

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 546.05+546.06+544.165+661.635.41

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МОЛЬНЫХ ОТНОШЕНИЙ В КРИСТАЛЛОХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ БИОМИМЕТИЧЕСКОГО НАНОСТРУКТУРНОГО ГИДРОКСИАПАТИТА НА ХАРАКТЕРИСТИКИ СИНТЕЗИРОВАННОГО ПРОДУКТА

© 2021 г. М. А. Трубицын^а, Хоанг Вьет Хунг^а, Л. В. Фурда^а, Нгуен Тхи Тхам Хонг^{б, с, *}

^аБелгородский государственный национальный исследовательский университет,
ул. Победы, 85, Белгород, 308015 Россия

^бОтдел вычислительной физики, Институт вычислительных наук, Университет Тон Дык Тханг,
ул. Нгуен Хыу Тхо, Хошимин, 758307 Вьетнам

^сФакультет электротехники и электроники, Университет Тон Дык Тханг,
ул. Нгуен Хыу Тхо, Хошимин, 758307 Вьетнам

*e-mail: nguyenthithamhong@tdtu.edu.vn

Поступила в редакцию 19.10.2020 г.

После доработки 29.12.2020 г.

Принята к публикации 30.12.2020 г.

Изложены результаты исследования влияния мольных соотношений в кристаллохимической структуре биомиметического гидроксиапатита (БМГАП) на физико-химические характеристики полученного продукта. Показано, что при увеличении мольного соотношения в интервале 1.50–1.67 возрастают параметры решетки a , c и средний размер кристаллитов (от 7.52 до 70.30 нм). Установлено, что в водной суспензии (рН 7) частицы всех образцов несут отрицательный заряд. Выявлена закономерность изменения величины ζ -потенциала синтезированных порошков в исследованном диапазоне мольных соотношений. Проведена оценка биоактивности полученных образцов. Установлено, что по сравнению со стехиометрическим немодифицированным гидроксиапатитом все образцы БМГАП обладают более высокой биорезорбируемостью, которая хорошо коррелирует с величиной мольного соотношения в структуре синтезированных продуктов.

Ключевые слова: синтез, биорезорбируемость, силикат-анионы, карбонат-анионы

DOI: 10.31857/S0044457X21050214

ВВЕДЕНИЕ

Разработка новых синтетических биоматериалов, предназначенных для реставрации костных дефектов, является одним из актуальных направлений медицинского материаловедения [1–4]. Материалы на основе гидроксиапатита ($[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, ГАП) на протяжении ряда лет успешно используются в качестве имплантатов в реконструктивной хирургии, ортопедии и стоматологии, поскольку являются химическими аналогами биоапатита костной ткани человека и животных [5–8]. Однако имплантаты на основе керамических ГАП имеют неудовлетворительную биорезорбируемость и плохо индуцируют образование новой костной ткани, что является их существенным недостатком [9, 10]. Перспективным подходом к решению данной проблемы может стать разработка биомиметического ГАП путем химического модифицирования биосовместимыми анионами, что позволяет целенаправленно ре-

гулировать биоактивность и остеоиндукцию таких материалов.

Согласно литературным данным [11–13], биогенный апатит – это наноструктурный кальций – дефицитный гидроксиапатит с соответствующими катионными (Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , Zn^{2+} , Sr^{2+}) и анионными (F^- , Cl^- , SO_4^{2-} и т.д.) замещениями. Наличие данных анионов в структуре ГАП оказывает существенное влияние на живой организм и стимулирует процессы регенерации полноценной костной ткани.

Среди используемых на настоящий момент при синтезе ГАП ионных замещений наиболее важными являются силикат- и карбонат-анионы [14–20]. Силикат-анионы (SiO_4^{4-}) представляют особый интерес из-за их определяющей роли в процессе реставрации костной ткани, а внедрение карбонат-анионов (CO_3^{2-}) в структуру ГАП

улучшает резорбцию и увеличивает скорость остеointеграции.

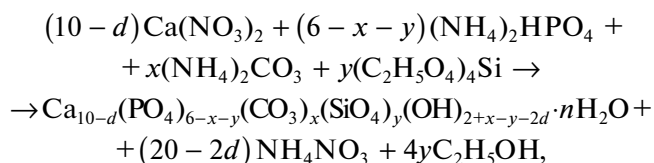
Также сообщалось [21, 22], что введение при синтезе ГАП в реакционную среду цитрат-ионов (Cit^{3-}) приводит к изменению структурно-морфологических характеристик синтезируемых материалов. Показано [23–26], что цитрат-ионы, участвующие в биологических циклах, играют важную роль в процессах резорбции костной ткани и формирования биоапатита, например, при наноразмерной стабилизации кристаллитов ГАП в кости.

Таким образом, биоапатит по химическому составу представляет собой наноструктурный кальций-дефицитный гидроксиапатит, содержащий в своем составе силикат- и карбонат-анионы. Нами уже был проведен цикл исследований, посвященных синтезу биомиметического кальций-дефицитного гидроксиапатита (БМГАП), допированного силикат- и карбонат-анионами, в присутствии цитрат-ионов [22, 27].

