый матрикс. Кроме того, моноциты и макрофаги рассматриваются многими учёными как предшественники остеокластов. Динамические взаимоотношения между остеобластами и остеокластами четко контролируют активность процессов отложения/резорбции кости [6].

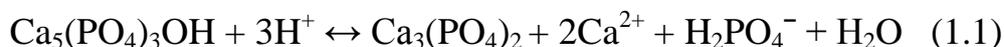
Биологические твердые ткани (кости, эмаль, дентин) являются минерально-органическими композитами со сложной микроструктурой. Костный матрикс состоит из органических (40 % в сухой пластинчатой кости) и неорганических (60 %) веществ. Преимущество в костях органических веществ

(у детей) придает им упругость и эластичность. Изменение соотношения в сторону неорганических веществ ведет к хрупкости костей и к более частым переломам их (например, у пожилых людей) [7, 8].

Органические компоненты костной ткани преимущественно состоят из коллагена (90–95 %), который, являясь структурообразующим протеиновым элементом костной ткани, участвует в образовании формы кости и обеспечивает её прочность при растяжении [9]. Коллаген – это фибриллярный белок, первичная структура которого складывается из повторяющихся последовательностей триплетов аминокислот глицин-Х-У, где Х- и У-позиции чаще заняты, соответственно, аминокислотами пролином и ГА [10, 11]. Эти повторяющиеся последовательности позволяют трем коллагеновым полипептидам формировать полужесткие, очень стабильные трехспиральные молекулы. Коллаген препятствует развитию хрупкости костного вещества, приводящей к переломам кости. Тройная винтовая третичная структура коллагена придает ему высокую прочность на разрыв. В небольших количествах в органическом костном матриксе содержатся неколлагеновые белки – гликопротеины, сиалопротеины, альбумины, а также мукополисахариды, гликоген, органические кислоты, липиды. Эти протеины оказывают воздействие на рост и пролиферацию (разрастание) минеральных кристаллов.

Костный минерал состоит главным образом из различных форм фосфатов кальция, кроме того включает карбонаты, фториды, гидроксиды и цитраты. Минералы поступают в кость из плазмы крови и, в конечном счёте, из питательных веществ. Фосфаты кальция представлены в виде закристаллизованного или частично закристаллизованного гидроксиапатита и аморфного фосфата кальция (АФК, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Основная химическая формула кристалла гидроксиапатита $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Соотношение между аморфной и кристаллической структурой в костной ткани – величина переменная и определяется многими факторами, в том числе возрастными [12]. Так как в организме существует равновесие между растворимыми (гидро- и

дигидрофосфаты калия, формирующие биологическую буферную систему, ответственную вместе с белковыми буферными системами за постоянство pH (внутриклеточной жидкости) и нерастворимыми фосфатами согласно уравнению, то происходит постепенное растворение ГА [13]:



Переход из аморфной фазы в кристаллическую требует времени, и одновременно с этим изменяется соотношение химических элементов, входящих в состав минерала, в том числе кальция и фосфора; молярное соотношение Ca/P в минеральной фазе костной ткани колеблется от 1,37 до 1,67 [12, 14, 15]. Помимо основных элементов кальция и фосфора, в кости содержатся также в разных количествах такие микроэлементы, как натрий, магний, калий, марганец, хлор, фтор и др. (табл. 1.1) [10, 16].

Таблица 1.1 – Состав неорганической фазы эмали, дентина и кости у взрослого человека

Содержание	Эмаль	Дентин	Кость
Ca, масс. %	37,60	40,30	36,60
P, масс. %	18,30	18,60	17,10
C, масс. %	3,50	5,60	7,40
Na, масс. %	0,70	0,10	1,00
K, масс. %	0,05	0,07	0,07
Mg, масс. %	0,2	1,10	0,60
Sr, масс. %	0,03	0,04	0,05
Cl, масс. %	0,40	0,27	0,10
F, масс. %	0,01	0,07	0,10
Zn, млн ⁻¹	263,0	173,0	39,0
Ba, млн ⁻¹	125,0	129,0	–
Fe, млн ⁻¹	118,0	93,0	–
Al, млн ⁻¹	86,0	69,0	–
Ag, млн ⁻¹	0,6	2,0	–
Cr, млн ⁻¹	1,0	2,0	0,33
Co, млн ⁻¹	0,1	1,0	<0,025
Sb, млн ⁻¹	1,0	0,7	–
Mn, млн ⁻¹	0,6	0,6	0,17
Au, млн ⁻¹	0,1	0,07	–
Br, млн ⁻¹	34,0	114,0	–
Si, млн ⁻¹	–	–	500
Ca/P	1,59	1,67	1,65

В биологическом цикле в зависимости от условий возможно образование нескольких фаз фосфатов кальция. Наименее растворимая из них – гидроксиапатит – возникает в нейтральной или основной среде. При кислых рН часто появляются минералы типа дикальцийфосфатгидрата, АФК и октокальцийфосфата, что предполагает недостатки в структуре минерала.

Стремление ученых приблизиться к свойствам натуральной кости при создании имплантатов обуславливает актуальность поиска материалов и условий их получения, соответствующих следующим требованиям [15, 17-23]:

- материал имплантата должен проявлять свойство *биосовместимости*, не быть токсичным, не вызывать воспалительных, отрицательных иммунных и других реакций со стороны организма, не отторгаться организмом как инородное тело.

- в зависимости от используемой методики лечения материалы должны обладать биологической активностью, т.е. *остеостимулирующим* действием – инициировать образование костной ткани;

- *механические свойства* материалов должны соответствовать свойствам костной ткани человека и не подвергаться изменениям во время обработки имплантата и во время нормальной жизнедеятельности пациента после его имплантации;

- материалы должны выдерживать различные виды *стерилизации* и облучения (УВЧ, СВЧ, УФ, рентгеновское, гамма-излучение) без изменения свойств биосовместимости, биорезистивности, биodeградируемости, биологической активности и прочностных характеристик. Так например, при стерилизации распространенным методом гамма-излучения ряд полимеров подвергается деструктурированию за счет появления частиц-радикалов в процессе стерилизации;

- еще одним требованием для материалов костных имплантатов является наличие системы *взаимосвязанных пор*, диаметр которых должен быть не менее 100 мкм, а желаемая общая пористость 90 % для обеспечения необходимого

взаимодействия организма с имплантируемым материалом (прорастание кровеносных сосудов и нервных волокон в имплантат);

– материалы для костной пластики должны легко подвергаться *механической обработке* или другому способу корректировки формы в процессе операции;

– помимо вышесказанного весьма желательна возможность *масштабирования* технологии поточного производства готовых к эксплуатации материалов имплантатов.

В качестве материалов, удовлетворяющих перечисленным требованиям, в настоящее время активно разрабатываются полимерные композиционные структуры на основе фосфатов кальция, выступающие в роли синтетического аналога костной ткани; при этом важно знать свойства компонентов композитов в отдельности и в сочетании друг с другом.

1.2 Ортофосфаты кальция.

Применения, классификация, получение, свойства

Применение различных ортофосфатов кальция (ФК) в восстановительной медицине в качестве основного компонента имплантатов осуществляется уже на протяжении более 90 лет, тем не менее, исследование способов получения ФК, вариантов их модифицирования, варьирования их физико-химическими, биохимическими, механическими и другими свойствами до сих пор остается актуальным. В настоящее время ФК, в т.ч. ГА, рекомендованы к различным применениям в медицине [1, 6, 10, 17]: биосовместимая керамика для замены поврежденных участков костной ткани и исправления дефектов кости [24-27], адресная доставка лекарств [28-30], биологически активные покрытия на металлические костные имплантаты [31-37], кальций-фосфатные цементы [38-41] и др. Стоит отметить, что помимо применений в медицине, ФК применяются в качестве катализаторов и подложек для них [42] материалов-носителей для лазеров, ионные проводников [43] и др.

Предложено условно разделять все ФК на две категории [10, 28]:

I низкотемпературные ФК – синтезированные при относительно невысоких температурах, не подвергнутые термической обработке.

Осаждением из водных растворов при нормальном давлении можно выделить пять фосфатов кальция, имеющих различные рентгенограммы [44]. К ним относятся:

- 1) дигидрофосфат кальция $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$;
- 2) моногидрат дигидрофосфата кальция $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$;
- 3) гидрофосфат кальция CaHPO_4 ;
- 4) дигидрат гидрофосфата кальция $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;

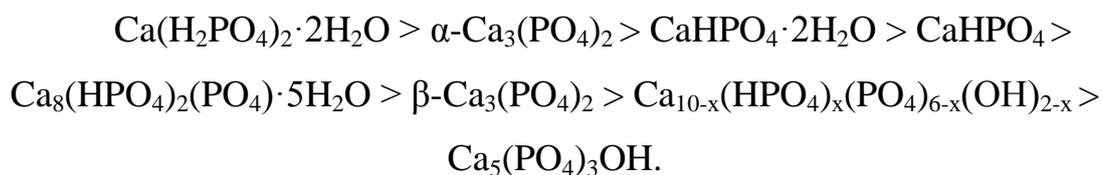
5) кристаллический осадок переменного состава, имеющий рентгенограмму апатита. Последний осадок представляет собой гидроксиапатит, состав которого обычно выражают формулой $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, хотя она не отражает ни различия состава, ни степени гидратации.

II высокотемпературные ФК – окристаллизованные ФК, подвергнутые термической обработке [28]. Традиционные ФК, получаемые в ходе твердофазного синтеза и применяемые в медицине, в основном представлены следующим рядом: α -, β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (α -, β -ТКФ), $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ и композиты типа β -ТКФ-ГА.

Диаграммы фазового равновесия в системах $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ и $\text{CaO-H}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ (при 25 (рис. 2), 40, 50, 70, 75 и 100 °С) описаны в работе Ван-Везера [44].

Важнейшим свойством ФК является их растворимость в воде, что позволяет предсказать поведение материалов на основе ФК в среде организма *in vivo*. Определение величин растворимости позволяет оценить способность материалов к резорбции, т.е. растворению в жидкостях организма. Если растворимость ФК, например ГА, меньше растворимости минеральной части кости, то он деградирует крайне медленно, в обратном случае он подвергается полной резорбции.

Таким образом, с использованием изотерм растворимости [45], можно представить ряд скорости деградации ФК *in vivo* следующим образом:



Даже если все параметры, за исключением состава, остаются постоянными, то этот порядок не всегда соблюдается. Экспериментально установлено, что, если поверхность высоко растворимого ФК покрыта плохо растворимым ФК, общая скорость деградации снижается. Так, низкокristаллический осажденный из водного раствора ГА, имеющий молярное соотношение $\text{Ca/P} = 1,50\text{--}1,67$ по растворимости напоминает минеральную часть кости, в то время, как высококristаллический стехиометрический ГА с $\text{Ca/P} = 1,67$, полученный путем термической обработки, как правило, выше $800\text{ }^\circ\text{C}$, растворим значительно хуже, чем минеральная часть кости [28].

Все способы получения фосфатов кальция условно можно разделить на следующие группы: твердофазный, жидкофазный и гидротермальный, а также их разновидности с различными вариативными изменениями условий синтеза.

В таблице 1.2 приведены наиболее важные ортофосфаты кальция и показана их растворимость при различных температурах, морфология поверхности частиц в зависимости от состава и мольного соотношения Ca/P , основные реакции получения [45-50].

С целью создания биосовместимых кальций-фосфатных материалов с оптимальной биорезорбируемостью, целесообразно использовать гидроксиапатит, трикальцийфосфат и брушит. Брушит является наиболее растворимой среди биосовместимых ФК фазой, ГА – наименее растворимой.

Гидроксиапатит – преобладающий компонент костной ткани, проявляющий свойства уникальной биологической совместимости и повышенной активности к остеоинтеграции.

Известно, что растворимость синтетического ГА является слишком низкой для использования его в чистом виде в качестве имплантируемого материала [80-82], в связи с чем требуются дополнительные манипуляции, повышающие

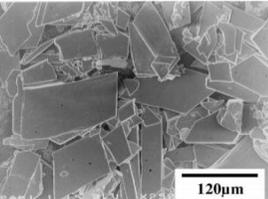
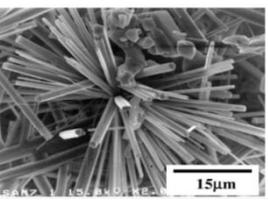
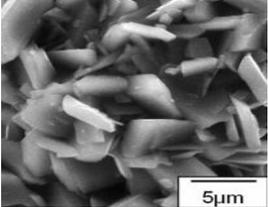
общую растворимость (биорезорбируемость) материалов на его основе. С этой целью должен быть осуществлен переход к фосфатам кальция с меньшим, чем у ГА, отношением Са/Р. Так, переход от ГА с Са/Р = 1.67 к трикальциевому фосфату (ТКФ) β -Са₃(РО₄)₂ с Са/Р = 1.5 приводит к увеличению растворимости почти на порядок. Разрабатываются композиционные структуры на основе ГА и Са₃(РО₄)₂, СаНРО₄, других ФК, имеющих повышенную, относительно ГА, растворимость в жидкостях организма [83, 84]. Авторами работы [85] проводились исследования в области модификации химического состава ФК, связанной с заменой катиона Са²⁺ в структуре фосфата, например ТКФ, на однозарядный катион щелочного металла; при этом по мере замещения происходит смена структурного типа β -ТКФ → β -СаМРО₄ (ренанит).

Выделенные смешанные фосфаты кальция и натрия/калия с общей формулой Са_{3-x}М_{2x}(РО₄)₂ (x = 0–1, М = Na, К) со структурой ТКФ и СаМРО₄ предлагаются к использованию в качестве резорбируемой биокерамики.

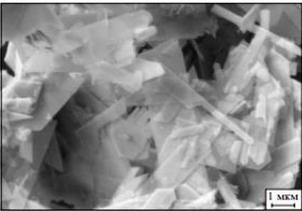
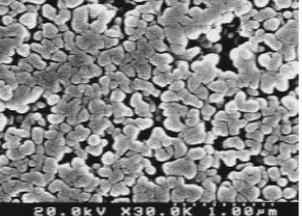
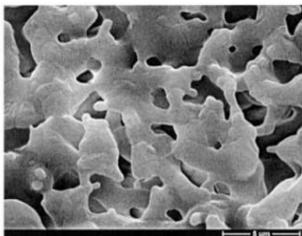
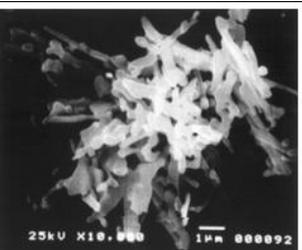
Модифицирование ГА различными биологически активными ионами, находящимися в составе природной костной ткани, также позволяет управлять свойством растворимости ГА [86, 87].

Таким образом, широкий диапазон фосфатов кальция, отличающихся структурой, морфологией, растворимостью, термической стабильностью и т.д., позволяет осуществлять поиск и разработку оптимальных составов, удовлетворяющих требованиям к материалам, составляющим основу костных имплантатов.

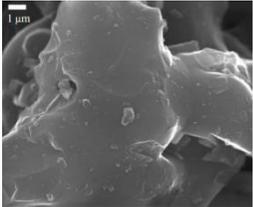
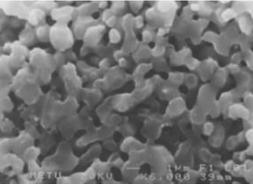
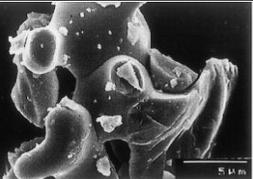
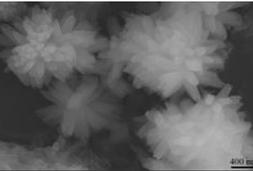
Таблица 1.2 – Показатели молярных соотношений Ca/P, химические формулы, морфология, основные реакции получения ортофосфатов кальция и их растворимость при 25 °С и 37 °С

Фосфат кальция (формула, название)	Со- отно- шение Ca/P	Интервал стабильно сти pH (25 °С)	Произведение растворимости		Морфология и форма частиц	Основные реакции получения	Лите- ратура
			pПР (25 °С)	pПР (37 °С)			
1	2	3	4	5	6	7	8
Монокальциевый фосфат $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,50	< 1 ^a	1,14	раствори мый		$2\text{CaHPO}_4 + \text{P}_2\text{O}_5 + 3\text{H}_2\text{O} = 2\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ $2\text{CaHPO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_{4(\text{конц.})} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \downarrow + 4\text{CaSO}_4 \downarrow$ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + 4\text{H}_3\text{PO}_4 \rightarrow 3\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \downarrow$	[51, 52]
Монокальциевый фосфат моногидрат $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,50	0 – 2	1,14	раствори мый		$\text{Ca}^{2+} + 2\text{HPO}_4^{2-} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	[53- 55]
Дикальциевый фосфат дигидрат $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00	2 – 6	6,59	6,63		$\text{CaCl}_2 + \text{Na}_2\text{HPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\rightarrow \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{NaCl}$ $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} + 7\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $4\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	[49, 54]
Дикальциевый фосфат CaHPO_4	1,00	a	6,90	7,02		$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\rightarrow \text{CaHPO}_4 + 2\text{H}^+ + \text{HPO}_4^{2-} + \text{H}_2\text{O}$ $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2(\text{насыщ}) + \text{Na}_2\text{HPO}_4 \rightarrow$ $\rightarrow \text{CaHPO}_4 \downarrow + 2\text{NaH}_2\text{PO}_4$	[56]

Продолжение таблицы 1.2

1	2	3	4	5	6	7	8
Октакальциевый фосфат $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	5,5 – 7	96,6	95,9		$8\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{CH}_3\text{COONa} \rightarrow$ $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + 2\text{NaH}_2\text{PO}_4 +$ $2\text{CH}_3\text{COOH}.$ $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + 7\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4(\text{HPO}_4)_2 \cdot$ $5\text{H}_2\text{O} \downarrow + \text{Ca}(\text{OH})_2$	[57-63]
Аморфный фосфат кальция $\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot z\text{H}_2\text{O}$	1,20 – 2,20	> 5	25,7 – 32,7	–		$x\text{Ca}^{2+} + y\text{HPO}_4^{2-} + y\text{OH}^- + (n-y)\text{H}_2\text{O} \rightarrow \square$ $\rightarrow \text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n\text{H}_2\text{O} \downarrow$	[64]
Гидроксиапатит $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	1,67	9,5 – 12	58,4	58,6		$10\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 6(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + 8\text{NH}_4\text{NO}_3 \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{NH}_4\text{NO}_3 + 6\text{H}_2\text{O}$ $10\text{Ca}(\text{OH})_2 + 6(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 12\text{NH}_3 + 18\text{H}_2\text{O}$ $10\text{CaCl}_2 + 6\text{K}_2\text{HPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 12\text{KCl} + 6\text{HCl}$ $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O} + \text{CaHPO}_4 \rightarrow \text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	[28, 44]
Нестехиометрический осажденный гидроксиапатит (кальций дефицитный) $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	1,5 – 1,67	6,5 – 9,5	~ 85,1	~ 85,1		$3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_5(\text{HPO}_4)\text{OH} + (3n-1)\text{H}_2\text{O}$ $3\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_9(\text{PO}_4)_5(\text{HPO}_4)\text{OH}$	[28, 65]

Продолжение таблицы 1.2

1	2	3	4	5	6	7	8
α -Трикальциевый фосфат $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	б	25,5	25,5		$T = 1180\text{-}1400\text{ }^\circ\text{C}$ (твердофазн.) $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \rightarrow \alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ $2\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 + 3\text{CaCO}_3 \rightarrow$ $\rightarrow \alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + 3\text{CO}_2\uparrow + 3\text{H}_2\text{O} + 2\text{NH}_3\uparrow$ $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{CaCO}_3 \rightarrow$ $\rightarrow \alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CO}_2\uparrow$	[66, 67]
β -Трикальциевый фосфат $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	б	28,9	29,5		$T < 1150\text{ }^\circ\text{C}$ (твердофазн.) $\text{CaCO}_3 + \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \rightarrow \beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CO}_2\uparrow$ $T \sim 800\text{ }^\circ\text{C}$ $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH} \rightarrow \beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2 +$ $+ \text{H}_2\text{O}$	[65, 68-72]
Тетракальциевый фосфат $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$	2,00	б	38 – 44	37 – 42		$T > 1300\text{ }^\circ\text{C}$ (твердофазн.) $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + 2\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9 + \text{CO}_2\uparrow$ $2\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O} +$ $2\text{CO}_2 + 5\text{H}_2\text{O}$	[73-76]
Оксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$	1,67	б	~ 69	-	-	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{O}_x\text{O}_x + x\text{H}_2\text{O}$ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{O}_x\text{O}_x \rightarrow \square$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O} + (1-x)\text{H}_2\text{O}$	[77, 78]
Фторапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	1,67	б	120.0	122		$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH} + x\text{F}^- \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})_{1-x}\text{F}_x + x\text{OH}^-$	[79]

^a устойчив при $T > 100\text{ }^\circ\text{C}$ ^б твердофазный синтез (реакция на проходит в водной среде)

1.3 Способы и особенности синтеза гидроксиапатита

Так как гидроксиапатит среди других ФК представляет особый интерес для применения его в медицине, хотелось бы сконцентрировать внимание на способах его получения отдельно. Следует упомянуть о том, что много исследований посвящено использованию в медицинской практике природного ГА, извлеченного из костей крупного рогатого скота. Однако процесс получения ГА из костей животных сложен, многостадийен, требует специфичных реагентов, трудо- и энергозатрат, что приводит к значительному повышению стоимости имплантатов. Такие материалы, кроме того, содержат характерные для живой материи патологии и мутации. Именно по этой причине в странах США и ЕС запрещены все препараты, получаемые из губчатой кости и костного мозга крупного рогатого скота. Главное санитарное управление Министерства здравоохранения РФ приказом №15 от 20.12.2000 г. рекомендовало «не применять препараты из кости и мозга крупного рогатого скота и заменять их синтетическими препаратами» [88]. Разработка материалов на основе синтетического ГА позволит снизить общую стоимость имплантатов и сделать их безопасными.

Таким образом, существует потребность в получении синтетического ГА. В качестве наглядной иллюстрации возрастания мирового интереса к материалам на основе ГА и, как следствие, к способам его получения, авторами работы [43] представлена диаграмма (рис. 1.2), показывающая рост числа публикаций, описывающих различные способы синтеза ГА в период с 1999 по 2011 г.г.

К основным способам получения синтетического ГА относятся следующие методы (табл.1.3):

- 1) осаждение из растворов (мокрый метод);
- 2) твердофазный синтез (сухой метод), в т.ч. механический;
- 3) гидротермальный;
- 4) золь-гель;
- 5) гидролиз.

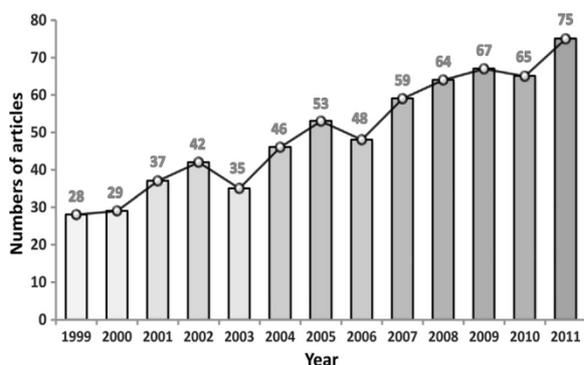


Рисунок 1.2 – Общее число статей, индексируемых Scopus, за период 1999-2011 г.г., посвященных различным методам синтеза ГА

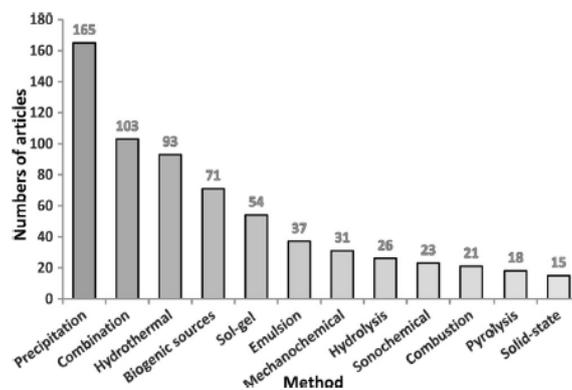


Рисунок 1.3 – Популярность различных методов синтеза ГА, оцененная по данным статей, индексируемых в Scopus, за период 1999-2011 г.г.

Трудоемкость и длительность процессов классических твердофазных и жидкофазных методов синтеза ГА заставляет химиков проводить поиск новых способов его получения и разрабатывать упрощенные технологии синтеза ГА. Показано [43], что около 25 % от общего объема работ (обработано 650 статей), индексируемых Scopus за период 1999-2011, посвящены обычному способу жидкофазного осаждения ГА (рис. 1.3). Популярность «мокрых» методов синтеза может быть связана с доступностью реагентов, экономией ресурсов, а также возможностью осуществления контроля параметров синтеза, влияющих на функциональные свойства конечных продуктов. Но в этом случае следует тщательно соблюдать все условия получения целевого продукта (pH, температура реакции, продолжительность синтеза, концентрации исходных реагентов и др.), в противном случае трудно добиться хорошей воспроизводимости и требуемых характеристик получаемых материалов. Исследование фазовой диаграммы тройной системы CaO-H₂O-P₂O₅ при разных температуре и давлении водяных паров показало, что двухфазная область, где ГА находится в равновесии с жидкостью, очень узка и допускает лишь незначительные изменения отношения CaO/P₂O₅. Уменьшение содержания воды в образцах приводит к экстремальному сужению данной области [44]. Поэтому неперенным условием получения однофазного ГА является строгое соблюдение стехиометрических соотношений исходных реагентов.

Таблица 1.3 – Основные группы методов синтеза гидроксиапатита

Тип синтеза	Условия (формулировка)	Основные реакции получения	Преимущества методов	Недостатки методов	Литература
Твердофазный + механохимический	Твердофазный синтез – получение ГА путем применения твердофазных реакций, диффузионных процессов в результате прокаливания при 1000-1300 °С смесей предварительно измельченных соединений, содержащих ионы кальция и фосфат-ионы. В качестве источника OH ⁻ групп используют атмосферу паров воды. Механохимический синтез – исходные вещества измельчают на планетарной мельнице при поддержании стехиометрического соотношения между реагентами	$6\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{CaO} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 14\text{H}_2\text{O}$ $10\text{CaCO}_3 + 6\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4 \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 8\text{H}_2\text{O} + 10\text{CO}_2 +$ $+ 6\text{NH}_3$ $6\text{CaHPO}_4 + 4\text{Ca}(\text{OH})_2 \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 6\text{H}_2\text{O}$ $6\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 4\text{CaCO}_3 \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 14\text{H}_2\text{O} + 4\text{CO}_2 \uparrow$	Является достаточно простым методом синтеза, не требует дорогих реагентов и технического оборудования, поэтому может использоваться при получении ГА в больших количествах. Высокая степень кристалличности	Требует много времени, энергоемкости и высоких температур. Неоднородность фазового состава и структурных свойств продуктов синтеза: крупные частицы с нерегулярной структурой	[89-92]
Гидротермальный	Гидротермальный синтез включает реакции, проходящие при высоких давлениях и температуре	$3\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + 4\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ $6\text{CaHPO}_4 + 4\text{CaCO}_3 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 4\text{H}_2\text{CO}_3$	Чистота, соответствие продукта синтеза заданной стехиометрии	Требует дорогостоящей аппаратуры, высоких материальных затрат	[93, 94]
Жидкофазный	Основаны на осаждении ГА при смешивании водных растворов соединений, содержащих ионы кальция и фосфат-ионы, при сохранении pH выше 7 и выдерживании осадка в соответствующих условиях	$10\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 6(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + 8\text{NH}_4\text{OH} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{NH}_4\text{NO}_3$ $10\text{Ca}(\text{OH})_2 + 6\text{H}_3\text{PO}_4 \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 18\text{H}_2\text{O}$ $10\text{CaCl}_2 + 6\text{K}_2\text{HPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 12\text{KCl} + 6\text{HCl}$	Не требует дорогих реагентов, технического оборудования. Возможность получать наноразмерные порошки с однородной морфологией	Сложность контроля большого числа управляющих параметров синтеза, плохая воспроизводимость морфологии получаемых частиц, возможность встраивания в структуру ГА ионов побочных продуктов синтеза	[95-97]
Золь-гель методы	Для получения требуемого продукта исходные реагенты переводят в коллоидный раствор, затем – в гель, сухую массу которого после удаления растворителя подвергают термическому разложению	$10\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COOH})_2 + 6(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_3\text{PO} +$ $+ 20\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{золь} \rightarrow \text{гель} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{CH}_3\text{COOH} \uparrow +$ $+ 18\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \uparrow$	Получение однородного продукта при относительно невысоких температурах синтеза	Относительно высокая стоимость исходных реагентов	[98-102]
Гидролиз	Формирование ГА за счет взаимодействия с водой плохо других фосфатов кальция	$10\text{CaHPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 4\text{H}_3\text{PO}_4$ $3\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9 + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 2\text{Ca}(\text{OH})_2$	Возможность управлять морфологией, удельной поверхностью, кристалличностью, стехиометрией продуктов синтеза	Длительность процесса, наличие примесей в составе продуктов синтеза ионов, используемых для осуществления перехода фосфатов кальция в ГА	[103-106]

На втором месте по распространенности смешанные и гидротермальные методы синтеза ГА – 16 и 14 % статей, соответственно. При этом интересно отметить, что твердофазным способам получения ГА уделяется значительно меньшее внимание в литературе, что, по-видимому, связано с ограниченным контролем размеров частиц и их микроструктурных характеристик. При этом твердофазный синтез ГА является более длительным и энергоемким.

Известно, что на свойства синтетического ГА оказывают влияние условия его синтеза. Факторами, влияющими на морфологию синтезированных из раствора кристаллов ГА, являются исходные концентрации растворов, температура синтеза, ионная сила и рН раствора, концентрация примесного иона-модификатора. Так, авторами работы [107] проведено исследование влияния анионов NO_3^- , CH_3COO^- , Cl^- на морфологию кристаллов ГА. Установлено, что микроморфология полученных образцов меняется в зависимости от природы исходных анионов (нитрат, ацетат, хлорид): пластинки, иглы, равноосные частицы. Различия в размерах и форме кристаллов могут быть объяснены различным взаимодействием анионов исходных солей с ГА: адсорбция ацетата на поверхности гидроксиапатита, замещение хлоридом гидроксильных групп, «инертность» нитрата (считается, что нитратный ион является немодифицирующим, так как слабо адсорбируется на гранях кристаллов ГА и не склонен к встраиванию в кристаллическую структуру апатита). В работе [108] установлено, что увеличение продолжительности сливания реагентов снижает содержание посторонних фаз; с увеличением концентрации исходных растворов уменьшается доля фазы ГА в порошке. Увеличение времени старения осадка способствует также увеличению дисперсности и уменьшению размеров частиц [109]. Снизить агрегированность порошков можно также за счет использования органических жидкостей с низким поверхностным натяжением. Так, в результате добавления этанола и толуола в порошки на завершающей стадии синтеза и на стадии последующей сушки были получены порошки системы ГА-ТКФ с $S_{\text{уд}} > 90 \text{ м}^2$ [110]. Авторы работы [111] установили влияние ионов Mg^{2+} , CO_3^{2-} , $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ на процесс формирования ГА. Показано, что при увеличении концентрации магния наряду с образованием аморфного фосфата кальция происходит

осаждение струвита; карбонат-ионы ухудшают кристалличность получаемого ГА, а их избыток приводит к образованию кальцита; оксалат-ионы оказывают незначительное влияние на состав твердой фазы ГА.

Таким образом, с целью синтеза чистого ГА необходимо тщательно следить за условиями его получения, при этом возможность варьирования свойствами ГА открывает химикам возможность получать готовый продукт с необходимыми характеристиками.

Помимо описанных выше методов получения ГА существуют так называемые комбинированные методы синтеза [43]. С целью улучшения свойств конечного продукта и возможности варьирования фазовым составом продуктов синтеза две и более отдельных методики могут быть объединены в одну. Использование комбинированных методик низко- и высокотемпературных синтезов находит широкое применение на практике.

Следует отметить, что активно возрастает интерес к получению нанопорошков гидроксиапатита [43, 112-115].

Получение порошка с наноразмерными частицами можно добиться путем введения в реакционную систему выгорающих добавок (агар-агар, желатин, коллаген, хитозан, каррагинан и др.)

Наноразмерные порошки ГА, в отличие от плотноспеченных высококристаллических порошков ГА, характеризуются повышенной биоактивностью, что связано с высокими значениями удельной поверхности, пористости, растворимости и др. Они могут быть использованы для доставки лекарственных препаратов в организм человека на клеточном уровне, а также для изготовления нанокристаллической керамики [116-118].

Варьирования физико-химических свойств ГА в ходе синтеза можно добиться за счет применения дополнительных способов воздействия на реакционную смесь: ультразвуковой и микроволновой методы [119-123]. Использование дополнительных физико-химических воздействий в ходе синтеза ГА позволяет варьировать такие свойства продуктов синтеза, как фазовый состав, размер частиц, степень кристалличности и др.

1.4 Структура гидроксиапатита, возможности модифицирования

Гидроксиапатит по своим структурным характеристикам, относится к большому классу минералов – апатитам, имеющим общий состав $M_{10}(ZO_4)_6X_2$, где М – 1-3-зарядные катионы (K^+ , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Na^+ , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Th^{3+} , Ni^{2+} и др.); ZO_4 – 1-4-зарядные анионы (PO_4^{3-} , SiO_4^{4-} , CO_3^{2-} , AsO_4^{3-} , SO_4^{2-} , VO_4^{3-} и др.); X – 1-2-зарядные анионы (F^- , Cl^- , OH^- , O^{2-} , CO_3^{2-} и др.) [124]. Кристаллы гидроксиапатита относятся к гексагональной сингонии с пространственной группой $P6_3/m$ и параметрами элементарной ячейки (рис. 1.4, 1.5) $a = 0,9418$ нм, $c = 0,6884$ нм.

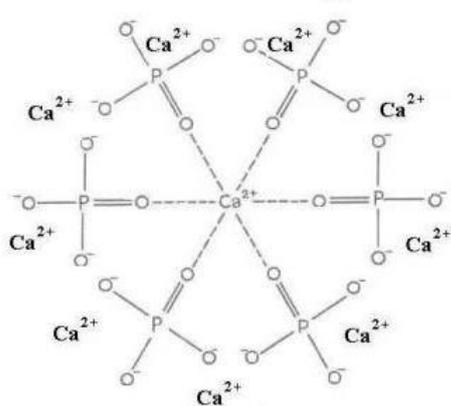


Рисунок 1.4 – Структурная формула элементарной ячейки ГА

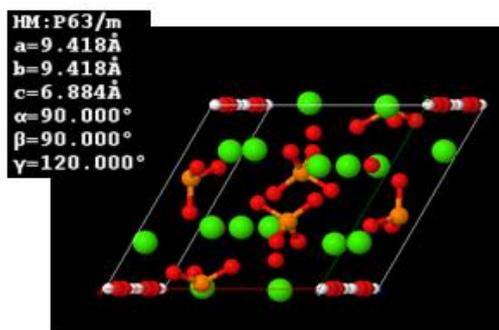


Рисунок 1.5 – Пространственное расположение атомов в элементарной ячейке ГА

Вместо указанных катионов в структуру апатита могут входить также редкоземельные элементы и до половины всех элементов Периодической Системы Д.И. Менделеева, хотя большинство из них замещают основные лишь в следовых концентрациях [124]. В случаях замещений с изменением зарядности катиона-заместителя (гетеровалентном замещении) электрическая нейтральность вещества сохраняется путем компенсирующих анионных замещений или образования вакансий. Например, заместителями двухзарядного иона кальция часто являются однозарядные ионы натрия и калия, а заместителем трехзарядного иона ортофосфата при этом служит двухзарядный карбонат-ион. Способность к замещениям в анионной и катионной подрешетках апатита и происходящая из-за

этого изменчивость структурных характеристик и физико-химических свойств являются объектом многочисленных исследований [28, 86, 125].

1.5 Изоморфные замещения в апатитах

Минеральные фазы природной костной ткани, дентина и эмали содержат значительное количество биологически важных элементов. При синтезе частично-замещенных гидроксиапатитов специально вводят в структуру ГА некоторые анионы и катионы с целью варьирования различными физико-химическими и биохимическими свойствами ГА: дисперсность, морфология, растворимость, термическая стабильность, адгезивные свойства и др. Анионные и катионные замещения оказывают значительное влияние на биологическое поведение ГА. Известно, что замещения в синтетическом ГА оказывают влияние и на его взаимодействие с протеинами, клетками и внеклеточными жидкостями организма [28]. В этой связи вопрос об изоморфных замещениях в гидроксиапатитах представляется весьма важным [10].

Разнообразие катионных и анионных замещений оправдано гибкостью структуры апатита. Катионные замещения могут происходить во всем диапазоне состава, как это происходит с Sr^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+} или только в ограниченной степени, как в случае небольших ионов, которые ингибируют кристаллизацию ГА, такие как Zn^{2+} и Mg^{2+} [28].

