

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 666.3.022:542.65:546.41'33'18

СИНТЕЗ ПОРОШКОВ АМОРФНОГО ФОСФАТА КАЛЬЦИЯ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ БИОКЕРАМИКИ И КОМПОЗИТОВ МЕТОДАМИ 3D-ПЕЧАТИ

© 2022 г. Д. М. Зуев^а, Д. О. Голубчиков^{а, *}, П. В. Евдокимов^{а, b, c}, В. И. Путляев^{а, b}

^аФакультет наук о материалах, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

^бХимический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

^сИнститут общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН,
Ленинский пр-т, 31, Москва, 119991 Россия

*e-mail: dddannn2113@gmail.com

Поступила в редакцию 18.11.2021 г.

После доработки 13.12.2021 г.

Принята к публикации 13.01.2022 г.

Осаждением из растворов при 10 и 25°C синтезированы порошки аморфного фосфата кальция, стабилизированного рядом ингибиторов кристаллизации на основе солей карбоновых и фосфорных кислот. Присутствие ингибиторов приводит к дисперсным осадкам, особенно в случае образцов с $P_3O_9^{3-}$ и $P_3O_{10}^{5-}$ (размер первичных агломератов 300–400 нм); высокие значения ζ -потенциала частиц в суспензиях с $P_2O_7^{4-}$, $P_3O_9^{3-}$ и $P_3O_{10}^{5-}$ (< -20 мВ) свидетельствуют о достаточной агрегативной устойчивости таких суспензий. Практический интерес с точки зрения использования порошков аморфных фосфатов для изготовления биокерамики и композитов методами стереолитографической 3D-печати представляют фосфаты, синтезированные в присутствии тримета- и триполифосфатов – ингибиторов, впервые исследованных в настоящей работе.

Ключевые слова: аморфный фосфат кальция, ингибиторы кристаллизации, анионы карбоновых кислот, пирофосфат, триметафосфат, триполифосфат, нуклеофильность и основность, агрегативная устойчивость суспензий, 3D-печать

DOI: 10.31857/S0044457X2207025X

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время достаточно остро стоит проблема быстрого восстановления поврежденных костных тканей. Одним из актуальных способов является замещение поврежденного участка донорскими тканями или биосовместимым, резорбируемым и osteoconductive искусственным материалом [1–4]. Материал называют биосовместимым, если он не вызывает негативных явлений в области имплантации и способствует регенерации тканей [5–7]. Osteoconductive называют материал, способный обеспечивать поток биологической жидкости, а также обладающий свойствами связывания остеогенных клеток. В настоящее время уже существуют материалы, которые способны обеспечивать заметное костеобразование в течение 20 недель после операции [8–10]. Указанные выше черты osteoconductive требуют наличия в материале упорядоченных макропор с размерами не ме-

нее 100 мкм, основным способом создания которых является 3D-печать.

Натуральная костная ткань является композитом, состоящим из органической матрицы и неорганического фосфата – гидроксиапатита $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (ГАП). Более точно, в костной ткани присутствует нестехиометрический карбонизированный гидроксиапатит, состав которого, если не учитывать катионные замещения, можно выразить формулой $Ca_{(10-x/2)}(PO_4)_{(6-x)}(CO_3)_x(OH)_{2-2y}(CO_3)_y$. Вследствие этого большая часть создаваемых biomaterialов для костной пластики приходится на керамику и композиты, содержащие ионы кальция и фосфат-ионы [11–16], а также ионы магния [17]. Большой интерес для инженерии костной ткани представляет аморфный фосфат кальция состава $Ca_3(PO_4)_2 \cdot xH_2O$ (АФК). АФК играет важную роль в формировании костных тканей в организме, считается прекурсором образования ГАП [18–20]. Нанодисперсные осадки АФК хорошо совме-

стимы с технологией 3D-печати керамических имплантатов, поскольку такая технология, в частности стереолитография, требует субмикронного размера частиц кальцийфосфатного порошка [21].

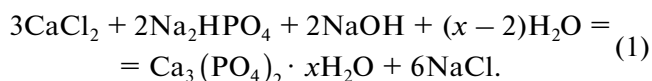
Структуру АФК представляют в виде неупорядоченной упаковки компактных групп ионов — кластеров Познера диаметром 9.5 Å, состав которых можно описать общей формулой $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$. АФК термодинамически неустойчив и превращается в более стабильные фазы — ГАП или бруксит $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Кинетическая устойчивость АФК обусловлена набором факторов. Так, в литературе отмечается влияние молекул воды на стабильность структуры АФК [21–23]; однако при большом количестве воды в водных растворах происходит быстрая трансформация АФК в ГАП по механизму растворения-осаждения. С точки зрения состава различают два типа АФК: замещенные и незамещенные, т.е. не имеющие в составе иных ионов, кроме Ca^{2+} и PO_4^{3-} . Незамещенные АФК могут быть стабилизированы в условиях синтеза (низкими температурами осаждения, высокими степенями пересыщения раствора по ионам кальция и ортофосфата, высокими значениями pH, при этом в литературе описаны способы синтеза АФК в диапазоне pH от 6 до 12), хранения (низкие температуры, вне раствора) и характеризуются отношением $\text{Ca/P} = 1.33$ –1.67. Замещенные АФК синтезируют в менее специфических условиях; они содержат в своем составе ионы-заместители, такие как Mg^{2+} , Sn^{2+} , Al^{3+} , $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$, CO_3^{2-} [23–26], оказывающие влияние и на соотношение Ca/P , которое в ряде случаев будет выше, чем 1.5. Описанные формы АФК являются кинетически стабильными. В более кислых средах в структуре АФК возможно присутствие ионов HPO_4^{2-} ; для такого АФК будут характерны более низкие значения Ca/P (вплоть до 1.15) и низкая кинетическая устойчивость. Варьируя pH-условия синтеза, можно получать более устойчивые протонированные АФК с соотношением Ca/P от 1.35 до 1.38 [23]. В качестве ионов-заместителей, ингибирующих кристаллизацию АФК в ГАП (и называемых поэтому ингибиторами), наиболее часто используют Mg^{2+} и $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$. Концентрация ионов Mg^{2+} влияет также на маршрут кристаллизации АФК в водной среде и, соответственно, в среде организма. При меньшей концентрации Mg^{2+} конечным продуктом является ГАП, а при ее повышении — более растворимый бруксит [24, 25]. Присутствующие в растворе при синтезе АФК ионы Mg^{2+} и Na^+ могут оказывать существенное влияние на формирование фаз $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и ГАП в процессе последующего отжига осадка, поскольку способны замещать кальций в указанных фосфатах [26, 27].