В данной статье представлены результаты исследований влияния мольных отношений $C_{\text{Ca}^{2+}} / (C_{\text{PO}_4^{3-}} + C_{\text{CO}_3^{2-}} + C_{\text{SiO}_4^{4-}})$ в кристаллохимической структуре БМГАП на физико-химические и биологические свойства полученного продукта.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве исходных реагентов использовали $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (ч. д. а.), $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (ч. д. а.), $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_4\text{Si}$ (TEOS, ос. ч.), $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (ч. д. а.) и NH_4OH (х. ч. а.). Источником цитрат-ионов служил полученный ранее раствор лимонной кислоты. Синтез образцов БМГАП осуществляли методом химического осаждения из водных растворов по известной методике при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$ и pH 10 ± 0.5 [27]. Для регулирования процессов нуклеации и роста кристаллов ГАП вводили цитрат-ионы (Cit^{3-}) в количестве 0.46 мас. %. Реакция осаждения БМГАП протекала в соответствии с уравнением:

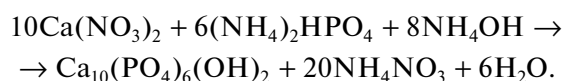


где d — величина отклонения мольного содержания ионов Ca^{2+} в кристаллохимической структуре ГАП от стехиометрического значения; $d = 1, 0.7, 0.4$; x — степень замещения фосфат-ионов карбонат-анионами; y — степень замещения фосфат-ионов силикат-анионами.

Полученную суспензию отстаивали при комнатной температуре для завершения процесса фазообразования в течение 24 ч, затем твердую фазу

отфильтровывали от маточного раствора, тщательно промывали дистиллированной водой и высушивали при температуре $110 \pm 5^\circ\text{C}$ до постоянной массы.

Для проведения исследования в качестве объектов были выбраны образцы БМГАП с мольными отношениями $C_{\text{Ca}^{2+}} / (C_{\text{PO}_4^{3-}} + C_{\text{CO}_3^{2-}} + C_{\text{SiO}_4^{4-}}) = 1.50, 1.55, 1.60$, где степени замещения фосфат-ионов карбонат- и силикат-анионами во всех случаях были постоянными и составляли $x = y = 1$. Таким образом, по химическому составу все образцы были кальций-дефицитными. Образцам были присвоены индексы БМГАП1.50, БМГАП1.55 и БМГАП1.60 соответственно. Объектом для сравнения в работе являлся стехиометрический немодифицированный ГАП с мольным отношением $\text{Ca/P} = 1.67$, синтезированный в отсутствие силикат- и карбонат-анионов, но в присутствии цитрат-ионов по уравнению:



Физико-химические и биологические исследования синтезированных образцов проводили комплексными методами анализа. Фазовый состав изучали на дифрактометре Rigaku-SmartLab. Съемку вели при ускоряющем напряжении 40 кВ, токе рентгеновской трубки 250 мА в интервале углов $2\theta = 20^\circ - 70^\circ$, размер шага составлял 0.02° , скорость регистрации — 3 град/мин. Идентификацию соединений, входящих в состав исследуемых образцов, выполняли с помощью программы PDXL Qualitative Analysis по базам данных PDF 2008. Размер кристаллитов D и степень кристалличности X_s синтезированных образцов определяли по стандартной методике [28, 29]. ИК-спектры поглощения измеряли на ИК-Фурье-спектрометре IRPrestige-21 (Shimadzu, Япония) в интервале волновых чисел от 400 до 4000 см^{-1} . Морфологию и размеры частиц в форме гидродисперсий и в виде высушенных порошков БМГАП определяли по микрофотографиям, полученным с помощью просвечивающей (ПЭМ) и сканирующей (СЭМ) электронной микроскопии на приборах JEM-2100 (JEOL, Япония) и Quanta-200 3D (FEI, США) соответственно. Обработку полученных изображений осуществляли при помощи программного обеспечения ImageJ. Измерения удельной поверхности ($S_{\text{уд}}$) проводили методом БЭТ на автоматизированной сорбционной установке TriStar II 3020 (Micromeritics, США). Величину и знак поверхностного заряда синтезированных образцов оценивали посредством измерения электрокинетического потенциала. Измерения ζ -потенциала частиц выполняли с применением анализатора серии Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Великобритания). Биорезорбируемость синтезированных образцов