1.5.1 Анионные замещения

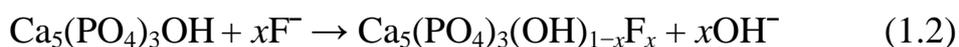
Так как структура ГА условно стехиометричная и позволяет разного рода замещения одних элементов другими, то в связи с этим проводится большое количество исследований, посвященных ионным замещениям в структуре ГА. Компенсация заряда при анионном замещении в структуре апатита происходит согласно различным компенсирующим механизмам и зависит от заряда замещающего аниона. Одновалентные анионы (F^- , Cl^-) замещают OH^- -группы в анионном канале без дисбаланса зарядов. Бивалентные анионы (HPO_4^{2-} , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , SeO_3^{2-} , SeO_4^{2-}) при замене трехзарядных фосфатных групп уравниваются образованием вакансий по OH^- -группе и катиону Ca^{2+} . В

случае четырехзарядного аниона (SiO_4^{4-}) отрицательный заряд компенсируется образованием вакансии по гидроксид-иону [86].

Ниже представлено описание особенностей свойств наиболее интересных ион-замещенных ГА – фтор-, карбонат- и кремний-гидроксиапатитов.

Фтор-модифицированный гидроксиапатит

Ионы фтора сравнительно легко замещают гидроксильные ионы в растворах (2), формируя фторапатит (ФГА) $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})_{1-x}\text{F}_x$ ($0 < x < 1$), поскольку ФГА менее растворим ($\text{pPP}_{\text{ФГА}} = 59.5-61.0$), чем ГА ($\text{pPP}_{\text{ГА}} = 58.6$) [126]:



Замещение ионами F^- может происходить во всем диапазоне состава, причем замещение F^- -ионами облегчается их способностью образовывать водородные связи, что обеспечивает повышенную стабильность и кристалличность ФГА. С меньшей растворимостью ФГА связано использование фторсодержащих зубных паст для профилактики кариеса. Использование ФГА в качестве материала для имплантата способствует улучшению его стабильности в химически активной среде человеческого организма при сохранении биоактивности и биосовместимости, присущих ГА [127, 128]. Фторсодержащие соединения также используются для лечения остеопороза [129].

Несмотря на то что ФГА обладает привлекательным сочетанием химической устойчивости и биосовместимости, имеются данные, что при полной замене всех OH^- -групп в структуре ГА на F^- -ионы с образованием фторапатита $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ материал полностью теряет свойства остеокондуктивности (способность материала играть роль пассивного матрикса для новой кости, обеспечивающего отложение полноценной костной субстанции на своей поверхности в трех плоскостях). Завышенное содержание фтора может привести к тяжелым побочным эффектам, таким, например, как остеомаляция (заболевание, характеризующееся недостаточной минерализацией костной ткани, сопровождающееся увеличением общего объёма костного вещества с одновременным уменьшением его общей минерализации), мужское бесплодие и

даже рак [130, 131]. В связи с этим продолжается поиск оптимального содержания фтора в структуре ГА для достижения необходимых биологических свойств.

Значительный интерес исследователей в области анионных замещений вызывает исследование карбонат- и кремний-замещенных ГА.

Карбонат-модифицированный гидроксиапатит

Особое место при исследовании стехиометрических отношений минерала кости занимает вопрос о замещении карбонат-ионами [132-134]. Это один из ионов, содержащихся в кости в наибольшем количестве. В зависимости от возраста человека, содержание CO_3^{2-} -групп в карбонатгидроксиапатите (КГА) достигает от 2,3 до 8,0 масс. % [10, 48, 61]. Биологический апатит костных и зубных тканей, всегда дефицитный по кальцию, содержит значительное количество карбонатных групп [135, 136].

Карбонатные группы могут занимать два положения в структуре ГА, замещая соответственно группы OH^- (А-тип замещения) либо PO_4^{3-} (Б-тип). Замещение анионов PO_4^{3-} карбонат-ионами приводит к уменьшению размеров кристаллов и степени кристалличности ГА и ускорению скорости биорезорбции [137]. Как природная костная ткань, так и синтетический карбонат-содержащий гидроксиапатит, получаемый осаждением из растворов, как правило, имеет смешанный АБ-тип замещения. Превалирующий тип замещения зависит от содержания карбонат-ионов: при содержаниях CO_3^{2-} более 4 масс. % они предпочтительно занимают Б – позиции в структуре. Увеличение содержания карбонатных-групп в структуре ГА способствует увеличению биорезорбции.

Карбонат-содержащий ГА термически нестабилен, что значительно ограничивает области его применения, так как проблематично изготовление керамики на его основе. Исследования КГА разных составов выявили, что разложение начинается уже при температурах 300-400 °С с выделением CO и CO_2 [61, 138-140]. По данным химического анализа КГА теряет более 50 % карбонатных групп после термообработки при 1100 °С [141, 142].

Кремний-модифицированный гидроксиапатит

Ряд работ [143-150] посвящен изучению анионного замещения фосфатных групп анионами SiO_4^{4-} . Установлено, что присутствие кремния в объеме и на поверхности материала сильно изменяет его биохимические свойства: ускоряет сращивание имплантата с костью (остеоинтеграцию), повышают скорость остеогенеза *in vivo* при имплантировании Si-содержащей керамики. Процесс ремоделирования костной ткани, включающий образование коллагеновых фибрилл и последующую кристаллизацию на них апатита, происходит примерно в 2 раза быстрее на кремний-содержащем гидроксиапатите (SiГА), чем на ГА в отсутствие кремния. Образцы SiГА можно получать с использованием различных кремний-содержащих реагентов, обеспечивающих наличие силикат-ионов в реакционной системе, таких, например, как $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_4\text{Si}$, $(\text{CH}_3\text{COO})_4\text{Si}$ или коллоидного SiO_2 .

Исходя из общих положений теории изоморфной смесимости, разница в размерах тетраэдрических анионов (расстояния $\text{Si-O} = 1,66 \text{ \AA}$, $\text{P-O} = 1,55 \text{ \AA}$) должна приводить к дестабилизации структуры при замещении фосфат-иона на силикат-ион. Наиболее благоприятные возможности для релаксации возникающих микронапряжений в структуре связаны с поверхностной сегрегацией силикатных ионов в апатите. Следовательно, есть основания полагать, что основная масса кремния в однофазных образцах сосредоточена в поверхностном слое частиц ГА.

Таким образом, SiГА является весьма перспективным материалом для улучшения биологической активности ГА. Но, несмотря на большое количество исследований, проводимых в области синтеза и изучения свойств кремний-модифицированных апатитов, далеко не все задачи решены [144]:

- растворимость Si в объеме кристаллической решетки ГА (и её предел); актуальность этой проблемы вызвана тем, что кремний склонен к выделению на свободных поверхностях и на границах зерен;
- компенсация заряда при гетеровалентном замещении кремнием ионов ГА и его влияние на термическую стабильность фазы ГА;
- выявление влияния кремния на процесс спекания ГА-керамики.

1.5.2 Катионные замещения

Существенное влияние на химические и биологические свойства ГА оказывают катионные замещения. Например, известно, что свинец из физиологической среды имеет тенденцию накапливаться в костных тканях и зубной эмали, оказывая отрицательное влияние на их жизнедеятельность [10]. Содержание натрия в костной ткани достигает 0,9 масс. %; концентрация калия на порядок ниже этой величины.

Катионные замещения в структуре ГА способны вызвать изменения в параметрах кристаллической решетки и степени кристалличности, которая, как известно, существенно влияет на растворимость ГА в физиологических условиях. При этом не происходит значительных изменений симметрии решетки апатита. К наиболее интересным катионным замещениям относится замещение ионами Mg^{2+} . Кроме того представляет интерес создание материалов, содержащих такие катионы как Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+} [151-153], Ba^{2+} [154, 155] и Sr^{2+} [156, 157], а также Al^{3+} , Fe^{3+} , La^{3+} , [158, 159].

Магний-модифицированный гидроксиапатит

Содержание ионов магния составляет от 0,5 масс. % в зубной эмали до 1,23 масс. % в дентине. Магний играет важнейшую роль в физиологических процессах. Проведены эксперименты синтезов и исследований физико-химических свойств магний-содержащего ГА (MgГА) [160]. Установлено, что гранулы MgГА способствуют изначально более медленному костному вращанию, но как только костная ткань проникает внутрь гранулы MgГА, обнаруживаются более благоприятные условия для прорастания. Это объясняется составом, наноразмерностью, растворимостью и др. характеристиками материала магний-содержащего гидроксиапатита.

Исследования [161], проведенные *in vivo* показывают, что MgГА оказывается предпочтительней в качестве заменителя костной ткани, чем стехиометрический ГА, так как магний-замещенный ГА проявляет большую остеокондуктивность и резорбцию с течением времени. При этом показано, что магний оказывает дестабилизирующее действие на структуру гидроксиапатита [162]. Это связано с

тем, что магний (0,78 Å) имеет значительно меньший ионный радиус, чем кальций (1,06 Å) [163]. Также положительные результаты показали исследования образцов Si-, Mg-созамещенного гидроксиапатита [164].

Марганец-модифицированный гидроксиапатит

С биологической точки зрения марганец очень важный компонент, принимающий участие в синтезе мукополисахаридов – соединений, ответственных за формирование хрящевой ткани. Дефицит марганца может приводить к задержке процессов остеогенеза из-за низкой активности остеобластов, что в свою очередь способствует деформации кости и снижению ее роста, ухудшению координации движения и даже костной резорбции. Имеются исследования, показывающие, что присутствие добавки марганца в кристаллической структуре ГА влияет на адгезию костных клеток [165, 166].

Марганец вводят в структуру ГА при помощи различных соединений, таких например, как $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Mn}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2$, MnCl_2 и др. Марганец может входить в структуру ГА в виде Mn^{2+} и изоструктурных фосфат-иону MnO_4^{3-} -ионов. Во втором случае в ИК спектрах такого марганец-модифицированного ГА (MnГА) появляются дополнительные полосы низких интенсивностей при 818 см^{-1} и 833 см^{-1} , соответствующие ν_1 и ν_3 колебаниям MnO_4^{3-} -ионов [165]. Наличие оксидов марганца (II, III, IV), появляющихся в результате высокотемпературного обжига ГА ($> 900\text{ °C}$), приводит к изменению цвета образцов в зависимости от температуры обжига в серо-зеленый, серый, коричневый или черный цвет. Образцы ГА, модифицированные марганцем в степени окисления +5, как правило, имеют сине-голубую окраску, причем с увеличением содержания марганца в образце окраска становится более интенсивной.

Показано [166], что введение ионов марганца в структуру ГА (без образования вторичной фазы) оказывает влияние на размер его частиц (с увеличением содержания марганца Mn^{2+} в структуре ГА уменьшается размер его частиц), морфологию (при модифицировании ионами марганца(II) помимо сферических частиц появляются частицы со стержневидной формой), скорость роста кальций-фосфатного слоя в модельном SBF-растворе.

Таким образом, различного рода катионные и анионные замещения позволяют задавать и управлять функциональными свойствами гидроксиапатитов. Несмотря на это остается много нерешенных проблем, таких например, как механические показатели материалов, отсутствие гибкости и эластичности, присущей натуральной костной ткани, низкая биорезорбируемость и т.д. Решения перечисленных проблем могут быть найдены при создании полимерных композитов на основе ФК и, в частности ГА (в т.ч. ион-модифицированного).

1.6 Полимеры, применяемые в реконструктивной медицине

Важным принципом при создании биоматериалов для имплантации является воспроизведение основных характеристик натуральной костной ткани, потому что именно уникальное строение кости (химический состав, морфология и структура) оказывает сильное влияние на процессы регенерации. Гидроксиапатит как основной неорганический компонент костной ткани несет основную механическую нагрузку в организме, а эластичность и гибкость кости придает, как известно, биополимер – коллаген. Скорость нарастания новой костной ткани на поверхности ГА выше скорости его биодеградации в жидкостях организма, а это зачастую приводит к необходимости проведения повторной операции. Разработка композиционных структур на основе ГА и полимеров позволит создать материал с оптимальным временем резорбции в организме, причем скорость роста новой костной ткани должна соответствовать скорости растворения имплантируемого материала.

Поиск необходимых материалов для медицинских имплантатов и создание композитов на основе ФК и различных полимеров требуют особых подходов, так как исследования такого рода находятся на стыке наук химии и медицины. Разработка способов улучшения прочностных, биохимических и других важных свойств композитов на основе ФК включает три основные задачи:

- 1) получение композитов на основе компонентов, которые способны связывать ФК и упрочнять материал;
- 2) поиск оптимального соотношения выбранных компонентов;

3) изучение физико-химических взаимодействий между компонентами с целью управления функциональными свойствами материалов.

Работы в этом направлении ведутся учеными разных стран на протяжении нескольких десятилетий [1, 6, 167-170]. В качестве основных полимеров, применяемых в медицине, используются полиэтилен (ПЭ), полиметилметакрилат (ПММА), полиуретаны, полилактид (ПЛ), полигликолид (ПГ), их сополимеры, политетрафторэтилен (ПТФЭ), полисилоксаны и др. Основные представители полимеров, их применение в медицине, преимущества и недостатки приведены в таблице 1.4.

1.7 Полимерные композиты на основе гидроксиапатита

Среди подходов, направленных на улучшение биохимических и механических свойств биоматериалов на основе ГА, в последние 10–15 лет сформировалось направление исследований, ориентированное на получение композитов ГА с полимерами [188, 189]. Известно, что биокерамика на основе чистого ГА подвергается крайне медленной биорезорбции и является материалом, не способным выдерживать резкие механические нагрузки организма из-за собственной хрупкости и низкой прочности [190]. Сочетание ГА и/или других ФК с выполняющими роль матрицы органическими полимерами, особенно способными подвергаться биологическому разложению, может позволить избежать перечисленных недостатков. Однако, со стороны выбора полимерной составляющей также не все просто. Имеется много проблем, выявленных в клинической практике, при использовании различных полимеров.

В результате клинического опыта установлено [4-6], что основными проблемами являются: сложность управления скоростью распада биodeградируемых полимеров в естественных условиях, слабая адгезия наполнителя к полимерной матрице, плохая и неравномерная пролиферация клеток на полимерных поверхностях, цитотоксичность продуктов распада, образующихся при процессе деградациии полимеров, а также низкие механические показатели, несравнимые с естественными показателями твердых тканей.

Таблица 1.4 – Синтетические полимеры медицинского назначения, их преимущества и недостатки

Название полимера	Структурное звено	Применения в медицине	Преимущества	Недостатки	Биодеградир- уемость	Литература
Полиэтилен	$\left[\text{CH}_2 - \text{CH}_2 \right]_n$	Эндопротезирование: вкладыши протезов тазобедренных суставов, коленные протезы и имплантаты для позвоночника	Биологическая инертность, высокие прочность и износостойкость, низкие значения ползучести под нагрузкой и коэффициента трения	Быстрое старение, отсутствие эластичности, содержит остаточные свободные радикалы, приводящие к окислительной деградации изделия, низкий ПТР (показатель текучести расплава) и перерабатывается только литьём	–	[171-173]
Полиметил- метакрилат	$\left[\text{CH}_2 - \underset{\text{C}}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}} \right]_n$ $\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O}-\text{CH}_3 \end{array}$	Офтальмология: жёсткие газонепроницаемые контактные линзы и жёсткие интраокулярные линзы; хирургия: утрамбовочный материал при замене суставов	Невысокая стоимость, удобство в эксплуатации, эстетика, низкая плотность, высокие механические показатели	Примеси в составе полимера, появляющиеся в результате его синтеза. Токсичность мономеров при деградации (могут индуцировать рак печени). Низкие показатели ударной вязкости, склонен к деформации	–	[6, 174, 175]
Полиамид	$\left[\text{R} - \text{NH} - \text{C}(=\text{O}) - \text{R}' \right]_n$	Шовная, пластическая, микро- и общая хирургия. Изготовление протезов, хирургических нитей, искусственных кровеносных сосудов	Эластичность и прочность, устойчивость к истиранию; мононить обладает высокими манипуляционными свойствами, гибкостью, легкой удаляемостью	Подвергается усадке, склонность к деформации, гигроскопичность, быстрая потеря механической прочности в <i>in vivo</i>	2-5 лет	[176, 177]
Поливиниловый спирт	$\left[\text{CH} - \text{CH}_2 \right]_n$ OH	Имплантаты кератопротезы, полимерная составляющая костных имплантатов	Высокая степень гидрофильности и полупроницаемость для кислорода и питательных веществ, низкая стоимость	Высокая скорость биодеградации – гидрогели; отсутствие биодеградации у криогелей. Низкие механические показатели		[178-180]
Полилактид	$\text{H} - \left[\text{O} - \underset{\text{CH}_3}{\text{CH}} - \text{C}(=\text{O}) \right]_n - \text{OH}$	Хирургические нити, штифты, пористые биоразлагаемые подложки и матрицы для реконструкции поврежденных тканей и органов, крепежные изделия (штифты, винты и другие), оболочки для систем доставки лекарств пролонгированного действия	Биодеградир-уемость, отсутствие побочных продуктов синтеза и распада в организме, продукты биодеструкции выводятся без остатка из организма	Технологические сложности в производстве, плохая смачиваемость	2-36 мес	[181, 182]
Полигликолид	$\text{H} - \left[\text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O}) \right]_n - \text{OH}$		Высокая прочность, удобство в эксплуатации (не слипаются, легко стерилизуются), продукты биодеструкции выводятся без остатка из организма	Высокая жесткость, малая эластичность	2-6 мес.	[183, 184]
Полилактид-со-гликолид	$\text{H} - \left[\text{O} - \underset{\text{CH}_3}{\text{CH}} - \text{C}(=\text{O}) \right]_x \left[\text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O}) \right]_y - \text{OH}$		Возможность регулирования скоростью биорезорбции и эластичности за счет изменения соотношения мономерных звеньев; хороший стимулятор роста и регенерации тканей	Зачастую сроки биодеградации и полной потери прочности материала в организме недостаточны для заживления большинства медленно заживающих ран	1 мес- < 2 лет	[185-187]

К настоящему моменту разработан и изучен спектр композитов на основе как природных биополимеров (коллаген, хитозан, желатин и т.д.), так и синтетических недеградируемых (ПЭ, ПММА, полисульфоны, криогели поливинилового спирта, полигидроксиэтилметакрилат и др.) и биodeградируемых (синтезированные из природных полиэфиров молочной, гликолевой и других кислот, поликапролактон, полицианоакрилат, гидрогели ПВС и др.) полимеров.

Существенный прогресс в области остеопластических материалов связан с получением композитов на основе природных полимерных материалов, имитирующих взаимодействие минеральной части и коллагеновой матрицы костной ткани. Так, например, в качестве пористых композиционных матриц используются коллаген и хитозан, содержащих биоактивные соединения кальция в качестве наполнителя [191-196]. Поскольку ГА обладает слабой резорбируемостью, то модифицирование его хитозаном приводит к понижению кристалличности, что сказывается на улучшении свойств растворимости. По сравнению с пористой керамикой данные композиты обладают более высокой пористостью и эластичностью. Однако в результате быстрого гидролиза (разрушения) коллагена и хитозана они не пригодны для заполнения полостей большого объема (свыше 4–6 см³). Наряду с этим серьезным недостатком коллагеновых матриц является нерегулируемое время биodeградации и ограниченный срок функционирования коллагеновых изделий (до 1 мес.) в условиях живого организма, что недостаточно для полного восстановления и приводит к формированию рубцовой ткани. К основным недостаткам хитозана можно отнести хрупкость и изменение структуры при стерилизации различными методами, в частности радиационным [6].

Разработка композитов на основе синтетических полимеров позволяет избежать многих из перечисленных проблем. Создание композитов на основе смеси ГА и ПЭ можно выделить в качестве отдельного направления [6, 197] для решения задачи создания материала, максимально приближенного к натуральной кости по своим механическим характеристикам и обладающего долговременной стабильностью *in situ* при реальных физических нагрузках. Главной проблемой

применения на практике чистого ПЭ является асептическое расшатывание (несостоятельность эндопротезов, вызывающая нарушения в обменных процессах костной ткани вокруг компонентов эндопротеза и ведущая к её разрушению с нарушением функции сустава [198]). Для избегания асептического расшатывания и образования осколков имплантируемого материала существуют 2 пути:

- 1) повышение износостойкости, чтобы уменьшить концентрацию частиц износа;
- 2) повышение биосовместимости и биологической активности с целью уменьшения негативных биологических реакций.

Второй путь решения проблемы заключается во включении частиц ГА в полимерную матрицу, способствующих сродству с минеральной составляющей костной ткани, окружающей имплантат. Но здесь возникает новая проблема – слабая адгезия между неполярными полимерными макромолекулами и частицами керамического ГА; к тому же структура ПЭ значительно отличается от структуры природного коллагена. Так физико-механические свойства ПЭ, армированного частицами ГА, в лучшем случае, могут достигать нижнего значения в диапазоне механических показателей человеческой кортикальной кости, в связи с чем такие композиты имеют ограниченное применение в клинической практике. Для решения перечисленных выше проблем предложены [199, 200] композиты с ГА на основе полиамида (ПА), макромолекулы которого являются полярными (в отличие от ПЭ). ПА имеет структуру, аналогичную костному коллагену. Одним из клинических применений композитов ГА-ПА является создание позвоночного протеза на их основе. Но, к сожалению, одним из главных недостатков полиамидов является их повышенная гидрофильность, в связи с чем материалы на их основе быстро теряют в своих механических показателях, что заставляет ученых не останавливаться в поисках более оптимальных материалов для имплантатов.

К полимерам, сохраняющим свою биостабильность и высокие механические показатели в средах организма, относится полиметилметакрилат. До настоящего времени ПММА остается одним из наиболее широко используемых в

биомедицинской практике полимеров [6, 174, 175]. Распространению этого материала способствовали комплекс его относительно высоких физико-механических показателей и возможность получения из него изделий сложной конфигурации методом заливочных компаундов при невысоких температурах. Но одним из главных недостатков акрилатов является их усадка в процессе полимеризации и последующей обработки, которая может быть частично подавлена увеличением молекулярной массы используемых мономеров и /или добавлением неорганических наполнителей, в частности ФК, а особенно ГА. Помимо улучшения физико-механических характеристик ФК, как известно, создают координационные соединения с компонентами костной ткани, становясь ее частью. Это, в свою очередь, приводит к значительному усилению интерфейса между композитом и костной тканью по сравнению с чисто полимерными цементными материалами. Тем не менее, как правило, введение значительного количества дисперсного наполнителя, приводит к заметному снижению ударной вязкости получаемых композитов (а у ПММА она и так считается очень низкой ~ 5 кДж/м²). К тому же композиты ГА с недеградируемыми полимерами, несмотря на хорошие механические характеристики (модуль Юнга, прочность на сжатие, растяжение и изгиб), значительно снижают биосовместимость ГА.

Разработка и создание композитов на основе ГА и биodeградируемых ПЛ и его сополимеров с гликолевой кислотой (ПЛГ) в настоящее время является, пожалуй, наиболее привлекательным направлением [201-203] в области имплантационной медицины. Это связано с наличием у ПЛ и ПЛГ необходимых для биоматериалов и уникальных среди других полимеров ряда функциональных свойств. Во-первых, они обладают способностью стимулировать рост новой костной ткани за счет повышенной на своей поверхности клеточной адгезии, высокими остеокондуктивностью и остеоиндуктивностью. Во-вторых, механические показатели ПЛ и ПЛГ значительно превышают механические свойства других биodeградируемых полимеров. Так комбинирование ПЛ с ГА резко \sim в 5–20 раз усиливает механические свойства композита по сравнению с системами ГА/коллаген, хитозан. К тому же, состав и структура этих полимеров

позволяют варьировать скорость биodeградации посредством изменения стериометрии, соотношения мономерных звеньев в составе полимерной цепи сополимера ПЛГ и молекулярной массы полимеров. Несмотря на то, что проблема слабой адгезии между полимерной матрицей и наполнителем также существенна для композитов ГА-ПЛ (ПЛГ), их разработка остается весьма интересной и актуальной в настоящее время задачей в связи с уникальными свойствами полимерной составляющей.

Поэтому важным шагом по улучшению механических характеристик современных минерал-полимерных композитов является поиск и разработка методов увеличения адгезии или образования устойчивых химических связей между поверхностью микрочастиц ГА и полимерной матрицей.

1.8 Постановка цели и задач исследования

Анализ современной и фундаментальной литературы в области разработки биосовместимых материалов на основе фосфатов кальция, в том числе гидроксиапатита, способов варьирования их функциональных свойств, а также создания полимерных композитов на основе ГА наглядно продемонстрировал, что имеется множество требующих решения проблем, а успех создания оптимального материала зависит от большого числа факторов. Несмотря на большое количество предлагаемых биоматериалов для имплантатов, до сих пор не найден удовлетворяющий всем выявленным на практике требованиям материал.

Так при получении материалов для имплантатов важно учитывать два биохимических процесса, протекающих в противоположных направлениях, при вживлении имплантата в среду организма. С одной стороны, материал на основе фосфатов кальция, подвергаясь процессам биорезорбции, является источником ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} , в связи с чем получаемый материал должен обладать необходимой скоростью растворения в жидкостях организма. С другой стороны, участвуя в процессах адгезии этих же ионов в среде *in vivo*, материал способствует формированию нового костного вещества на своей поверхности, что формулирует требование остеоиндуктивности. Соблюдение этого баланса

позволит разработать материал, главным образом сочетающий в себе биоактивность и биорезорбируемость.

Глубокий анализ современной научной литературы позволил обосновать цель диссертационной работы.

Целью работы является разработка технологии получения и исследование физико-химических свойств биорезорбируемых материалов на основе синтезированного при СВЧ воздействии модифицированного ГА и композитов немодифицированного ГА с полимерами молочной кислоты.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- разработать и определить условия СВЧ-синтеза немодифицированного ГА; установить влияние СВЧ-излучения на фазовый состав, растворимость и физико-химические свойства ГА;
- осуществить синтез магний- и кремний- модифицированных гидроксиапатитов ($MgGA$ и $SiGA$) с использованием СВЧ-излучения, исследовать их качественный и количественный состав; выявить влияние ионов Mg^{2+} и SiO_4^{4-} на дисперсность, растворимость в физиологическом растворе (рН 7, 20 °С, ω (NaCl) = 0,9 %);
- установить влияние ионов Mg^{2+} и SiO_4^{4-} на кислотно-основные свойства поверхности ГА, способность $MgGA$ и $SiGA$ формировать кальций-фосфатный слой (КФС) на своей поверхности в SBF-растворе (от англ. – Simulated Body Fluid – искусственная межтканевая жидкость) при 37 °С.
- установить состав и технологические режимы создания биорезорбируемых композитов на основе ГА и полимеров молочной кислоты (ПМК); провести исследование растворимости полученных композитов в физиологическом растворе и способности формировать КФС;
- разработать технологическую схему получения биосовместимых композитов на основе ГА и полимера молочной кислоты большой молекулярной массы (полилактид, ПЛ); исследовать их биосовместимость и способность формировать КФС.

ГЛАВА 2. ИСХОДНЫЕ ВЕЩЕСТВА, МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

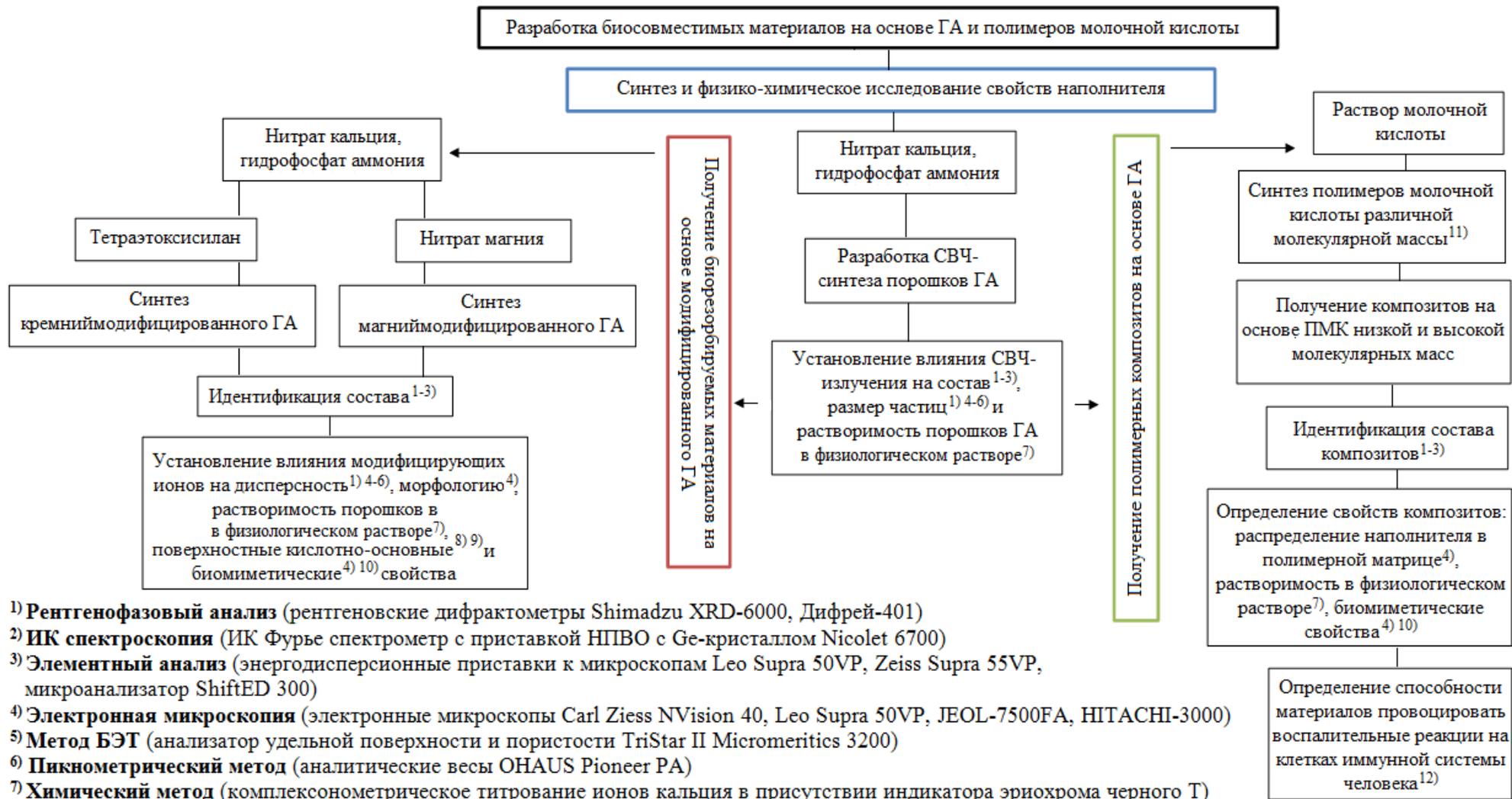
Разработка технологии получения биорезорбируемых материалов на основе синтезированного при СВЧ воздействии гидроксиапатита, в т.ч. модифицированного ионами Mg^{2+} , SiO_4^{4-} , и полимеров молочной кислоты с применением комплекса физико-химических осуществлялась методов в соответствии с методологической схемой работы (рис. 2.1).

2.1 Характеристика веществ, использованных для синтеза и исследования свойств материалов на основе гидроксиапатита

При выполнении экспериментальных работ использованы реактивы марки «хч» и «осч». Реактивы, их назначение в работе, ГОСТы и марки по степени чистоты приведены в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Перечень использованных реактивов и их марки по чистоте

Назначение	Название	Формула	М, г/моль	Марка чистоты	ГОСТ
Синтез ГА, SiГА, MgГА	Тетрагидрат нитрата кальция	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	236	хч	4142-77
	Гидрофосфат аммония	$(NH_4)_2HPO_4$	132	хч	3772-74
Синтез ГА, SiГА, MgГА; буферная смесь	Аммиак	NH_4OH конц.	35	осч	24147-80
Синтез SiГА	Тетраэтоксисилан	$Si(C_2H_5O)_4$	208	осч	201-083-8
Синтез SiГА, промывание осадков ГА, SiГА, MgГА	Раствор этилового спирта, 96 масс. %	C_2H_5OH	46	хч	18300-87
Синтез MgГА	Гексагидрат нитрата магния	$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	256	хч	11088-75
Получение ПМК, ПЛ и композитов на их основе	Раствор L-молочной кислоты, 80 масс. %	$C_3H_6O_3$	90	хч	50-21-5 (CAS)
	пара-толуолсульфокислота	$C_7H_8SO_3$	172	хч	6192-52-5 (CAS)
	Хлороформ	$CHCl_3$	119	хч	20015-88
Определение растворимости образцов в физиологическом растворе	Этилендиаминтетраацетат натрия	$C_{10}H_{14}O_8N_2Na_2 \cdot 2H_2O$	372	чда	10652-73
	Хлорид натрия	$NaCl$	58,5	хч	4233-77
	Хлорид аммония	NH_4Cl	53,5	хч	3773-72
SBF-исследования	Хлорид калия	KCl	75,5	ч	4234-77
	Тригидрат гидрофосфата калия	$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	228	хч	2493-75
	Соляная кислота	HCl	36,5	хч	3118-77
	Гексагидрат хлорида магния	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	203	хч	4209-77
	Сульфат натрия	Na_2SO_4	142	ч	4166-76
	Гидрокарбонат натрия	$NaHCO_3$	84	хч	2156-76
	Хлорид кальция	$CaCl_2$	111	ч	450-77



- 1) Рентгенофазовый анализ (рентгеновские дифрактометры Shimadzu XRD-6000, Дифрей-401)
- 2) ИК спектроскопия (ИК Фурье спектрометр с приставкой НПВО с Ge-кристаллом Nicolet 6700)
- 3) Элементный анализ (энергодисперсионные приставки к микроскопам Leo Supra 50VP, Zeiss Supra 55VP, микроанализатор ShiftED 300)
- 4) Электронная микроскопия (электронные микроскопы Carl Ziess NVision 40, Leo Supra 50VP, JEOL-7500FA, HITACHI-3000)
- 5) Метод БЭТ (анализатор удельной поверхности и пористости TriStar II Micromeritics 3200)
- 6) Пикнометрический метод (аналитические весы OHAUS Pioneer PA)
- 7) Химический метод (комплексометрическое титрование ионов кальция в присутствии индикатора эриохрома черного Т)
- 8) Адсорбции СО (ИК Фурье спектрометр Shimadzu 8300)
- 9) Каталитическая активность (окислительное дегидрирование пропана)
- 10) СБФ-исследования (в среде, имитирующей по составу бесклеточную жидкость организма)
- 11) Гель-проникающая хроматография (мультидетекторная система GPC Agilent System 1100)
- 12) Иммуноферментный анализ, ИФА (проводился в 96-луночных планшетах с фотометрическим измерением оптической плотности на микропланшетном ридере Infinite 200 NanoQuant)

Рисунок 2.1 – Структурно-методологическая схема работы

2.2 Особенности применения СВЧ-излучения в ходе синтеза неорганических веществ

Одной из важнейших задач современной химии является разработка новых методов синтеза веществ и материалов, позволяющих снизить энергозатраты и увеличить скорость образования конечных продуктов [204]. Дополнительная обработка (термическая, механохимическая, магнитная, ультразвуковая или микроволновая) реакционных смесей позволяет интенсифицировать процессы *in situ*, ускоряя реакции. Следует отметить, что физико-химические свойства веществ и материалов, синтезированных с использованием этих подходов, не только не уступают характеристикам веществ, полученных при помощи традиционных методик, но зачастую превосходят их. К числу перспективных методов, позволяющих не только увеличить скорость химических процессов, но и добиться результатов, которые невозможно достичь при помощи других методов, относится микроволновая (сверхвысокочастотным (СВЧ) излучением) обработка реакционных смесей.

Весь спектр электромагнитных колебаний разделен на отдельные диапазоны, в каждом из которых электромагнитное поле обладает определенными особенностями распространения и взаимодействия с веществом [205]. Микроволновой областью спектра электромагнитного излучения называют диапазон частот 300 ГГц–300 МГц (длина волны от 1 мм до 1 м), который располагается в интервале между инфракрасными и радиочастотами (рис. 2.2).

Было обнаружено, что СВЧ-излучение способно в десятки и сотни раз ускорять многие химические реакции, вызывать быстрый объемный нагрев жидких и твердых образцов [206].

Микроволновое нагревание отличается от обычного тем, что тепло генерируется «внутри» материала, а не подводится от внешнего источника нагревания.



Рисунок 2.2 – Спектр электромагнитного излучения, нм

При воздействии на образец СВЧ-излучения нагревание обусловлено взаимодействием его (излучения), во многих случаях обладающего достаточно хорошей проникающей способностью, с молекулами (ионами) по всему объему облучаемого материала [207]. В результате нагревание происходит сразу по всему объему облучаемого образца.

В связи с вышесказанным с целью интенсификации процесса получения ГА и изменения его свойств, синтез ГА осуществлен с использованием СВЧ-воздействия и проведено сравнение ряда его физико-химических свойств со свойствами ГА, полученного классическим методом (без СВЧ-воздействия).