Наиболее распространенный растворный способ синтеза АФК предполагает его осаждение при быстром смешивании водных растворов солей кальция и фосфатов в щелочной среде с последующей сублимационной сушкой осадка. Таким способом можно получать АФК с варьируемым соотношением Ca/P . Присутствие неводных растворителей повышает пересыщение растворов и приводит к образованию комплексов кальция с органическими анионами, что также благоприятствует образованию мелкодисперсного АФК. Существует несколько “сухих” способов получения АФК. Все они не предполагают использования термической обработки, поскольку при воздействии температуры происходит кристаллизация АФК в трикальцийфосфат $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (ТКФ). Механохимический способ предполагает длительное высокоэнергетическое измельчение ТКФ. В литературе описан также переход ортофосфатов кальция из кристаллического состояния в аморфное при давлениях ~ 10 ГПа [23].

Помимо солей магния и пиродифосфатов для ингибирования кристаллизации АФК часто применяют соли цинка, карбонаты. Однако механизм действия, а также принцип выбора ингибирующих добавок в литературе детально не обсуждается. В настоящей работе был выбран ряд биосовместимых ингибиторов, содержащих ацетат (CH_3COO^-)-, малат ($(\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{COO})^{2-}$)-, сукцинат ($(\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO})^{2-}$)-, цитрат ($(\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{OH})(\text{COO})-\text{CH}_2\text{COO})^{3-}$)-, пиродифосфат ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$)-, а также триметафосфат ($\text{P}_3\text{O}_9^{3-}$)- и триполифосфат ($\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$)-анионы. Данный ряд позволяет проследить влияние заряда, размера и строения аниона (обуславливающие склонность к комплексообразованию, в частности, к хелатированию) на ингибирование кристаллизации АФК. В качестве основного механизма ингибирования мы предполагаем адсорбцию ионов-ингибиторов на поверхности частиц АФК с образованием устойчивых комплексов с катионами кальция, приводящую к замедлению процессов растворения АФК и осаждения ГАП. В качестве катиона-ингибитора ранее нами был также применен Mg^{2+} [26] для изучения совместного с указанными анионами влияния. Таким образом, целью данной работы стало исследование потенциала использования различных органических и неорганических ионов-ингибиторов для синтеза мелкодисперсных порошков АФК осаждением из растворов при пониженных температурах и pH 11.5 с последующей сублимационной сушкой.

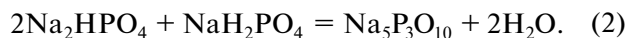
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез аморфного фосфата кальция. Для осаждения АФК использовали растворы 0.5 М CaCl_2 (х. ч., Лабтех) и 0.33 М Na_2HPO_4 (х. ч., Лабтех), которые в ряде синтезов были предварительно охлаждены до 10°C (криостат Julabo F26-ME, Julabo GmbH, Германия). Такие исходные реагенты используются в большинстве работ [19, 28–34], поскольку побочным продуктом в реакции осаждения (1) является биосовместимый хлорид натрия. Для ингибирования кристаллизации АФК были выбраны следующие соли (в скобках даны их сокращенные обозначения, принятые в данной работе): MgCl_2 (**mg**, 98%, Sigma), $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (**pp**, 99%, Sigma-Aldrich), $\text{Na}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (**ac**, 99%, Sigma-Aldrich), $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5$ (**mal**, ч., Русхим), $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ (**cit**, ч., Русхим), $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4$ (**suc**, 99%, Sigma-Aldrich), $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ (**tp**), $\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$ (**tm**). В раствор Na_2HPO_4 добавляли анионный ингибитор в количестве 10 мас. % в расчете на массу конечного продукта; хлорид магния в той же пропорции добавляли к раствору CaCl_2 . Осаждение АФК проводили при быстром добавлении раствора CaCl_2 к раствору Na_2HPO_4 с ингибитором при охлаждении и интенсивном перемешивании на магнитной мешалке (IKA RCT basic, 100–300 об/мин) в соответствии с реакцией:

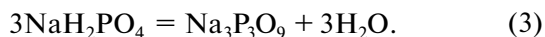


В течение всего синтеза значение pH раствора поддерживали в диапазоне 11.5 ± 0.2 при помощи 5 М раствора NaOH; уровень pH контролировали pH-метром Hanna Instruments. По окончании осаждения осадок АФК был немедленно отфильтрован на воронке Бюхнера и промыт охлажденной дистиллированной водой. Рентгеноспектральный микроанализ осадка не выявил присутствия Na и Cl. Влажный порошок АФК был подвергнут сублимационной сушке в течение 24 ч (сублиматор Labconco Freezone 18, Labconco Corp., США) и в дальнейшем хранился в холодильной камере при температуре не выше 10°C.

$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ был синтезирован твердофазным методом при 580°C в течение 3 ч по реакции:



$\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$ был получен разложением дигидрофосфата натрия при 530°C в течение 5 ч:



Рентгенофазовый анализ (РФА) проводили на дифрактометре с вращающимся анодом Rigaku D/Max-2500 (Rigaku, Япония). Съемку осуществляли в режиме на отражение (геометрия Брэгга–Брентано) в кварцевых кюветах без усредняющего вращения с использованием $\text{CuK}_{\alpha\text{ср}}$ -излучения

в режиме пошагового сканирования с шагом по $2\theta 0.1^\circ$. Качественный анализ полученных рентгенограмм выполняли с использованием базы данных ICDD PDF-2.

Распределение частиц по размерам определяли методом динамического светорассеяния (ДСР) на приборе Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания) в диапазоне 0.3 нм–10 мкм, а также на приборе лазерной дифракции Fritsch Analysette-22 (Fritsch, Германия) в диапазоне 0.2–100 мкм.

ζ-потенциал водных суспензий измеряли на универсальном приборе Zetasizer Nano ZS.

Исследования микроструктуры образцов проводили при помощи растровой электронной микроскопии (РЭМ) на микроскопе с автоэмиссионным источником Leo Supra 50VP (Carl Zeiss, Германия). Образцы наклеивали на медную подложку при помощи проводящего углеродного клея. Для исследования на образцы был нанесен слой хрома (напылительная установка Quorum Technologies QT-150T ES, Великобритания). Ускоряющее напряжение электронной пушки составляло 3–21 кВ. Изображения получали во вторичных электронах с помощью детектора типа SE2. Для исследования микроморфологии АФК с высоким разрешением использовали микроскоп с автоэмиссионным источником NVision 40 (Carl Zeiss, Германия); ускоряющее напряжение 1–3 кВ, детектор вторичных электронов типа SE2, детектор отраженных электронов типа ESB. Для проведения рентгеноспектрального микроанализа (РСМА/EDX) использовали систему микроанализа INCA (Oxford Instruments, Великобритания).

Измерения pH в процессе осаждения АФК проводили с помощью pH-метра Эконикс Эксперт-00, соединенного с компьютером.