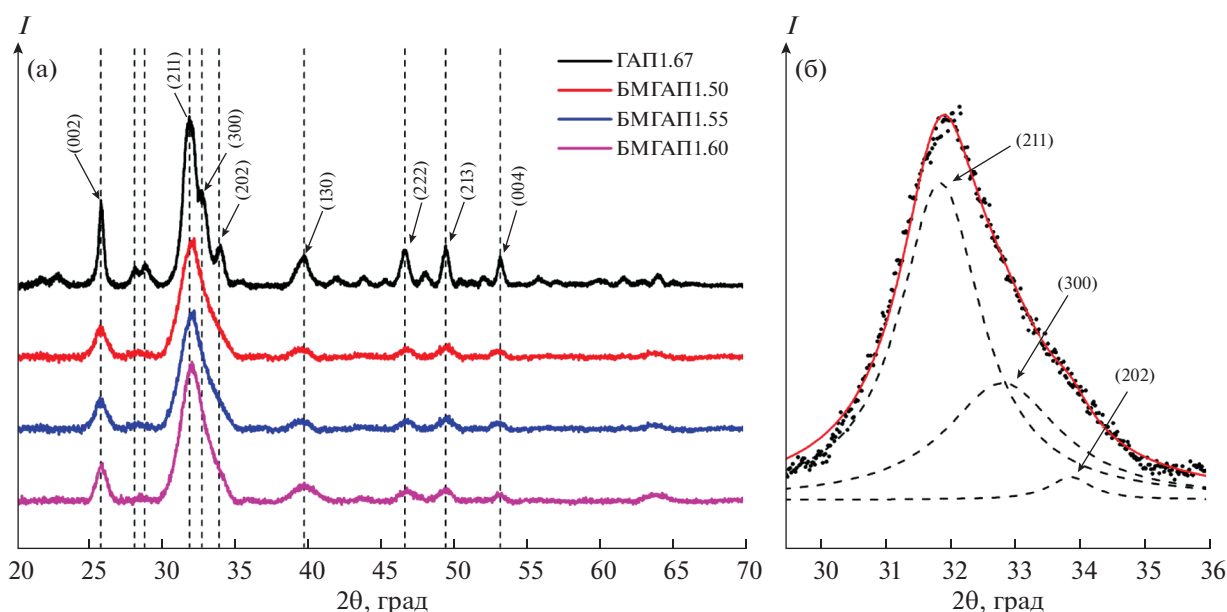


Рис. 1. Дифрактограммы синтезированных образцов: а – общий вид; б – дифракционный пик (211) и его аппроксимация тремя функциями Лоренца.

БМГАП в физиологическом ($\omega(\text{NaCl}) = 0.9\%$) и модельном SBF-растворе (pH 7.4) оценивали по суммарной концентрации ионов Ca^{2+} в растворе через фиксированное время экспозиции методом комплексонометрического титрования [30].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование фазового состава синтезированных образцов методом РФА показало, что все образцы БМГАП, полученные при варьировании мольных отношений в интервале 1.50–1.60, являются однофазными нанокристаллическими (рис. 1а) и могут быть отнесены к гексагональной сингонии (пр. гр. $P6_3/m$) и идентифицированы как модификация ГАП (по ICDD карта № 01-072-1243).

Следует отметить, что дифрактограммы порошков БМГАП отличаются более широкими линиями и меньшей интенсивностью по сравнению

со стехиометрическим немодифицированным ГАП1.67 (рис. 1б). Наблюдаемое уменьшение интенсивности характеризующих пиков синтезированных образцов БМГАП, по-видимому, связано с внедрением силикат- и карбонат-анионов в кристаллохимическую структуру ГАП. Таким образом, полученные рентгенограммы полностью идентичны таковым для типичного ГАП.

Кристаллохимические и текстурные характеристики порошкообразных ГАП и БМГАП приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, повышение мольного отношения в интервале 1.50–1.67 в кристаллической структуре ГАП обуславливает монотонное увеличение параметра c . Для параметра a данная зависимость не наблюдается. Наибольшее значение параметра a (0.9523 нм) фиксируется у образца БМГАП1.55. При дальнейшем увеличении мольного отношения параметр a начинает умень-

Таблица 1. Параметры кристаллической решетки, размер кристаллитов и удельная поверхность образцов ГАП1.67 и БМГАП

Образец	$a = b$, нм	c , нм	$V_{\text{гекс}}$, нм ³	D , нм	X_s , %	$S_{\text{уд}}$, м ² /г
БМГАП1.50	0.942(8)	0.685(4)	0.527(6)	7.52(0)	88.18	192.51
БМГАП1.55	0.952(3)	0.685(1)	0.538(0)	8.22(7)	90.28	193.53
БМГАП1.60	0.948(8)	0.687(4)	0.535(9)	11.52(3)	89.15	184.45
ГАП1.67	0.942(2)	0.687(6)	0.528(6)	70.30(5)	93.93	74.41
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (01-072-1243)	0.943(2)	0.688(1)	0.530(1)	—	—	—

Примечание. $V_{\text{гекс}}$ – объем элементарных ячеек; D – размер кристаллитов; X_s – степень кристалличности; $S_{\text{уд}}$ – удельная поверхность.

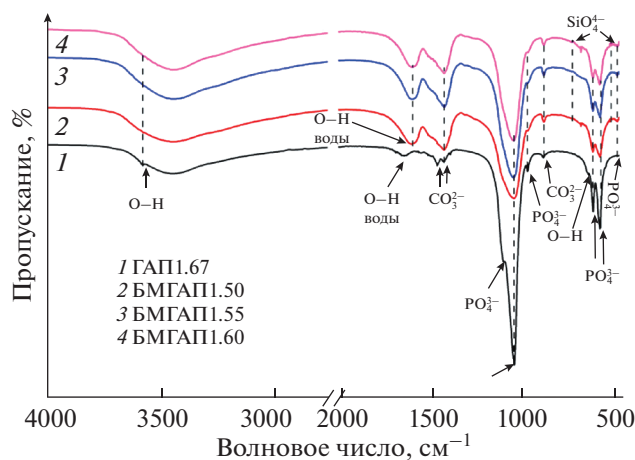


Рис. 2. ИК-спектры синтезированных образцов ГАП1.67 и БМГАП.

шаться и достигает минимума (0.9422 нм) у ГАП1.67. Объем элементарной ячейки меняется аналогично изменению параметров a и c . Вместе с тем определенных закономерностей в изменении параметров кристаллической решетки БМГАП от величины мольных отношений нами не выявлено. По-видимому, этот вопрос требует проведения отдельных исследований.