2.3 Методы исследования дисперсных и композиционных полимерных материалов

2.3.1 Метод рентгенофазового анализа

Определение фазового качественного и количественного состава порошков ГА, в т.ч. модифицированного ионами Mg^{2+} и SiO_4^{4-} , а также кристаллических фаз в составе композитов с полимерами молочной кислоты осуществлено методом рентгенофазового анализа (РФА). В основе метода РФА [208] лежит закон Вульфа-Брэгга, согласно которому рентгеновские кванты определенной энергии, падающие на кристалл, отражаются от него строго под определенными углами в соответствии с выражением:

$$2d \cdot \sin \Theta = n \cdot \lambda, \quad (2.1)$$

где d – межплоскостное расстояние, Å; Θ – угол между направлением падающих лучей и отражающей их атомной плоскости; n – целое число; λ – длина волны рентгеновского излучения, нм.

По ширине рефлексов на дифрактограммах можно судить о размере кристаллитов (ОКР, область когерентного рассеяния – характерная область кристалла, рассеивающая рентгеновские лучи когерентно и независимо от других таких же областей; размер ОКР в рентгенодифрактометрических методах, обычно, отождествляют со средним размером кристаллитов, хотя реальный размер ОКР меньше, чем сам кристаллит, поскольку вблизи границы кристаллита он обладает аморфным строением [209]), а по смещению пиков – об образовании твердых растворов (замещения, вычитания, внедрения). Используя метод Шеррера [210], по формуле (2.2) можно оценить размер кристаллитов материалов:

$$\langle d \rangle_{(hkl)} = K\lambda/\beta \cos\theta_{(hkl)}, \quad (2.2)$$

где $\langle d \rangle$ – размер кристаллита, нм; K – постоянная Шеррера, зависящая от формы кристаллита ($K = 0.9$); λ – длина волны рентгеновского излучения ($\lambda = 1.5418$ Å для CuK_α -излучения); β – физическое уширение на полувысоте дифракционного максимума (в единицах радиан); $\theta_{(hkl)}$ – положение дифракционного пика, °. Метод Шеррера основан на том, что при уменьшении размеров зерен растет доля рентгеновского излучения, рассеянного с отклонением от закона дифракции Вульфа-Брэгга, в результате чего рентгеновские пики на рентгенограммах уширяются. Размеры ОКР образцов оценены по значению полуширин пика (002), т.к. он является изолированным от других пиков и его интенсивность достаточно велика.

Рентгенофазовый анализ проведен на дифрактометрах Rigaku MiniFlex 600 и Shimadzu XRD 6000 (излучением $\text{CuK}_\alpha = 1,5406$ Å в интервале $2\Theta = 10\text{--}100$ °) с использованием баз данных PCPDFWIN и JSPDS PDF 4+ и программы полнопрофильного анализа POWDER CELL 2.4.

2.3.2 Метод ИК спектроскопии

Метод колебательной спектроскопии основан на исследовании поглощения электромагнитного излучения с веществом в ИК диапазоне. Поглощение в этой области обусловлено с колебательными переходами в молекулах и кристаллах [211]. ИК спектры порошков ГА, MgГА и SiГА, разбавленных в матрице BaF₂, измерены на ИК-Фурье спектрометре Shimadzu FTIR-8300. ИК спектры поглощения оригинальных образцов чистых полимеров и композитов на их основе (без дополнительной обработки) зарегистрированы на приборе Nicolet 5700 с приставкой НПВО (нарушенное полное внутреннее отражение) с Ge-кристаллом в диапазоне 4000–400 см⁻¹. Идентификация полос поглощения произведена по таблицам характеристических частот на основании литературных и справочных данных [212, 213].

2.3.3 Методы определения элементного состава

Рентгеноспектральный микроанализ (РСМА) – метод определения микроскопических количеств химических элементов в микрообъеме вещества. В случае применения *энергодисперсионный рентгеноспектральный анализа*, осуществляемого с помощью приставки к сканирующему электронному микроскопу, атомы исследуемого образца возбуждаются, испуская характерное для каждого химического элемента рентгеновское излучение. Исследуя энергетический спектр такого излучения, можно сделать выводы о качественном и количественном составе образца [214]. РСМА позволяет установить элементный состав и оценить пространственное распределение элементов по поверхности образца. Содержание элемента рассчитывается из отношения интенсивностей на образце и стандарте с известной концентрацией определяемого элемента в последнем.

Качественный и количественный элементный анализ, а также распределение элементов по поверхности порошков ГА, MgГА и SiГА и полимерных композитов на основе ГА проведено методами

рентгеноспектрального микроанализа (сканирующий электронный микроскоп Leo Supra 50VP с использованием детектора Oxford Instruments X-Max; рентгеноспектральный микроанализатор ShiftED 300; сканирующий электронный микроскоп Zeiss Supra 55VP) как в отдельных точках, так и по площадям.

2.3.3 Метод гель-проникающей хроматографии

Метод гель-проникающей хроматографии [215], основанный на различной способности отличающихся размерами молекул растворенного исследуемого вещества, проникать внутрь заполненных растворителем пор неподвижной фазы и задерживаться там на различное время, осуществлен с целью определения молекулярной массы полимеров молочной кислоты на приборе фирмы GPC Agilent System 1100, снабженном детектором UV-Detektor (230 нм) DAD Agilent 1100 с использованием серии полимерных колонок PSS SDV с размером пор от 50 до 105 Å. В качестве элюента использован тетрагидрофуран (ТГФ).

2.3.5 Измерение площади удельной поверхности

Удельная поверхность ($S_{уд}$), объем и размер пор порошков ГА измерены методом адсорбции азота с последующей дегазацией при давлении $\sim 0,1$ Па при 200 °С в течение одного часа на приборе TriStar II Micromeritics (по методу БЭТ). Метод БЭТ (метод Брюнера-Эммета-Теллера) основан на кинетической модели адсорбционного процесса, в которой поверхность твердого тела рассматривается как совокупность адсорбционных мест [216]. Наиболее удобной формой уравнения БЭТ для его приложения к экспериментальным данным является:

$$\frac{1}{(W(P_0/P)-1)} = \frac{1}{W_m C} + \frac{C-1}{W_m C} (P/P_0) \quad (2.3)$$

где P – давление газа, P_0 – давление его насыщенных паров, W - масса газа, адсорбированного при относительном давлении P/P_0 , W_m – вес

адсорбированного вещества, образующего покрывающий всю поверхность монослой, C – константа БЭТ, относящаяся к энергии адсорбции в первом адсорбированном слое.

Удельная поверхность ($S_{y\partial}$) вычисляется из емкости монослоя для данного материала. *Емкость монослоя* (a_{∞}) – это количество адсорбата, которое может разместиться в полностью заполненном адсорбционном слое толщиной в 1 молекулу – *монослой* – на поверхности единицы массы (1 г) твердого тела. Из емкости монослоя, выраженной в молях адсорбата в расчете на грамм адсорбента, удельная поверхность как поверхность 1 г твердого тела $S_{y\partial}$ вычисляется по уравнению (2.4):

$$S_{y\partial} = a_{\infty} \omega N \quad (2.4)$$

ω – средняя площадь (m^2), занимаемая молекулой адсорбата в заполненном монослое; N_A – число Авогадро.

Точность метода составляет 5–10 % при значениях отношения $P/P_0 = 0,05–0,35$.

2.3.6 Методы определения морфологии и размеров частиц материалов

Морфология поверхности образцов исследована с применением растровых электронных микроскопов Carl Zeiss NVision 40 (при ускоряющих напряжениях 1 – 30 кВ с использованием детекторов вторичных и обратно-рассеянных электронов; съемку осуществляли без предварительного напыления проводящих материалов на поверхность образцов), Zeiss Supra 55VP, JEOL-7500FA (ускоряющее напряжение 20 кВ) и сканирующего электронного микроскопа Hitachi TM – 3000 (ускоряющее напряжение 15 кВ в условиях режима снятия зарядки с образца; электронная пушка: $5 \cdot 10^{-2}$ Па; камера для образца: 30 – 50 Па).

Принцип растровой электронной микроскопии [217] заключается в сканировании участка исследуемого образца узкофокусированным электронным зондом и детектировании возникающих за счет различных

процессов (эмиссия вторичных, отраженных и Оже электронов, рентгеновское излучение, генерация электронно-дырочных пар и др.) при этом сигналов.

По микрофотографиям, полученным при увеличении 200 000 раз можно оценить дисперсность порошков ГА методом секущей [218] при помощи программы Adobe Photoshop CS5.

Размер частиц дисперсных образцов также можно оценить по величине удельной поверхности и измеренной пикнометрической плотности порошков. Удельная поверхность твердого вещества определенной массы обратно пропорциональна размеру составляющих его частиц. В идеальном случае, когда частицы одинакового размера имеют кубическую форму с длиной ребра l (мкм), удельная поверхность $S_{уд}$ (м²/г) определяется выражением (2.5):

$$S_{уд} = 6/\rho \cdot l, \quad (2.5)$$

где ρ (г/см³) – плотность твердого вещества, измеренная по методу вытеснения жидкости. Для реальных порошков, состоящих из частиц неправильной формы и различных размеров, это соотношение имеет более сложный вид, однако уравнение (2.5) дает возможность грубо оценить величину их поверхности.

2.3.7 Определение растворимости образцов в физиологическом растворе методом комплексометрического титрования

Для оценки растворимости ГА, в т.ч. модифицированного, и ГА в составе композитов определяли суммарную концентрацию ионов кальция Ca^{2+} в физиологическом растворе ($\omega(NaCl) = 0,9\%$) при 20 °С и 37 °С, в котором образцы выдерживались в течение 7 суток для достижения насыщения относительно твердой фазы, методом трилометрического титрования в присутствии эриохрома черного Т с аммиачным буфером, рН 9-10 [219]. Средние значения концентраций $C_{Ca^{2+}}$ (моль/л) и доверительный интервал (при $P_D = 0,95$) для них рассчитывали по трем параллельным измерениям.

2.3.8 Методы определения кислотно-основных свойств поверхности

Метод спектральных зондов

Льюисовские кислотные центры, обусловленные координационно-ненасыщенными катионами металла в разном координационном окружении атомов кислорода, могут быть обнаружены только по изменению спектров адсорбированных молекул зондов [211], так как колебания металл-кислородных связей на поверхности лежит в той же спектральной области, что и колебания решетки и поэтому не наблюдаются в измеряемых спектрах. Наиболее чувствительным спектральным зондом, для которого положение полосы в спектре наиболее заметно зависит от силы кислотных центров, в настоящее время является СО. Монооксид углерода при адсорбции не меняет химический состав поверхности образца, при этом характеризуется в ИК спектрах полосами поглощения, положение которых зависит от свойств центров адсорбции и адсорбируется на центрах в виде обратимых форм. Кислотные свойства поверхности определены методом ИКС низкотемпературной адсорбции СО на поверхностях предварительно прокаленных в вакууме при температуре 600 °С в течение 1 часа таблетках (толщина 6-12 мг/см²) образцов ГА, MgГА, SiГА. Адсорбция СО проведена при температуре 77 К и давлении СО повышающемся от 0,1 до 10 мм.рт.ст.

Каталитическая активность

Кислотно-основные свойства материалов можно косвенно оценить при исследовании каталитической активности материалов, т.к. активными каталитическими центрами на его поверхности могут являться кислотно-основные пары поверхности. Каталитическая активность образцов ГА, MgГА, SiГА оценена на примере реакции окислительного дегидрирования пропана при температурах 350-550 °С в проточной установке снабженной трубчатым реактором (внутренний диаметр 4 мм). Для испытаний использована реакционная смесь 27% C₃H₈ + 5,5% O₂ + He до 100%. Перед испытаниями катализаторы прокалены в токе гелия при температуре 350 °С.

2.3.9 SBF-исследования биомиметических свойств

Способность формировать кальций-фосфатный слой (КФС) на поверхности образцов ГА и композитов в модельном SBF (от англ. SBF – Simulated Body Fluid) растворе оценена по методике, предложенной Кокубо [220]. Изготовленные прессованием подложки в виде таблеток диаметром 5 мм ($S = 220 \text{ мм}^2$) помещались в SBF-раствор, который по своему минеральному составу и концентрации ионов идентичен плазме крови человека (табл. 2.2).

Таблица 2.2 – Концентрация ионов (ммоль/л) в SBF-растворе и плазме крови человека

Ионы	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
SBF-раствор	142,0	5,0	1,5	2,5	148,8	4,2	1,0	0,5
Плазма крови человека	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5

Подложки выдержаны в SBF-растворе при 37 °С в течение 28 суток с ежедневным обновлением раствора. Так как селективное определение ионов Ca²⁺ методом трилонометрического титрования [221] в присутствии ионов Mg²⁺ затруднительно (константы устойчивости комплексов кальция и магния с ЭДТА близки по значениям lgK (10,7 для CaY²⁻ и 8,7 для MgY²⁻) [222]), то скорость формирования КФС на поверхности подложек оценена по уменьшению суммарной концентрации ионов кальция и магния ($\Delta C_{(Ca^{2+} \text{ и } Mg^{2+})}$, ммоль/л) в SBF-растворе. По результатам измерений суммарной концентрации ионов Ca²⁺ и Mg²⁺ в растворе построены кинетические кривые ($\Delta C_{(Ca^{2+} \text{ и } Mg^{2+})}$, ммоль/л – τ , сут) их накопления на поверхностях подложек из SBF-раствора. Линейное распределение элементов на поверхности исходных таблеток и после 28 дней выдерживания их в SBF-растворе оценены с помощью РСМА.

2.3.10 Метод иммуноферментного анализа

Способность материала вызывать воспалительные реакции в организме определяет биосовместимость материала. Проверить иммунную реакцию на

материал возможно при помощи исследований *in vitro* на клетках иммунной системы человека – *макрофагах*. Внедрение в организм чужеродного агента вызывает мощную активацию макрофагов – выделение *цитокинов* (небольшие пептидные молекулы, регулирующие межклеточные и межсистемные взаимодействия; определяют выживаемость клеток, стимуляцию или подавление их роста, дифференциацию и апоптоз) и других медиаторов воспаления. Макрофаги, стимулированные внутриклеточными микробами, такими, как вирусы или бактерии в ответ на воспаление отвечают продукцией *провоспалительных* цитокинов, таких, как интерлейкин-1 (ИЛ-1), фактор некроза опухоли (ФНО- α), интерферон-гамма (ИНФ- γ) и др. [223]. Контролировать концентрацию выделившихся в присутствии материала цитокинов позволяет метод *иммуноферментного анализа* (ИФА) – лабораторный иммунологический метод, основанный на определении комплекса «антиген-антитело» за счет введения в один из компонентов реакции ферментативной метки с последующей ее детекцией с помощью соответствующего субстрата, изменяющего свою окраску [224].

Биосовместимость и наличие воспалительных реакций (провоспалительная и противовоспалительная активность) на материалы ГА, ПЛ и композита ГА-ПЛ изучали на клеточно-опосредованный иммунный ответ индивидуальных доноров *in vitro*, используя клетки иммунной системы человека ($CD14^+$ моноциты).

С целью *стерилизации* образцы выдерживали в этиловом спирте (70% водный раствор) в течение 30 минут, а затем подвергали УФ обработке (30 минут).

Выделение и культивирование $CD14^+$ моноцитов крови человека проводили от индивидуального донора с использованием натрий-фосфатного буфера, свободного от ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} (для разбавления крови и промывания клеток) градиентов *Biocoll* и *Percoll* (для разделения клеток). Магнитную сортировку клеток осуществляли с использованием набора $CD 14^+$ *Microbeads* [225]. Выделенные моноциты культивировали в бессывороточной среде (1×10^6

клеток на 1 мл среды) с добавлением 10^{-8} моль/л дексаметазона. Исследуемые материалы засеивали клетками в 12-ти луночном планшете и инкубировали в течение 6 суток при температуре 37 °С, 7,5% CO₂. В качестве дополнительных стимуляций моноцитов использовали цитокины ИНФ- γ и ИЛ-4. На шестые сутки методом ИФА в 96-луночных планшетах с использованием фотометрического измерения оптической плотности на микропланшетном ридере Infinite 200 NanoQuant определяли концентрацию цитокинов TNF α и CCL18 как про- и противовоспалительного типа соответственно.

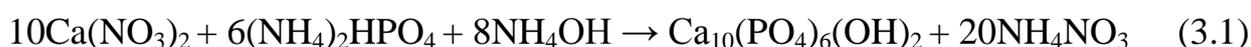
Интересно отметить, что большая часть современных исследований биосовместимости материалов осуществляются на животных клетках (крысы, мыши, кролики и т.д.). В таком случае велик риск возникновения случаев, когда животные клетки не проявляют отрицательных реакций на тестируемый материал, в отличие от клеток человека. В связи с этим тест-методы персонифицированной диагностики, разрабатываемые направлениями исследований трансляционной медицины, с участием человеческих клеток являются особо привлекательными, так как позволяют избежать лишних стадий доклинических исследований.

ГЛАВА 3. СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ НЕМОДИФИЦИРОВАННОГО ГИДРОКСИАПАТИТА

3.1 Подбор условий СВЧ-синтеза гидроксиапатита

Экономия времени в ходе синтеза функциональных материалов является весьма важной задачей в современных условиях. С целью интенсификации процесса получения ГА и изменения его физико-химических свойств синтез ГА проводили под воздействием СВЧ-излучения.

Синтез немодифицированного ГА проводили в соответствии с уравнением (3.1).



Подбор условий

С целью подбора условий, необходимых для экспрессного получения однофазного ГА, варьировались мощность и время СВЧ-воздействия, время перемешивания реакционной смеси и время выдерживания осадка в маточном растворе (табл. 3.1). Для приготовления всех растворов использовали химическую посуду второго (в соответствии ГОСТ 1770-74) класса точности.

Таблица 3.1 – Условия (рассчитано на 10 г сухого порошка) и обозначения синтеза ГА

Стадия синтеза	Условное обозначение			
	Синтез 1	Синтез 2	Синтез 3	Синтез 4 (классический способ)
Время смешивания реагентов	1 мин	1 мин	1 мин	60 мин
Перемешивание реакционной смеси при 60 °С	7 ч	Не требуется	Не требуется	7 ч
СВЧ-обработка	30 мин	30 мин	30 мин	Не требуется
Время отстаивания осадка	48 ч	48 ч	–	48 ч
Время синтеза до отстаивания осадка	~ 7,5 ч	~ 30 мин	~ 30 мин	~ 8 ч

Синтез образцов ГА проводили в следующей последовательности: свежеприготовленный раствор нитрата кальция [$C(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2) = 0,5$ моль/л] смешивали с раствором гидрофосфата аммония [$C((\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4) = 0,3$ моль/л] в объемах, необходимых для соблюдения стехиометрического соотношения $\text{Ca/P} = 1,67$. Добавлением водного раствора аммиака NH_4OH ($\rho = 0,907$ г/мл) pH смеси реагентов доводили до значения ≥ 10 . Затем реакционную смесь подвергали СВЧ-обработке и отстаиванию при комнатной температуре в течение 48 ч. Осадок отфильтровывали, промывали разбавленным раствором этилового спирта и высушивали до постоянной массы (~ 20 ч) при 90°C .

Мощность (100 Вт) и время (30 мин) СВЧ-воздействия на реакционную смесь в ходе синтеза ГА были подобраны экспериментально и соответствуют началу закипания реакционного раствора [226]. При использовании меньших мощностей реакционная смесь подвергается закипанию в течение слишком длительного времени, что неоправданно увеличивает время синтеза. Увеличение мощности более 150 Вт приводит к резкому закипанию реакционной смеси и выносу вещества за пределы реакционного сосуда. В связи с этим подобранные параметры мощности и времени СВЧ-обработки признаны подходящими для экспрессного получения порошков ГА с возможностью контроля процесса закипания реакционной смеси.

Перемешивание реакционной смеси. Для установления влияния термического перемешивания реакционного раствора на фазовый состав осадка (**синтез 1**) реакционную смесь перед СВЧ-обработкой перемешивали при 60°C в течение 7 ч при помощи магнитной мешалки со скоростью 700 об/мин, во втором случае (**синтез 2**) – сразу обрабатывали СВЧ-излучением после смешивания реагентов согласно выбранным параметрам [227].

Отстаивание осадка в маточном растворе. Для определения влияния стадии отстаивания осадка в маточном растворе на фазовый состав продуктов синтеза осадок сразу после СВЧ-обработки реакционной смеси отфильтровывали и высушивали (**синтез 3**).

СВЧ-синтезированные порошки по фазовому и элементному составу сравнивали с составом ГА, полученным по классической методике (**синтез 4**) [228], согласно которой реагенты медленно по каплям смешиваются, смесь перемешивается в течение 7 ч при 60 °С и отстаивается в течение 48 ч. Все порошки измельчали на мельнице со скоростью помола 1000 об/мин и просеивали через сито с размером ячейки $d = 40$ мкм. Выделенные порошки представляют собой вещества белого цвета.

3.2 Влияние условий синтеза гидроксиапатита на его состав

Перед проведением РФА все образцы 1-4 подвергались прокаливанию в течение 1 ч при 800 °С. По данным РФА кристаллической фазе образцов 1-3 соответствует ГА с элементарной ячейкой $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}_{\text{гекс}}$. Основным продуктом классического синтеза 4 является ГА, помимо него ~ 5% примесной фазы $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (рис. 3.1).

В отличие от времени перемешивания растворов, которое не влияет на фазовый состав ГА, время отстаивания осадка в маточном растворе оказывает влияние на фазовый состав продуктов синтеза [229]. Продуктом синтеза 3 является смесь ГА и $\beta\text{-ТКФ}$ (< 50 %). Формирование фазы ГА происходит, минуя несколько стадий, первая из которых – образование первичного осадка гидрофосфата кальция в результате обменного взаимодействия реагентов $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ [95]. Далее, по мере расходования осаждаемых ионов Ca^{2+} (которые находятся в избытке по отношению к фосфат-ионам), протекает реакция между активным свежесформованным осадком и раствором с образованием нестехиометрического апатита $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$. Затем происходит увеличение доли кальция в составе образца с образованием стехиометрического осадка гидроксиапатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. При этом старение осадка может включать различные процессы, происходящие с осадком при контакте с маточным раствором во времени: агрегирование частиц, обусловленное наличием малых сил отталкивания у первичных образований и стремлением их к объединению при столкновении (*химическое старение*);

освобождение избыточных поверхностных дефектов за счет растворения более дефектных мест на поверхности осадка без изменения размеров кристаллов (*рекристаллизация*); растворение мелких первичных частиц, происходящее под действием сил поверхностного натяжения, стремящегося уменьшить межфазовую поверхность между частицами стареющего осадка и маточным раствором, и в результате рост больших кристаллов (*«созревание» по Оствальду*) [230].

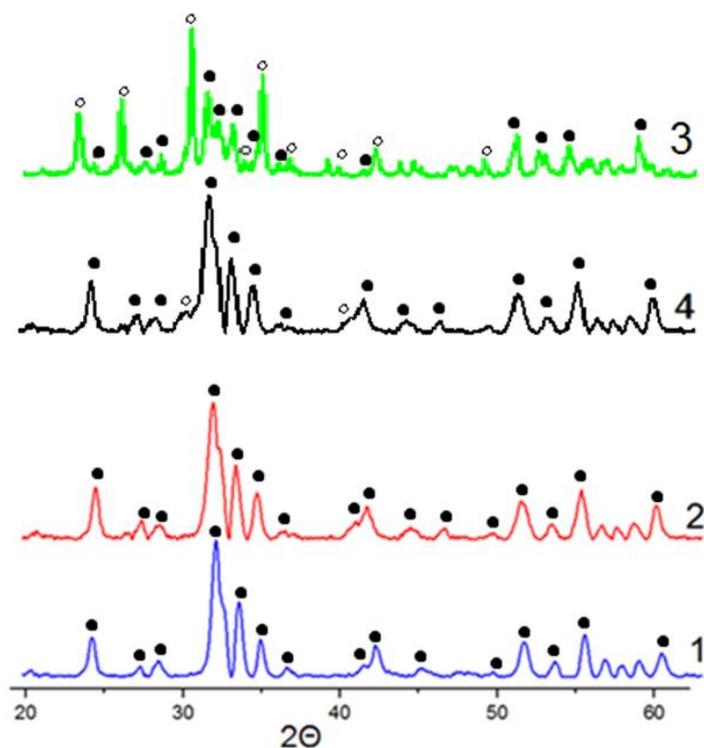


Рисунок 3.1 – Рентгенограммы продуктов синтеза ГА в различных условиях:
 1 – с дополнительным перемешиванием реакционной смеси перед СВЧ-обработкой; 2 – экспрессный СВЧ-синтез; 3 – без отстаивания осадка в маточном растворе; 4 – классический жидкофазный синтез.

Так как стадия дополнительного термического перемешивания не оказывает значительного эффекта на фазовый состав ГА, дальнейшее исследование свойств образца 1 не проводили.

При характеристике свойств фосфатов кальция важной величиной является соотношение Ca/P , определяющее такие свойства материалов, как растворимость и механические свойства (предел прочности при изгибе). Чем ниже значение Ca/P , тем выше растворимость ФК, а механические показатели ниже и, наоборот, при максимальном приближении Ca/P к значению 1,67

(соответствующему формуле стехиометрического ГА) – растворимость минимальна при максимальном пределе прочности на изгибе [230]. Следует отметить, что соотношение Ca/P для природного ГА варьируется в пределах 1,37 до 1,67 [10] в зависимости от разных условий (возраст организма, условия жизнедеятельности, тип минеральной ткани и др.). По результатам РСМА (рис. 3.2, табл. 3.2) отношение Ca/P для образца 4 составляет 1,64, в то время, как для образца 2 – 1,66.

Таблица 3.2 – Результаты элементного анализа продуктов синтеза ГА:
2 – экспрессный СВЧ-синтез; 3 – без отстаивания осадка в маточном растворе;
4 – классический жидкофазный синтез

Элементы	Атомная доля, %		
	Синтез 2	Синтез 3	Синтез 4
Ca	17,83	18,84	21,70
P	10,73	14,17	13,22
O	71,43	66,99	65,08
Ca/P	1,66	1,33	1,64

Эти значения близки к стехиометрическому ГА с формулой элементарной ячейки $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$. Для образца 3 соотношение Ca/P является заниженным и составляет 1,33, что связано с наличием вторичной фазы ТКФ и, возможно, получение фазы кальций-дефицитного ГА.

В ИК спектрах образцов № 2-4 (рис. 3.3) определены полосы, соответствующие колебаниям фосфатных групп в интервалах волновых чисел 955-962, 1020-1080 и 520-660 см^{-1} . Широкая полоса деформационных колебаний OH-групп при 3440-3570 см^{-1} соответствует адсорбированной воде.

Низкая интенсивность полос в областях 3570 см^{-1} и 630 см^{-1} , отвечающих валентным и деформационным колебаниям OH-групп в составе ГА, полученного без отстаивания осадка в маточном растворе (образец 3), свидетельствует о низком содержании фазы ГА. Колебания, соответствующие полосам в интервалах 870-875 см^{-1} и 1300-1500 см^{-1} относятся к связям C=O в карбонатных группах. Наличие карбонатных групп в структуре образцов связано с адсорбцией углекислого газа из атмосферы воздуха в процессе синтеза.

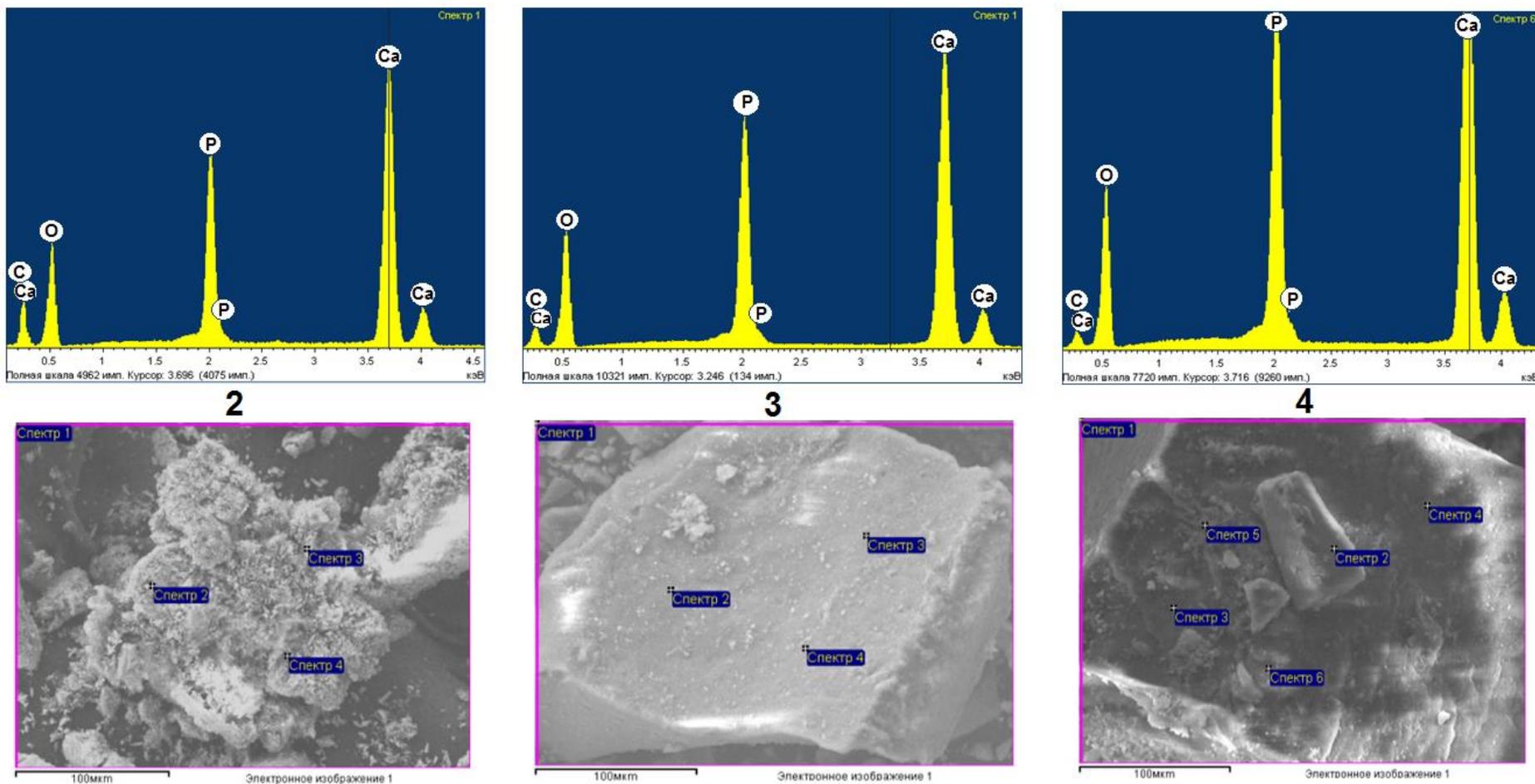


Рисунок 3.2 – Энергодисперсионные спектры и микрофотографии областей элементного анализа продуктов синтеза 2–4, полученных в различных условиях: 2 – экспрессный СВЧ-синтез; 3 – без отстаивания осадка в маточном растворе; 4 – классический жидкофазный синтез.

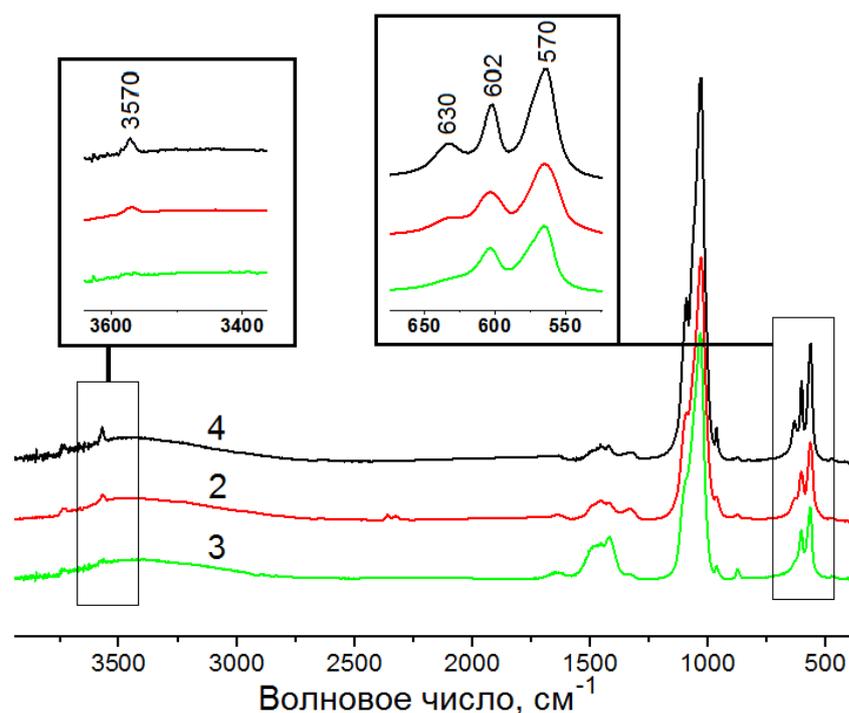


Рисунок 3.3 – ИК спектры продуктов синтеза 2–4, полученных в различных условиях: 2 – экспрессный СВЧ-синтез; 3 – без отстаивания осадка в маточном растворе; 4 – классический жидкофазный синтез.

С целью удаления карбонат-ионов, вошедших в структуру ГА, образцы подвергали дополнительно термической обработке в течение 1 ч при $T = 800\text{ }^{\circ}\text{C}$.

В ИК спектрах прокаленных образцов (рис. 3.4) значительно снижается интенсивность пиков в интервалах $1300\text{--}1500\text{ см}^{-1}$ и $3440\text{--}3570\text{ см}^{-1}$ и исчезают колебания, соответствующие полосе $1630\text{--}1650\text{ см}^{-1}$, что связано с десорбцией молекул воды и углекислого газа с поверхности порошка и разложением карбонатсодержащего ГА.

Таким образом, показано, что условия синтеза 2 являются наиболее оптимальными для получения однофазного порошка ГА с минимальными временными и трудовыми затратами. С целью выявления влияния СВЧ-воздействия на физико-химические свойства порошков ГА (дисперсность, растворимость, удельная поверхность, морфология) проводилось сравнение ГА, полученного классическим методом (образец 4) со свойствами образца 2.

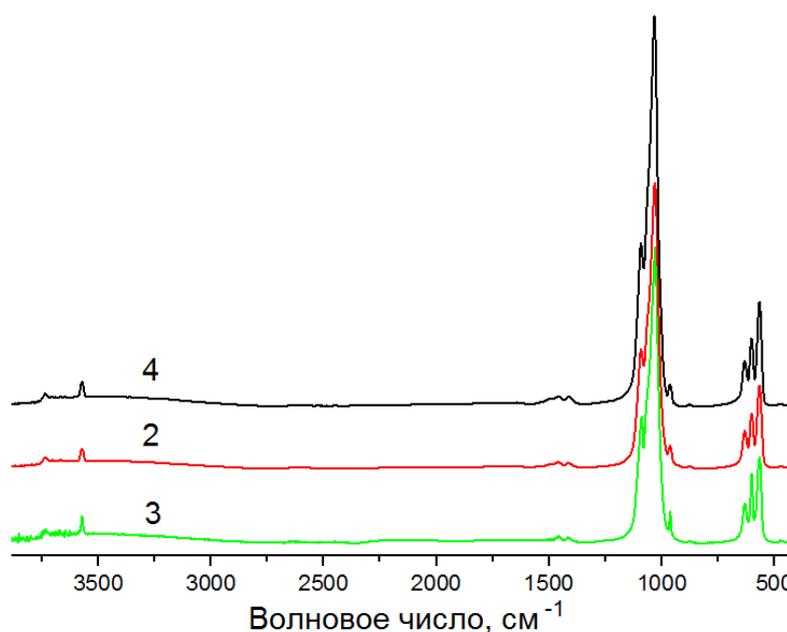


Рисунок 3.4 – ИК спектры продуктов синтеза 2–4, полученных в различных условиях, прокаленных при T 800 °С в течение 1 ч: 2 – экспрессный СВЧ-синтез; 3 – без отстаивания осадка в маточном растворе; 4 – классический жидкофазный синтез.

3.3 Сравнение свойств гидроксиапатита, полученного по классической методике и при СВЧ-воздействии

Морфологию, размер частиц, удельную поверхность ($S_{уд}$) и степень дисперсности порошковых материалов можно изменять за счет применения СВЧ-воздействия в ходе их синтеза [231].

Анализ морфологии порошков ГА (рис. 3.5), полученных по классической жидкофазной технологии ($ГА_{ж/ф}$) и при СВЧ-воздействии (ГА), показывает, что частицы ГА имеют сферическую форму, приблизительно одинаковы по размерам в отличие от частиц $ГА_{ж/ф}$, имеющих неправильную форму, отличающихся по размерам и агрегированных в агломераты. Интервал среднего размера частиц ГА является достаточно узким – 20-40 нм, в то время, как средний размер частиц $ГА_{ж/ф}$ изменяется в широком интервале. 50-120 нм (рис. 3.6).