ИК-спектры поглощения образцов регистрировали на спектрометре PE-1600 FTIR (Perkin Elmer, США) в диапазоне $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$ с шагом сканирования 4 см^{-1} . Анализ спектров проводили на основании литературных и существующих справочных данных.

Термогравиметрический и дифференциальный термический анализ (ТГ/ДТА) проводили на термоанализаторе STA 409 PC (Netzsch, Германия). Скорость нагрева составляла 10 град/мин, интервал температур 20–1000°C.

Расчет ионных и гетерогенных равновесий в растворах при 25°C, содержащих ионы кальция, фосфатные анионы и ингибиторы, выполняли с помощью программы Hydra/Medusa.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

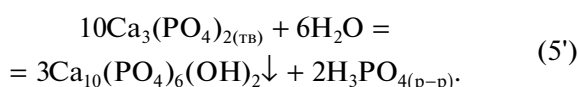
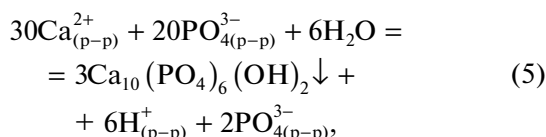
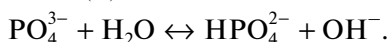
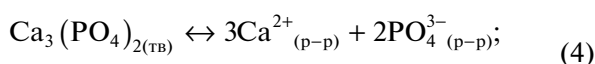
Влияние ингибиторов на кристаллизацию АФК

Влияние использованных ингибиторов на осаждение АФК и его стабильность в растворе мож-

Таблица 1. Константы устойчивости комплексов CaX [35, 36] и длительность индукционного периода кристаллизации ГАП из АФК

Ингибирующий анион	Логарифм константы устойчивости $-\text{p}K$		$\tau_{\text{с}}$	$\Delta\tau$
	CaX	HX	мин	
Ацетат	1.27	4.757	68	16
Сукцинат	2.0	5.636	60	16.8
Малат	2.72	5.097	<30	—
Триметафосфат	3.47	2.05	67.5	11.7
Цитрат	4.87	6.396	83	17.2
Пирофосфат	6.8	9.4	200	—
Триполифосфат	8.1	9.25	168	63

но оценить, исследуя изменения pH суспензии во времени после выпадения осадка [35]. Сразу после осаждения аморфного фосфата значение pH повышается вследствие конгруэнтного растворения АФК, сопровождаемого гидролизом фосфат-ионов (уравнение (4)). Спустя некоторое время происходит более или менее резкое падение pH, связанное с накоплением в растворе фосфорной кислоты в результате инконгруэнтного превращения АФК в ГАП (уравнения (5) и (5')):



По значению времени начала падения кривой зависимости pH от времени (τ_0), т.е. индукционному периоду кристаллизации, можно оценить степень влияния добавки-ингибитора на стабильность АФК.

Результаты такого изучения представлены на рис. 1 и обобщены в табл. 1, а также на рис. S1 и S2. В случае синтеза АФК без использования ингибиторов при 25°C падение кривой pH происходит за очень малое время (<15 мин, поэтому данный образец не отображен на рис. 1). Среди синтезов с добавлением ингибитора наименьший индукционный период кристаллизации наблюдается при синтезе с добавлением сукцината натрия (suc). В то же время в синтезах с участием полифосфатов (образцы mg + pp, pp, tp) влияние этих ингибиторов настолько сильное, что в течение достаточно длительного времени наблюдения резкого падения pH не наблюдается (рис. 1а, 1б). На рис. 1б представлена такая кривая pH без резкого падения. Это наблюдалось для образцов с

добавкой триполифосфата (tp), осажденных как при 10°C, так и при 25°C. При осаждении АФК, где ингибитором выступает триметафосфат натрия (tm) (рис. 1в), на кривой хорошо заметны и индукционный период τ_0 , и другие участки, описанные в работе [35]. Эффект от совместного присутствия катионного (Mg^{2+}) и анионного ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) ингибиторов представлен на рис. 1г. По приведенным в табл. 1 данным очевидна корреляция между значениями констант устойчивости комплексов $[\text{CaX}]^{(n-2)-}$ и индукционным периодом кристаллизации (рис. 2а).

Определенным исключением является ацетат; это, по-видимому, обусловлено высокой плотностью заряда на анионе из-за его относительно небольшого размера. При обсуждении действия ингибирующих добавок следует сравнивать устойчивость комплексов $[\text{CaX}]^{(n-2)-}$ с устойчивостью

CaPO_4^- ($-pK = 6.46$). Отсюда становится понятной высокая эффективность высокозарядных полидентатных пирофосфат- и триполифосфат-анионов в качестве ингибиторов кристаллизации АФК.

В основе эффекта ингибирования кристаллизации АФК, как мы полагаем, лежит адсорбция анионов (в случае анионных ингибиторов) на поверхности частиц АФК с образованием устойчивых комплексов кальция с ионами-ингибиторами, замедляющая процессы растворения и осаждения. С учетом вышесказанного в качестве ингибиторов могут выступать и такие известные комплексообразователи, как этилендиаминтетраацетат (ЭДТА) или этилендиаминтетраметиленфосфонат (ЭДТМФ); в настоящей работе указанные лиганды не были использованы по причине недостаточной биосовместимости соответствующих солей и кислот.

Поведение кальций-анионных комплексов $[\text{CaX}]^{(n-2)-}$ в широком диапазоне pH определяется основностью и нуклеофильностью (по отношению к Ca^{2+}) лиганда X по сравнению с PO_4^{3-} . С этой точки зрения исследованные в работе лиганды X можно разделить на четыре группы: вы-