Обнаружено также, что при снижении степени дефицитности ионов Ca^{2+} в диапазоне мольных отношений 1.50–1.60 происходит увеличение размеров кристаллитов от 7.52 до 11.52 нм. По мере приближения к стехиометрическому значению их размер изменяется скачкообразно и достигает максимума (70.30 нм) у образца ГАП1.67.

Результаты измерений удельной поверхности синтезированных порошков методом БЭТ показали, что все исследуемые образцы БМГАП обладают высокоразвитой поверхностью по сравнению со стехиометрическим немодифицированным ГАП1.67. Максимальная величина удельной поверхности ($193.53 \text{ м}^2/\text{г}$) зафиксирована у образца БМГАП1.55. Установлено, что с возрастанием мольного отношения до стехиометрического удельная поверхность синтезированных образцов понижается и достигает минимума ($74.41 \text{ м}^2/\text{г}$) у ГАП1.67.

ИК-Фурье-спектры всех порошков БМГАП, допированных силикат- и карбонат-анионами, в интервале заданных мольных отношений содержат полосы поглощения групп PO_4^{3-} , CO_3^{2-} и OH^- , характерные для апатитовой фазы.

По данным ИК-Фурье-спектроскопии (рис. 2), у всех образцов ГАП1.67 и БМГАП присутствуют полосы поглощения с волновыми числами в интервале $607\text{--}565 \text{ см}^{-1}$, соответствующие деформационным колебаниям фосфатных групп (мода ν_4).

Полосы в области $1092\text{--}1034 \text{ см}^{-1}$ могут быть отнесены к асимметричным валентным колебаниям связей $\text{P}\text{--}\text{O}$ в составе PO_4^{3-} -тетраэдров (мода ν_3), а полосы в интервале $962\text{--}959 \text{ см}^{-1}$ вызваны симметричными валентными модами ν_1 . Полоса поглощения при 470 см^{-1} соответствует деформационным колебаниям $\text{O}\text{--}\text{P}\text{--}\text{O}$ (мода ν_2). Широкая полоса в интервале от 3700 до 2500 см^{-1} может быть отнесена к модам валентных колебаний адсорбционной воды и гидроксильных групп. Кроме того, обнаруживаются полосы деформационных колебаний связей $\text{O}\text{--}\text{H}$ в молекулах структурно связанной воды и в гидроксид-ионах в интервале $1603\text{--}1635 \text{ см}^{-1}$. Предположительно, смещение полосы деформационных колебаний воды на 1600 см^{-1} , а также значительное увеличение ее интенсивности могут быть связаны с увеличением содержания карбонат-ионов в структуре ГАП. Полоса при 630 см^{-1} в спектре ГАП может быть отнесена к либрационным колебаниям OH -группы. Из рис. 2 видно, что введение как силикатных, так и карбонатных анионов в структуру ГАП приводит к исчезновению этой полосы.

Согласно [31, 32], при замещении группы PO_4^{3-} на SiO_4^{4-} может происходить потеря одной OH -группы для компенсации заряда в элементарной ячейке ГАП. В случае допирования гидроксиапатита CO_3^{2-} -анионами возможна потеря одной OH -группы за счет карбонатного замещения В-типа.

У стехиометрического немодифицированного ГАП1.67 присутствуют пики, соответствующие максимальной интенсивности колебаний группы PO_4^{3-} при 1092 и 602 см^{-1} , но отсутствуют полосы поглощения, характерные для силикатных групп. У образцов БМГАП происходит уменьшение интенсивности колебаний фосфатных групп в результате замещения части фосфат-анионов на силикат- и карбонат-анионы. В спектрах всех образцов фиксируются также полосы в интервалах $873\text{--}871 \text{ см}^{-1}$ (мода ν_2) и $1456\text{--}1417 \text{ см}^{-1}$ (мода ν_3), относящиеся соответственно к деформационным и валентным колебаниям связей $\text{C}=\text{O}$ в составе карбонат-аниона. В случае стехиометрического немодифицированного ГАП1.67 это может быть связано с адсорбцией углекислого газа из атмосферы воздуха в процессе синтеза. Для образцов БМГАП характерно уширение и увеличение интенсивности полосы с максимумом при 1417 см^{-1} , которая соответствует колебаниям CO_3^{2-} (мода ν_3). Это, на наш взгляд, связано с наложением полосы поглощения при 1417 см^{-1} на полосу при 1458 см^{-1} , которое происходит за счет вхождения в структуру ГАП карбонатных анионов. В отличие от ИК-Фурье-спектра стехиометрического ГАП1.67, в спектрах порошков БМГАП, допиро-

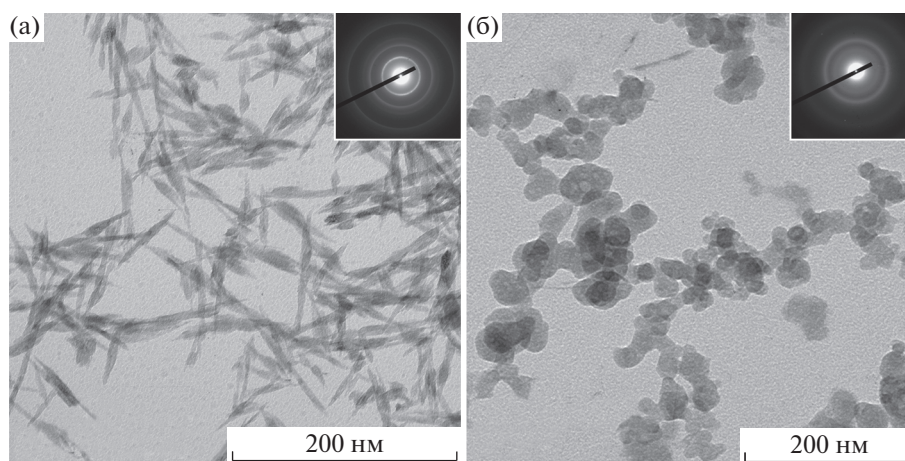


Рис. 3. ПЭМ-микрофотографии полученных образцов: а – ГАП1.67, б – БМГАП1.50.