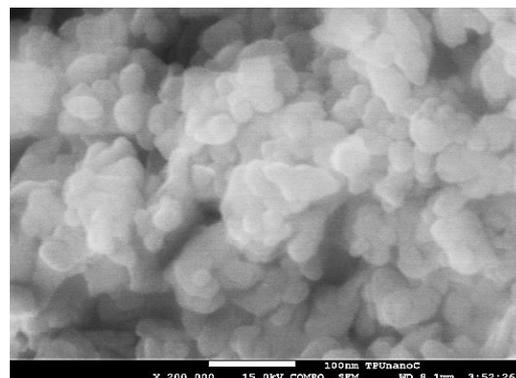
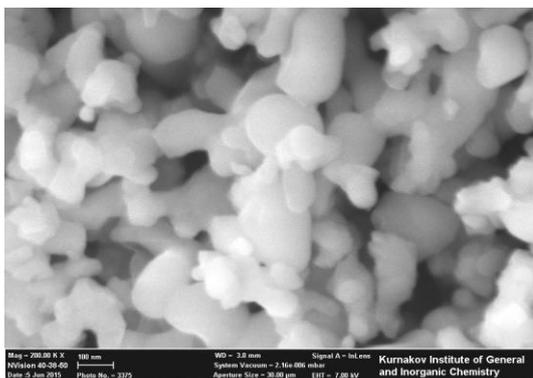


Рисунок 3.5 – Микрофотографии порошков ГА, полученного по классической методике (слева), и ГА, синтезированного при СВЧ-воздействии (справа).

Увеличение $\times 200\ 000$

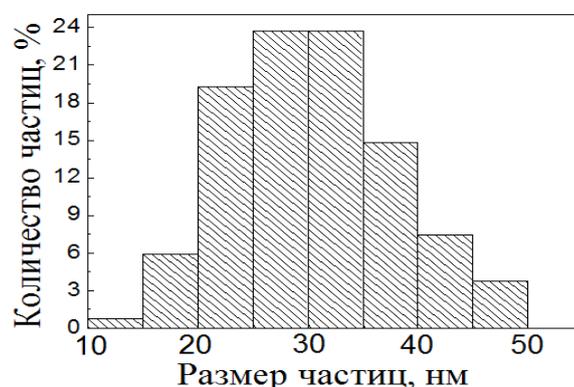
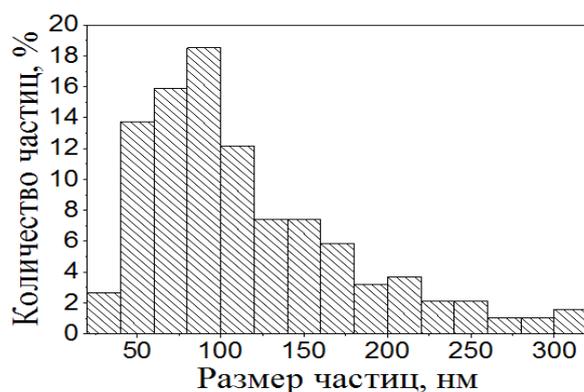


Рисунок 3.6 – Гистограммы количественного распределения частиц ГА, полученного по классической методике (слева), и ГА, синтезированного при СВЧ-воздействии (справа).

По результатам измерения плотности и удельной поверхности порошков ГА с использованием формулы (2.5) произведена оценка размеров ($d_{по\ S_{уд}}$) их частиц в предположении о сферичности формы частиц. Значение плотности составило $(2,60 \pm 0,07)$ г/см³ для ГА_{ж/ф}, полученного классическим способом, и $(2,58 \pm 0,07)$ г/см³ для ГА, полученного при СВЧ-воздействии. Анализ параметров микроструктуры, описывающих морфологию и размер частиц ГА_{ж/ф} и ГА, показывает, что использование СВЧ-излучения в ходе синтеза ГА способствует снижению размеров частиц, степени кристалличности и размеров пор образцов, при этом увеличивает их удельную поверхность и однородность их форм.

Таблица 3.3 – Размеры ОКР, частиц и величины удельной поверхности для порошков ГА, полученного по классической методике, и ГА, синтезированного при СВЧ-воздействии

Параметр микроструктуры	ГА _{ж/ф}	ГА
d ОКР ₀₀₂ , нм	24	15
S _{уд} , м ² /г	44 ± 2	106 ± 5
Суммарный объем пор, см ³ /г	0,4	0,5
Средний размер пор, нм	31-38	14-20
d по S _{уд} , нм	52	22
d (по СЭМ), нм	50-120	20-40

Исходя из современных представлений о воздействии микроволн на водные растворы, можно предположить, что изменение размеров частиц может быть связано с преобладанием процессов зародышеобразования в реакционной смеси над процессами их роста, что, в свою очередь, объясняется ускоренным движением диполей воды и, как следствие, гидратированных ионов Ca²⁺ и PO₄³⁻ под действием СВЧ-излучения [204].

Определение величин растворимости является очень важным шагом в исследовании свойств биоматериалов на основе ФК, так как позволяет оценить способность материалов к резорбции, т.е. растворению в жидкостях организма. В таблице 3.4 приведены результаты определения растворимости образцов ГА в физиологическом растворе при комнатной температуре 20 °С и температуре человеческого тела 37 °С.

Таблица 3.4 – Растворимость порошков ГА в физиологическом растворе при рН 7, ω (NaCl) = 0,9 %

Концентрация ионов Ca ²⁺ в насыщенном относительно ГА физиологическом растворе	ГА _{ж/ф}	ГА
C _{Ca²⁺} · 10 ³ , моль/л	20 °С	1,19 ± 0,03
	37 °С	1,33 ± 0,02

Известно, что слишком низкая растворимость ГА в жидкостях организма является одним из главных его недостатков [80-82], в связи с чем разрабатываются различные способы увеличения его растворимости (за счет создания композитов, ионных замещений и др.) Показано, что растворимость

ГА в физиологическом растворе (рН 7, ω (NaCl) = 0.9 %) при 25 и 37 °С в ~ 1.3 раза выше растворимости обычного ГА_{ж/ф}, что может быть объяснено уменьшением размеров частиц ГА, полученного при СВЧ-воздействии, и наличием примесной фазы β -Ca₃(PO₄)₂, растворимость которой в сравнении с ГА значительно выше ($pPP_{Ca_3(PO_4)_2} = 28,9$).

Таким образом, установлено, что синтез под воздействием СВЧ-излучения обеспечивает получение однофазного порошка ГА с соотношением Ca/P = 1,66, значительно сокращая время его синтеза. Сравнение свойств порошков ГА, полученных различными способами, выявило, что применение СВЧ-обработки оказывает влияние на следующие свойства ГА:

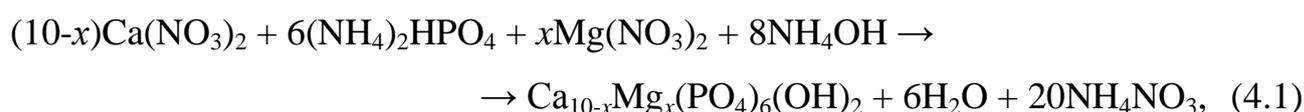
- уменьшается средний размер частиц от 52 до 22 нм;
- увеличивается однородность частиц по форме и степень полидисперсности порошков в интервалах от (50-120) нм до (20-40) нм;
- увеличивается удельная поверхность порошков от 44 м²/г до 106 м²/г;
- увеличивается растворимость порошков в физиологическом растворе ($C_{Ca^{2+}}^{насыщ}$, моль/л) от $(1,19 \pm 0,03) \cdot 10^{-3}$ до $(1,59 \pm 0,03) \cdot 10^{-3}$ при 20 °С и от $(1,33 \pm 0,02) \cdot 10^{-3}$ до $(1,74 \pm 0,04) \cdot 10^{-3}$ при 37 °С.

ГЛАВА 4. МОДИФИЦИРОВАНИЕ ГИДРОКСИАПАТИТА ИОНАМИ Mg^{2+} и SiO_4^{4-}

4.1 Синтез магний- и кремний-модифицированных гидроксиапатитов

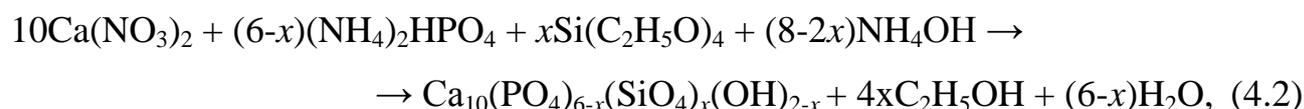
Актуальность исследовательских работ, посвященных варьированию функциональных свойств, таких например, как биоактивность и биорезорбируемость, материалов на основе фосфатов кальция вызвана требованиями, возникающими в результате практического опыта. В этом плане модифицирование ГА биологически активными ионами Mg^{2+} и SiO_4^{4-} является привлекательным путем решения поставленной задачи.

Синтез магний-модифицированного гидроксиапатита ($MgГА$) [231, 232] осуществляли в соответствии с уравнением (4.1)



где x (мол.дол.) = 0,1. Рассчитанное количество сухого нитрата магния растворяли в заранее приготовленном растворе нитрата кальция. Далее синтез под воздействием СВЧ-излучения проводили согласно выбранным и представленным в главе 3 параметрам.

Синтез кремний-модифицированного ($SiГА$) проводили согласно уравнению (4.2)



где x (мол.дол.) = 0,6.

Для получения $SiГА$ [233-235] использовался спиртовой раствор ТЭОС с соотношением компонентов $V(C_2H_5OH):V(ТЭОС) = 1:1$. Добавление в систему этилового спирта облегчает смешивание ТЭОС с водой. ТЭОС – прозрачная бесцветная жидкость со специфическим запахом, легко растворима во многих органических жидкостях. В воде ТЭОС не растворяется, но при этом является источником силикат ионов, так как подвергается гидролизу. При значениях рН

10-11 механизм гидролиза протекает согласно схеме, приведенной на рисунке 4.1 [236]:

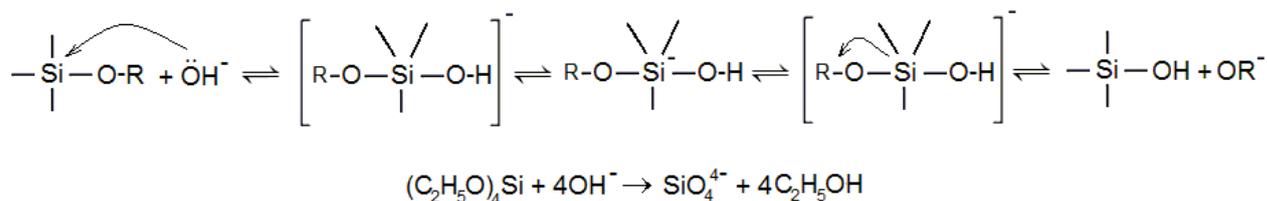


Рисунок 4.1 – Гидролиз тетраэтоксисилана, катализированный основанием

Спиртовый раствор ТЭОС смешивали с заранее приготовленным водным раствором гидрофосфата аммония. Далее синтез под воздействием СВЧ-излучения проводили согласно выбранным параметрам (см. гл. 3). Все выделенные порошки представляют собой вещества белого цвета.

Для исследования влияния модифицирующих ионов Mg^{2+} и SiO_4^{4-} на состав и свойства ГА в качестве объектов выбраны образцы MgГА с $x = 0,1$ и SiГА с $x = 0,6$, прокаленные при $800\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 1 ч. Значения $x_{\text{Mg}^{2+}} = 0,1$ и $x_{\text{SiO}_4^{4-}} = 0,6$ соответствуют минимальному содержанию введенных в систему ионов, при котором изменения фазового состава и физико-химических свойств (дисперсность, растворимость) становятся фиксируемо заметными.

4.2 Идентификация состава модифицированных гидроксиапатитов

Методом РФА показано (табл. 4.1), что основной фазой образцов MgГА и SiГА является гидроксиапатит с элементарной ячейкой гексагональной сингонии $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}_{\text{гекс}}$. Установлено, что MgГА содержит фазу витлокит в количестве ~ 9 масс. %, а SiГА – ларнит ~ 11 масс. %. До 10 масс. % в составе образцов присутствует фаза гидроксиапатита с моноклинной сингонией $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2\text{мон}}$. Известно, что понижение симметрии кристаллической структуры до некоторой подгруппы пространственной группы симметрии базисной структуры, в основном, происходит или за счет смещения атомов из частных позиций, или за счет замены части атомов одной правильной системы на атомы с другим порядковым номером [237].

Таблица 4.1 – Количественная оценка содержания фаз (масс. %) в продуктах синтеза чистого, магний- и кремний-модифицированных ГА, прокаленных при 800 °С

Фаза	Сингония	ГА	MgГА	SiГА
$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	Гексагональная	98	85	79
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Моноклинная	2	6	10
ВИТЛОКИТ $\text{Ca}_{2,71}\text{Mg}_{0,29}(\text{PO}_4)_2$	Гексагональная	–	9 ($\omega_{\text{Mg}} = 0,19$ масс. %)	–
ларнит Ca_2SiO_4	Гексагональная	–	–	11 ($\omega_{\text{Si}} = 1,85$ масс. %)

В связи с этим можно предположить образование твердого раствора при получении модифицированного ГА, что также подтверждается сдвигом рефлексов на рентгенограмме в область меньших углов (рис. 4.2).

Твердыми растворами называются такие фазы, в которых частицы (атомы, ионы, молекулы) одного или нескольких компонентов располагаются в кристаллической решетке другого, не изменяя ее типа. В зависимости от того, как располагаются атомы примеси в решетке растворителя, различают три типа твердых растворов: замещения, внедрения и вычитания [238].

В твердых *растворах замещения* атомы растворенного элемента замещают атомы растворителя в узлах кристаллической решетки, распределяясь, чаще всего, хаотически.

В твердых *растворах внедрения* атомы примеси располагаются в междоузлиях кристаллической решетки растворителя. При этом размер атомов (ионов) растворяемого элемента должен быть небольшим и не достигать 0,63 от размеров растворяющего элемента. Растворы типа внедрения чаще всего образуются при растворении элементов с малыми атомными радиусами (водород, углерод, азот, бор и др.).

Твердые *растворы вычитания* характеризуются дефектностью решетки вследствие выхода части атомов (ионов) из ячейки.

Изоморфные замещения возможны между атомами (ионами, молекулами) с близким характером химической связи, которую каждый из них образует с другими партнерами (то есть между атомами с близкой электроотрицательностью), и с близкими размерами (атомными или ионными). Благодаря этому атомы разных элементов как бы имитируют друг друга. Обычно считают, что различие радиусов ионов не должно превышать 15%, а разность значений электроотрицательностей – не более 0,4 по шкале Л. Полинга. Эти границы очень условны и могут смещаться в широких пределах в зависимости от состава и структуры кристалла и условий его образования [239].

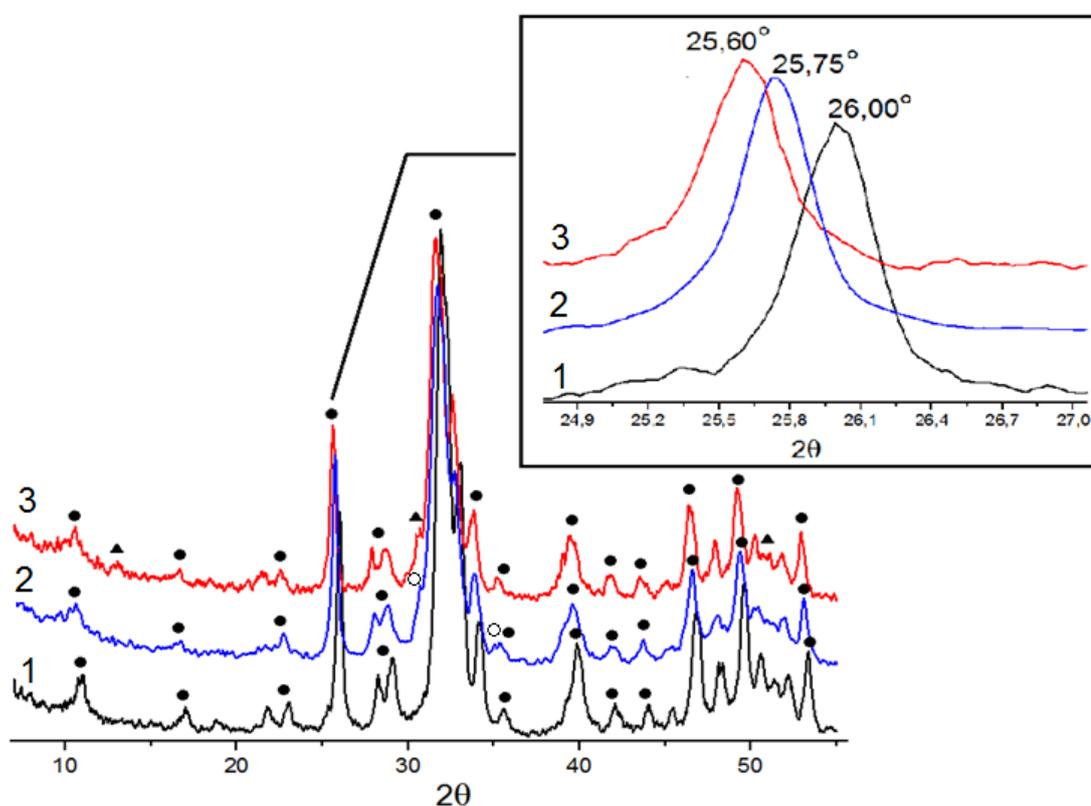


Рисунок 4.2 – Рентгенограммы продуктов синтеза: 1 – ГА, 2 – магний-модифицированный ГА, 3 – кремний-модифицированный ГА.

- – гидроксиапатит $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}/\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$,
- ▲ – ларнит Ca_2SiO_4 , ○ – витлокит $\text{Ca}_{2,71}\text{Mg}_{0,29}(\text{PO}_4)_2$

Несмотря на то, что пара Mg/Ca характеризуется различием в ионных радиусах более 30 % ($r_{\text{Mg}^{2+}} = 0,74 \text{ \AA}$; $r_{\text{Ca}^{2+}} = 1,04 \text{ \AA}$), их изоморфные замещения широко известны – это минералы группы клинопироксенов $(\text{Ca}, \text{Mg})\text{SiO}_3$, кальцит CaCO_3 , магнезит MgCO_3 , гранаты, амфиболы и др. Однако

непрерывных твердых растворов кальций- и магний-содержащие соединения не образуют, существует предел растворимости Ca^{2+} в магнезиальной структуре, так же как и Mg^{2+} растворяется в структуре кальциевого соединения только в ограниченных количествах.

Изоморфные замещения в системе «фосфат-силикат» происходят с образованием твердых растворов типа замещения, так как в кристаллохимическом отношении фосфор(V) ($r_{\text{P}^{5+}} = 0,35 \text{ \AA}$; $r_{\text{Si}^{4+}} = 0,39 \text{ \AA}$) проявляет определенную близость с кремнием(IV). В подтверждение сказанному можно привести следующие факты [240]:

- 1) существование структуры берлинита AlPO_4 , которая производна от структуры кварца, что связано с замещением $2 \text{ Si} \rightarrow \text{Al P}$;
- 2) постепенное замещение SiO_4 -тетраэдров на PO_4 -тетраэдры, наблюдаемое в минералах ряда бритолита – от $\text{Ca}_2\text{Ce}_3(\text{OH})[\text{SiO}_4]_3$, через $(\text{Na}, \text{Ln}, \text{Th}, \text{Ca})_5(\text{OH}, \text{F})[\text{SiO}_4, \text{PO}_4]_3$, до $\text{Ca}_5(\text{OH}, \text{F})[\text{PO}_4]_3$ – апатита;
- 3) изотипность структур фосфатов и силикатов, например: ксенотима $\text{Y}[\text{PO}_4]$ и циркона $\text{Zr}[\text{SiO}_4]$, минералов группы трифилина $\text{Li}(\text{Mn}, \text{Fe})[\text{PO}_4]$ и оливинов $\text{Mg}_2[\text{SiO}_4]$.

Таким образом, исходя из теоретических представлений о взаимодействиях в изоморфных парах $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ и $\text{P}^{5+}/\text{Si}^{4+}$, можно также предположить, что образованные твердые растворы в образцах MgГА и SiГА относятся к типу замещения.

Объем элементарных гексагональной и моноклинной ячеек фаз гидроксиапатита, рассчитанный по формулам $V_{\text{гекс}} = \left(\frac{\sqrt{3}}{2}\right) a^2 c$; $V_{\text{мон}} = a \cdot b \cdot c \cdot \sin\beta$, и их параметры приведены в таблице 4.2. Искажения параметров элементарной ячейки фаз гидроксиапатита в составе образцов MgГА и SiГА вызваны встраиванием модифицирующих ионов в кристаллическую решетку ГА. В случае MgГА это связано с меньшим значением ионного радиуса магния по отношению к кальцию; для SiГА – с

заменой OH-групп на силикатные по механизму гетеровалентного замещения $\text{SiO}_4^{4-} \leftrightarrow \text{PO}_4^{3-} + \text{OH}^-$ с целью компенсации заряда.

Таблица 4.2 – Параметры элементарных ячеек фаз $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ и $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ в составе продуктов синтеза чистого, магний- и кремний-модифицированных ГА

Образец	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}_{\text{гекс}}$			$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2\text{мон}}$				
	$a = b, \text{Å}$	$c, \text{Å}$	$V, \text{Å}^3$	$a, \text{Å}$	$b, \text{Å}$	$c, \text{Å}$	$\beta, ^\circ$	$V, \text{Å}^3$
ГА	9,485	6,937	540,5	9,472	18,911	6,796	119,16	1063
MgГА	9,409	6,873	526,9	9,519	18,748	6,784	118,98	1060
SiГА	9,424	6,883	529,4	9,407	18,808	6,784	118,98	1050

ИК спектры образцов MgГА с $x = 0,1; 1,0$ и SiГА с $x = 0,6; 2,0$ (рис. 4.3–4.6) показывают наличие полос поглощения, характерных для колебаний всех функциональных групп ГА: полосы 3570 см^{-1} , соответствующие валентным колебаниям OH-групп, валентным ($950\text{-}1200 \text{ см}^{-1}$) и деформационным ($560\text{-}610 \text{ см}^{-1}$) колебаниям фосфатных групп.

Уменьшение интенсивности полосы деформационных колебаний OH-групп при 630 см^{-1} , проявляющееся в образцах MgГА с разным содержанием ионов магния, связано с уменьшением содержания фазы ГА $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ при одновременном увеличении содержания фазы витлокита $\text{Ca}_{2,71}\text{Mg}_{0,29}(\text{PO}_4)_2$. Уменьшение интенсивности полос валентных (3570 см^{-1}) и деформационных (630 см^{-1}) колебаний OH-групп, проявляющееся в образцах SiГА с разным содержанием силикат-ионов, косвенно подтверждает частичное встраивание SiO_4^{4-} -ионов в структуру ГА. Так как заряд SiO_4^{4-} -иона выше заряда иона PO_4^{3-} , при образовании твердого раствора замещения происходит компенсация заряда посредством участия OH-групп согласно механизму гетеровалентного замещения.

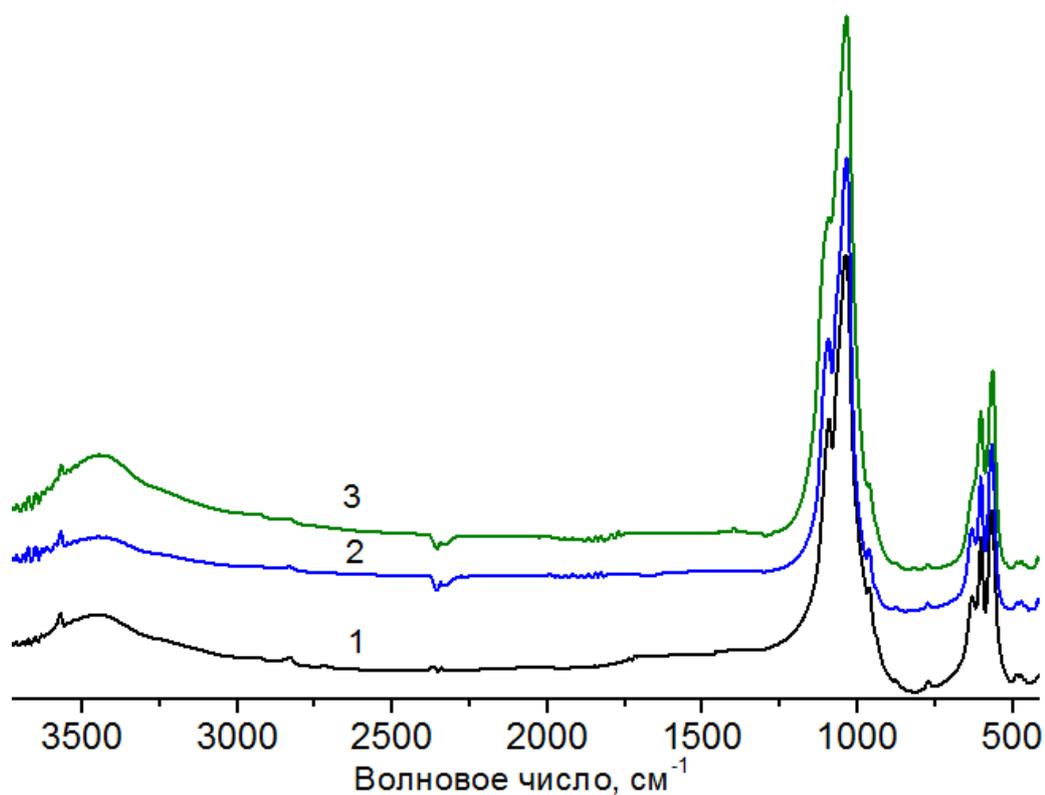


Рисунок 4.3 – ИК спектры чистого и магний-модифицированных ГА:
 1 – ГА; 2 – MgГА $x = 0,1$; 3 – MgГА $x = 1,0$

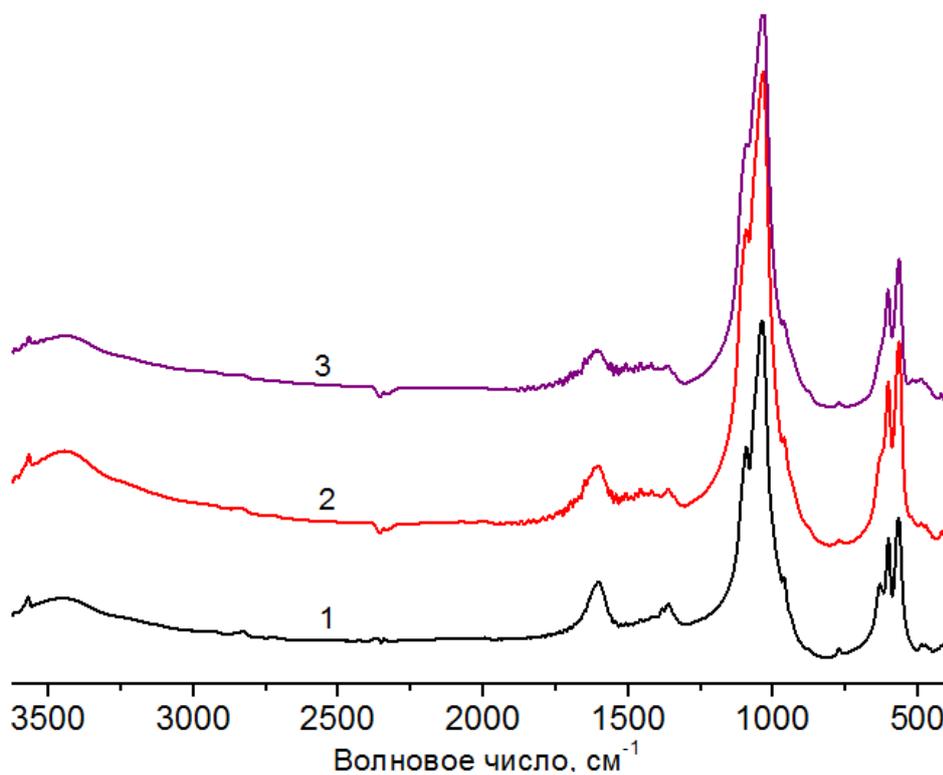


Рисунок 4.4 – ИК спектры чистого и кремний-модифицированных ГА:
 1 – ГА; 2 – SiГА $x = 0,6$; 3 – SiГА $x = 2,00$

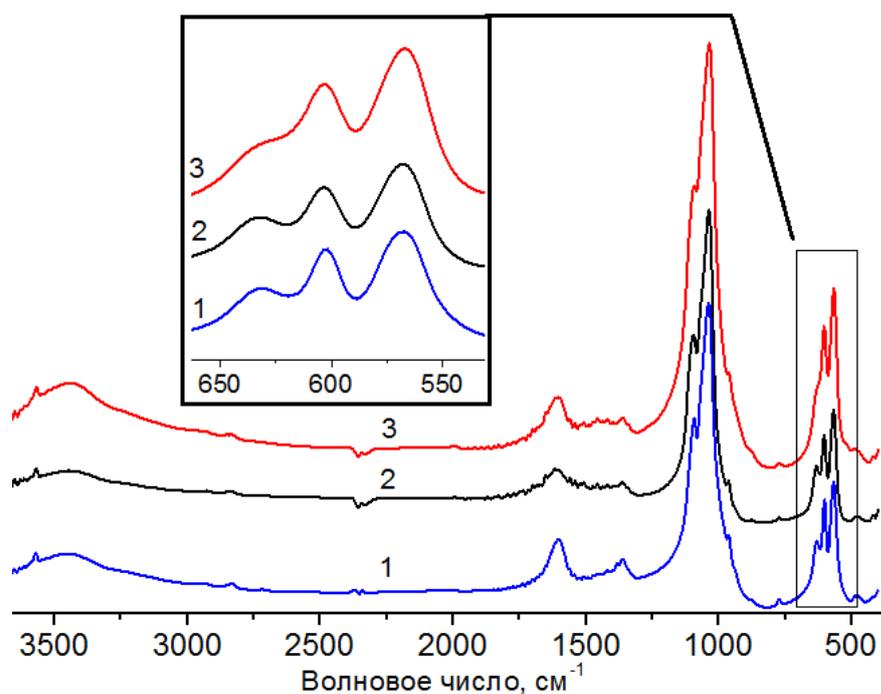


Рисунок 4.5 – ИК спектры чистого, магний- и кремний-модифицированных ГА: 1 – ГА; 2 – MgГА $x = 0,1$; 3 – SiГА $x = 0,6$

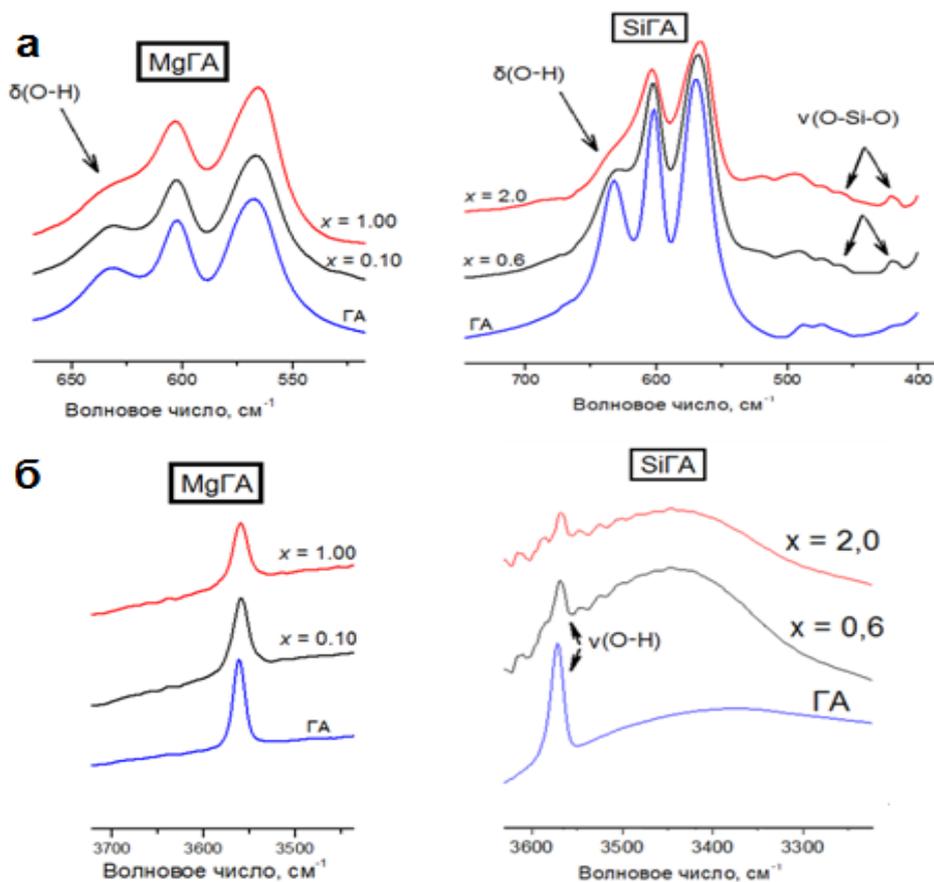


Рисунок 4.6 – Фрагменты ИК спектров чистого, магний- и кремний-модифицированных ГА, характеризующие колебания связей:

ν (P–O) – (а); ν (O–H) – (б)

По результатам РСМА определен элементный состав модифицированных ГА (табл. 4.3), показано, что распределение элементов модифицирующих ионов по поверхности образцов происходит равномерно (рис. 4.4).

Таблица 4.3 – Содержание элементов Mg и Si в магний- и кремний-модифицированных ГА

MgГА		(Ca+Mg)/P	SiГА		Ca/(P+Si)	ГА
ω (Mg), масс. %			ω (Si), масс. %			Ca/P
Практ	Теор	1,61	Практ	Теор	1,72	1,66
0,20 ± 0,03	0,24		1,51 ± 0,10	1,69		

Заниженное содержание элементов магния и кремния в составе порошков MgГА и SiГА, по-видимому, связано с тем, что ионы Mg^{2+} и SiO_4^{4-} частично остаются в маточном растворе в ходе жидкофазного синтеза образцов.

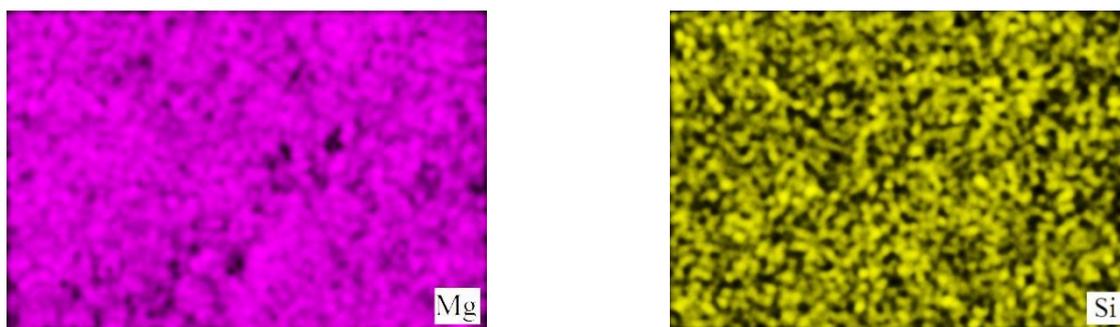


Рисунок 4.7 – Распределение элементов Mg и Si по поверхности магний- и кремний-модифицированных ГА. Увеличение ×1000

Количественная оценка содержания фаз витлокита и ларнита в образцах MgГА и SiГА по данным РФА позволяет оценить количественное содержание элементов Mg и Si в них (табл. 4.1). Полученные данные хорошо согласуются с результатами РСМА. Об этом также свидетельствует изменение соотношения (Ca+Mg)/P в случае MgГА и Ca/(P+Si) в случае SiГА, которое в стехиометрическом ГА составляет 1,67 и сохраняется постоянным при условии полного изоморфного замещения ионов кристаллической решетки ГА ионами Mg^{2+} и SiO_4^{4-} . Изменение соотношения этих величин связано с наличием вторичных фаз – витлокита и ларнита.

4.3 Физико-химические свойства модифицированных гидроксипатитов

Морфология и дисперсность

Модифицирование ГА ионами Mg^{2+} и SiO_4^{4-} приводит к изменению морфологии, размеров частиц, удельной поверхности и степени дисперсности образцов.

По микрофотографиям, полученным при увеличении в 2000 раз (рис. 4.5), видно, что порошки представляют собой смесь рыхлых агломератов, изменяющихся по размерам следующим образом: ГА 1-10 мкм, MgГА 1-20 мкм, SiГА 1-11 мкм (рис. 4.6).