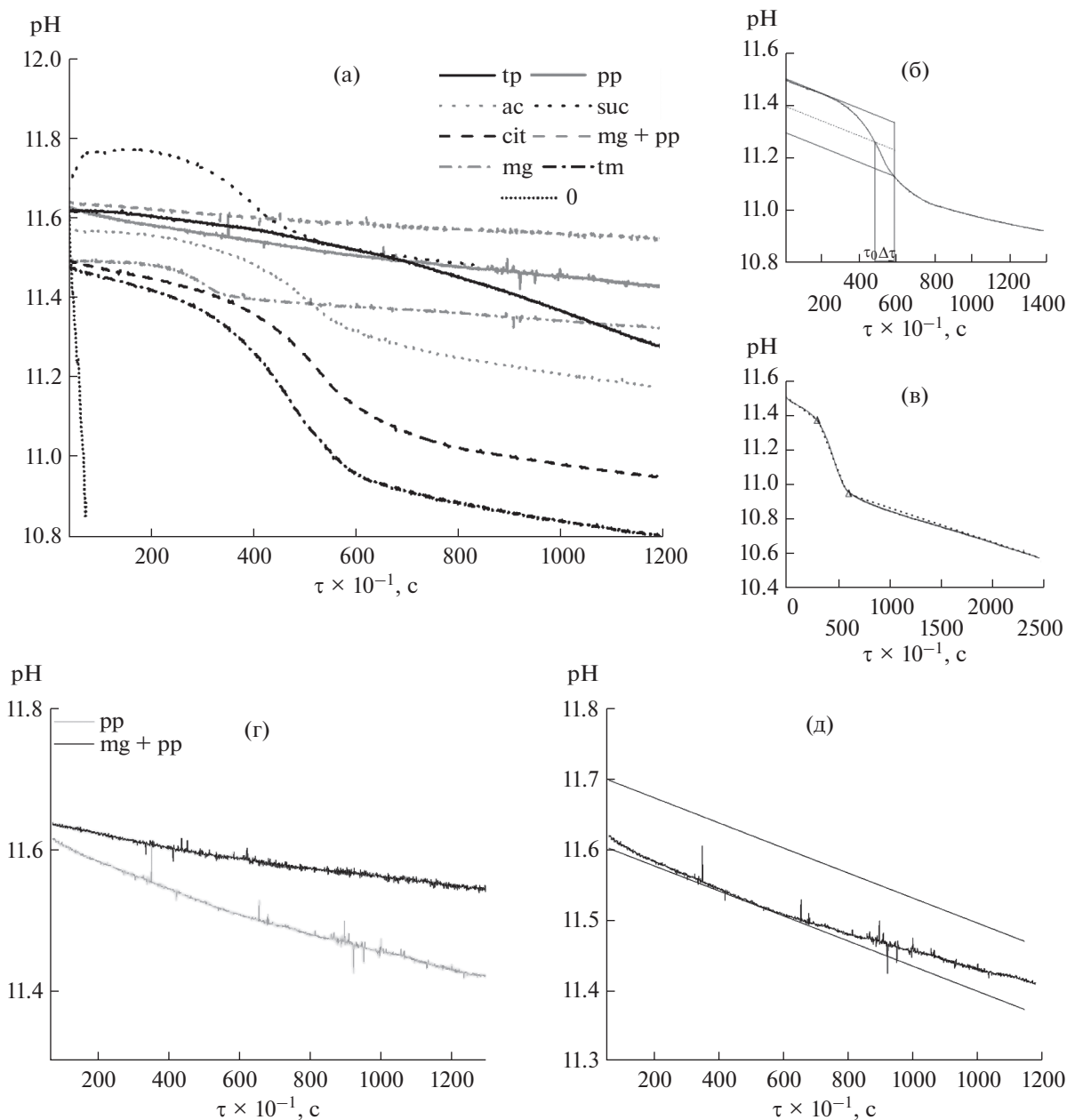


Рис. 1. Данные рН-метрии: а – при 25°C; б – определение τ_0 и $\Delta\tau$; в – tm при 25°C; г – pp и mg + pp при 25°C; д – tp при 10°C.

сокоосновные и сильнонуклеофильные лиганды (PO_4^{3-} , $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$, $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$), слабонуклеофильные лиганды средней основности (лиганды на основе органических кислот, за исключением цитрата), средний по нуклеофильности и слабоосновный триметафосфат $\text{P}_3\text{O}_9^{3-}$ и, наконец, средний по основности и средний по нуклеофильности цитратный анион (рис. 2б). Сочетание нуклеофильности и основности обеспечивает устойчивость и других комплексов, существующих в более кислых и более основных средах – $[\text{Ca}(\text{HX})]^{(n-3)-}$ и

$[\text{Ca}(\text{OH})\text{X}]^{(n-1)-}$ соответственно. Для синтеза АФК в сильнощелочных растворах, как это выполнено в настоящей работе, особенно важна устойчивость комплексов последнего типа в широком диапазоне концентраций лиганда и рН.

Удобным способом представления такого поведения для классификации ингибиторов является построение диаграмм преимущественных ионных форм/твердых фаз систем $\text{Ca}^{2+}-\text{PO}_4^{3-}-\text{X}^{n-}-\text{H}^+$ в координатах интенсивных переменных $\lg[\text{X}]-\text{pH}$ (рис. 3, S3).

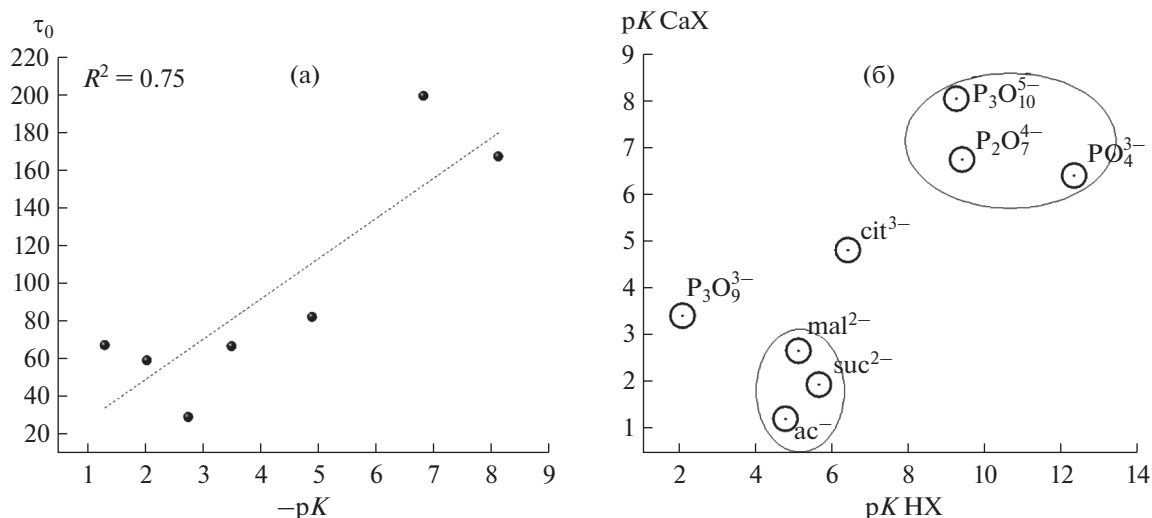


Рис. 2. Зависимость индукционного периода кристаллизации АФК при синтезе с ингибитором X^{n-} от логарифма константы устойчивости $[CaX]^{(n-2)-}$ (а) и классификация лигандов X^{n-} в координатах pK_{NH} (основность)–($-pK_{CaX}$) (нуклеофильность) (б).