ванных силикат- и карбонат-анионами, наблюдаются характерные малоинтенсивные полосы поглощения деформационных колебаний связей Si–O и симметричных валентных колебаний мостиковых связей Si–O–Si в силикатных тетраэдрах при 504 (мода ν_2) и ~ 720 см^{-1} (мода ν_1) соответственно. Наличие данных сигналов [31, 33] свидетельствует о внедрении силикат-анионов в решетку ГАП.

Морфологическое исследование синтезированных образцов ГАП1.67 и БМГАП в форме гидродисперсий после синтеза было проведено методом ПЭМ. На рис. 3 представлены ПЭМ-изображения образцов ГАП1.67 и БМГАП1.50.

По данным ПЭМ (рис. 3), внедрение силикат- и карбонат-анионов в структуру ГАП приводит к изменению формы и среднего размера частиц. Видно, что частицы немодифицированного ГАП1.67 имеют игольчатую форму длиной 45–100 нм и шириной 12–25 нм (рис. 3а). В то же время для образцов БМГАП1.50 (рис. 3б) характерно наличие сферической формы с размером частиц в интервале от 13 до 32 нм. Согласно данным [34], сферическая форма частиц ГАП является важным фактором для инициации провоспалительной реакции, а игольчатая форма кристаллов ГАП является наименее биосовместимой. В [35] сообщалось, что игольчатая форма кристаллов ГАП с размером частиц микрометрового порядка (от 0.1 до 20 мкм) инициирует активацию NLRP3 инфламасомы и выраженную секрецию IL-1 β макрофагами и дендритными клетками костного мозга мышей *in vitro*. В то же время при внутрибрюшинной инъекции микроразмерного и субмикронного ГАП воспалительный ответ не развивался при введении частиц ГАП сравнимого размера, но гладкой сферической формы.

Дополнительное структурно-морфологическое исследование ГАП и БМГАП в порошкооб-

разном состоянии после высушивания гидродисперсий было проведено методом сканирующей электронной микроскопии. Конечные продукты синтеза после высушивания гидрогеля до постоянной массы и измельчения в фарфоровой ступке представляли собой тонкодисперсные порошки белого цвета. На рис. 4 представлены СЭМ-микрофотографии исследуемых материалов после сушки.

Анализ СЭМ-изображений полученных образцов ГАП и БМГАП подтвердил, что данные порошкообразные субстанции представляют собой полидисперсные кристаллические системы, которые имеют схожую морфологию и состоят из агрегатов наночастиц с размерами в диапазоне от 2 до 23.5 мкм для немодифицированного ГАП1.67 и от 1 до 10 мкм для БМГАП. На микрофотографиях (рис. 4) присутствуют уже не наноразмерные частицы БМГАП, диспергированные в жидкой фазе, как на рис. 3, а агрегированные микрочастицы продукта, высушенного и измельченного до состояния порошка. В процессе сушки кристаллы ГАП теряют свою гидратную оболочку и происходит их агрегация.

Для кальций-фосфатных материалов, в том числе БМГАП, применяемых в качестве субстратов для изготовления костных имплантатов, помимо биосовместимости, биоактивности и остеоиндуктивности крайне важными являются электроповерхностные свойства синтезированных продуктов. Известно, что в случае помещения биоматериала внутрь организма сразу возникает биологическая ответная реакция на глубине в несколько нанометров от поверхности. В то же время наличие поверхностного заряда на границе между биоматериалом и биологической средой оказывает существенное влияние на процессы адсорбции белка и клеточной адгезии. На отрицательно заряженных кальций-фосфатных матери-

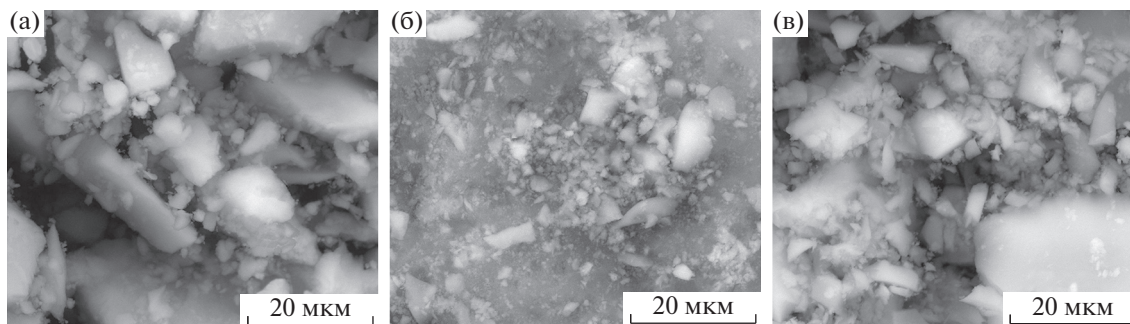


Рис. 4. СЭМ-микрофотографии полученных образцов: а – ГАП1.67; б – БМГАП1.50; в – БМГАП1.60.