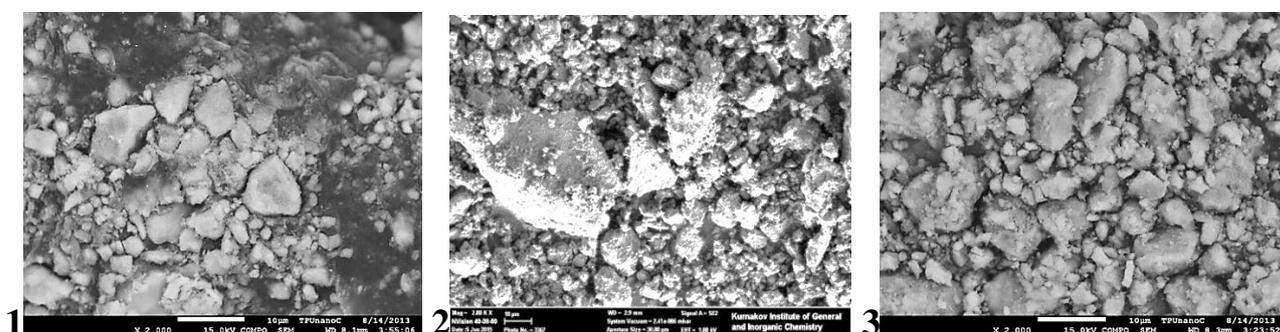


Рисунок 4.8 – Микрофотографии поверхности порошков
1 – ГА, 2 – магний-модифицированного ГА,
3 – кремний-модифицированного ГА. Увеличение $\times 2000$

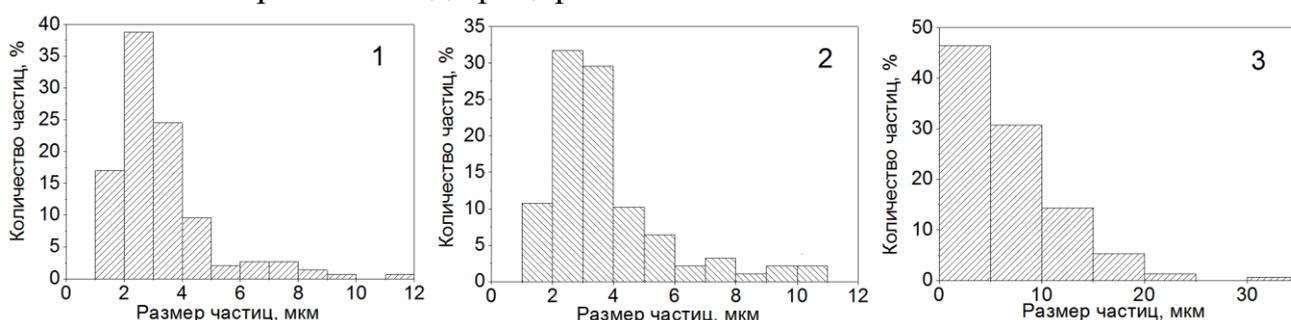


Рисунок 4.9 – Гистограммы количественного распределения агломератов по размерам: 1 – ГА, 2 – магний-модифицированный ГА, 3 – кремний-модифицированный ГА

При увеличении в 200 000 раз становится заметным изменение морфологии прокаленных при 800 °С модифицированных ГА в зависимости от модифицирующего иона (рис. 4.7): в случае MgГА происходит увеличение площади контакта частиц за счет их интеграции; в случае SiГА частицы

формируются игольчатой формы с размерами ~ 20 нм в ширину и 100 нм в длину.

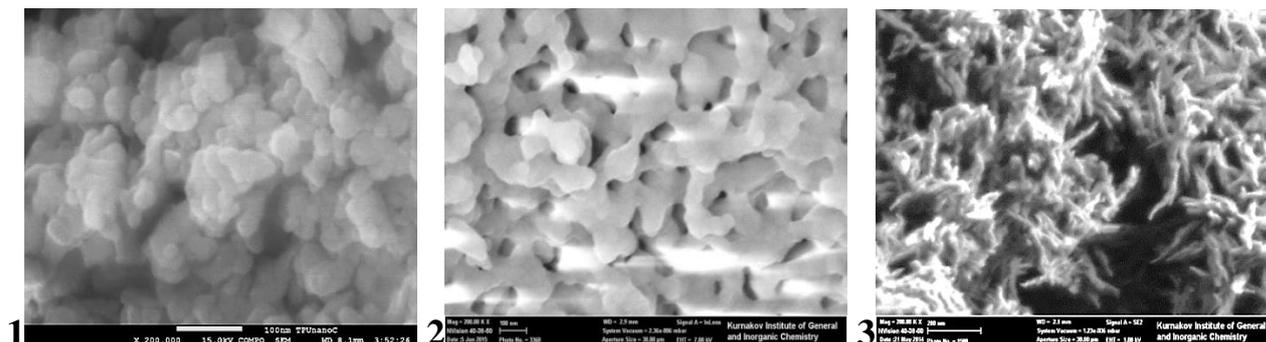


Рисунок 4.10 – Микрофотографии поверхности порошков
 1 – ГА, 2 – магний-модифицированного ГА,
 3 – кремний-модифицированного ГА. Увеличение $\times 200\ 000$

Поверхность MgГА, наблюдаемая при увеличении в 40 000 раз (рис. 4.8), содержит 2 области с различной морфологией, по-видимому, соответствующих разным фазам: ГА и витлокит.

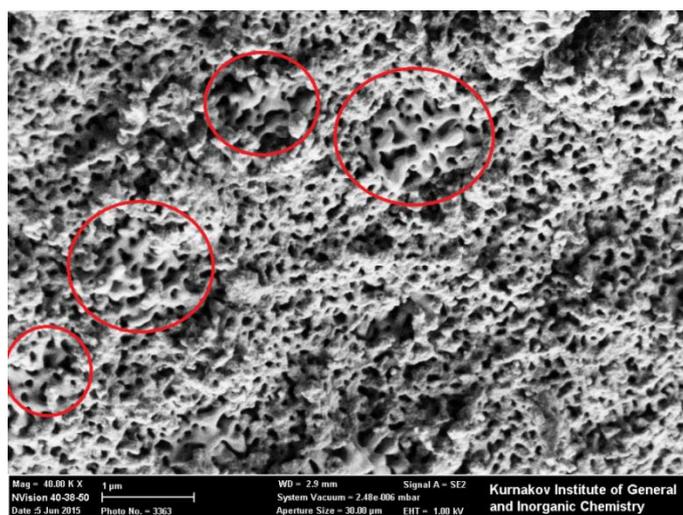


Рисунок 4.11 – Микрофотография поверхности порошка магний-модифицированного ГА. Увеличение $\times 40\ 000$

Значения плотности порошков, составляющие $(2,56 \pm 0,05)$ г/см³ для MgГА и $(2,58 \pm 0,07)$ г/см³ для SiГА, позволили оценить размер частиц исследуемых порошков с учетом результатов измерения удельной поверхности.

Таблица 4.4 – Размеры ОКР, частиц и величины удельной поверхности продуктов синтеза: 1 – ГА, 2 – магний-модифицированный ГА, 3 – кремний-модифицированный ГА

Параметр микроструктуры	ГА	MgГА	SiГА
d ОКР, нм	30	40	35
$S_{уд}$, м ² /г	106 ± 5	74 ± 4	84 ± 4
Суммарный объем пор, см ³ /г	0,40	0,41	0,33
Средний размер пор, нм	14-20	19-22	13-16
d^* по $S_{уд}$, нм	22	32	28

Таким образом, отмечается увеличение размеров частиц ГА при его модифицировании, оцененное по результатам анализов: РФА, СЭМ, $S_{уд}$. Дисперсность уменьшается в следующем ряду: ГА > SiГА > MgГА.

Величины ОКР по значениям больше значений, полученных по микрофотографиям и по величине удельной поверхности; это связано тем, что расчет ОКР проводили для прокаленных образцов. При этом общая тенденция изменения размеров частиц в указанном ряду сохраняется.

Кислотно-основные свойства

Поверхностные характеристики важны при изучении свойств биоматериалов, так как от них зависят такие жизненно важные процессы, как адгезия белков, клеток и биорезорбируемость материалов при вживлении имплантатов в организм.

Методом низкотемпературной адсорбции СО показано, что на поверхности образцов ГА, MgГА и SiГА имеются Льюисовские кислотные центры, вероятно, координационно ненасыщенные катионы Ca^{2+} и Mg^{2+} (в образцах MgГА), Si^{4+} (в образце SiГА), характеризующиеся частотами колебаний СО при 2150-2170 см⁻¹. *Льюисовский кислотный центр* (ЛКЦ) определяется как группа атомов на поверхности, способная присоединить неподеленную электронную пару адсорбирующейся молекулы основания. *Основанием по Льюису* называются молекулы или группы атомов на поверхности (основные центры), которые способны дать электронную пару для взаимодействия с протоном или ЛКЦ [211].

При этом заметных изменений спектров в области колебаний ОН-групп (3570 см^{-1}), которые фиксировались бы при адсорбции СО на бренstedовских кислотных центрах, не идентифицируется. Что подтверждает основной характер ОН-групп ГА.

Сила ЛКЦ и их концентрация в образцах ион-модифицированных ГА увеличиваются в следующем ряду: ГА < MgГА < SiГА, о чем свидетельствует сдвиг полос поглощения СО в область больших частот (рис. 4.X) и увеличение ее интенсивности.

Увеличение силы ЛКЦ, по-видимому, связано с большим значением электроотрицательностей магния (по Полингу $X_{\text{Mg}} = 1,31$) и кремния ($X_{\text{Si}} = 1,90$) относительно кальция ($X_{\text{Ca}} = 1,00$) [241]. Усиление ЛКЦ в случае SiГА также может быть связано с наличием вакантных орбиталей $3d$ -подуровня у атома кремния, выступающих в качестве акцепторов неподеленных электронных пар молекул СО.

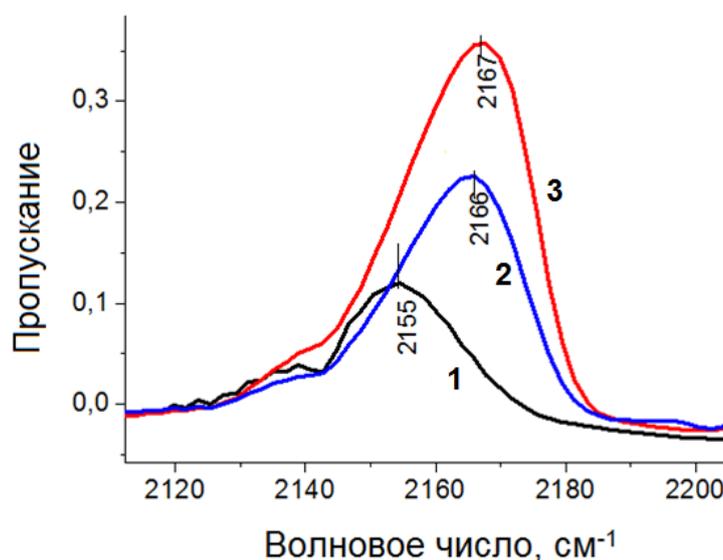


Рисунок 4.12 – ИК спектры адсорбированного при $T = -196\text{ }^\circ\text{C}$

СО на поверхности продуктов синтеза: 1 – ГА,

2 – магний-модифицированного ГА, 3 – кремний-модифицированного ГА

Кислотно-основные свойства поверхности можно дополнительно оценить при изучении каталитической активности материалов. Каталитическую активность образцов определяли в ходе реакции окислительного

дегидрирования пропана при температурах 350-550 °С в присутствии ГА, MgГА и SiГА в качестве катализаторов. Ряд активности не совпадает с рядом силы кислотных центров, что может указывать на то, что в окислительном дегидрировании пропана больший вклад вносят основные центры. Предполагаемый ряд силы основных центров (ОН-группы) для полученных образцов: MgГА > ГА > SiГА хорошо коррелирует с рядом каталитической активности (табл. 4.5).

Таблица 4.5 – Данные каталитических испытаний при температуре 550 °С образцов гидроксиапатитов

Образец	ГА	SiГА	MgГА
Конверсия пропана, %	9,4	9,3	17,1
Селективность образования пропилена+этилена, %	17	13	57

Высокое значение селективности образования целевых продуктов в реакции дегидрирования пропана на магниевом (MgГА) катализаторе 57 % позволяет рекомендовать этот образец для дальнейшего исследования его с перспективой применения в качестве катализатора окислительного дегидрирования углеводородов.

4.4 Оценка резорбируемости и биомиметические свойства модифицированных гидроксиапатитов

В таблице 4.6 приведены результаты определения растворимости образцов модифицированных ГА в физиологическом растворе при комнатной температуре 20 °С и температуре человеческого тела 37 °С.

Таблица 4.6 – Растворимость порошков гидроксиапатитов в физиологическом растворе при pH 7, ω (NaCl) = 0,9 %

Концентрация ионов Ca^{2+} в насыщенном относительно ГА физиологическом растворе		ГА	MgГА	SiГА
$C_{\text{Ca}^{2+}} \cdot 10^3$, моль/л	20 °С	1,59 ± 0,03	2,04 ± 0,07	2,35 ± 0,20
	37 °С	1,74 ± 0,04	2,19 ± 0,12	2,26 ± 0,15

Максимальная концентрация ионов кальция в насыщенном относительно твердой фазы физиологическом растворе обнаружена у ГА, модифицированного кремнием, что связано с высокой растворимостью в воде силиката кальция (при 20 °С $S_{Ca_2SiO_4} = 5,8 \cdot 10^{-4}$ моль/л [242]). Образец MgГА обладает также бóльшей относительно ГА растворимостью, что, в свою очередь, связано с высокой растворимостью витлокита (при 25 °С pK_s меняется от 28,88 до 33,70 в зависимости от содержания Mg^{2+} в составе $Ca_3(PO_4)_2$ от 0 до 13,3 мол. % [243]). При этом увеличение растворимости также связано с микронапряжениями, возникающими при встраивании модифицирующих ионов в структуре ГА.

Увеличение растворимости модифицированных ГА, вызванное наличием вторичных фаз и деформациями его КР при образовании твердых растворов замещения, будет благотворно влиять на свойство резорбируемости материалов на его основе.

Биомиметические исследования образцов ГА, MgГА и SiГА проводили в модельном SBF-растворе при 37 °С в течение 28 суток. Скорость формирования КФС на поверхности подложек ГА, MgГА и SiГА оценивали по результатам измерений суммарной концентрации ионов кальция и магния ($\Delta C_{(Ca^{2+} \text{ и } Mg^{2+})}$, ммоль/л) в SBF-растворе в ходе эксперимента.

По ходу кинетических кривых ($\Delta C_{(Ca^{2+} \text{ и } Mg^{2+})}$, ммоль/л – τ , сут) накопления ионов кальция и магния на поверхностях подложек (рис. 4.10) видно, что на поверхности чистого ГА адсорбция ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} из SBF-раствора идет медленнее, чем на поверхностях модифицированных ГА; это, по-видимому, связано с усилением кислотных свойств поверхности модифицированных ГА (рис. 4.9) и появлением границ раздела фаз, вследствие чего диффузия и адсорбция противоионов из SBF-раствора к поверхности образца проходит быстрее. Морфологию поверхности подложек со сформированным КФС исследовали с помощью сканирующей электронной микроскопии, наглядно подтвердившей результаты биомиметических исследований.

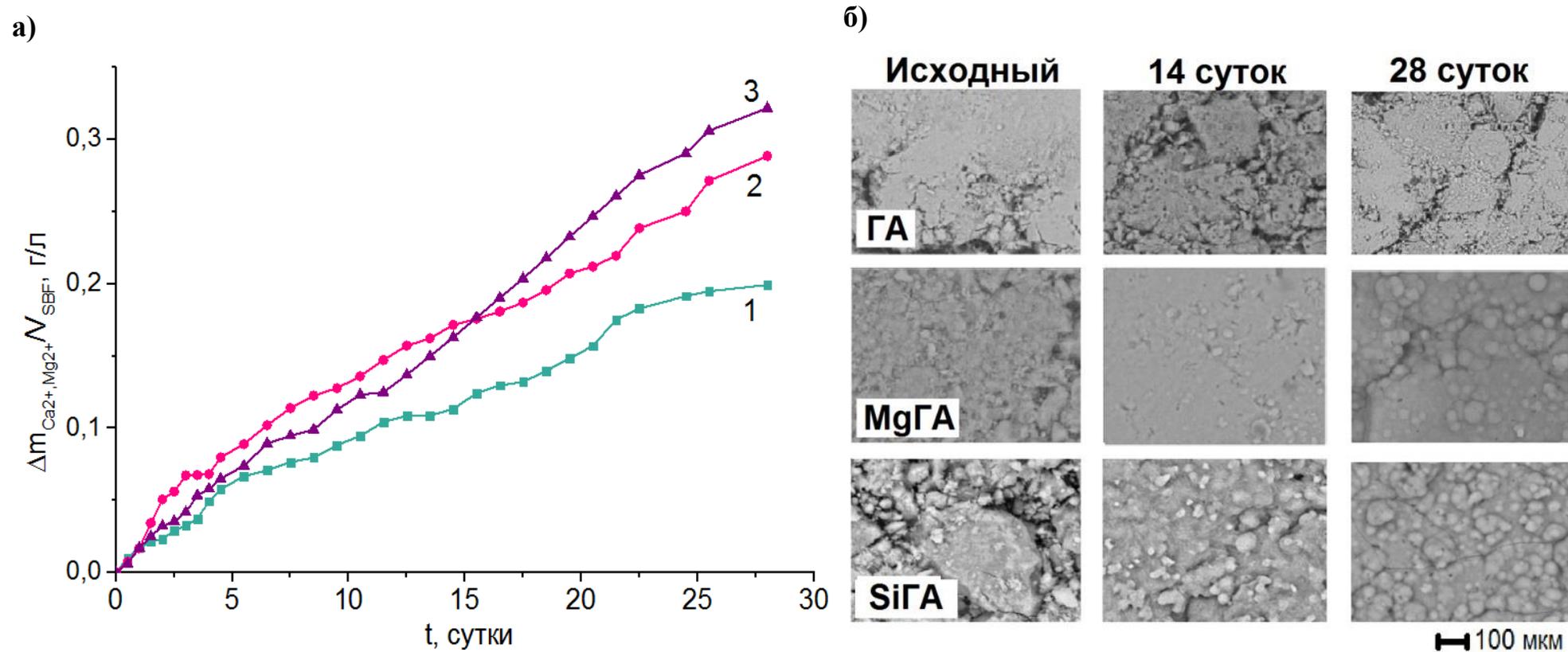


Рисунок 4.13 – Кривые накопления ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} на поверхности таблеток из SBF-раствора (а) и микрофотографии поверхности подложек (увеличение $\times 1000$), показывающие динамику роста кальций-фосфатного слоя (б):

1 – ГА, 2 – магний-модифицированного ГА, 3 – кремний-модифицированного ГА

Формирование КФС на подложках ГА, SiГА и MgГА (рис. 4.11) происходит уже через 14 суток выдерживания их в SBF-растворе. К 28 суткам наличие КФС становится явным, размер зерен фосфатов кальция на поверхностном слое ново-сформированного КФС составляет 2-7 мкм.

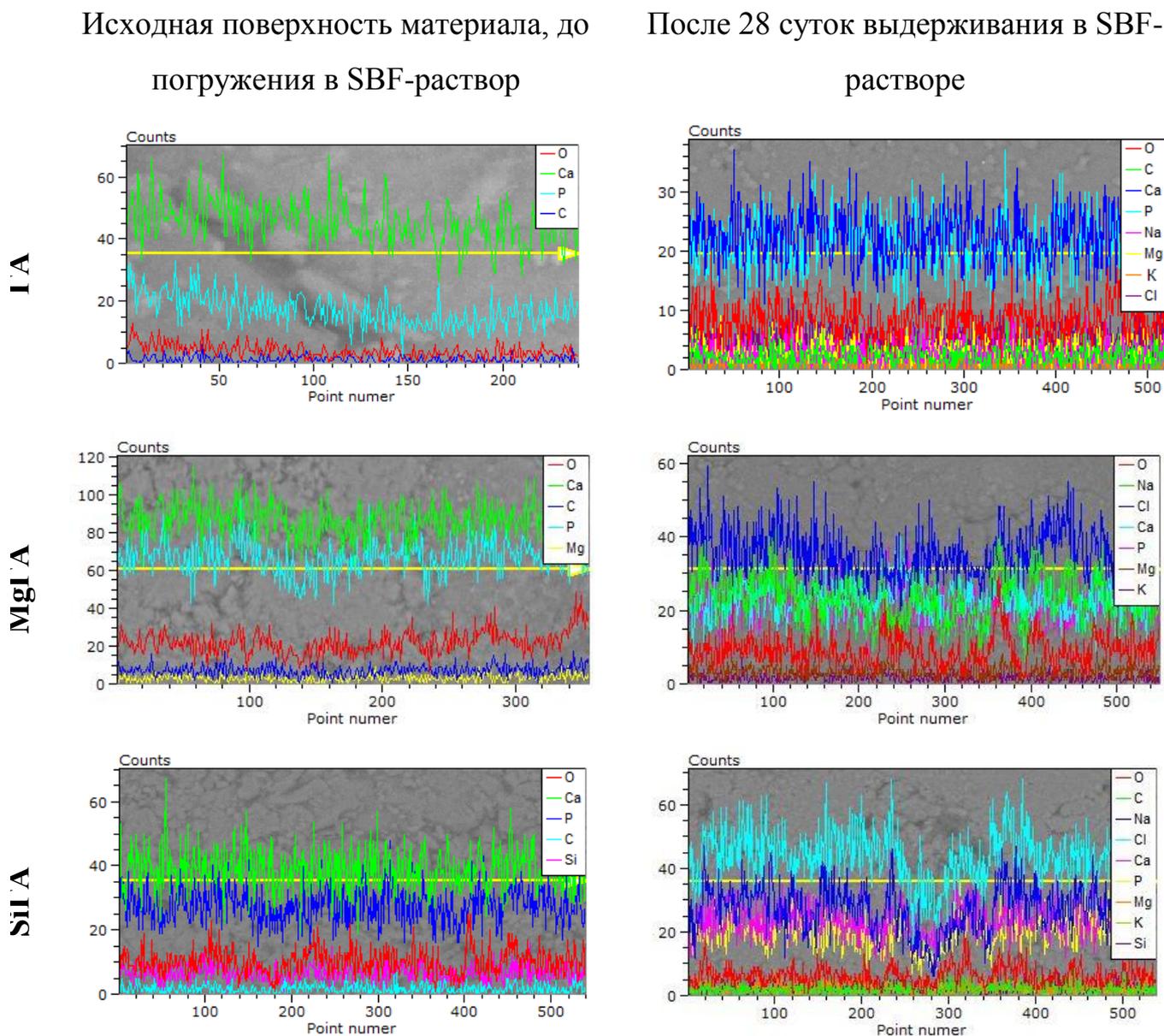


Рисунок 4.14 – Линейное распределение элементов по поверхности таблеток, сформированных на основе ГА, магний- и кремний-модифицированных ГА до погружения в раствор (слева) и после выдерживания в SBF-растворе течение 28 суток (справа)

Таким образом, основные выводы по главе:

- установлено, что синтез ГА в присутствии ионов Mg^{2+} и SiO_4^{4-} проходит с образованием бифазных продуктов. Ионы Mg^{2+} и SiO_4^{4-} присутствуют в составе образцов как в виде вторичных фаз – витлокит ($MgГА$) и ларнит ($SiГА$), так и в составе кристаллической решетки ГА, образуя твердый раствор типа замещения, что подтверждается несколькими фактами: сдвигом рефлексов в сторону меньших углов, появлением (до 10 масс. %) фазы ГА с пониженной симметрией $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_{2мон}$ (переход от гексагональной к моноклинной сингонии), а также изменением параметров элементарной ячейки фаз $Ca_5(PO_4)_3OH$ и $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$.

- по результатам методов РФА, СЭМ, измерения $S_{уд}$ показано, что в образцах модифицированных ГА наблюдается увеличение размеров частиц относительно немодифицированного ГА. Дисперсность уменьшается в следующем ряду: ГА > SiГА > MgГА

- обнаружены кислотные центры на поверхности образцов ГА, относящиеся к кислотам Льюиса. Сила и концентрация ЛКЦ на поверхностях модифицированных ГА выше относительно немодифицированного ГА. При этом наибольшей силой и концентрацией ЛКЦ обладает образец ГА, модифицированный кремнием. Выявленный ряд силы ЛКЦ: ГА < MgГА < SiГА

- сохраняется при измерении растворимости образцов в физиологическом растворе и оценке способности формировать КФС на своей поверхности в модельном SBF-растворе при 37 °С.

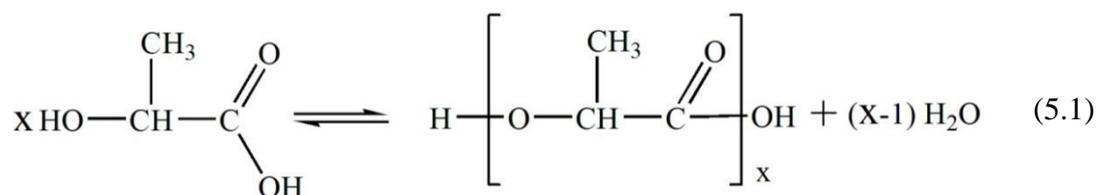
ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА И ПОЛИМЕРОВ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ

5.1 Получение композиционных материалов на основе гидроксиапатита и полимеров молочной кислоты низкой молекулярной массы

Композиционные материалы получали на основе немодифицированного ГА и полимеров молочной кислоты низкой и высокой молекулярной массы.

Основная проблема создания полимерных композитов на основе фосфатов кальция, раскрытая с помощью анализа современной научной литературы в первой главе, заключается в слабой адгезии частиц неорганического наполнителя к полимерной матрице. Одним из путей решения этой проблемы является покрытие частиц ГА связующим агентом, увеличивающим его сродство к полимерной матрице. Полимер молочной кислоты низкой молекулярной массы (ПМК) может выступать в роли такого агента, являясь, во-первых, нетоксичным (в отличие от многих предлагаемых для этих целей связующих: силанолы, изоцианаты и др.), а во-вторых, проявляющим наибольшее сродство к высокомолекулярному полилактиду (ПЛ). При этом композиты ГА-ПМК могут обладать как самостоятельными применениями в восстановительной медицине, так и являться наполнителями в составе композитов с ПЛ.

ПМК получали в колбе роторного испарителя поликонденсацией молочной кислоты в инертной атмосфере (5.1):



Для варьирования молекулярной массы (ММ) и степени полидисперсности ПМК синтез проводили как в присутствии катализатора *n*-толуолсульфокислоты (*n*-ТСК), так и в условиях некаталитической поликонденсации [245].

Методом гель-проникающей хроматографии (ГПХ) установлено, что среднемассовая степень полимеризации (\overline{X}_w) образцов ПМК, полученных в отсутствие катализатора, невысока и достигает 20 при степени полидисперсности $\overline{X}_w/\overline{X}_n \approx 2$ (где \overline{X}_n – среднечисленная степень полимеризации). С целью увеличения \overline{X}_w реакцию проводили в присутствии *n*-ТСК. О влиянии катализатора и его количества на среднемассовую ММ (\overline{M}_w) и полидисперсность продуктов судили по данным, приведенным в таблице 5.1.

Таблица 5.1 – Значения \overline{M}_w , \overline{X}_w и $\overline{X}_w/\overline{X}_n$ полимеров молочной кислоты при разном содержании катализатора в реакционной смеси

Содержание <i>n</i> -ТСК в ОМК, масс. %	\overline{M}_w	\overline{X}_w	$\overline{X}_w/\overline{X}_n$
Без катализатора	1200	20	2,09
0,5	11000	150	1,89
1,0	14000	200	1,89
2,0	14000	200	1,66
5,0	15500	215	1,85

С повышением содержания катализатора \overline{M}_w ПМК увеличивается. По результатам ГПХ выбранное количество катализатора составляет 2 масс. % *n*-ТСК [245], так как выбранное значение соответствует наименьшей степени полидисперсности при наибольшей молекулярной массе.

Для получения композитов ГА с ПМК (ГА-ПМК) мелкодисперсный порошок ГА добавляли к раствору молочной кислоты, в котором предварительно растворяли выбранное количество *n*-ТСК. Поликонденсация молочной кислоты проходила в течение 5 часов с одновременным образованием композита *in situ* [246-248].

Изменяя массовое соотношение исходного ГА и образующегося количества ПМК в соответствии с предварительным расчетом, получали композиты следующих составов:

Условное обозначение	Композит А	Композит Б	Композит В
Содержание (масс. %) ГА _{исх} /ПМК	25/75	50/50	75/25

5.2 Идентификация состава композитов и исследование взаимодействия между гидроксиапатитом и молочной кислотой в процессе формирования композитов с полимерами молочной кислоты низкой молекулярной массы

Основной кристаллической фазой композита *A* по результатам рентгенофазового анализа (рис. 5.1) является гидрофосфат кальция, композиты *B* и *B* содержат две фазы – гидроксиапатит $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ и CaHPO_4 .

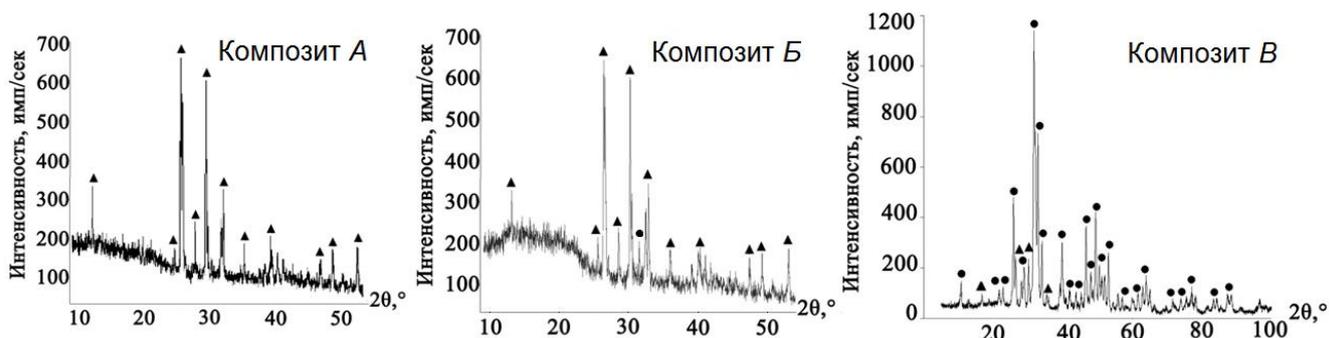


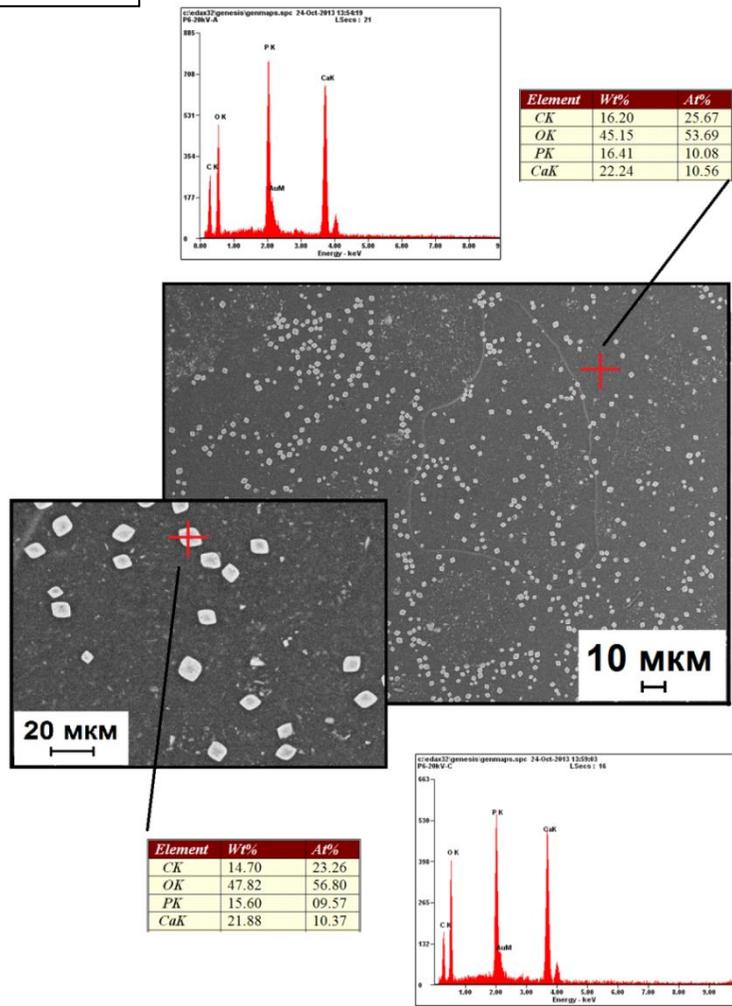
Рисунок 5.1. – Рентгенограммы композитов при различном соотношении ГА и рассчитанного количества полимера молочной кислоты: *A* (25 масс. % – ГА), *B* (50 масс. % – ГА) и *B* (75 масс. % – ГА): ● – $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, ▲ – CaHPO_4

Соотношение Ca/P, подтверждающее формирование фазы кислого фосфата кальция, и результаты количественной оценки фазового состава композитов, полученные с помощью метода съемки рентгенограмм без эталона, представлены в таблице 5.2. На рисунке 5.2 показано распределение неорганического наполнителя в полимерной матрице, оцененное с помощью микрофотографий. Элементный анализ проводили в областях, соответствующих фосфатам кальция (ФК) и полимерной матрице (ПМ).

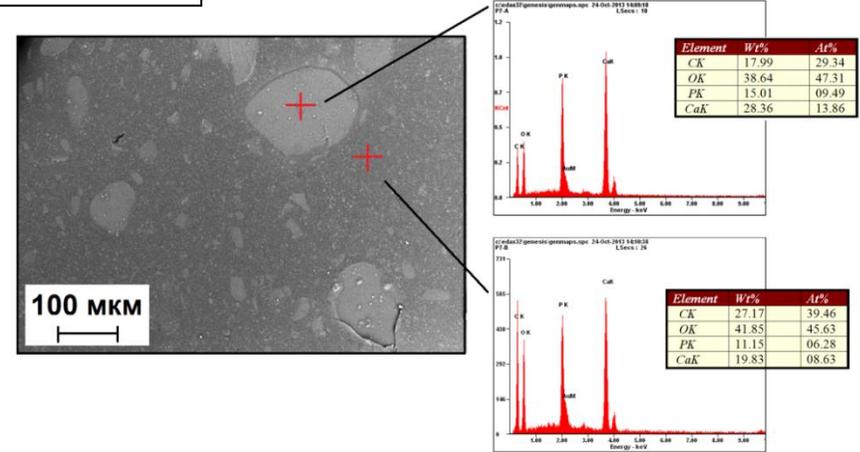
Таблица 5.2 – Соотношение Ca/P и количественное содержание фаз в составе композитов с полимерами молочной кислоты
A (25 масс. % – ГА), *B* (50 масс. % – ГА) и *B* (75 масс. % – ГА)

Композит	$\omega (\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH})$, масс. %	$\omega (\text{CaHPO}_4)$, масс. %	Ca/P _{ФК}	Ca/P _{ПМ}	Ca/P _{сред}
A	0	100	1,08	1,05	1,07
B	32	68	1,46	1,37	1,42
B	83	17	1,42	1,47	1,45

КОМПОЗИТ А



КОМПОЗИТ Б



КОМПОЗИТ В

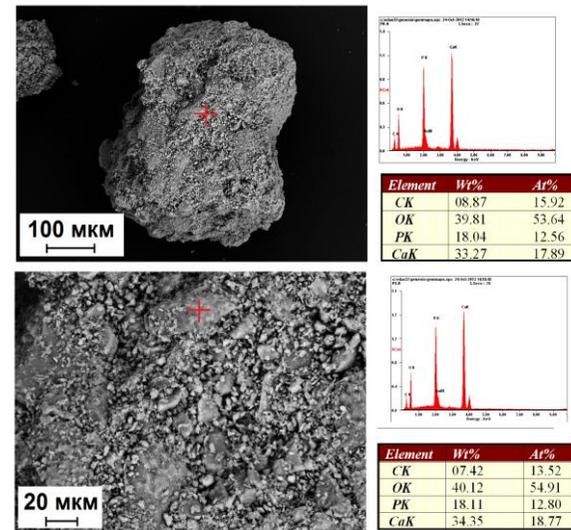


Рисунок 5.2 – Микрофотографии, энергодисперсионные спектры и элементный состав композитов с полимерами молочной кислоты: А (25 масс. % – ГА), Б (50 масс. % – ГА) и В (75 масс. % – ГА)

В ИК спектрах композитов (рис. 5.3) регистрируются полосы, характерные для фосфатов кальция – валентные ($1085\text{--}960\text{ см}^{-1}$) и деформационные ($560\text{--}605\text{ см}^{-1}$) колебания фосфатных групп $\nu(\text{PO}_4^{3-}, \text{HPO}_4^{2-})$, $\delta(\text{PO}_4^{3-}, \text{HPO}_4^{2-})$, полосы, при $2990\text{--}2880\text{ см}^{-1}$ относятся к валентным колебаниям $\nu(\text{C--H})$ в метильных группах; в области $1100\text{--}1400\text{ см}^{-1}$ – к деформационным колебаниям $\delta(\text{C--H})$ в метиновых группах. Отмечено, появление новых интенсивных полос в области $1630\text{--}1580\text{ см}^{-1}$, относящихся к колебаниям групп карбоксилат-ионов --COO^- . При этом полосы, относящиеся к колебаниям карбонильных групп $\nu(>\text{C=O})$ ($1730\text{--}1750\text{ см}^{-1}$), свидетельствующие о присутствии полимера в составе композитов, сохраняются.