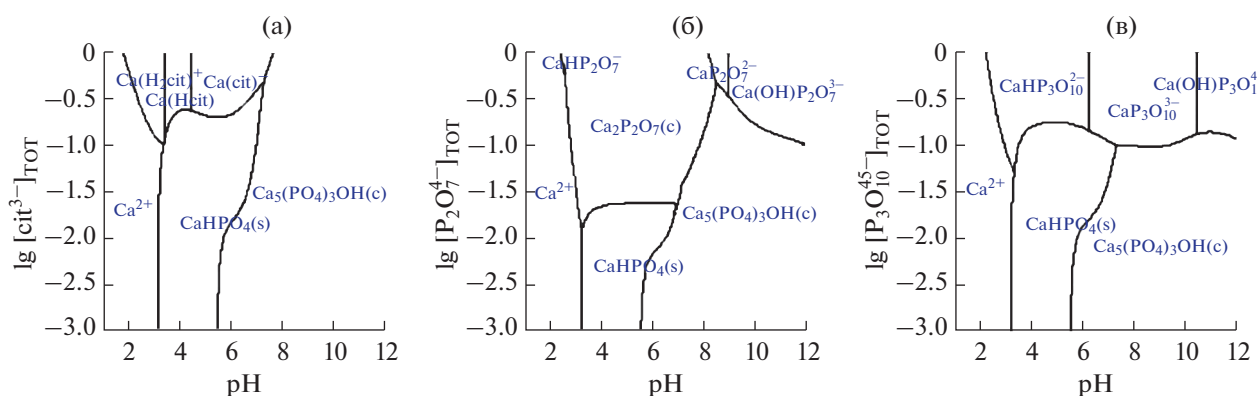


Рис. 3. Диаграммы преимущественных ионных форм/твердых фаз систем Ca^{2+} – PO_4^{3-} – X^{n-} – H^+ ($[Ca^{2+}] = 75$ мМ, $[PO_4^{3-}] = 50$ мМ) в координатах $\lg [X^{n-}]_{TOT}$ –pH для X^{n-} : а – cit^{3-} , б – $P_2O_7^{4-}$, в – $P_3O_{10}^{5-}$.

Для высокоосновных сильнонуклеофильных лигандов устойчивость всего ряда комплексов $[Ca(HX)]^{(n-3)-}$, $[CaX]^{(n-2)-}$ и $[Ca(OH)X]^{(n-1)-}$ обеспечивает термодинамическую устойчивость растворов в отношении осаждения ГАП в нейтральной/щелочной и брусита (монетита) в кислой среде. Заметна различная область устойчивости $[CaX]^{(n-2)-}$ в случае пиродифосфата, где появляется также дополнительное поле новой твердой фазы $Ca_2P_2O_7$, и триполифосфата (рис. 3б, 3в). Добавление в систему более жесткокислотного, по сравнению с кальцием, катиона магния расширяет концентрационную границу устойчивости раствора, содержащего пиродифосфат, в области pH 8–10 (рис. S2г, S2е). При снижении основности и нуклеофильности лиганда, например в случае цитрата (рис. 3а), термодинамическая стабилизация раствора в отношении осаждения фос-

фатов становится возможной только в нейтральной и кислой среде. Рассчитанные нами диаграммы для ряда лигандов-ингибиторов (не только представленных экспериментально в данной работе), а также комбинаций анионных ингибиторов с катионом магния приведены в разделе “Дополнительные материалы”; сравнение таких диаграмм полезно для понимания деталей механизма ингибирования и имеет определенную прогностическую ценность.

Фазовый состав полученных материалов

Для всех исследованных в работе десяти типов образцов, по данным РФА, после осаждения были получены рентгеноаморфные фазы с характерным гало, демонстрирующим слабые широкие максимумы при $2\theta \sim 30^\circ$ и 60° (рис. 4), что типич-