алах происходит преимущественная адсорбция катионов кальция с образованием апатитового слоя, усиливая фиксацию белков и клеток к поверхности. С этой точки зрения частицы ГАП, несущие регулируемый отрицательный поверхностный заряд, имеют заметное преимущество. Значения ζ -потенциала синтезированных образцов ГАП и БМГАП приведены на рис. 5.

Согласно результатам измерения ζ -потенциала синтезированных образцов (рис. 5) методом динамического рассеяния света, в водной суспензии при pH 7 частицы всех образцов несут отрицательный заряд. Установлено, что с увеличением мольного отношения в кристаллохимической структуре ГАП в интервале 1.50–1.67 наблюдается закономерное уменьшение ζ -потенциала по абсолютной величине (от 4.29 до 1.05 мВ). Так, у образца у БМГАП1.50, что отвечает наибольшей

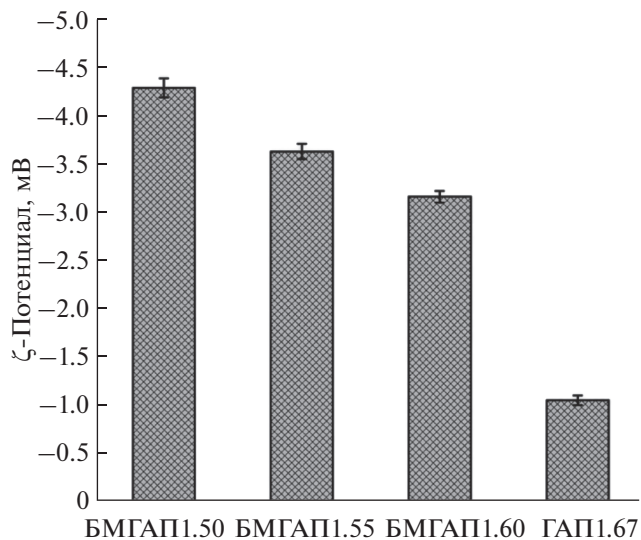


Рис. 5. ζ -Потенциал синтезированных образцов ГАП1.67 и БМГАП.

степени дефицитности ионов Ca^{2+} , зафиксировано максимальное отрицательное значение ζ -потенциала (4.29 мВ), далее по мере приближения мольного отношения к стехиометрическому значению ζ -потенциал уменьшается и достигает минимума у ГАП1.67. Таким образом, для синтезированных образцов БМГАП имеет место широкий диапазон варьирования величины отрицательного поверхностного заряда, что позволяет управлять их адгезионными свойствами по отношению к клеткам и протеинам.

Важной характеристикой кальций-фосфатных материалов медицинского назначения является их резорбируемость. Согласно [8], в соответствии с делением процесса резорбции на две фазы (медленную и быструю), различающиеся по уровню pH в зоне резорбции, а также по участию клеток в этом процессе, оценка биорезорбируемости материалов может быть основана на изучении растворимости биоматериала в воде или модельных средах. Биорезорбируемость гидроксиапатитовых биоматериалов зависит от нескольких факторов, таких как фазовый состав, размер кристаллов, удельная поверхность, в том числе и от мольного отношения в кристаллохимической структуре ГАП. В настоящей работе биорезорбируемость синтезированных образцов оценивали по способности к биорезорбции, т.е. интенсивности растворения в физиологическом растворе NaCl ($\omega(\text{NaCl}) = 0.9\%$), изотоничном плазме крови человека, и в SBF-растворе, имитирующем межтканевую жидкость организма.

В табл. 2 приведены результаты определения растворимости образцов ГАП1.67 и БМГАП в интервале мольных отношений 1.50–1.67 в физиологическом растворе при комнатной температуре 22°C и температуре человеческого тела 37°C (время экспозиции 7 сут).

Из данных табл. 2 видно, что образцы БМГАП обладают улучшенной степенью биорезорбции по сравнению со стехиометрическим немодифицированным ГАП1.67. Такое поведение хорошо

Таблица 2. Растворимость исследуемых порошков ГАП1.67 и БМГАП в физиологическом растворе ($\omega(\text{NaCl}) = 0.9\%$)

Температура, °C	Концентрация ионов Ca^{2+} , ммоль/л*			
	БМГАП1.50	БМГАП1.55	БМГАП1.60	ГАП1.67
22	4.10	3.75	3.60	1.10
37	4.60	4.00	3.90	2.05

* Среднее значение по результатам трех определений.