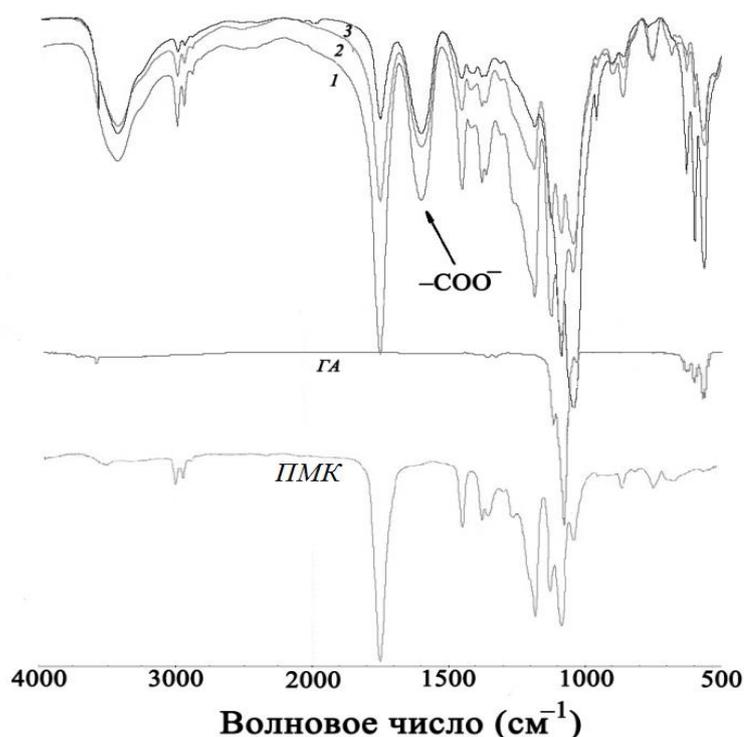
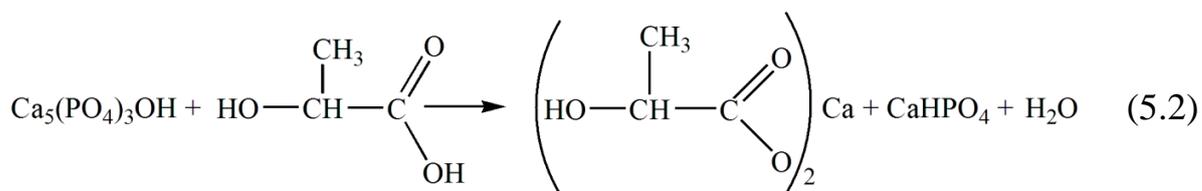


Рисунок 5.3 – ИК спектры чистых ГА, полимера молочной кислоты и композитов на их основе: А (25 масс. % – ГА), Б (50 масс. % – ГА) и В (75 масс. % – ГА)

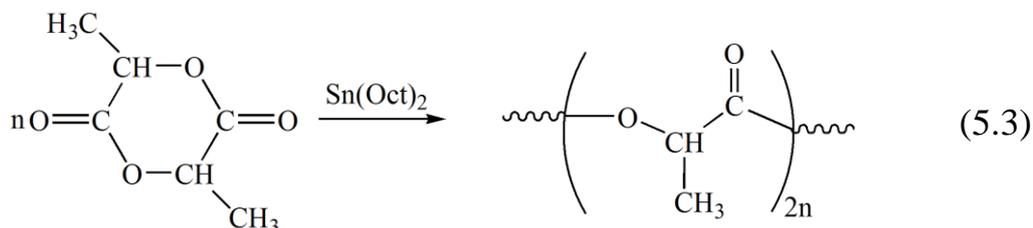
На основании результатов, полученных методами РФА, элементного анализа и ИК спектроскопии, можно предположить взаимодействия ГА с молочной кислотой с образованием гидрофосфата кальция согласно схеме (5.2).



5.3 Получение композитов на основе гидроксиапатита с полимерами молочной кислоты высокой молекулярной массы

В разделе 5.2 показано, что формирование полимерных композитов на основе ГА, протекающее в момент поликонденсации молочной кислоты нарушает фазовый состав ГА за счет взаимодействия его с молочной кислотой. В связи с этим с целью сохранения фазового состава ГА в качестве полимерной матрицы был взят полимер молочной кислоты бóльшей молекулярной массы (полилактид, ПЛ), получаемый сотрудниками ЛКИ ТГУ.

Полимеры молочной кислоты высокой молекулярной массы (полилактид, ПЛ) получали из *L*-лактида ионной полимеризацией с раскрытием циклов в присутствии октаноата (II) олова в качестве катализатора (5.3).



С целью очистки ПЛ его навеску растворяли в хлороформе при температуре 40 °С, полученный раствор по каплям добавляли в пятикратный избыток этилового спирта. ПЛ осаждали в этаноле в виде белых непрозрачных нитей. Очищенный ПЛ сушили в сушильном шкафу при температуре 40 °С.

Композит ПЛ с ГА получали смешиванием раствора ПЛ в хлороформе (С = 0,10 г/мл) и порошка ГА в массовом соотношении $m(\text{ПЛ}) : m(\text{ГА}) = 90 \text{ г} : 10 \text{ г}$, полученную суспензию в течение 20 минут обрабатывали ультразвуком с частотой 40 кГц, затем отливали тонким слоем в чашки Петри и сушили до полного испарения растворителя при комнатной температуре [249].

Результаты РФА полученных композитов ГА-ПЛ показали наличие фаз ГА и ПЛ (рис.5.4), примесных фаз фосфатов кальция не обнаружено.

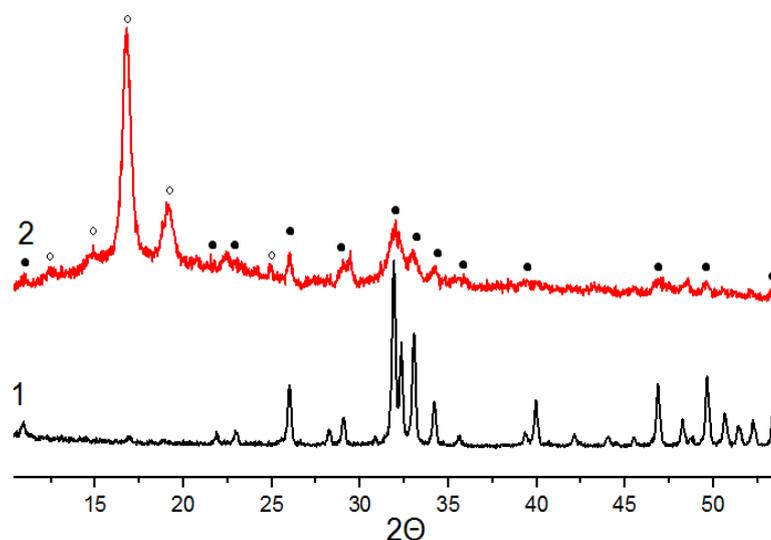


Рисунок 5.4 – Рентгенограммы 1 – ГА; 2 – композит ГА-полилактид.

● – гидроксиапатит $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, о – поли-*L*-лактид

5.4 Оценка резорбируемости и биомиметические свойства полимерных композитов в модельном SBF-растворе

Значения общей (суммарной) концентрации Ca^{2+} (моль/л) в физиологическом растворе, насыщенном ионами кальция в результате длительного (в течение 7 суток) выдерживания в нем ГА и полимерных композитов позволяют судить об их ожидаемой резорбируемости в среде организма (табл. 5.3).

Таблица 5.3 – Растворимость ГА и композитов с полимерами молочной кислоты: А (25 масс. % – ГА), Б (50 масс. % – ГА) и В (75 масс. % – ГА) в физиологическом растворе при рН 7, ω (NaCl) = 0,9 %, 20 °С

	ГА	Композит А	Композит Б	Композит В	ГА-ПЛ
$C_{\text{Ca}^{2+}} \cdot 10^3$, МОЛЬ/Л	$1,59 \pm 0,03$	$4,45 \pm 0,09$	$7,05 \pm 0,11$	$3,39 \pm 0,08$	$0,38 \pm 0,01$

Общая растворимость фосфатов кальция в составе композитов А, Б, В в 2-4 раза выше растворимости чистого ГА, что связано со вкладом фазы CaHPO_4 , растворимость которой значительно выше растворимости ГА (при 25 °С $\text{pPP}_{\text{ГА}} = 58,6$; $\text{pPP}_{\text{CaHPO}_4} = 6,9$). Такие изменения растворимости должны способствовать увеличению скорости резорбции биоматериала. При этом значение концентрации

Ca^{2+} (моль/л) в физиологическом растворе композита ГА-ПЛ ниже, чем у ГА и композитов *A*, *B*, *B*. Это, по-видимому, связано с тем, что ПЛ «блокирует» частицы ГА, затрудняя выход свободных ионов кальция с их поверхности в раствор.

Таким образом, количественная оценка фазового состава и растворимости композитов *A*, *B*, *B* позволяет рекомендовать композит *B* для дальнейшего исследования его свойств с перспективой применения в качестве костных заменителей. Композит *B* содержит ~ 83 масс. % (по отношению к другим кристаллическим фазам) ГА, обеспечивающего материалу механическую прочность и osteoconductive, в то же время содержание ~ 17 масс. % CaHPO_4 способствует увеличению резорбируемости материала. Гидрофосфат кальция очень быстро резорбируется *in vivo*, и растущая костная ткань не успевает заполнять образующиеся полости. Поэтому чистый CaHPO_4 не находит самостоятельного применения в качестве заменителя костной ткани, а используется как компонент кальций-фосфатных цементных смесей, зубных паст и др.[48].

SBF-исследования композитов

По результатам измерений суммарной концентрации ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} в SBF-растворе, содержащем полимерные композиты, ПЛ и ГА, строили кинетические кривые ($\Delta C_{(\text{Ca}^{2+} \text{ и } \text{Mg}^{2+})}$, ммоль/л – τ , сут) накопления ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} на поверхностях подложек из SBF-раствора (рис. 5.5).

Анализ кинетических кривых показывает, выполненный по результатам SBF-исследований, позволяет сформулировать следующие факты:

1) на поверхности чистого ГА (рис.5.5, *1*) происходит активная адсорбция ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} из SBF-раствора в течение всего времени выдерживания подложек в растворе. Скорость формирования КФС на поверхности чистого ГА выше, чем на поверхностях композитов ПЛ и *B*, о чем свидетельствует большее значение угла наклона зависимости *1*.

2) Проявление повышенной растворимости ГА в составе композита ГА-ПЛ (рис. 5.5, 2) в первые 2-3 суток, по-видимому, связано со взаимодействием его с молекулами молочной кислоты, образующимися в ходе гидролиза ПЛ в SBF-растворе.

3) На поверхности чистого ПЛ (рис. 5.5, 3) происходят незначительные процессы «адсорбции-десорбции» ионов кальция из SBF-раствора, о чем свидетельствуют небольшие скачки концентрации ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} в растворе.

4) Заметная убыль ионов кальция с поверхности композита *B* (рис.5.5, 4) в первые 48 часов выдерживания его в растворе обусловлена относительно высокой растворимостью гидрофосфата кальция, входящего в состав композита; затем, начиная со вторых суток, происходит адсорбция ионов кальция из раствора на поверхности.

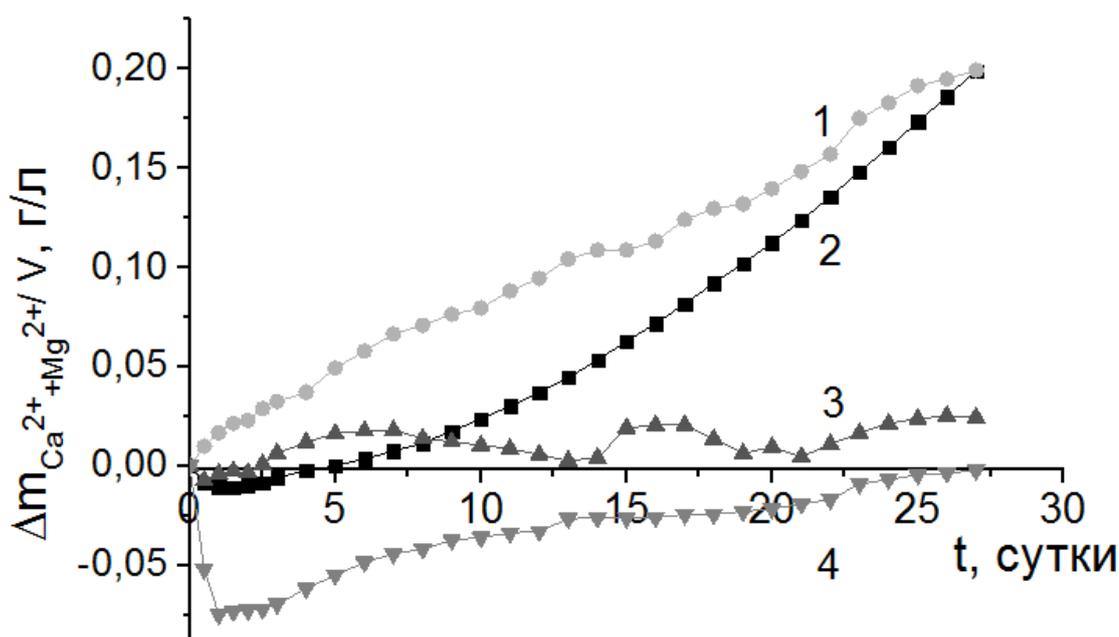


Рисунок 5.5 – Кривые накопления ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} из SBF-раствора на поверхности: 1 – ГА, 2 – композита ГА-полилактид, 3 – полилактид, 4 – композит ГА(75 исх. масс. %)–полимер молочной кислоты

Данные СЭМ (рис. 5.6, 5.7) наглядно подтверждают результаты биомиметических исследований и свидетельствуют как о формировании кальций-фосфатных слоев на подложках ГА и композитов ГА-ПЛ и *B* уже через 7 суток выдерживания их в SBF-растворе, так и об отсутствии формирования КФС на чистой полимерной подложке.

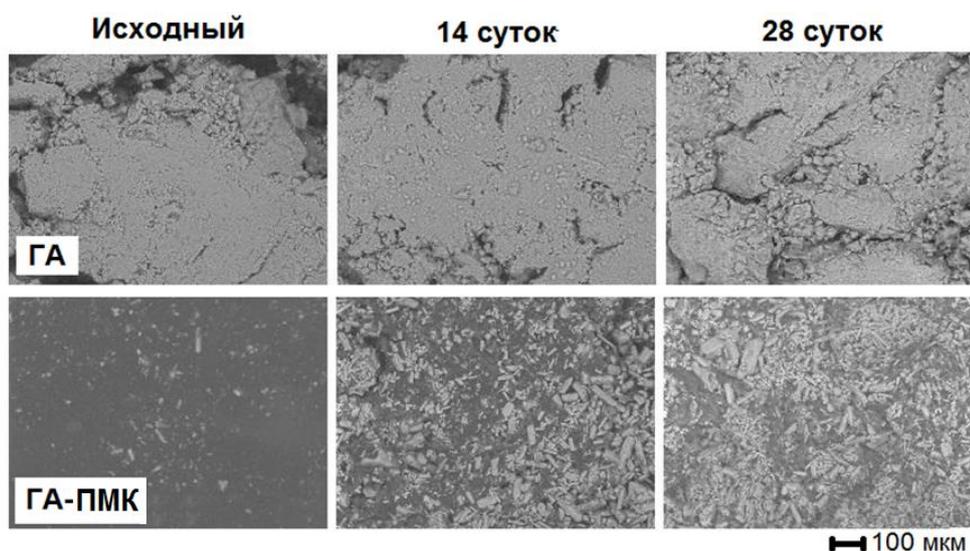


Рисунок 5.6 – Микрофотографии поверхности подложек, увеличение 3000. Динамика роста кальций-фосфатного слоя на поверхности ГА и композита ГА (75 исх. масс. %)-полимер молочной кислоты

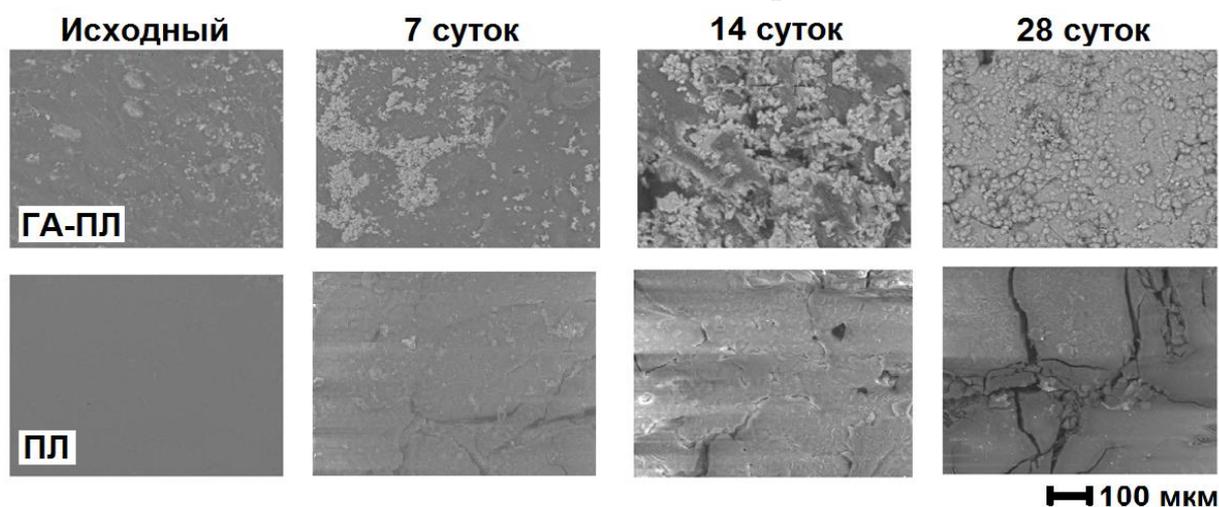


Рисунок 5.7 – Микрофотографии поверхности подложек, увеличение 3000. Динамика роста кальций-фосфатного слоя на поверхности полилактида и композита ГА (10 масс. %)-полилактид

Формирование КФС на поверхности подложек происходит согласно механизму, предложенному в [250]. Содержащая гидроксильные группы поверхность подложек, несущая частичный отрицательный заряд, притягивает ионы Ca^{2+} из раствора с одновременной их адсорбцией на поверхности и постепенной сменой заряда поверхности на частичный положительный. Процесс завершается присоединением PO_4^{3-} -ионов. В результате таких последовательно-параллельных событий на поверхности образуются слои из малорастворимых фосфатов кальция. Таким образом, сниженное относительно чистого ГА

содержание ОН⁻-групп (рис. 5.3, полосы 3570 см⁻¹) в составе композита *B* приводит к понижению общей скорости адсорбции ионов кальция и магния из SBF-раствора на поверхности композита.

5.5 Биосовместимость полимерных композитов на основе гидроксиапатита на клетках иммунной системы человека

Биосовместимость материалов как способность провоцировать воспалительные реакции (провоспалительная активность) у клеток иммунной системы человека (CD14+ моноцитов) изучали на клеточно-опосредованный иммунный ответ индивидуальных доноров *in vitro*.

Концентрация и тип выделившихся *цитокинов* (пептидные информационные молекулы, регулирующие воспалительные процессы) определяют наличие воспалительных реакций, вызываемых материалом. По механизму действия цитокины можно разделить на следующие группы:

- провоспалительные, обеспечивающие мобилизацию воспалительного ответа (ИЛ-1,2,6,8, ФНО α , ИНФ γ). Выделение провоспалительных цитокинов вызывает формирование очага воспаления.
- противовоспалительные, ограничивающие развитие воспаления (ИЛ-4,10). Одной из причин выделения цитокинов противовоспалительного типа может служить наличие противовоспалительных свойств у материала.

Используя клетки иммунной системы человека – моноциты (рис. 5.8), на примере одного донора в ходе пилотного эксперимента методом иммуноферментного анализа (ИФА) оценена биосовместимость материалов ГА, ПЛ и ГА-ПЛ. Результаты ИФА представлены на рисунке 5.9.

Высокий уровень провоспалительных цитокинов (как правило, более 30–40 пкг/мл) является показателем протекания воспалительного процесса. Видно, что незначительное выделение цитокинов провоспалительного типа (~ 25–35 пкг/мл) наблюдается в контрольном образце (без материала), а также в присутствии ГА, ПЛ и композита ГА-ПЛ. Выделению противовоспалительных цитокинов способствует ПЛ на 6-ой день культивирования, что может свидетельствовать о

проявлении потенциальных противовоспалительных свойств полимерного материала.

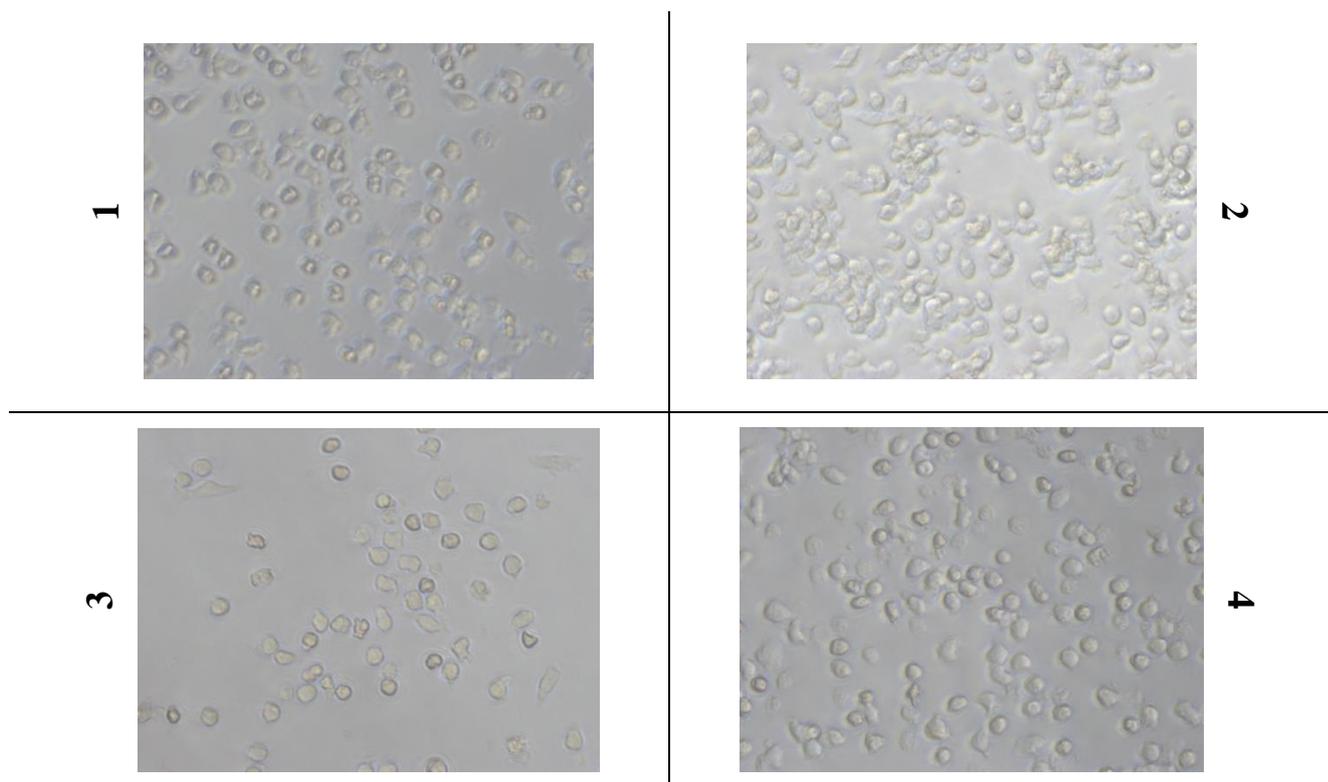


Рисунок 5.8 – Моноциты на 6^{ой} день культивирования (без стимуляций цитокинами ИЛ-4 и ИНФ-γ) в присутствии материалов: 1 – полилактид; 2 – ГА; 3 – композит ГА-полилактид; 4 – без материала.

Увеличение × 40

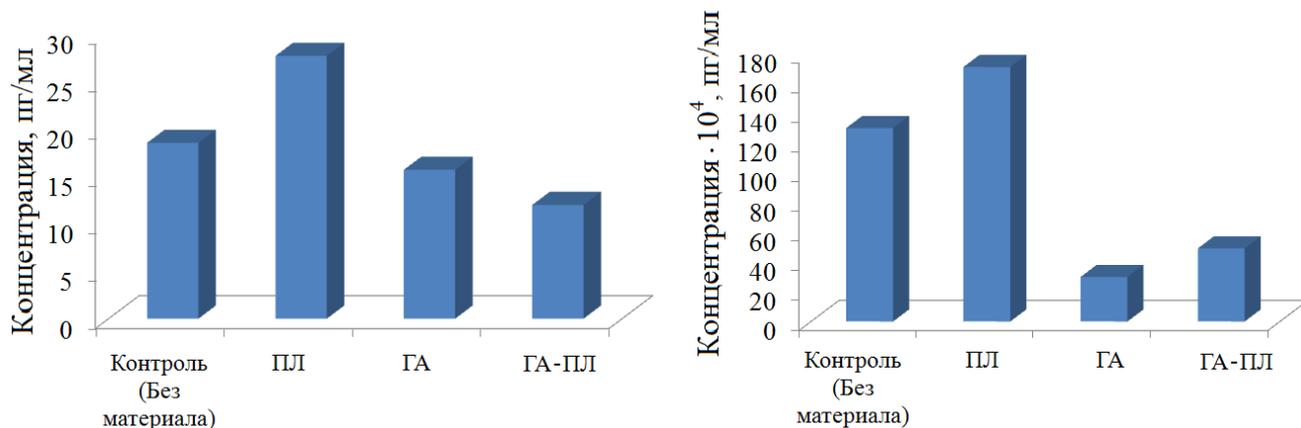


Рисунок 5.9 – Влияние PLL, ГА и композита ГА-PLL на выделение моноцитами: 1 – ФНО-α - при стимуляции провоспалительным цитокином ИНФ-γ (слева); 2 – ССЛ18 – при стимуляции противовоспалительным цитокином ИЛ-4 (справа)

На основании пилотного эксперимента по определению способности вызывать воспалительные реакции у клеток иммунной системы человека разработанные композиты на основе ГА и полилактида могут быть

рекомендованы для дальнейшего исследования их в качестве биосовместимых материалов для создания костных имплантатов.

Таким образом, можно сформулировать основные результаты главы 5 следующим образом:

– установлено влияние катализатора на молекулярную массу и степень полидисперсности ПМК. Оптимальное соотношение молекулярной массы и степени полидисперсности ПМК найдено при содержании катализатора 2 масс. %.

– получены биологически активные композиты на основе фосфатов кальция и ПМК *in situ*. Продуктом взаимодействия ГА и молочной кислоты в процессе ее поликонденсации является кислый фосфат кальция CaHPO_4 , обеспечивающий повышенную в сравнении с ГА [$C_{\text{Ca}^{2+}} = (1,59 \pm 0,03) \cdot 10^{-3}$ моль/л] растворимость композита в физиологическом растворе $C_{\text{Ca}^{2+}} = (3,39 \pm 0,08) \cdot 10^{-3}$ моль/л.

– количественная оценка фазового состава и растворимости композитов ГА-ПМК позволяет рекомендовать композит с максимальным содержанием ГА (соотношение кристаллических фаз: ~ 83 масс. % ГА, ~ 17 масс.% CaHPO_4) для дальнейшего исследования его свойств с перспективой применения в качестве костных заменителей.

– показан способ получения биорезорбируемых композитов с сохранением фазового состава ГА на основе полимеров молочной кислоты высокой молекулярной массы и соотношением компонентов $\omega(\text{ГА}) : \omega(\text{ПЛ}) = 10 : 90$.

5.6 Технология получения биорезорбируемых композиционных материалов на основе гидроксиапатита

На основании изложенного материала предложена технологическая схема получения биорезорбируемых композиционных материалов на основе гидроксиапатита (рис. 5.10).

Согласно этой схеме, технология получения включает в себя 3 типа биорезорбируемых композиционных материалов:

1) бифазные материалы на основе ГА, модифицированного биологически активными ионами Mg^{2+} и SiO_4^{4-} ;

2) композиционные биорезорбируемые материалы на основе ГА, СаНРО₄ и полимеров молочной кислоты низкой молекулярной массы;

3) композиционные биоорезорбируемые материалы на основе ГА и полилактида.

Технологические операции, входящие в схему:

1) жидкофазный синтез ГА (в т.ч. магний-, кремний-модифицированных ГА) под воздействием СВЧ-излучения, включая стадии выдерживания осадка в маточном растворе, его фильтрования, высушивания, просеивания через сито и прокаливания при 800 °С;

2) поликонденсация молочной кислоты в присутствии ГА (*компози́ты ГА-ПМК*);

3) синтез полилактида с последующим растворением его в хлороформе;

4) смешивание раствора полилактида с мелкодисперсным порошком ГА под воздействием ультразвука; испарение растворителя (*компози́ты ГА-ПЛ*).

При получении каждого материала оказывают влияние большое количество факторов, сопровождаемых протеканием определенных физико-химических процессов. Так, синтез как немодифицированного, так и магний-, кремний-модифицированных ГА, зависит от ряда параметров: время и мощность СВЧ-воздействия, выдерживание осадка в маточном растворе, количество модифицирующего иона.

В процессах формирования полимерных композитов на основе ГА на их состав и свойства оказывают влияние последовательность соединения реагентов (этап внесения наполнителя в полимерную систему), соотношение компонентов, а также содержание катализатора.

Установление четких зависимостей состава и свойств композиционных материалов от условий их получения позволит создавать биосовместимые резорбируемые материалы с заданными функциональными свойствами.

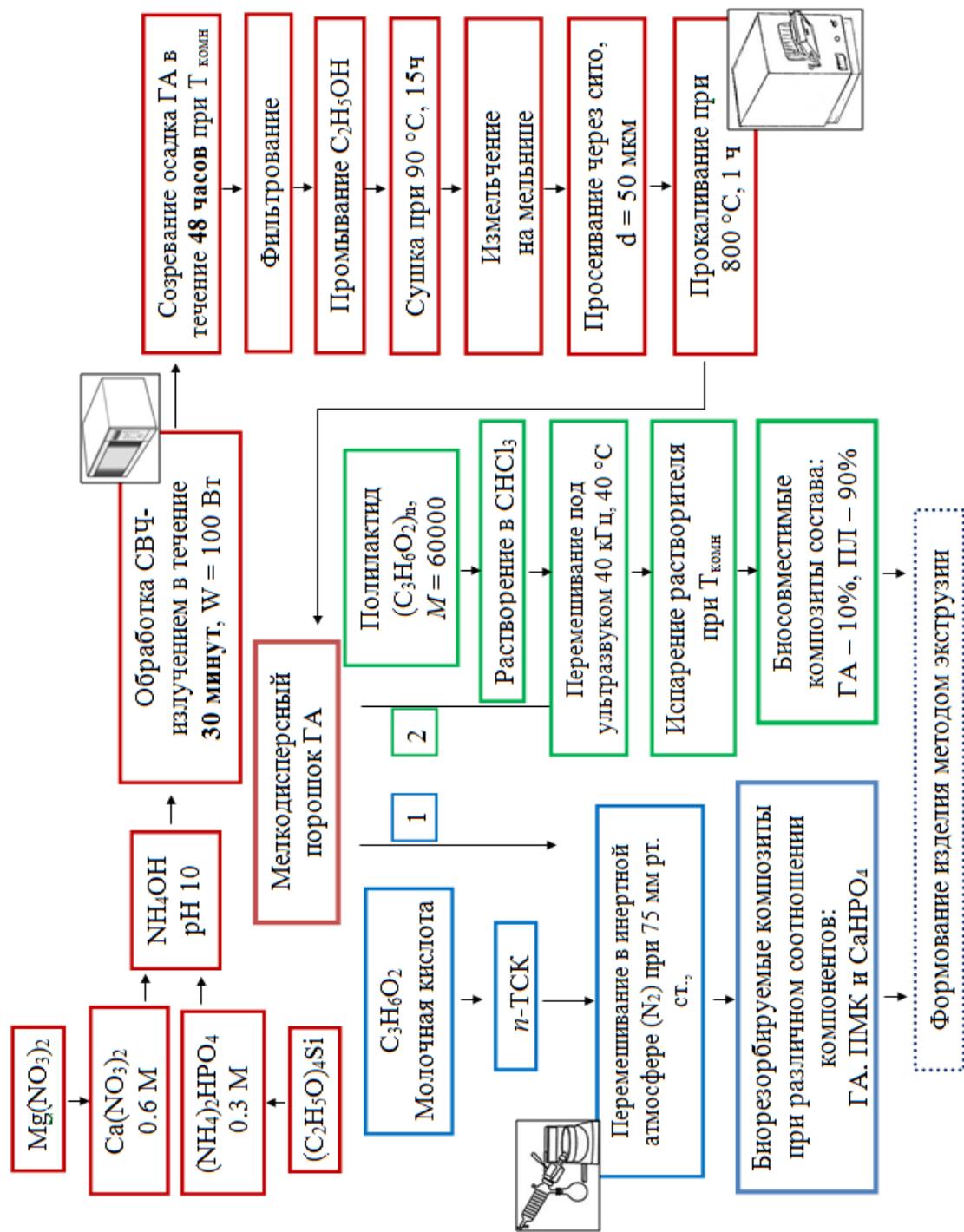


Рисунок 5.10 – Технология получения биорезорбируемых композитов на основе ГА (в т.ч. магний-, кремний-модифицированных) и полимеров молочной кислоты

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе показано, что разработка качественных биоматериалов, способных составлять достойную конкуренцию на современном рынке имплантатов, требует особого комплексного подхода, включающего обширный литературный поиск актуальных направлений, тенденций и «свободных мест» в научно-исследовательском пространстве, а также грамотную постановку цели и четкую формулировку задач исследования. Получение материалов с заданными функциональными свойствами – это очень сложный и многостадийный процесс, находящийся на стыке многих наук, основными из которых являются химия, физика, биология и медицина.

Диссертационная работа отличается от ранее выполненных работ по данному направлению тем, что разработанные биоразлагаемые полимерные композиты получены на основе веществ и материалов, синтезированных непосредственно в лабораториях НИ ТГУ. Известно, что промышленное получение полимеров молочной кислоты в РФ на данный момент отсутствует, в связи с чем эти полимеры закупаются за рубежом (Китай, США, Япония, Бельгия и др.) для различных целей, в том числе для выполнения научно-исследовательских работ.

В работе подробно рассмотрены: способы синтеза неорганического наполнителя полимерной матрицы – гидроксиапатита, условия, влияющие на улучшение его физико-химических свойств; процессы модифицирования ГА биологически активными ионами и результаты исследования модифицированных ГА; способы формирования биорезорбируемых композитов на основе ГА и полимеров молочной кислоты различных молекулярных масс, исследования их физико-химических и биохимических свойств.

Кроме того, в работе использован подход формирования композитов ГА-ПМК методом *in situ*, то есть непосредственно в момент поликонденсации молочной кислоты в присутствии ГА. Применение такого способа позволяет избежать дополнительных технологических этапов в процессе получения

композитов и определяет новые их свойства за счет взаимодействия реагентов исходной смеси с формированием новых составов.

Получение биоразлагаемых биоматериалов начинается с разработки синтеза компонентов: полимеров молочной кислоты различных молекулярных масс и гидроксиапатита как наполнителя полимерной матрицы с заданными функциональными свойствами, включает способы формирования композитов и заканчивается всесторонним исследованием их свойств, что позволяет сформулировать технологию создания биоразлагаемых композитов.

Итогом диссертационной работы стала технология получения магний- и кремний-модифицированных гидроксиапатитов и биорезорбируемых композиционных материалов с использованием полимеров молочной кислоты. Пилотные испытания полученных материалов на клетках иммунной системы человека показали положительный результат, а также наличие потенциальных противовоспалительных свойств у полилактида, что рекомендует композиционные материалы ГА-ПЛ к дальнейшему исследованию с целью создания имплантатов, обладающих противовоспалительным эффектом.

Интересно отметить, что при исследовании кислотно-основных свойств модифицированных ГА обнаружены потенциальные каталитические свойства у магний-модифицированного ГА, что позволяет рекомендовать его для дальнейшего исследования в качестве катализатора или носителя для катализатора.