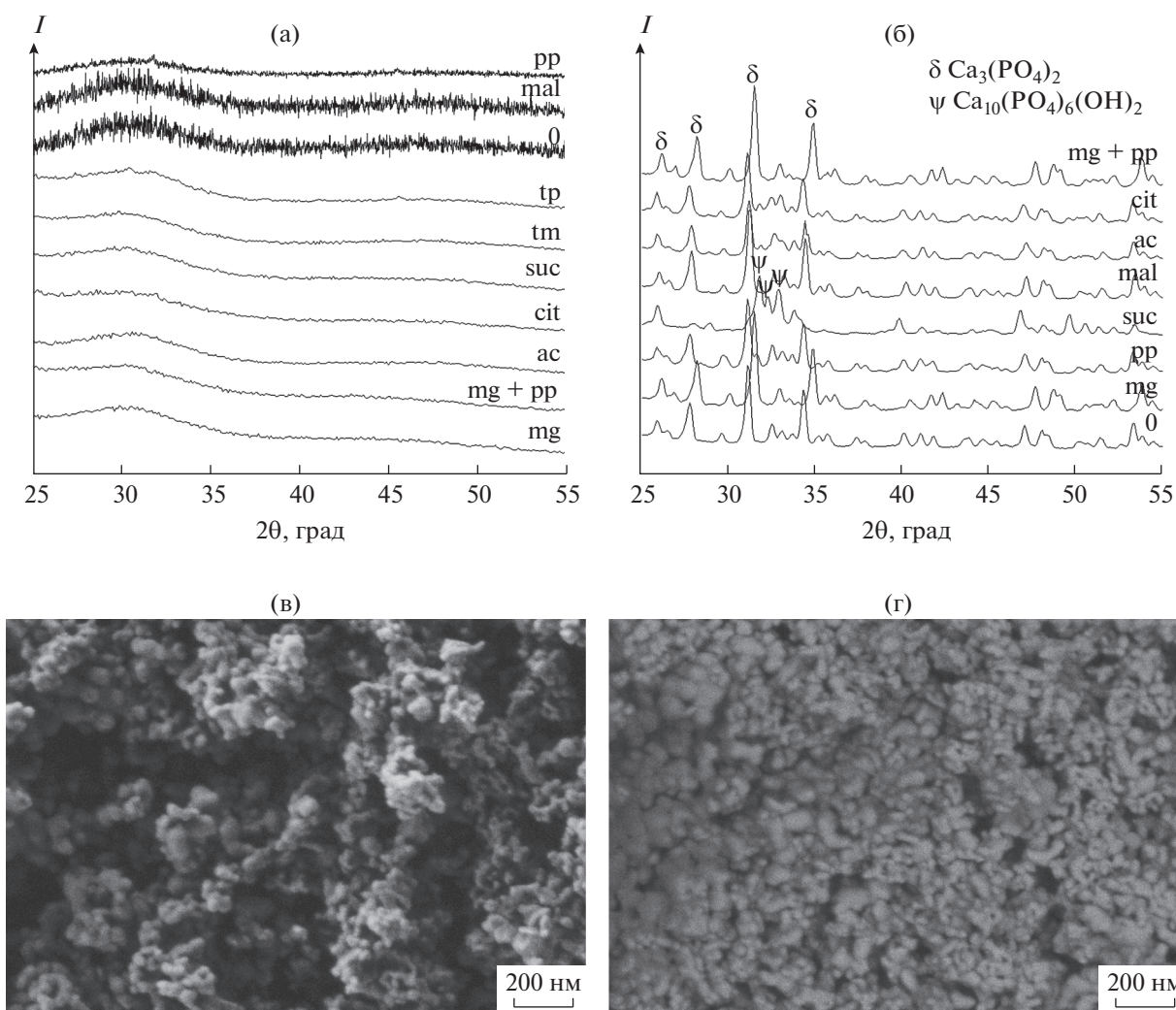


Рис. 4. Данные РФА образцов до (а) и после (б) обжига при 900°C. Микроморфология образца АФК (suc), синтезированного с добавлением сукцината, по данным РЭМ (один и тот же участок), с использованием детектора вторичных электронов SE2 (в) и детектора отраженных электронов ESB (разные по яркости участки (светлые и серые) соответствуют различным Ca/P) (г).

но для АФК [37, 38]. Согласно результатам ИК-спектроскопии, в образцах обнаружены характеристические колебания связей, специфичных для конкретных лигандов (рис. S4). Следует отметить, что методом РФА трудно различить аморфный АФК и нанокристаллический ГАП с малым размером области когерентного рассеяния (ОКР). Так, в работе [39] показано, что при сильном уменьшении ОКР рентгенограмма ГАП приводится к АФК.

В случае малоэффективного ингибитора в растворе происходит быстрая перекристаллизация АФК в ГАП (реакции (5), (5')) или нестехиометрический ГАП с $1.5 < \text{Ca/P} < 1.67$. После обжига таких образцов помимо ТКФ регистрируется фаза ГАП, поэтому обжиг АФК с последующим РФА — достаточно эффективный прием первичной диагностики состава осадка. Режим обжига (900°C, 1 ч) был подобран исходя из данных ТГ/ДТА (рис. S5). Для магнийсодержащих образ-

цов наблюдается сдвиг линий в сторону больших углов (меньших параметров элементарной ячейки), что может быть связано с частичным замещением Са на Mg в ТКФ. Присутствие фазы ГАП в обожженных образцах особенно заметно в случае использования сукцината в качестве ингибитора. В свежееосажденных образцах с сукцинатом выявить присутствие ГАП морфологически (по наличию анизотропных частиц) затруднительно (рис. 4в), однако использование ESB-детектора отраженных электронов позволяет обнаружить неоднородность химического состава (рис. 4г), которую в данном случае естественно связать с начинающимся превращением АФК в ГАП.

Размер частиц и ζ-потенциал

По данным РЭМ, синтезированные в работе АФК представляют собой тела с многоуровневой

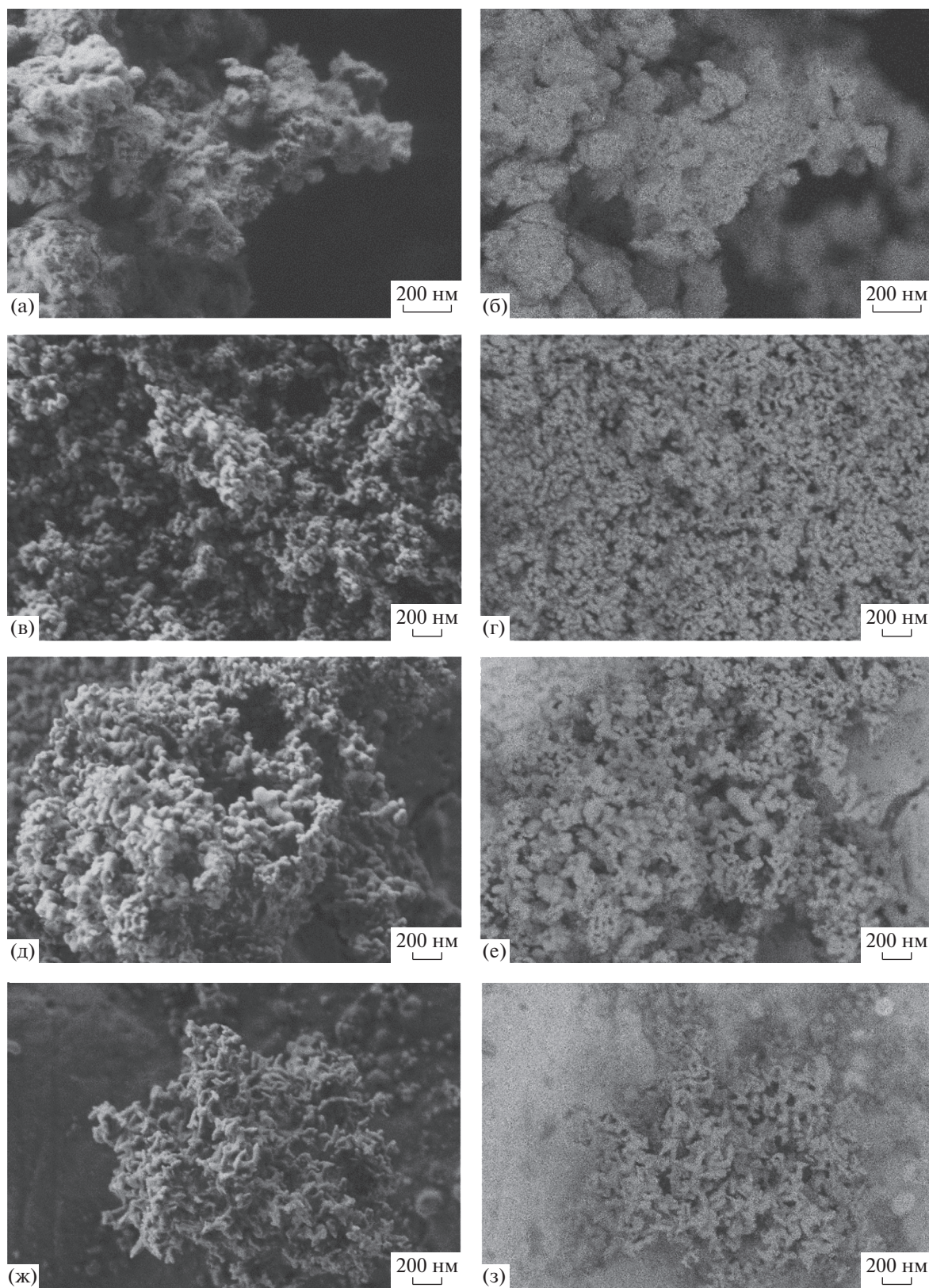


Рис. 5. Микроморфология образцов АФК: а, б — без ингибитора (0); в, г — с добавкой сукцината (suc); д, е — с добавкой пирофосфата (pp); ж, з — с добавкой триполифосфата (tp). Правая колонка — изображения, полученные с использованием ESB-детектора (для лучшего представления поровой структуры АФК).