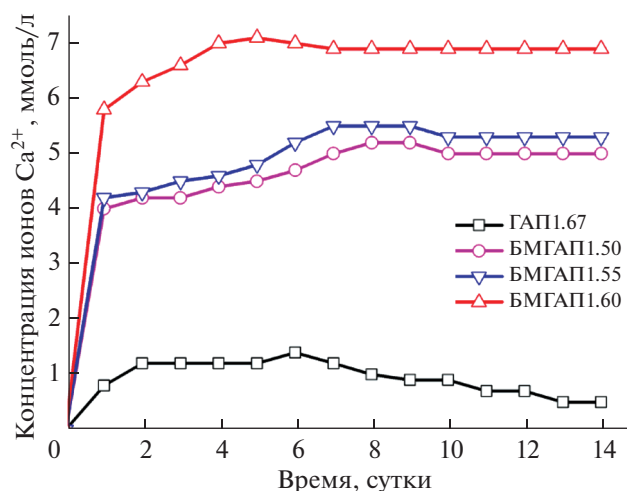
согласуется с данными [10], согласно которым замещения на анионы с меньшим зарядом и/или большим радиусом с большей энергией гидратации ведут к повышению растворимости. Для исследуемых образцов БМГАП замещения фосфат-ионов на силикат- и карбонат-анионы приводят к искажению кристаллической решетки, создают напряжения и нестабильность в структуре ГАП, что и обуславливает возрастание растворимости материала. Следует также отметить, что по мере увеличения мольного отношения в образцах БМГАП наблюдается тенденция к уменьшению растворимости. Так, у образца БМГАП1.50 зафиксирована максимальная концентрация ионов Ca^{2+} (4.10 ммоль/л), переходящих в жидкую фазу при контакте твердого вещества с физиологическим раствором. Минимальная концентрация ионов Ca^{2+} (1.10 ммоль/л) при принятом времени экспозиции наблюдалась у стехиометрического ГАП1.67. Таким образом, после выдерживания образцов в течение 7 сут в физиологическом растворе 0.9% NaCl концентрация ионов Ca^{2+} для образцов БМГАП была в 1.9–2.4 раза выше таковой для стехиометрического немодифицирован-

ного ГАП1.67. Кроме того, из данных табл. 2 видно, что с возрастанием температуры от 22 до 37°C для всех синтезированных образцов ГАП и БМГАП также отмечается повышение растворимости.

Для оценки биологической активности синтезированных образцов ГАП и БМГАП в условиях *in vitro* их выдерживали в модельном SBF-растворе (pH 7.4) при постоянной температуре $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ в течение 14 сут. По окончании времени выдержки образцов в насыщенном SBF-растворе их биорезорбируемость оценивали по количественному выходу Ca^{2+} . Результаты представлены на рис. 6.

Из рис. 6 видно, что для всех изучаемых образцов наблюдается схожий характер кривых растворения в SBF-растворе. Так, в течение первых суток выход ионов Ca^{2+} из ГАП1.67 и БМГАП в SBF-раствор быстро растет и через 5–7 сут достигает максимального равновесного значения $C(\text{Ca}^{2+})$. После этого периода времени количество ионов Ca^{2+} , переходящих в жидкую фазу, незначительно уменьшается и далее находится на постоянном уровне. Данный факт, по-видимому, связан с образованием малорастворимого апатитового слоя, формирующегося на поверхности БМГАП, который затрудняет его дальнейшее растворение; как следствие, происходит незначительное уменьшение концентрации ионов Ca^{2+} в растворе. Известно, что высвобождаемые из кальций-фосфатных материалов подобных БМГАП ионы Ca^{2+} , PO_4^{3-} , SiO_4^{4-} и OH^- играют важную роль в формировании новой апатитовой фазы в биологических средах.

Следует отметить, что все образцы БМГАП имеют более высокую биорезорбируемость в сравнении с немодифицированным ГАП1.67. Из анализа кинетических кривых следует, что по мере увеличения мольного отношения в диапазоне 1.50–1.67 их биорезорбируемость последовательно уменьшается. Максимальный выход ионов Ca^{2+} в SBF-раствор наблюдается у образца БМГАП1.50, а минимальный — у стехиометрического образца ГАП1.67.

**Рис. 6.** Выход ионов кальция в SBF-раствор в зависимости от времени экспозиции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом химического осаждения из водных растворов синтезированы образцы наноструктурного биомиметического гидроксиапатита. Показано, что при увеличении мольного отношения в интервале 1.50–1.67 происходит изменение параметров решетки a , c , а также возрастание среднего размера кристаллитов от 7.52 до 70.30 нм и уменьшение величины удельной поверхности. Установлено, что в водной суспензии (рН 7) частицы суспензии и частицы всех образцов несут отрицательный заряд. Выявлена закономерность изменения величины ζ -потенциала синтезированных порошков в исследованном диапазоне мольных отношений.