Процесс исследования и разработка описанных в диссертации композиционных материалов не закончен и будет активно продолжаться, так как остается много важных и интересных проблем, требующих решения, а стремление создавать материалы, применяющиеся в реконструктивно-восстановительной и ортопедической практике, является основным стимулом для дальнейшего движения.

ВЫВОДЫ

1. Применение СВЧ-излучения в ходе жидкофазного синтеза гидроксиапатита (ГА) значительно снижает время его получения и позволяет синтезировать однофазные порошки ГА, влияя на его свойства: уменьшается средний размер частиц от 52 нм до 22 нм, увеличиваются однородность частиц по форме и степень полидисперсности порошков в интервалах от (50-120) нм до (20-40) нм; удельная поверхность порошков от 44 м²/г до 106 м²/г; растворимость порошков в физиологическом растворе ($C_{Ca^{2+}}^{насыщ}$, моль/л) от $(1,19 \pm 0,03) \cdot 10^{-3}$ до $(1,59 \pm 0,03) \cdot 10^{-3}$ при 20 °С и от $(1,33 \pm 0,02) \cdot 10^{-3}$ до $(1,74 \pm 0,04) \cdot 10^{-3}$ при 37 °С.

2. Синтез ГА в присутствии ионов Mg^{2+} и SiO_4^{4-} проходит с образованием бифазных продуктов. Ионы Mg^{2+} и SiO_4^{4-} присутствуют в составе продуктов синтеза как в виде вторичных фаз – витлокит (магний-модифицированный ГА, MgГА) и ларнит (кремний-модифицированный ГА, SiГА), так и в составе фазы ГА, образуя твердые растворы замещения.

3. В продуктах синтеза модифицированных ГА наблюдается увеличение размеров частиц относительно немодифицированного ГА. Дисперсность уменьшается в следующем ряду: ГА > SiГА > MgГА. На поверхности образцов ГА, MgГА и SiГА имеются Льюисовские кислотные центры (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Si^{4+}), сила которых убывает в ряду материалов: SiГА > MgГА > ГА, что связано с бóльшим значением электроотрицательностей магния и кремния относительно кальция. Данный ряд изменения кислотных свойств поверхности материалов сохраняется и при оценке скорости формирования кальций-фосфатного слоя на их поверхности из SBF-раствора при 37 °С.

4. Формирование композита ГА-ПМК (полимер молочной кислоты низкой молекулярной массы) проходит с образованием фазы $CaHPO_4$ как продукта взаимодействия ГА и молочной кислоты непосредственно в момент ее поликонденсации. Формирование гидрофосфата кальция $CaHPO_4$ способствует увеличению растворимости композитов ГА-ПМК в физиологическом растворе в 2–4 раза относительно чистого ГА.

5. Разработанная технология получения биорезорбируемых композитов на основе ГА и полимеров молочной кислоты высокой молекулярной массы (полилактид, ПЛ) с массовым соотношением компонентов $\omega(\text{ГА}) : \omega(\text{ПЛ}) = 10 : 90$ позволяет сохранять фазовый состав исходных компонентов и однородное распределение частиц ГА в полимерной матрице.

6. Скорость формирования кальций-фосфатного слоя на поверхности материалов при 37 °С в модельном SBF-растворе зависит от состава материалов: $\text{SiГА} > \text{MgГА} > \text{ГА} > \text{ГА-ПЛ} > \text{ГА-ПМК}$. Уменьшение скорости роста кальций-фосфатного слоя на поверхности полимерных композитов связано с «блокирующим» действием полимера на частицы ГА, являющиеся центрами адсорбции ионов Ca^{2+} из SBF-раствора.

7. Оценка способности материалов вызывать воспалительные реакции у клеток иммунной системы человека, подтвердила, что материалы ГА, ПЛ и ГА-ПЛ не способствуют выделению провоспалительных цитокинов ($C_{\text{ФНО-}\alpha} < 25\text{-}35$ пкг/мл) у исследуемого донора, что свидетельствует об отсутствии воспалительных реакций на материал. Присутствие ПЛ способствует выделению моноцитами противовоспалительных цитокинов ($C_{\text{ССЛ-18}} \approx 180 \cdot 10^4$ пкг/мл), что указывает на потенциальные противовоспалительные свойства этого материала.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хэнч Л. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей / Л. Хэнч, Р. Джонс; пер. с англ. под ред. Ю. Цвирко, А. Лушниковой. – Москва: Техносфера, 2007. – 304 с.
2. Краев А.В. Анатомия человека: учебник в двух томах / А.В. Краев, О.В. Резцов; 1-е изд., перераб. и доп. – Москва: Медкнига, 2007. – 552 с.
3. Струков, В.И. Актуальные проблемы остеопороза. Часть I. Физиология костной ткани и патфизиология костных переломов: Монография [Текст] / В.И.Струков. - Пенза: Изд-во типографии ООО ПКФ «Ростра», 2009. – 342 с.
4. Федюкевич Н.И. Анатомия и физиология человека / Н.И. Федюкевич. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2003. – 357 с.
5. Риггз Б.Л. Остеопороз / Б.Л. Риггз, Ш.Л. Мелтон М. – СПб.: БИНОМ, Невский диалект, 2000. – 560 с.
6. Полимеры в биологии и медицине / М. Дженкинс [и др.] ; под ред. М. Дженкинс ; [пер. с англ. О.И. Киселевой]. – Москва : Научный мир, 2011. – 256 с.
7. Прищепа И.М. Анатомия человека: учеб. пособие / И.М. Прищепа. – Минск: Новое знание. – М.: ИНФРА-М, 2013. – 459 с.
8. Самусев Р.П. Анатомия человека: учеб. пособие для студентов сред. мед. учеб. заведений / Р. П. Самусев, Ю. М. Селин. 3-е изд., перераб. и доп. – Москва: Оникс, 2006. – 576 с.
9. Фигурска М. Структура компактной костной ткани / М. Фигурска // Российский журнал биомеханики. – 2007. – Т. 11, № 3. – С. 28–38.
10. Баринов С.М. Биокерамика на основе фосфатов кальция / С.М. Баринов, В.С. Комлев. – Москва: Наука, 2005. – 204 с.
11. Lullo D. Mapping the ligand-binding sites and disease-associated mutations on the most abundant protein in the human, type I collagen / D. Lullo, Gloria A. // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol.277, № 6. – P. 4223–4231.

12. Лемешева С.А. Исследование особенностей состава костных тканей человека / С.А. Лемешева, О.А. Голованова, С.В. Туренков // *Химия в интересах устойчивого развития*. – 2009. – Т. 17, № 3 – С. 327–332.
13. Неорганическая химия: Т. 2: Химия непереходных элементов: Учебник для студ. высш. учеб. заведений / Ю.Д. Третьяков [и др.]. – Москва: Академия, 2004. – 368 с.
14. Гурин Н.А. Карбонатгидроксиапатит как фактор структурно-функциональной организации минерализованных тканей в норме и при патологии. Перспективы в костно-пластической хирургии / Н.А. Гурин, А.Н. Гурин // *Стоматология*. – 2009. – № 2. – С. 74–78.
15. Путляев В.И. Современные биокерамические материалы / В.И. Путляев // *Соросовский образовательный журнал*. – 2004. – Т. 8, № 1. – С. 44–50.
16. Voanini E. Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature / E. Voanini, M. Gazzano, A. Bigi // *Acta Biomater.* – 2010. – Vol. 6 № 6. – P. 1882–1894.
17. Севастьянов В.И. Биосовместимые материалы / В.И. Севастьянов, М.П. Кирпичников. – М. : МИА, 2011. – 569 с.
18. Дженкинс М. Полимеры в биологии и медицине / Пер. с англ. под ред. О.И. Киселевой. – М. : Научный мир, 2011. – 256 с.
19. Параскевич В.Л. Дентальная имплантология. Основы теории и практики / В.Л. Параскевич – М.: МИА, 2006. – 400 с.
20. Штильман М.И. Полимеры медико-биологического назначения. М.: ИКЦ «Академкнига», 2006. – 400 с.
21. Rezwana K. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering / K. Rezwana, Q.Z. Chena, J.J. Blakera et al // *Biomaterials*. – 2006. – Vol. 27. – P. 3413–3431.
22. Баринов С.М. Опыт создания материалов на основе фосфатов кальция для замещения и восстановления костных тканей / С.М. Баринов, В.С. Комлев // *Известия высших учебных заведений. Физика*. – 2013. – Т. 56, № 12/3. – С. 8–13.

23. Федотов А.Ю. Деструкция хитозанового матрикса для тканевой инженерии при стерилизации γ -облучением / А.Ю. Федотов, В.С. Комлев, С.М. Баринов // ДАН. – 2014. – Т. 454, № 4. – С. 428–430.
24. Komlev V.S. Porous hydroxyapatite ceramics of bi-modal pore size distribution / V.S. Komlev, S.M. Barinov // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2002. – Vol. 13. – P. 295–299.
25. Гурин А.Н. Экспериментально-клиническое обоснование применения материалов на основе фосфатов кальция для заполнения костных дефектов челюстных костей / А.Н. Гурин, Л.А. Григорьянц, А.С. Григорьян и др. // Медицинский алфавит. Стоматология I. – 2010. – Т. 1. – С. 32–34.
26. Samavedi S. Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: A review of properties and their influence on cell behavior / S. Samavedi, A.R. Whittington, A.S. Goldstein // Acta Biomaterialia. – 2013. – Vol. 9. – P. 8037–8045.
27. Сергеева Н.С. Использование пористой наноструктурированной биокерамики в качестве матриксов для клеточных культур с целью замещения костных дефектов при опухолевых заболеваниях головы и шеи / Н.С. Сергеева, И.В. Решетов, С.М. Баринов и др. // Сибирский онкологический журнал. – 2006. – № S1.
28. Bohner M. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements / M. Bohner // Injury. – 2000. – Vol. 31, № 4. – P. 37–47.
29. Komlev V.S. A method to fabricate porous spherical hydroxyapatite granules intended for time-controlled drug release / V.S. Komlev, S.M. Barinov, E.V. Koplík et al // Biomaterials. – 2002. – Vol. 23. – P. 3449–3454.
30. Hasegawa M. High release of antibiotic from a novel hydroxyapatite with bimodal pore size distribution / M. Hasegawa, A. Sudo, V.S. Komlev et al // J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater. – 2004. – Vol. 70B. – P. 332–339.
31. Иевлев В.М. Покрытия на основе фосфатов кальция для металлических имплантатов / В.М. Иевлев // Успехи химии. – 2013. – Т. 82, № 2. – С. 131–149.

32. Иевлев В.М. Структура и механические свойства пленок гидроксиапатита / В.М. Иевлев, С.М. Баринов, А.В. Костюченко и др. // Вестник ТГУ. 2010. – Т. 15, № 3. – С. 927–928.
33. Иевлев В.М. Твердость и природа микропластичности гидроксиапатита / В.М. Иевлев, А.В. Костюченко, Е.К. Белоногов // Неорганические материалы. – 2013. – Т. 49, № 4. – С. 434–440.
34. Rau J.V. Physicochemical investigation of pulsed laser deposited carbonated hydroxyapatite films on titanium / Rau J.V., Generosi A., Laureti S et al // Applied Materials and Interface. – 2009. – Vol. 1. – P. 1813–1820.
35. Комарова Е.Г. Влияние параметров микродугового оксидирования на шероховатость и смачиваемость кальцийфосфатных покрытий / Е.Г. Комарова, Ю.П. Шаркеев, В.В. Чебодаева и др. // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2014. – Т. 57, № 10/3. – С. 171–175.
36. Гнеденков С.В. Функциональные покрытия для имплантационных материалов / С.В. Гнеденков, Ю.П. Шаркеев, С.Л. Синебрюхов и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2012. – № 1. – С. 12–19.
37. Habibovic P. Biomimetic hydroxyapatite coating on metal implants / P. Habibovic, F. Barre`re, C.A. Blitterswijk et al // J. Am. Ceram. Soc. – 2002. – Vol. 85. – P. 517–522.
38. Komlev V.S. Phase development during setting and hardening of a bone cement based on α -tricalcium- and octacalcium phosphates / V.S. Komlev, I.V. Fadeeva, S.M. Barinov et al // J. Biomater. Appl. – 2012. – Vol. 26. – P. 1051–1068.
39. Баринов С.М. Фазовый состав, субструктура и морфология кальцийфосфатных цементов / С.М. Баринов, Е. К. Белоногов, В. М. Иевлев и др. // Конденс. среды и межфазн. границы. – 2012. – Т. 14, № 3. – С. 285–291.
40. Комлев В.С. Новые кальцийфосфатные цементы на основе трикальцийфосфата / В.С. Комлев, И.В. Фадеева, А.Н. Гурин и др. // ДАН. – 2011. – Т. 437, № 3. – С. 366–369.

41. Zhang J. Calcium phosphate cements for bone substitution: Chemistry, handling and mechanical properties / J. Zhang, W. Liu, V. Schnitzler et al // *Acta Biomaterialia*. – 2014. – Vol. 10. – P. 1035–1049.
42. Sudhakara M. Hydroxyapatite as a novel support for Ru in the hydrogenation of levulinic acid to γ -valerolactone / M. Sudhakara, M. L. Kantama, V.S. Jayaa et al // *Catalysis Communications*. – 2014. – Vol. 50. – P. 101–104.
43. Sadat-Shojai M. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures / M. Sadat-Shojai, M.-T. Khorasani, E. Dinpanah-Khoshdargi et al // *Acta Biomaterialia*. – 2013. – Vol. 9. – P. 7591–7621.
44. Ван Везер Д.Р. Фосфор и его соединения.– М.: Изд-во иностр. лит, 1962. – 394–402 с.
45. Vereecke G. Calculation of the solubility diagrams in the system $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-KOH-HNO}_3\text{-CO}_2\text{-H}_2\text{O}$ / G. Vereecke, S. Lemaitre // *J. Crystal Growth*. – 1990. – Vol. 104. – P. 820–832.
46. Wang L. Calcium orthophosphates: crystallization and dissolution / L. Wang, G.H. Nsncollas // *J. Chem. Rev.* – 2008. – Vol. 108. – P. 4628–4669.
47. Tressaund A. Fluorine and health molecular imaging, biomedical materials and pharmaceuticals / Tressaund A., Günter Haufe. – [Электронный ресурс]. – Amsterdam, Elsevier Science: 2008. – 799 p. – Режим доступа: <http://www.sciencedirect.com/science/book/9780444530868> P.799.
48. А. Г. Вересов, В. И. Путляев, Ю. Д. Третьяков. Химия неорганических биоматериалов на основе фосфатов кальция // *Ж. Рос. хим. об-ва Д.И. Менделеева*. – 2004. – № 4. – С. 52–64.
49. Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphates in dentistry / S.V. Dorozhkin // *J. Mater. Med.* – 2013. – Vol. 24. – P. 1335–1363.
50. Bose S. Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering: A review / S. Bose, S. Tarafder // *Acta Biomaterialia*. – 2012. – Vol. 8. – P. 1401–1421.

51. Keskinler B. Kinetics of phosphoric acid production by decomposition of monocalcium phosphate in ethanol / B. Keskinler, M. Bayramoğlu // *Int.J. Mineral Processing*. – 1992. – Vol. 36. – P. 259–271.
52. Лидин Р.А. Химические свойства неорганических веществ: Учеб. Пособие для вузов 3-е изд., испр. / Р.А. Лидин, В.А. Молочко, Л.Л. Андреева; Под ред. Р.А. Лидина. – М.: Химия, 2000. – 480 с.
53. Sánchez-Enríquez J. Obtaining $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, monocalcium phosphate monohydrate, via monetite from brushite by using sonication / J. Sánchez-Enríquez, J. Reyes-Gasga // *J. Ultrasonics Sonochemistry* – 2013. – Vol. 20. – P. 948–954.
54. Jinawath S. Hydrothermal synthesis of monetite and hydroxyapatite from monocalcium phosphate monohydrate / S. Jinawath, D. Pungkao, W. Suchanek et al // *Int. J. Inorg. Mater.* – 2001. – Vol. 3. – P. 997–1001.
55. Boonchom B. The morphology and thermal behavior of calcium dihydrogen phosphate monohydrate $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ obtained by a rapid precipitation route at ambient temperature in different media / B. Boonchom, C. Danvirutai // *J. of Optoelectr. and Biomed. Mater.* – 2009. – Vol. 1, № 1. – P. 115–123.
56. Sawamura T. Setting time and formability of calcium phosphate cements prepared using modified dicalcium phosphate anhydrous powders / T. Sawamura, Y. Mizutani, M. Okuyama et al // *J Mater Sci: Mater. Med.* – 2014. – Vol. 25. – P. 1631–1636.
57. Комлев В.С. Синтез октакальцийфосфата осаждением из раствора / Комлев В.С., Фадеева И.В., Фомин А.С. и др. // *ДАН*. – 2010. – Т. 432, № 2. – С. 178–182.
58. Rau J.V. *In situ* time-resolved studies of octacalcium phosphate and dicalcium phosphate dihydrate in simulated body fluid: co-operative interactions and nanoapatite crystal growth / Rau J.V., Fosca M., Komlev V.S. et al // *Crystal Growth and Design*. – 2010. – Vol. 10. – P. 3824–3834.
59. Сафронова Т.В. Медицинское неорганическое материаловедение в России: кальцийфосфатные материалы / Т.В. Сафронова, В.И. Путляев // *Наносистемы: физика, химия, математика*. – 2013. – Т. 4, № 1. – С. 24–47.

60. Zhan J. Biomimetic formation of hydroxyapatite nanorods by a single-crystal-to-single-crystal transformation / J. Zhan, Y.-H. Tseng, J.C. Chan et al // *Adv. Funct. Mater.* – 2005. – Vol. 15. – P. 2005–2010.
61. Баринов С.М. Керамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция для медицины // *Успехи химии.* – 2010. – №79. – С. 15–32
62. Putlyaev V. I. Features of octacalcium phosphate thermolysis / V.I. Putlyaev, E. V. Kukueva, T.V. Safronova and et al // *Refractories and Industrial Ceramics.* – 2014. – Vol. 54, № 5. – P.420–423.
63. Федотов А. Ю. Получение октакальциевого фосфата из карбоната кальция / А.Ю. Федотов, В. С. Комлев, А. Ю. Тетерина и др. // *Неорганические Материалы.* – 2013. Т. 49, № 11. – С. 1238–1241.
64. Layrolle P. Sol–gel synthesis of amorphous calcium phosphate and sintering into microporous hydroxyapatite bioceramics / P. Layrolle, A. Ito, T. Tateish // *J. Am. Ceram. Soc.* – 1998. – Vol. 81, № 6. – P. 1421–1428.
65. Legeros R.Z. Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications / R.Z. Legeros, S. Lin, R. Rohanizadeh et al // *J. Mater. Sci: Mater. Med.* – 2003. – Vol. 14. – P. 201–209.
66. Sinitsyna V.O. Synthesis of hydroxyapatite by hydrolysis of α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ / O.V. Sinitsyna, A.G. Veresov, E. S. Kovaleva et al // *Russian chemical bulletin, International edition.* – 2005. – Vol. 54, № 1. – P. 79–86.
67. Carrodeguas R.G. α -Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications / R.G. Carrodeguas, S. De Aza // *Acta Biomaterialia.* – 2011. – Vol. 7. – P. 3536–3546.
68. Kannan S. Characterization and mechanical performance of the Mg-stabilized β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ prepared from Mg-substituted Ca-deficient apatite / S. Kannan, A.F. Lemos, J. H. G. Rocha et al // *J. Am. Ceram. Soc.* – 2006. – Vol. 89. – P. 2757–2761.
69. Bowa J.S. Structural characterization of room-temperature synthesized nano-sized β -tricalcium phosphate / J.S. Bowa, S.C. Lioub, S.Y. Chen // *Biomaterials.* – 2004. – Vol. 25. – P. 3155–3161.

70. Salahi E. Synthesis and thermal behaviour of b tricalcium phosphate precipitated from aqueous solutions / E. Salahi, J.G. Heinrich // *British Ceramic Transactions*. – 2003. – Vol. 102, № 2. – P. 79–82.
71. Кос N. Fabrication and characterization of porous tricalcium phosphate ceramics / N. Кос, M. Timuç, F. Korkusuz et al // *Ceramics International*. – 2004. – Vol. 30. – P. 205–211.
72. Евдокимов П.В. Полиморфизм $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ / П.В. Евдокимов, В.И. Путляев, Д.А. Мерзлов и др. // *Наносистемы: Физика, химия, математика*. – 2013. – Т. 4, № 1. – С. 48–53.
73. Moseke C. Tetracalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications / C. Moseke, U. Gbureck // *Acta Biomaterialia* – 2010. – Vol. 6. – P. 3815–3823.
74. Romeo H. E. Synthesis of tetracalcium phosphate from mechanochemically activated reactants and assessment as a component of bone cements / H.E. Romeo, M.A. Fanovich // *J. Mater. Sci: Mater. Med.* – 2008. – Vol. 19. – P. 2751–2760.
75. Guo D. Influence of cooling modes on purity of solid-state synthesized tetracalcium phosphate / D. Guo, K. Xu, Y. Han et al // *J. Mat. Sci. and Eng.* – 2005. – Vol. 116. – P. 175–181.
76. Matsuya Y. Effect of powder grinding on hydroxyapatite formation in a polymeric calcium phosphate cement prepared from tetracalcium phosphate and poly(methyl vinyl ether-maleic acid) / Y. Matsuya, S. Matsuya, J. M. Antonucci // *Biomaterials*. – 1990. – Vol. 20. – P. 691–697.
77. Heimann R.B. Effect of CaO on thermal decomposition during sintering of composite hydroxyapatite–zirconia mixtures for monolithic bioceramic implants / R.B. Heimann, T.A. Vu // *J. of Mater. Sci. Letters*. – 1997. – Vol. 16. – P. 437–439.
78. Duff E.J. Thermodynamical considerations concerning the stability of oxyapatite, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$, in aqueous media / E.J. Duff // *J. inorg. nucl. chem* – 1972. – Vol. 34. – P. 853–857.

79. Wang H. Size-controlled synthesis and characterization of fluorapatite nanocrystals in the presence of gelatin / H. Wang, K. Sun, A. Li et al // *J. Powder Technology*. – 2011. – Vol. 209. – P. 9–14 .
80. Fulmer M.T. Measurements of the solubilities and dissolution rates of several hydroxyapatites / M.T. Fulmer, I.C. Ison, C.R. Hankermayer et al // *Biomaterials*. – 2002. – Vol. 23. – P. 751–755.
81. Ogilvie A. The biocompatibility of hydroxyapatite implanted in the human periodontium / A. Ogilvie, Frank R.M., Benque E.P. et al // *Journal of Periodontal Research*. – 1987. – Vol. 22. – P. 270–283.
82. Chen Z.-F. Hydroxyapatite solubility in simple inorganic solutions / Z.-F. Chena, B.W. Darvell, V.W.-H. Leung // *Archives of oral biology*. – 2004. – Vol. 49. – P. 359–367.
83. Kamitakahara M. Review paper: behavior of ceramic biomaterials derived from tricalcium phosphate in physiological condition / M. Kamitakahara, C.Ohtsuki, T. Miyazaki // *J. of Biomaterials applications*. – 2008. – Vol. 23. – P. 197–210.
84. Becker P. Cellular investigations on electrochemical deposited calcium phosphate composites / P. Becker, H.-G. Neumann, B. Nebe et al // *J. of Mater. Sci.: Mater. In Medicine*. – 2004. – Vol. 15. – P. 437–440.
85. Евдокимов П.В. Фазовые равновесия в системах трикальциевый фосфат–смешанный фосфат кальция и натрия (калия) / П.В. Евдокимов, В.И. Путляев, В.К. Иванов и др. // *Журн. неорган. хим.* – 2014. – Т. 59, № 11. – С. 1462–1471.
86. Supova M. Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: A review / M. Supova // *Ceram. Int*. – 2015. – Vol. 41. – P. 9203–9231.
87. Mocanu A. Synthesis; characterization and antimicrobial effects of composites based on multi-substituted hydroxyapatite and silver nanoparticles / A. Mocanu, G. Furto, S. Rapuntean et al // *Applied surface science*. – 2014. – Vol. 298. – P. 225–235.
88. Леонова Л.А. Синтез биологически совместимого гидроксиапатита / Л.А. Леонова // *Материалы III Международной научно-практической конференции «Новые технологии создания и применения биокерамики в восстановительной медицине»*. – Томск, 2013. – С.142–146.

89. Чайкина М.В. Механохимический синтез гидроксиапатита и его модификаций: состав, структура, свойства / М.В. Чайкина, Н.В. Булина, А.В. Ищенко и др. // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2013. – Т. 56, № 10. – С. 66–71.
90. Mochalesa C. Dry mechanochemical synthesis of hydroxyapatites from DCPD and CaO: influence of instrumental parameters on the reaction kinetics / C. Mochalesa, H. E. Briak-BenAbdeslamb, M. Ginebraa // *Biomaterials*. – 2004. – Vol. 25. – P. 1151–1158.
91. Yeong K.C.B. Mechanochemical synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite from CaO and CaHPO₄ / K.C.B. Yeong, J. Wang, S.C. Ng // *Biomaterials*. – 2001. – Vol. 22. – P. 2705–2712.
92. Shua C. Synthesis of carbonated hydroxyapatite nanofibers by mechanochemical methods / C. Shua, W. Yanweia, L. Hong et al // *Ceramics International*. – 2005. – Vol. 31. – P. 135–138.
93. Zhang X. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite rods / X. Zhang, K.S. Vecchio // *J. of Cryst. Growth*. – 2007. – Vol. 308. – P. 133–140.
94. Hao L. The growth process of hierarchical porous hydroxyapatite microspheres precipitated by propionamide and citrate through hydrothermal synthesis / L. Hao, H. Yang, S.Du et al // *J. Mater. Lett.* – 2014. – Vol. 131. – P. 252–254.
95. Л. А. Леонова, Т.И. Гузеева, В.В. Гузеев. Изучение процесса синтеза гидроксиапатита // *Химия в интересах устойчивого развития*. – 2010. – № 18. – С. 107-110.
96. Kramer E. Control of hydroxyapatite nanoparticle morphology using wet synthesis techniques: Reactant addition rate effects / E. Kramer, J. Podurgiel, M. Wei // *J. Mater. Lett.* – 2014. – Vol. 131. – P. 145–147.
97. Abidi S.A. Synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite powder using wet chemical precipitation reaction / S.A. Abidi, Q. Murtaza // *J. Mater. Sci. Technol.* – 2013. – Vol. 30. – P. 307–310.
98. Химич Н.Н., Эллер Н.Д., Данилови Д.М. и др. Золь-гель синтез на основе фосфата кальция // *Журн. приклад. хим.* – 2010. – Т. 83, № 12. – С. 1965–1971.

99. Natarajan U.V. Influence of calcium precursors on the morphology and crystallinity of sol-gel-derived hydroxyapatite nanoparticles / U.V. Natarajan, S. Rajeswari // *J. of Cryst. Growth.* – 2008. – Vol. 310. – P. 4601–4611.
100. Liua D.-M. Aging effect on the phase evolution of water-based sol-gel hydroxyapatite / D.-M. Liua, T. Troczynskia, W. J. Tsengb // *Biomaterials.* – 2002. – Vol. 23. – P. 1227–1236.
101. Bakan F. A novel low temperature sol-gel synthesis process for thermally stable nano crystalline hydroxyapatite / F. Bakan, O. Lacin, H. Sarac // *Powder Technology.* – 2013. – Vol. 233. – P. 295–302.
102. Hsieh M.-F. Phase purity of sol-gel-derived hydroxyapatite ceramic / M.-F. Hsieh, L.-H. Perng, T.-S. Chin et al // *Biomaterials.* – 2001. – Vol. 22. – P. 2601–2607.
103. Wanga M.C. Crystalline size, microstructure and biocompatibility of hydroxyapatite nanopowders by hydrolysis of calcium hydrogen phosphate dehydrate (DCPD) / M.C. Wanga, H.-T. Chen, W.-J. Shih et al // *Ceram. Int.* – 2015. – Vol. 41. – P. 2999–3008.
104. Mechay A. Nanocrystalline hydroxyapatite ceramics prepared by hydrolysis in polyol medium / A. Mechay, H.E. Feki, F. Schoenstein et al // *Chem. Phys. Lett.* – 2012. – Vol. 541. – P. 75–80.
105. Shih W.-J. A study on the phase transformation of the nanosized hydroxyapatite synthesized by hydrolysis using in situ high temperature X-ray diffraction / W.-J. Shih, J.-W. Wang, M.-C. Wang et al // *Mater. Sci. and Eng.* – 2006. – Vol. 26. – P. 1434 – 1438.
106. Синицина О.В. Получение гидроксиапатита гидролизом $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ / Синицина О.В., Вересов А.Г., Ковалёва Е.С. и др. // *Известия Академии Наук БССР, Серия химических наук.* – 2005. – Т. 1. – С. 78–85.
107. А.А. Степук, А.Г. Вересов, В.И. Путляев. Влияние анионов NO_3^- , CH_3COO^- , Cl^- на морфологию кристаллов гидроксилатапата кальция // *ДАН.* – 2007. – Т 412, № 2. – С. 211–215.
108. Власов А.С., Луданова О.В. Влияние параметров синтеза на свойства гидроксиапатита // *Стекло и керамика.* – 1994. – №7. – С. 30–31.

109. Гольдберг М.А. Влияние времени старения на свойства порошков в системе гидроксиапатит–карбонат кальция / М.А. Гольдберг, В.В. Смирнов, В.М. Иевлев и др. // Неорган. матер. – 2012. – Т. 48, № 2. – С. 225–230.
110. Смирнов В. В. Старение карбонаткальциевых порошков в присутствии жидкостей с низким поверхностным натяжением / В.В. Смирнов, М.А. Гольдберг, М.С. Ляхова и др. // Неорган. матер. – 2013. – Т. 49, № 5. – С. 516–520.
111. Голованова О.А., Понаморева Е.Ю., Франк-Каменецкая О.В. Влияние компонентов биологической среды на формирование гидроксиапатита // Химия в интересах устойчивого развития. – 2008. – Т. 16. – С. 253–258.
112. Бакунова Н.В. Влияние температуры синтеза на размер наночастиц гидроксиапатита / Н.В. Бакунова, С.М. Баринов, Л.И. Шворнева и др. // Российские нанотехнологии. – 2007. – Т. 2, № 9-10. – С. 102–105.
113. Ayatollahia M.R. Mechanical and tribological properties of hydroxyapatite nanoparticles extracted from natural bovine bone and the bone cement developed by nano-sized bovine hydroxyapatite filler / M.R. Ayatollahia, M.Y. Yahya, H.A. Shirazia // Ceramics International. – 2015. – Vol. 41. – P. 10818–10827.
114. Фомин А.С. Наноразмерный гидроксиапатит, синтезированный осаждением в растворе желатина / А.С. Фомин, С.М. Баринов, В.М. Иевлев и др. // ДАН. – 2006. – Т. 411, № 3. – С. 348–351.
115. Фомин А.С. Синтез наногидроксиапатита осаждением в растворе крахмала / А.С. Фомин, Н.В. Плохих, И.В. Фадеева и др. // ДАН. – 2010. – Т. 435, № 5. – С. 643–646.
116. Алымов М.И. Особенности уплотнения при прессовании нанопорошков гидроксиапатита / М.И. Алымов, Н.В. Бакунова, С.М. Баринов и др. // Российские нанотехнологии. – 2011. – Т. 6, № 5. – С. 105–107.
117. Бакунова Н.В. Влияние термообработки на спекание и прочность керамики из нанопорошков гидроксиапатита / Н.В. Бакунова, С.М. Баринов, В.М. Иевлев и др. // Материаловедение. – 2010. – № 12. – С. 11–15.

118. Баринов С.М. Нанопорошки и нанокристаллическая гидроксиапатитовая биокерамика / Баринов С.М., Фомин А.С., Иевлев В.М. и др. // Перспективные материалы. – 2008. – № 5. – С. 1–7.
119. Mishra V.K. Effect of annealing on nanoparticles of hydroxyapatite synthesized via microwave irradiation: Structural and spectroscopic studies // V.K. Mishra, S.B Rai, B.P. Asthana et al // *Ceramics International*. –2014. – Vol. 40. – P.11319–11328.
120. Михеев А.Н., Панкрушина Н.А. Особенности и возможности микроволновой химии // *Наука в Сибири*. – 2010. – № 21. – С. 9.
121. Demirtas T.T. Bone-like hydroxyapatite precipitated from 10×SBF-like solution by microwave irradiation / T.T. Demirtas, G. Kaynak, M. Gümüsderelioglu // *Mater. Sci. and Eng.* – 2015. – Vol. 49. – P. 713–719.
122. Mishra V.K. Effect of annealing on nanoparticles of hydroxyapatite synthesized via microwave irradiation: Structural and spectroscopic studies / V.K. Mishra, S.B. Raia, B.P. Asthana et al // *Ceram. Int.* – 2014. – Vol. 40. – P. 319–328.
123. Gopia D. Synthesis of hydroxyapatite nanoparticles by a novel ultrasonic assisted with mixed hollow sphere template method / D. Gopia, J. Indiraa, L. Kavitha et al / *Spectrochimica Acta*. – 2012. – Vol. 93. – P. 131– 134.
124. Данильченко С.Н. Структура и свойства фосфатов кальция с точки зрения биоминералогии и биоматериаловедения / С.Н. Данильченко // *Вісник СумДУ. Серія Фізика. Математика. 56 механіка*. – 2007. – № 2. – С. 103–110.
125. Иевлев В.М. О субструктуре компактных керамик на основе гидроксиапатита / В.М. Иевлев, С.М. Баринов, А.В. Костюченко и др. // *ДАН*. – 2011. – Т. 437, № 2. – С. 194–196.
126. Gineste L. Degradation of hydroxylapatite, fluorapatite, and fluorhydroxyapatite coatings of dental implants in dogs / L. Gineste, M. Gineste, X. Ranz et al // *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)*. – 1999. – Vol. 48, № 3. – P. 224–234.
127. Zhang E., Zou C., Yu G. Surface microstructure and cell biocompatibility of silicon-substituted hydroxyapatite coating on titanium substrate prepared by a biomimetic process // *Mat. Sci. and Eng.* – 2009. – № 29. – P. 298–305.

128. Cheng K. Sol-gel preparation and in vitro test of fluorapatite/hydroxyapatite films / K. Cheng, W. Weng, H. Qu et al // J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater. – 2004. – Vol. 69. – P. 33–37.
129. Qu H. Incorporation of fluorine ions into hydroxyapatite by a pH cycling method / H. Qu, A. L. Vasiliev., M. Aindow et al // J. of Mater. Sci.: Materials in Medicine. – 2005. – Vol. 16. – P. 447–453.
130. Qu H. Synthesis and characterization of fluorine-containing hydroxyapatite by a pH-cycling method / H. Qu, M. Wei // J. of Mater. Sci.: Materials in Medicine. – 2005. – Vol. 16. – P. 129–133.
131. Ozsvath D.L. Fluoride and environmental health: a review / D.L. Ozsvath // Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. – 2009. – Vol. 8, № 1. – P. 59–79.
132. Комлев В.С. Влияние содержания карбонат-групп в карбонатгидроксиапатитовой керамике на ее поведение *in vivo* / В.С. Комлев, И.В. Фадеева, А.Н. Гурин и др. // Неорг. материалы. – 2009. – Т. 45, № 3. – С. 373–378.
133. Гурин А.Н. Влияние хитозанового матрикса, содержащего гранулы карбонатгидроксиапатита, на заживление костных дефектов в эксперименте / А.Н. Гурин, В.С. Комлев, А.Ю. Федотов и др. // Перспективные материалы. – 2008. – № 5. – С. 9–15.
134. Zhang L. Synthesis and characterization of nanobelt-shaped Na, F and carbonate multi-substituted hydroxyapatite / L. Zhang, H. Li, K. Li et al // Mater. Lett. – 2015. – Vol. 138. – P. 48–51.
135. Guo Y.P. Fabrication of mesoporous carbonated hydroxyapatite/carbon nanotube composite coatings by microwave irradiation method / Y. P. Guo, Y. Yao, C.Q. Ning et al // Mater. Lett. – 2011. – Vol. 65. – P. 1007–1009.
136. Morgan H. Preparation and characterisation of monoclinic hydroxyapatite and its precipitated carbonate apatite intermediate / H. Morgan, R.M. Wilson, J.C. Elliott et al // Biomaterials. – 2000. – Vol. 21. – P. 617–627.