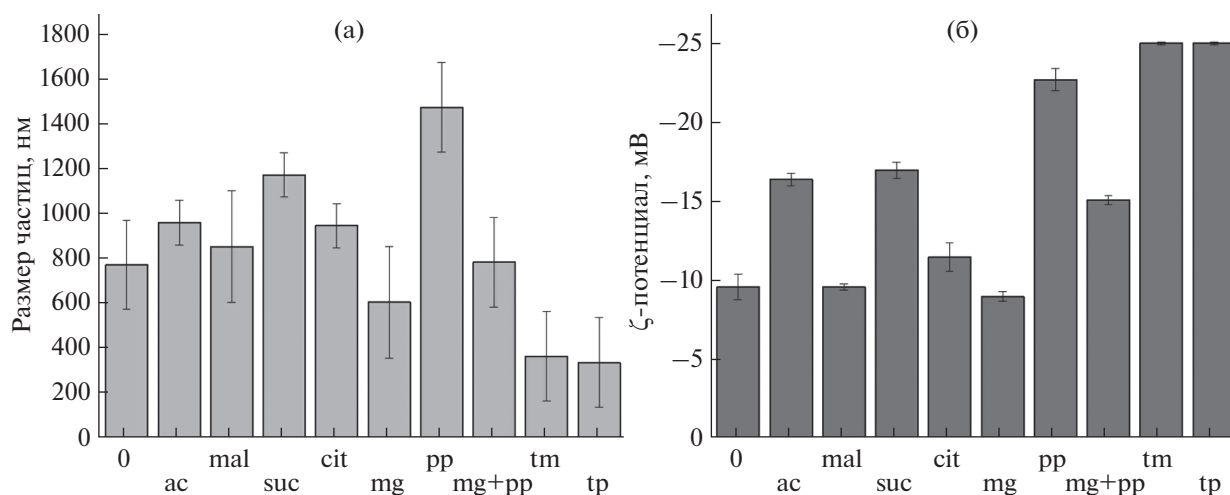


Рис. 6. Размер агломератов (а) и значения ζ -потенциала в суспензиях АФК по данным ДСР (б).

пористостью (рис. 5). Такое строение связано с агрегацией первичных частиц (кластеров Познера), образованием коллоидного раствора и дальнейшим расслоением этого раствора при образовании пористого аморфного осадка АФК [40]. Изображения РЭМ высушенных суспензий осадков АФК не позволяют выделить в микроструктуре осадка какие-либо (первичные) частицы; фиксируемые с помощью ДСР фрагменты — результат дезагрегации пористых осадков под действием ультразвука. В этой связи размеры и ζ -потенциал частиц, по данным ДСР (рис. 6), характеризуют процессы агрегации/деагрегации в суспендированных осадках АФК и должны рассматриваться в совокупности с результатами РЭМ. Электронно-микроскопические изображения позволяют выявить более определенные морфологические характеристики: размеры пор и расстояния между ними. Основные особенности микроморфологии исследованных АФК заключаются в следующем:

1) В образцах АФК, синтезированных без ингибиторов (0), наблюдаются мезопоры с диаметром ~ 20 нм и межпоровым расстоянием ~ 50 нм (рис. 5в); поры с диаметром > 100 нм и расстоянием > 200 нм и макропоры с размерами ~ 1 мкм и расстоянием в несколько мкм (рис. 5а–5в).

2) Образцы АФК, синтезированные в присутствии ингибиторов, характеризуются отсутствием мезопористой составляющей (рис. 5г–5м). В силу этого подобные образцы выглядят ретикулированными (пенообразная структура с более или менее выраженными узлами и перемычками между ними); особенно ярко это проявляется для АФК с добавкой триполифосфата (рис. 5к–5м).

3) Микроморфология образцов АФК, синтезированных в присутствии слабонуклеофильных ингибиторов, например с сукцинатом (рис. 5г), характеризуется неоднородностью (участками с разной плотностью). Более полная сводка РЭМ-изображений приведена в табл. S1 и S2.

В целом АФК, полученные в присутствии ингибиторов, выглядят более “дисперсными”. Это частично подтверждает измерения размеров агломератов (по данным ДСР), особенно в отношении образцов с триметафосфатом и триполифосфатом (рис. 6а), где фиксируются наименьшие средние размеры агломератов; в случае пирофосфата, напротив, размеры агломератов наибольшие, что подтверждается данными РЭМ (рис. 5ж). Высокие значения ζ -потенциала частиц в суспензиях АФК с пиро-, тримета- и триполифосфатом (> 20 мВ) свидетельствуют о достаточной агрегативной устойчивости суспензий (рис. 6б).

Чуть меньшие значения ζ -потенциала наблюдаются в суспензиях АФК с ацетатом, сукцинатом и цитратом. Отметим, что низкое значение потенциала в суспензиях АФК, содержащих магний, обусловлено снижением отрицательного поверхностного заряда агломерата при адсорбции катиона магния. Процессы агрегации частиц в суспензиях АФК определяют гранулометрические характеристики порошков аморфного фосфата, определяющие возможности их использования в 3D-печати.

Гранулометрический состав порошков АФК

Описанная в предыдущем разделе агрегация в суспензиях АФК продолжается при выделении осадка и его последующем хранении. Образующиеся при этом вторичные агломераты определяют свойства порошков АФК. Для стереолитографической 3D-печати большое значение имеет размер частиц (агломератов) в порошке, который определяет седиментационную устойчивость фотосуспензии (суспензии порошка в мономере) и, с учетом объемной доли частиц, вязкость суспензии; форма частиц имеет меньшее значение. Оптимальный размер частиц лежит в диапазоне 0.1–0.3 мкм [41]. Можно предположить, что склон-