Исследования биоактивности образцов методом динамического растворения в физиологическом 0.9%-ном растворе NaCl и в SBF-растворе показали, что скорость резорбции ГАП1.67 и БМГАП уменьшается с возрастанием мольного отношения в кристаллохимической структуре исследуемых образцов.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Исследования выполнены с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования “Технологии и материалы НИУ “БелГУ”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Liangzhi G., Weibin Z., Yuhui S. // RSC Adv. 2016. V. 6. № 115. P. 114707.
<https://doi.org/10.1039/C6RA24469F>
2. Trunc M., Chlup Z. // Ceram. Int. 2017. V. 43. № 14. P. 11265.
<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.05.177>
3. Ларионов Д.С., Кузина М.А., Евдокимов П.В. и др. // Журн. неорганической химии. 2020. V. 65. № 3. P. 309.
<https://doi.org/10.31857/S0044457X20030071>
4. Голованова О.А. // Журн. неорганической химии. 2020. V. 65. № 3. P. 302.
<https://doi.org/10.31857/S0044457X20030046>
5. Kolmas J., Krukowski S., Laskus A. et al. // Ceram. Int. 2016. V. 42. № 2. P. 2472.
<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2015.10.048>
6. Szczes A., Holysz L., Chibowski E. // Adv. Coll. Interf. Sci. 2017. V. 249. P. 321.
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.04.007>
7. Eliaz N., Metoki N. // Materials. 2017. V. 10. № 4. P. 334.
<https://doi.org/10.3390/ma10040334>
8. Hendi A.A. // J. Alloys Compd. 2017. V. 712. P. 147.
<https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2017.04.021>
9. Vallet-Regí M., Arcos D. // J. Mater. Chem. 2005. V. 15. № 15. P. 1509.
<https://doi.org/10.1039/B414143A>
10. Сафронова Т.В., Путляев В.И. // Наносистемы: физика, химия, математика. 2013. V. 4. P. 24.
11. Chapter 1. Biological Apatites in Bone and Teeth, in: Nanoscience & Nanotechnology Series, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2008. P. 1.
<https://doi.org/10.1039/9781847558923-00001>
12. Chapter 3. Biomimetic Nanoapatites on Bioceramics, in: Nanoscience & Nanotechnology Series, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2008. P. 61.
<https://doi.org/10.1039/9781847558923-00061>
13. Salinas A.J., Esbrit P., Vallet-Regí M. // Biomater. Sci. 2013. V. 1. № 1. P. 40.
<https://doi.org/10.1039/C2BM00071G>
14. Guth K., Campion C., Buckland T. et al. // Adv. Eng. Mater. 2010. V. 12. № 4. P. B113.
<https://doi.org/10.1002/adem.200980026>
15. Cameron K., Travers P., Chander C. et al. // J. Biomed. Mater. Res. 2013. V. 101A. № 1. P. 13.
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.34261>
16. Putlayev V., Veresov A., Pulkin M. et al. // Mat.-wiss. u. Werkstofftech. 2006. V. 37. № 6. P. 416.
<https://doi.org/10.1002/mawe.200600007>
17. Munir G., Koller G., Di Silvio L. et al. // J. R. Soc. Interface. 2011. V. 8. № 58. P. 678.
<https://doi.org/10.1098/rsif.2010.0548>
18. Landi E., Celotti G., Logroscino G. et al. // J. Eur. Ceram. Soc. 2003. V. 23. № 15. P. 2931.
[https://doi.org/10.1016/S0955-2219\(03\)00304-2](https://doi.org/10.1016/S0955-2219(03)00304-2)
19. Landi E., Uggeri J., Sprio S. et al. // J. Biomed. Mater. Res. 2010. V. 94A. № 1. P. 59.
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.32671>
20. Boanini E., Gazzano M., Bigi A. // Acta Biomaterialia. 2010. V. 6. № 6. P. 1882.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.12.041>
21. Королева М.Ю., Каракатенко Е.Ю., Юртов Е.В. // Коллоид. журн. 2020. V. 82. № 3. P. 324.
<https://doi.org/10.31857/S0023291220030052>
22. Трубицын М.А., Хоанг Вьет Хунг, Фурда Л.В. // Вестник технологического университета. 2020. V. 23. P. 19.
23. Wu Y.-J., Tseng Y.-H., Chan J.C.C. // Cryst. Growth Des. 2010. V. 10. № 10. P. 4240.
<https://doi.org/10.1021/cg100859m>
24. Hu Y.-Y., Rawal A., Schmidt-Rohr K. // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010. V. 107. № 52. P. 22425.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1009219107>
25. Jana N.R., Gearheart L., Murphy C.J. // J. Phys. Chem. B. 2001. V. 105. № 19. P. 4065.
<https://doi.org/10.1021/jp0107964>
26. Hoang V.H., Troubitsin M.A., Furda L.V. et al. // JBB-BE. 2020. V. 47. P. 1.
<https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/JBB-BE.47.1>
27. Troubitsin M., Hoang V.H., Furda L. // Bulletin of Belgorod State Technological University named after V.G. Shukhov. 2020. P. 106.
<https://doi.org/10.34031/2071-7318-2020-5-3-106-113>

28. *Cullity B.D., Weymouth J.W.* // Am. J. Phys. 1957. V. 25. № 6. P. 394.
<https://doi.org/10.1119/1.1934486>
29. *Singh G., Singh S., Prakash S.* // Surf. Coat. Technol. 2011. V. 205. № 20. P. 4814.
<https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2011.04.064>
30. *Шарло Г.* // Методы аналитической химии. Количественный анализ неорганических соединений. М., 1966.
31. *Marchat D., Zymelka M., Coelho C. et al.* // Acta Biomaterialia. 2013. V. 9. № 6. P. 6992.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.03.011>
32. *Mostafa N.Y., Hassan H.M., Abd Elkader O.H.* // J. Am. Ceram. Soc. 2011. V. 94. № 5. P. 1584.
<https://doi.org/10.1111/j.1551-2916.2010.04282.x>
33. *Palard M., Champion E., Foucaud S.* // J. Solid State Chem. 2008. V. 181. № 8. P. 1950.
<https://doi.org/10.1016/j.jssc.2008.04.027>
34. *Laquerriere P., Grandjean-Laquerriere A., Addadi-Rebah S. et al.* // Biomaterials. 2004. V. 25. № 13. P. 2515.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.09.034>
35. *Lebre F., Sridharan R., Sawkins M.J. et al.* // Sci Rep. 2017. V. 7. № 1. P. 2922.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-03086-0>