137. Choi S. Chemical and physical properties of carbonated hydroxyapatite affect breast cancer cell behavior / S. Choi, S. Coonrod, L. Estroff et al // *Acta Biomaterialia*. – 2015. – Vol. 24. – P. 333–342.
138. Barinov S.M., Rau J.V., Nunziante C.S. etc. Carbonate release from carbonated hydroxyapatite in the wide temperature range // *J. Mater. Med.* – 2006. – Vol. 17. – P. 597–604.
139. Danilchenko S.N., Porkovsky V.A., Bogatyrov V.M. Carbonate location in bone tissue mineral by X-ray diffraction and temperature-programmed desorption mass spectrometry // *J. Cryst. Res. Technol.* – 2005. – Vol. 7. – P. 692–697.
140. Бузник В.М., Козлова С.Г., Баринов С.М. и др. Структурные изменения в карбонатзамещенном гидроксиапатите при высоких температурах: исследование методами ЯМР ¹H- и КР-спектроскопии // *ДАН.* – 2007. – Т.413, № 2. – С. 198–201.
141. J.V. Rau, S. Nunziante Cesaro, D. Ferro, S.M. Barinov, I.V. Fadeeva. FTIR study of carbonate loss from carbonated apatites in the wide temperature range // *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomaterials.* – 2004. – Vol. 2. – P. 441–447.
142. Филиппов Я.Ю., Е.С. Климашина, В.И. Путляев и др. Получение композиционных материалов на основе карбонатзамещенного гидроксиапатита // *Перспективные материалы.* – 2011. – Т. 12. – С. 224–231.
143. Бакунова Н.В., Фомин А.С., Фадеева И.В., Баринов С.М. Нанопорошки кремнийсодержащих гидроксиапатитов // *Журн. неорган. хим.* – 2007. – Т. 52, № 10. – С. 1594–1599.
144. Putlayev V. Silicon-substituted hydroxyapatite ceramics (Si-HAp): densification and grain growth through the prism of sintering theories / V. Putlayev, A. Veresov, M. Pulkin et al // *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.* – 2006. – Vol. 37, № 6. – P. 416–421.
145. Zheng Y. Effect of silicon content on the surface morphology of silicon-substituted hydroxyapatite bio-ceramics treated by a hydrothermal vapor method / Y. Zheng, G.Dong, C. Dengn // *Ceramics International.* – 2014. – Vol. 40. – P. 14661–14667.

146. Yousefpour M. The effects of ageing time on the microstructure and properties of mesoporous silica-hydroxyapatite nanocomposite / M. Yousefpour, Z. Taherian // *Superlattices and Microstructures*. – 2013. – Vol. 54. – P. 78–86.
147. Munir G. The pathway to intelligent implants: osteoblast response to nano silicon-doped hydroxyapatite patterning / G. Munir, G. Koller, L.D. Silvio et al // *J. R. Soc. Interface*. – 2011. – Vol. 80. – P. 678–688.
148. Zheng Y. Effect of silicon content on the surface morphology of silicon-substituted hydroxyapatite bio-ceramics treated by a hydrothermal vapor method / Y. Zheng, G. Dong, C. Deng // *Ceramics International*. – 2014. – Vol. 40. – 14661–14667.
149. Сурменова М.А. Исследование фазового и элементного состава покрытий на основе кремнийсодержащего гидроксиапатита для медицинских имплантатов, полученных методом ВЧ-магнетронного распыления / М.А. Сурменова, Р.А. Сурменев, М.В. Чайкина и др. // *Физика и химия обработки материалов*. – 2012. – № 3. – С. 51–60.
150. Гурин А.Н. Кремний-замещенный гидроксиапатит, содержащий трикальций фосфат. Перспективы применения в хирургической стоматологии / А.Н. Гурин, В.С. Комлев // *Медицинский алфавит. Стоматология*. – 2011. – № 3. – С. 26–30.
151. Шаронова А.А. Особенности формирования структуры ВЧ-магнетронных покрытий на основе серебросодержащего гидроксиапатита / А.А. Шаронова, Р.А. Сурменев, М.А. Сурменова и др. // *Известия высших учебных заведений. Физика*. – 2013. – Т. 56, № 12/2. – С.240–245.
152. Li J. Composition of calcium deficient Na-costaining carbonate hydroxyapatite modified with Cu (II) and Zn (II) ions / J. Li, Y. Li, L. Zhang et al // *Applied Surface Science*. – 2008. – Vol. 254. – P. 2844–2850.
153. Фадеева И.В. Цинк- и серебросодержащие гидроксиапатиты: синтез и свойства / И. В. Фадеева, Н. В. Бакунова, В. С. Комлев и др. // *ДАН*. – 2012. – Т. 442, № 6. – С. 780–783.
154. Sugiyama S. Sorption and ion-exchange properties of barium hydroxyapatite with divalent cations / S. Sugiyama, H. Matsumoto, H. Hayashi et al // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2000. – Vol. 169. – P. 17–26.

155. Xiu Z. Barium hydroxyapatite nanoparticles synthesized by citric acid sol-gel combustion method / Z. Xiu, M. Lu, S. Liu et al // *Materials Research Bulletin*. – 2005. – Vol. 40. – P. 1617–1622.
156. Boyd A.R. Strontium-substituted hydroxyapatite coatings deposited via a co-deposition sputter technique / A.R. Boyd, L. Rutledge, L.D. Randolph et al // *Mat. Sci. and Eng.* – 2015. – Vol. 46. – P. 290–300.
157. Shen Y. Synthesis of strontium substituted hydroxyapatite whiskers used as bioactive and mechanical reinforcement material / Y. Shen, J. Liu, K. Lin et al // *Materials Letters*. – 2012. – Vol. 70. – P. 76–79.
158. Wakamura M. Surface structure and composition of calcium hydroxyapatite substituted with Al(III), La(III) and Fe(III) ions / M. Wakamura, K. Kandori, T. Ishikawa // *J. Coll. and Surf.* – 2000. – Vol. 164. – P. 297–305.
159. Yasukawa A. Preparation and structure of calcium hydroxyapatite substituted with light rare earth ions / A. Yasukawa, K. Gotoh, H. Tanaka // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. – 2012. – Vol. 393. – P. 53–59.
160. Фадеева И.В. Синтез и структура магнийсодержащих гидроксилapatитов / И.В. Фадеева, Л.И. Шворнева, С.М. Баринов et al // *Неорган. мат.* – 2003. – Т. 39, № 9. – С. 1102–1105.
161. Landi E. Biomimetic Mg-substituted hydroxyapatite: from synthesis to in vivo behavior / E. Landi, G. Logroscino, L. Proietti et al // *J. Mater Sci: Mater Med.* – 2008. – Vol. 19. – P. 239–247.
162. Mayer I. Magnesium-containing Carbonate apatites / I. Mayer, R. Schlam, J.B. Featherstone // *Elsevier Sci Inc.* – 1997. – Vol. 23. – P. 2–6.
163. Р.А. Лидин, Л.Л. Андреева, В.А. Молочко. Константы неорганических веществ: справочник. – М.: Дрофа, 2006. – 685 с.
164. Kim S.R. Synthesis of Si, Mg substituted hydroxyapatites and their sintering behaviors / S.R. Kim, J.H. Lee, Y.T. Kim et al // *J. Biomaterials*. – 2003. – Vol. 24. – P. 1389.

165. Paluszkiewicz C. Synthesis, structural properties and thermal stability of Mn-doped hydroxyapatite / C. Paluszkiewicz, A. Ślósarczyk, D. Pijocha et al // *J. of Molec. Structure.* – 2010. – Vol. 976. – P. 301–309.
166. Medvecky L. Influence of manganese on stability and particle growth of hydroxyapatite in simulated body fluid / L. Medvecky, R. Stulajterov, L. Parilak et al // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* – 2006. – Vol. 281. – P. 221–229.
167. Gao C. Enhanced sintering ability of biphasic calcium phosphate by polymers used for bone scaffold fabrication / C. Gao, B. Yang, H. Hu et al // *Mat. Sci. and Eng.* – 2013. – Vol. 33. – P. 3802–3810.
168. Swetha M. Biocomposites containing natural polymers and hydroxyapatite for bone tissue engineering / M. Swetha, K. Sahithi, A. Moorthi et al // *Int. J. of Biological Macromolecules.* – 2010. – Vol. 47. – P. 1–4.
169. Maas M. The contribution of rheology for designing hydroxyapatite biomaterials / M. Maas, U. Hess, K. Rezwani // *Current Opinion in Colloid & Interface Science.* – 2014. – Vol. 19. – P. 585–593.
170. Sun F. Various preparation methods of highly porous hydroxyapatite/polymer nanoscale biocomposites for bone regeneration / F. Sun, H. Zhou, J. Lee // *Acta Biomaterialia.* 2011. – Vol. 7. – P. 3813–3828.
171. Noyes M.P. Five- to ten-year follow up with a partially cemented all-polyethylene bone-ingrowth glenoid component / M.P. Noyes, B. Meccia, E.E. Spencer // *J. Shoulder Elbow Surg.* – 2015. – Vol. 24. – P. 1458–1462.
172. Chakrabarty G. Polyethylene in knee arthroplasty: A review / G. Chakrabarty, M. Vashishtha, D. // *J. of Clinical Orthopaedics And Trauma.* – 2015. – Vol. 6. – P. 108–112.
173. Ridwan-Pramana A. Porous polyethylene implants in facial reconstruction: Outcome and Complications / A. Ridwan-Pramana, J. Wolff, A. Raziei et al // *J. of Cranio-Maxillo-Facial Surgery.* – 2015. – Vol. 2. – P.1–5.

174. Pikis S. Potential neurotoxic effects of polymethylmethacrylate during cranioplasty / S. Pikis, J. Goldstein, S. Spektor // J. of Clinical Neuroscience. – 2015. – Vol. 22. – P. 139–143.
175. Tan H. Quaternised chitosan-loaded polymethylmethacrylate bone cement: Biomechanical and histological evaluations / H. Tan, H. Ao, R. Ma et al // J. of Orthopedic Translation. – 2013. – Vol. 1. –P. 57–66.
176. Zhang C. A family of cationic polyamides for *in vitro* and *in vivo* gene transfection / C. Zhang, R. Jin, P. Zhao et al // Acta Biomaterialia. – 2015. – Vol. 22. – P. 120–130.
177. Cho D. Structural studies of electrospun nylon 6 fibers from solution and melt / D. Cho, E. Zhmayev, Y.L. Joo // Polymer. – 2011. – Vol. 52. – P. 4600–4609.
178. Фомина А.П. Биodeградируемые полимерные гидрогели на основе производных крахмала и поливинилового спирта / А.П. Фомина, Д.Е. Лесовой, А.А. Артюхов и др. // Успехи в химии и химической технологии. – 2011. – Т. 25, № 3. – С. 83–87.
179. Curleya C. An evaluation of the thermal and mechanical properties of a salt-modified polyvinyl alcohol hydrogel for a knee meniscus application / C. Curleya, J.C. Hayes, N. J. Rowana et al // J. of the Mechanical Behavior Of Biomedical Materials. – 2014. – Vol. 40. – P. 13–22.
180. Sardinha V.M. Tribological characterization of polyvinyl alcohol hydrogel as substitute of articular cartilage / V.M. Sardinha, L.L. Lima, W.D. Belangero // Wear. – 2013. – Vol. 301. – P. 218–225.
181. Nofar M. A novel technology to manufacture biodegradable polylactide bead foam products / M. Nofar, A. Ameli, C.B. Park // Materials and Design. – 2015. – Vol. 83. – P. 413–421.
182. Lasprilla A.J. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices – A review / A.J. Lasprilla, G.A. Martinez, B. H. Lunelli // Biotechnology Advances. – 2012. – Vol. 30. – P. 321–328.

183. Rokutanda S. Application of polyglycolic acid sheets and fibrin glue spray to bone surfaces during oral surgery: a case series / S. Rokutanda, S. Yanamoto, S. Yamada et al // J. Oral. Maxillofac. Surg. – 2015. – Vol. 73. – P. 1017.e1–1017.e6.
184. Daya R.M. Assessment of polyglycolic acid mesh and bioactive glass for soft-tissue engineering scaffolds/ R.M. Daya, A.R. Boccaccini, S. Shurey et al // Biomaterials. – 2004. – Vol. – 25. – P. 5857–5866.
185. Maurus P.B. Bioabsorbable Implant Material Review / P.B. Maurus, C.C. Kaeding // Oper. Tech. Sports. Med. – 2004. – Vol. 12. – P. 158–160.
186. Athanasiou K.A. Sterilization, toxicity, biocompatibility and clinical applications of polylactic acid/ polyglycolic acid copolymers / K.A. Athanasiou, G.G. Niederauer, C.M. Agrawal // Biomaterials. – 1996. – Vol. 17. – P. 93–102.
187. Autogenous bone graft combined with polylactic polyglycolic acid polymer for treatment of dehiscence around immediate dental implants / K.S. Hassan, Damman // Oral Surg. Oral. Med. – 2009. – Vol. 108 – P. 19–25.
188. Волова Т.Г. Материалы для медицины, клеточной и тканевой инженерии [Электронный ресурс]: электрон. учеб. пособие / Т. Г. Волова, Е. И. Шишацкая, П. В. Миронов. – Красноярск: ИПК СФУ, 2009.
189. Mehboob H. Application of composites to orthopedic prostheses for effective bone healing: A review / H. Mehboob, S. H. Chang // Composite Structures. – 2014. – Vol. 118. – P. 328–341.
190. Кузнецова Д.С. Костные имплантаты на основе скаффолдов и клеточных систем в тканевой инженерии (Обзор) / Д.С. Кузнецова, П.С. Тимашев, В.Н. Баграташвили и др. // СТМ. – 2014. – Т. 6, № 4. – С. 201–207.
191. Wang J. Biomimetic collagen/hydroxyapatite composite scaffolds: fabrication and characterizations / J. Wang, C. Liu // J. of Bionic Engineering. – 2014. – Vol. 11. – P. 600–609.
192. Кесян Г.А. Обоснование использования отечественного биокомпозиционного препарата КОЛЛАПАН в комплексном лечении переломов и ложных суставов длинных трубчатых костей / Г.А. Кесян, Г.Н. Берченко, Р.З. Уразгильдеев и др. // Вестник РАМН. – 2008. – Т. 9. – С.1–15.

193. Баринов С.М. Синтез *in situ* фосфатов кальция на макромолекулах хитозана в присутствии глутаминовой или аспарагиновой кислот / С.М. Баринов, А.А. Егоров, В.С. Комлев // Неорган. матер. – 2014. – Т. 50, № 7. – С. 757–760.
194. Федотов А.Ю. Композиционный костный цемент в системе фосфаты кальция – хитозан / А. Ю. Федотов, С. М. Баринов, А. Ю. Тетерина и др. // ДАН. – 2013.– Т. 448, № 4. – С. 430–432.
195. Федотов А.Ю. Пористые хитозановые матриксы, армированные биоактивными соединениями кальция / А.Ю. Федотов, В.В. Смирнов, А.С. Фомин и др. // ДАН. – 2008. – Т. 423, № 6. – С. 771-773.
196. Smolko E. Studies on crosslinked hydroxyapatite-polyethylene composite as a bone-analogue material / E. Smolko, G. Romero // Radiation Physics and Chemistry. – 2007. – Vol. 76. – P. 1414–1418.
197. Федотов А.Ю. Гибридные композиционные материалы на основе хитозана и желатины, армированные гидроксипатитом, для тканевой инженерии / А.Ю. Федотов, В.С. Комлев, В.В. Смирнов и др. // Материаловедение. – 2010. – № 7. – С. 41–46.
198. Асептическая нестабильность эндопротеза [Электронный ресурс] / Режим доступа: <http://femurhead.ru/asepticheskaya-nestabilnost-endoproteza/>.
199. Zhang J.C. The repair of critical-size defects with porous hydroxyapatite/polyamide nanocomposite: an experimental study in rabbit mandibles / J.C. Zhang, H.Y. Lu, G.Y. Lv et al // Int. J. Oral Maxillofac. Surg. – 2010. – Vol. 39. – P. 469–477.
200. Wang H. Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite scaffolds for bone tissue engineering / H. Wang, Y. Li, Y. Zuo et al // Biomaterials. – 2007. – Vol. 28. – P. 3338–3348.
201. Diao H., Surface modified nano-hydroxyapatite/poly(lactide acid) composite and its osteocyte compatibility / Diao H. et al. // Material Science and Engineering C. – 2012. – Vol. 32. – P. 1796–1801.

202. Guo C. Novel fabrication method of porous poly(lactic acid) scaffold with hydroxyapatite coating / C. Guo, X. Guo, N. Cai et al // *Materials Letters*. – 2012. – Vol. 74. – P. 197–199.
203. Petricca S.E. Chemical synthesis of poly(lactic-co-glycolic acid)/hydroxyapatite composites for orthopaedic applications / S.E. Petricca, K.G. Marra, P.N. Kumta // *Acta Biomaterialia*. – 2006. – Vol. 2. – P. 277–286.
204. Ванецев А.С. Микроволновой синтез индивидуальных и многокомпонентных оксидов / А.С. Ванецев, Ю.Д. Третьяков // *Успехи химии*. – 2007. – Т. 76, № 5. – С. 435–453.
205. Григорьев А.Д. Электродинамика и микроволновая техника: Учебник. 2-е издание., доп. – СПб.: Изд-во «Лань», 2007. – 704 с.
206. Кингстон Г.М., Джесси Л.Б. Пробоподготовка в микроволновых печах. – М.: Мир. 1991. с., Михеев А.Н., Панкрушина Н.А. Особенности и возможности микроволновой химии // *Наука в Сибири*. – 2010. – №21. – С. 9.
207. Бердонос С.С. Микроволновая химия / С.С. Бердонос // *Соросовский образовательный журнал*. – 2001. – Т.7. – № 1. – С. 32–38.
208. Савицкая Л.К. Рентгеноструктурный анализ / Л.К. Савицкая. – Томск: СКК-Пресс, 2006. – 276 с.
209. Гусев А.И. Аттестация нанокристаллических материалов по размеру частиц (зерен) / А.И. Гусев, А.С. Курлов // *Металлофизика и новейшие технологии*. – 2008. – Т. 30, № 5. – С. 679–694.
210. Гинье А. Рентгенография кристаллов. Теория и практика. – М.: ГИФМЛ, 1961. – 604 с.
211. Паукштис Е. А. Оптическая спектроскопия в адсорбции и катализе : применение ИК спектроскопии / Е. А. Паукштис. – Новосибирск: Институт катализа, 2010. – 54 с.
212. Казицына Л.А. Применение УФ,ИК и ЯМР-спектроскопии в органической химии / Л.А. Казицына, Н.Б. Куплетская. – М.: Высшая школа, 1971. – 264 с.
213. Накамото К. ИК спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений/ К. Накамото. – М.: Мир, 1991. – 456 с.

214. Глубоков Ю.М. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа. / Ю. М. Глубоков, В. А. Головачева, В. И. Дворкин и др. – М. : Академия, 2012. – 352 с.
215. Набиванец Б.И., Мазуренко Е.А. Хроматографический анализ. Киев: Вища школа, 1976. — 264 с.
216. Вячеславов, А.С. Методическая разработка «Измерение площади поверхности и пористости методом капиллярной конденсации азота» / А.С. Вячеславов, Е.А. Померанцева // Москва. 2006. – 55 с.
217. Электронная микроскопия : учеб. пособие / А. И. Власов, К. А. Елсуков, И. А. Косолапов. – М. : Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2011. – 168 с.
218. Салтыков, С. А. Стереометрическая металлография : Стереология металлических материалов : Учеб. пособие для вузов / С. А. Салтыков. — Москва: Металлургия, 1976. — 271 с.
219. Шварценбах Г., Флашка Г. Комплексонометрическое титрование. М.: Химия, 1970. 360 с.
220. Kokubo T. Bioactive glass ceramics: properties and applicarions // Biomaterials. – 1991. – Vol. 12. – P. 155–163.
221. Шарло Г. Методы аналитической химии. Количественный анализ неорганических соединений. М.:Химия, 1966. – 976 с.
222. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии. М.: Альянс, 2007. – 447 с.
223. Вассерман Е.Н. SP-D контролирует баланс TN1 и TN2 цитокинов и обладает признаками эндогенного фактора репрограммирования макрофагов / Е.Н. Вассерман, С.В. Лямина, Ш.Л. Шимшелашвили и др. // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 6. – С.28–36.
224. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилов Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа – М.: Высшая школа, 1991. – 288 с.
225. Kzhyshkowska J. Role of macrophage scavenger receptors in atherosclerosis / J. Kzhyshkowska, C. Neyen, S. Gordon // Immunobiology. – 2012. – Vol. 217. – P. 492–502.

226. Рассказова Л.А. СВЧ-синтез гидроксиапатита и физико-химическое исследование его свойств / Л.А. Рассказова, Н.М. Коротченко, Г.М. Зеер // Журнал прикладной химии. – 2013. – Т.86, №5. – С. 744–748.
227. Рассказова Л.А. Влияние СВЧ-излучения в процессе синтеза гидроксиапатита на его свойства / Л.А. Рассказова, Н.М. Коротченко // Химия и химическая технология: материалы I Международной российско-казахстанской конференции. – Томск. – 2011. – С. 140–143.
228. Jarcho M. Hydroxylapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form / M. Jarcho, C.H. Bolen // J. of materials science. – 1976. – № 11. – P. 2027–2035.
229. Петровская Т.С. Синтез и исследование обычного и карбонатзамещенного гидроксиапатита / Т.С. Петровская, Л.А. Рассказова, К.С. Куляшова, Н.М. Коротченко, Ю.П. Шаркеев, В.В. Козик // Известия ТПУ. – 2010. – Т.317, №3. – С. 86–90.
230. Петракова Н.В. Влияние условий синтеза и спекания нанопорошков гидроксиапатита на формирование микроструктуры и свойств керамики: дис. канд. техн. наук: защищена 22.05.14 / Петракова Наталья Валерьевна. – Москва, 2014. – 143 с.
231. Жук И.В. СВЧ-синтез и определение растворимости магнийсодержащего гидроксиапатита / И.В. Жук, Л.А. Рассказова // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием им. проф. Л.П. Кулева. – Томск. – 2013. – С. 34–35.
232. Рассказова Л.А. Сравнение свойств различных ионзамещенных гидроксиапатитов, полученных по СВЧ-технологии / Л.А. Рассказова, Н.М. Коротченко // Вестник КузГТУ. – 2013. – №2. – С. 88–90.
233. Патент 2507151 Российская Федерация, МПК C01B 25/32, H05B 6/64, C01B 33/00. Способ получения кремниймодифицированного гидроксиапатита с использованием СВЧ-излучения / Н.М. Коротченко, Л.А. Рассказова; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО «Томский государственный университет». – опубл. 20.02.2014, Бюл. № 5. – 9 с.

234. Рассказова Л.А. Исследование свойств кремниймодифицированного гидроксиапатита с различным содержанием силикат-ионов, синтезированного в микроволновом поле / Л.А. Рассказова, Н.М. Коротченко, В.В. Козик, В.К. Иванов, Л.П. Шиляева // Химическая технология. – 2013. – № 12. – С. 706–711.
235. Рассказова Л.А. Сравнение свойств немодифицированного и кремниймодифицированного гидроксиапатитов, полученных при микроволновом воздействии / Л.А. Рассказова, Н.М. Коротченко, В.В. Гузев // Ползуновский вестник. – 2013. – №1. – С. 176–179.
236. Aelion R. Hydrolysis of Ethyl Silicate / R. Aelion, A. Loebel, F. Eirich // J. Am. Chem. Soc. – 1950. – Vol. 72. – P. 5705-5712.
237. Чупрунов Е.В. О симметрических особенностях некоторых флюоритоподобных структур / Е.В. Чупрунов, С.С. Носов // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2001. – № 1. – С.81–87.
238. Уманский Я.С. Физика металлов / Я.С. Уманский, Ю.А. Скаков. – М.: Атомиздат, 1978. – 352 с.
239. Урусов В.С. Твердые растворы в мире минералов / В.С. Урусов // Соросовский образовательный журнал. – 2011. – № 11. – С. 54–60.
240. Чернятьева А.П. Кристаллохимия ряда природных и синтетических фосфатов и сульфатов со смешанными анионными радикалами: дис. канд. геолого-минер. наук: защищена 18.12.14 / Чернятьева Анастасия Петровна. – Санкт-Петербург, 2014. – 168 с.
241. Lide D.R. CRC Handbook of chemistry and physics, 87th edition / D.R. Lide. – Taylor & Francis: CRC Press, 2007. – P. 9.77.
242. Calcium silicate [Электронный ресурс] / Режим доступа: https://en.wikipedia.org/wiki/Calcium_silicate.
243. Li X. Solubility of Mg-containing b-tricalcium phosphate at 25 °C / X. Li, A. Ito, Y. Sogo et al // Acta Biomaterialia. – 2009. – Vol. 5. – P. 508–517.
244. Рассказова Л.А. Создание и исследование биологически активных композитов на основе синтетического гидроксиапатита и олигомеров молочной кислоты / Л.А. Рассказова, Д.Н. Лыткина, Е.В. Шаповалова и др. // Материалы III

Международной научно-практической конференции «Новые технологии создания и применения биокерамики в восстановительной медицине». – Томск, 2013. – С.142–146.

245. Рассказова Л.А. Полученные *in situ* биоактивные композиты на основе фосфатов кальция и олигомеров молочной кислоты / Л.А. Рассказова, Д.Н. Лыткина, Е.Г. Шаповалова и др. // Журнал прикладной химии. – 2015. – Т.88, № 4. – С.64–70.

246. Rasskazova L.A. Bioactivity and physico-chemical properties of composites on basis of hydroxyapatite with oligomers of lactic and glycolic acids / L.A. Rasskazova, D.N. Lytkina, Y.G. Shapovalova et al // Advanced Materials Research. 2015. – Vol. 1085. – P. 394–400.

247. Рассказова Л.А. Получение биоактивных композитов *in situ* на основе олигомеров молочной кислоты, привитых на поверхность гидроксиапатита / Л.А. Рассказова, Д.Н. Лыткина, Е.Г. Шаповалова и др. // Сборник тезисов стендовых докладов шестой каргинской конференции «Полимеры 2014» - Москва: авторское издательство, 2014. – Т.2. – С. 525.

248. Рассказова Л.А. Создание биокompозитов медицинского назначения на основе гидроксиапатита и олигомолочной кислоты / Л.А. Рассказова, Д.Н. Лыткина, Е.В. Шаповалова и др. // Материалы Всероссийской с международным участием научной конференции «Полифункциональные химические материалы и технологии». – Томск, 2013. – С. 73–75.

249. Лыткина Д.Н. Биоактивные композиты на основе полилактида и гидроксиапатита/ Д.Н. Лыткина, Л.А. Рассказова, Е.Г. Шаповалова // Материалы международной научной конференции «Полифункциональные химические материалы и технологии». – Томск, 2015 г. – С.114–117.

250. Ohtsuki C. Transmission electron microscopic observation of glass-ceramic A-W and apatite layer formed on its surface in a simulated body fluid / C. Ohtsuki, Y. Aoki, T. Kokubo et al // J. Ceram. Soc. – 1995. – Vol. 103. – P. 449–454.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

«Акт об исследовании воспалительных свойств материалов на основе гидроксиапатита»

«УТВЕРЖДАЮ»

Заведующий Лабораторией каталитических исследований

д.ф.-м. н. И.А. Курзина

«29» августа 2015 г.



АКТ

об использовании результатов
кандидатской диссертационной работы

Расказовой Людмилы Алексеевны

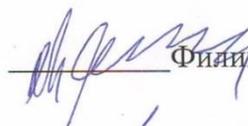
Комиссия в составе:

Председатель Филимошкин А.Г.

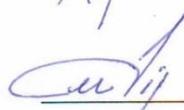
Члены комиссии Дахнави Э.М., Колков К.М.

Настоящий акт подтверждает, что результаты исследований в рамках диссертационной работы Расказовой Л.А., представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук, использованы при получении партии опытных образцов – композиционных материалов на основе полилактида, наполненного гидроксиапатитом (до 10 масс. %), применяющихся для создания биосовместимых костных имплантатов.

Председатель комиссии:


Филимошкин А.Г.

Члены комиссии:


Дахнави Э.М.


Колков К.М.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

«Паспорт качества от ЛКИ НИ ТГУ на биосовместимый композит медицинского назначения»



Министерство образования и науки РФ
Томский государственный университет
Химический факультет
Лаборатория каталитических исследований
ул. А. Иванова, 49, г. Томск, 634050, Россия
тел. / факс (3822) 20-04-19
labcr@mail.tsu.ru, www.lcr.tsu.ru

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА

от «15» августа 2015 г.

Наименование продукта: биосовместимый композит медицинского назначения

Номер партии: экспериментальный образец

Дата получения: 10.09.2014

Масса образца: 5 г

Химическое название: композиционный материал на основе гидроксиапатита и полимера молочной кислоты

CAS: 12167-74-7 – гидроксиапатит; 26100-51-6 – полилактид ($M_w = 60000$ г/моль)

Брутто-формула: $Ca_5(PO_4)_3OH/(C_3H_7O_2)_n$

Показатели качества образца

№	Наименование показателя	Значение
1	Внешний вид	Полупрозрачная полимерная матрица в виде пленки с распределенным в ней белым мелкодисперсным порошком гидроксиапатита
2	Состав образца	Гидроксиапатит – 10 %; полилактид – 90 %
3	Среднемассовая молекулярная масса полимера	60000 г/моль
4	Степень полидисперсности полилактида	1,9

Зав. ЛКИ, д.ф.-м.н.

Руководитель отдела
полимеров и мономеров, д.х.н., профессор

М.н.с. ЛФХМА

М.н.с. ЛКИ ТГУ

М.н.с. ЛКИ ТГУ

И.А. Курзина

А.Г. Филимошкин

Д.В. Новиков

Д.Н. Лыткина

В.В. Ботвин



ПРИЛОЖЕНИЕ 3

«Акт об исследовании противовоспалительных свойств материалов на основе гидроксиапатита»



Mannheim, 30 April, 2015
 UMM Universitätsmedizin Mannheim, 68135 Mannheim
 Unser Zeichen:

Medizinische Fakultät Mannheim
 der Universität Heidelberg

Universitätsklinikum Mannheim

Institut für Transfusionsmedizin und
 Immunologie

Department of Innate Immunity and
 Tolerance

Prof. Dr. Yulia Kzhyshkovska
 Telefon: +49 621 383-9723
 Telefax: +49 621 363-9721
 julia.kzhyshkovska@medma.uni-heidelberg.de



АКТ

Investigation of inflammatory properties of materials based on hydroxyapatite

The present Act reaffirms that inflammatory properties of hydroxyapatite-based materials developed by a postgraduate student of the Chemistry Faculty TSU Rasskazova L.A. were studied on cells of the immune system of humans.

Name of the objects: bioactive materials based on hydroxyapatite. The composition of samples: hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, polylactide $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2)_n$, and composite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 \cdot (\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2)_n$, synthesized as dispersed powders and films.

Official certified protocol of the material investigation— 782/3

Date of investigations: 10.10.2014 - 30.11.2014

Numbers and formula of the samples:

№ 1 on 15.09.2014 – hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$;

№ 2 on 16.09.2014 – polylactide $(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2)_n$;

№ 3 on 17.09.2014 – composite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 \cdot (\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2)_n$

The aim of investigation: analysis of biological effects of hydroxyapatite and polymers composites based on hydroxyapatite *in vitro* models.

The results of investigations:

Effect of the samples № 1, 2 and 3 on cytokines production ($C_{\text{cytokines}}$, pg/ml) by primary human monocyte-derived macrophages:

1 – TNF α (stimulation with IFN γ)

2 – CCL18 (stimulation with IL-4).

Donors	$C_{\text{cytokines}}$, pg/ml			
	no surf	PLA	HA	PLA/HA
782.2	18,6	27,7	0	0
783.3	0	0	23,2	0

Donors	$C_{\text{cytokines}} \cdot 10^4$, pg/ml			
	no surf	PLA	HA	PLA/HA
782.2	13,0	17,1	0	19,2
783.3	46,0	0	0	0

Prof. Dr. Yulia Kzhyshkovska

Head of Department of Innate Immunity and Tolerance

Prof. Dr. Yulia Kzhyshkovska
 Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
 Medizinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg
 Theodor-Kutzer-Ufer 1-3
 68167 Mannheim



Klinikum Mannheim GmbH
 Universitätsklinikum, Medizinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg
 Theodor-Kutzer-Ufer 1-3, 68167 Mannheim
 Registergericht: Amtsgericht Mannheim, HRB Mannheim 7831
 Aufsichtsratsvorsitzender: Oberbürgermeister Dr. Peter Kurz, Geschäftsstellen: Alfred Dantzer

Medizinische Fakultät Mannheim
 der Universität Heidelberg
 Theodor-Kutzer-Ufer 1-3, 68167 Mannheim
 Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. Uwe Ditzler

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

Акт на выполненные работы НИР в ФГБУН Институте катализа СО РАН

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор
ФГБУН Институт катализа им.
Г.К. Борескова СО РАН
В.Н. Пармон
«22» апреля 2015 г.



Акт

На выполненные работы НИР в рамках совместной лаборатории ТГУ и
ФГБУН Института катализа СО РАН

№ от «22» апреля 2015 г.

Наименование объекта – Катализатор окислительного дегидрирования пропана на основе гидроксипатитов состава $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$,

$\text{Ca}_{4.9}\text{Mg}_{0.1}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5.4}(\text{SiO}_4)_{0.6}(\text{OH})_{1.4}$, синтезированных в виде мелкодисперсных порошков.

Образцы предоставлены аспирантом кафедры Неорганической химии ФГБОУ ВПО НИ ТГУ Л.А. Рассказовой.

Нормативный документ, регламентирующий процедуру испытания – Методика ФГБУН Института катализа СО РАН лабораторного тестирования катализаторов в окислительном дегидрировании легких парафинов.

Дата проведения испытания: с 01.02.2015 г. по 01.03.2015 г.

Номера образцов:

№ 1 от 15.01.2015 г. – образец состава $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$;

№ 2 от 16.01.2015 г. – образец состава $\text{Ca}_{4.9}\text{Mg}_{0.1}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$;

№ 3 от 17.01.2015 г. – образец состава $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{5.4}(\text{SiO}_4)_{0.6}(\text{OH})_{1.4}$.

Цель отбора пробы: Измерение каталитической активности образцов в процессе окислительного дегидрирования пропана.

Результаты испытаний

№ образца	Наименование показателя					
	$S_{уд.}$, м ² /г	Температура начала конверсии пропана, °С	Максимальное значение конверсии пропана, %	Селективность образования пропилена+этилена, %	Температура максимальной конверсии пропана, °С	Побочные продукты реакции
1	106	300	9,4	17	550	CO ₂ , H ₂ O, CO, CH ₄
2	74	300	17,1	57	550	
3	82	300	9,3	13	550	

н.с. Лаборатории тестирования и испытания новых материалов в катализе

ФГБУН Институт катализа им.

Г.К. Борескова СО РАН

Е.В.Ковалев

Зав. лабораторией кислотно-основного катализа

ФГБУН Институт катализа им.

Г.К. Борескова СО РАН, д.х.н., профессор

Е.А. Паукшис

ПРИЛОЖЕНИЕ 5

Результаты испытаний образцов гидроксипатита
в качестве катализаторов окислительного
дегидрирования пропана на проточной установке

Образец	T=350°C									
	C _{C3H6}	C _{C2H4}	C _{CН4}	C _{CO2}	C _{CO}	S _{C3H6}	S _{C2H4}	S _{CO2}	S _{CO}	X _{C3H8}
Кварц (blank)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ГА-600°C	0,02	0	0	0,43	0,05	10	0	80	10	0,7
MgГА-600°C						7	1	63	29	1,0
SiГА-600°C						19	0	81	0	0,2
	T=400°C									
	C _{C3H6}	C _{C2H4}	C _{CН4}	C _{CO2}	C _{CO}	S _{C3H6}	S _{C2H4}	S _{CO2}	S _{CO}	X _{C3H8}
Кварц (blank)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ГА-600°C	0,04	0	0	0,97	0,38	8	0	66	26	1,9
MgГА-600°C						8	1	61	30	3,4
SiГА-600°C						8	0	64	28	1,3
	T=450°C									
	C _{C3H6}	C _{C2H4}	C _{CН4}	C _{CO2}	C _{CO}	S _{C3H6}	S _{C2H4}	S _{CO2}	S _{CO}	X _{C3H8}
Кварц (blank)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ГА-600°C	0,08	0,01	0,03	2,09	1,07	7	1	61	31	4,4
MgГА-600°C						10	2	56	31	6,2
SiГА-600°C						7	1	61	31	4,0
	T=500°C									
	C _{C3H6}	C _{C2H4}	C _{CН4}	C _{CO2}	C _{CO}	S _{C3H6}	S _{C2H4}	S _{CO2}	S _{CO}	X _{C3H8}
Кварц (blank)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ГА-600°C	0,11	0,04	0,12	2,87	1,86	6	2	56	36	6,9
MgГА-600°C						17	6	46	31	8,2
SiГА-600°C						5	2	56	37	6,6
	T=550°C									
	C _{C3H6}	C _{C2H4}	C _{CН4}	C _{CO2}	C _{CO}	S _{C3H6}	S _{C2H4}	S _{CO2}	S _{CO}	X _{C3H8}
Кварц (blank)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ГА-600°C	0,22	0,15	0,34	2,84	2,79	10	7	42	41	9,4
MgГА-600°C						42	15	18	26	17,1
SiГА-600°C						10	3	39	48	9,3