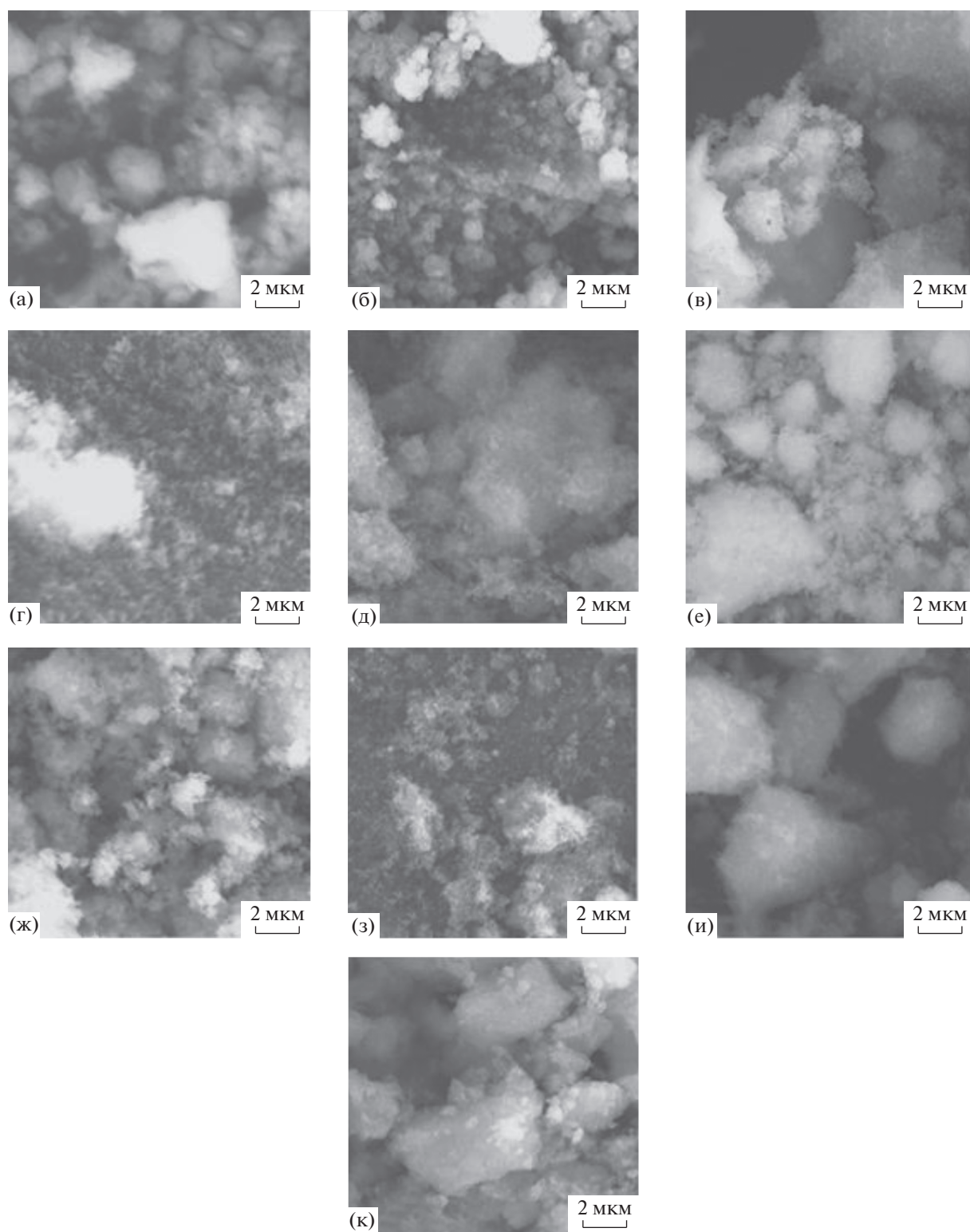


Рис. 7. Микроморфология сухих порошков АФК, синтезированных в присутствии ингибиторов кристаллизации (по данным РЭМ, ускоряющее напряжение 20 кВ для лучшей визуализации вторичных агрегатов): а – 0, б – ас, в – сит, г – тал, д – тм, е – рр, ж – сус, з – тр, и – тг, к – тг + рр.

ность суспензий АФК к первичной агрегации будет проявляться и в гранулометрическом составе порошков. По данным РЭМ, порошки АФК, синтезированные без ингибитора, характеризуются наличием агломератов различной плотности с размерами 0.5–5 мкм (рис. 7а). Сходным образом выглядят порошки АФК с добавками сукцината и цитрата (рис. 7в, 7ж). Плотные равноосные агломераты небольших размеров (0.5–2 мкм) обнаруживаются в порошках АФК с добавкой ацетата (рис. 7б). Плотные крупные агломераты присутствуют в АФК с добавкой пирофосфата (рис. 7е), в особенности в образцах с магнием (рис. 7и, 7к). Мелкие частицы и рыхлые неустойчивые агломераты найдены в АФК с триполифосфатом, триметафосфатом и малатом (рис. 7г, 7д, 7з).

Приготовление фотосуспензии для стереолитографической 3D-печати биокерамики включает интенсивное диспергирование фосфатного порошка (в эффективном миксере или шаровой мельнице) в среде акрилатного мономера в присутствии поверхностно-активных веществ (ПАВ). В таких условиях рыхлые вторичные агломераты обычно претерпевают дезагрегацию с образованием устойчивой к седиментации суспензии с размерами первичных агломератов < 1 мкм (оптимальные размеры фосфатных частиц в фотосуспензии для стереолитографической 3D-печати составляют < 300 нм [41]) и наибольшими по модулю значениями ζ -потенциала (< –20 мВ). С этой точки зрения порошки АФК с добавками тримета- и триполифосфатов, а также, возможно, малата и ацетата (имея в виду малый размер и неустойчивость вторичных агломератов в порошках с этими ингибиторами) представляют определенный практический интерес. В дальнейшем проводят УФ-полимеризацию фотосуспензии в 3D-принтере в соответствии с геометрией биокерамического имплантата; полученный композит полимер/фосфат подвергают окислительному пиролизу и спеканию оставшегося фосфата при температурах выше 1000°C [42] с получением макропористой ТКФ-керамики. Подобные порошки также могут быть использованы и в качестве наполнителя термопластичных полимеров при создании биорезорбируемых композитов методом термоэкструзионной 3D-печати (FDM) [43] или наполнителя гидрогелей при создании композитов методом стереолитографии [44], в этом случае фосфат сохранится в форме АФК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованный в работе ряд ингибиторов, содержащих ацетат (CH_3COO^-), малат ($((\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{COO})^2)^-$), сукцинат ($((\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO})^2)^-$), цитрат ($((\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{OH})(\text{COO}-\text{CH}_2\text{COO})^3)^-$), пирофосфат ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$), а также три-

метафосфат ($\text{P}_3\text{O}_9^{3-}$) и триполифосфат ($\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$)-анионы, позволяет проследить влияние заряда, размера и строения аниона на ингибирование кристаллизации аморфного фосфата кальция при осаждении из растворов. Показана высокая эффективность высокозарядных, полидентатных пирофосфат-, тримета- и триполифосфат-анионов, в основе которой образование устойчивых комплексов кальция с указанными анионами при их адсорбции на поверхности частиц аморфного фосфата. Микроморфология осадков аморфного фосфата кальция представлена высокопористыми агломератами первичных частиц. Присутствие ингибиторов приводит к более дисперсным осадкам, особенно в случае образцов с триметафосфатом и триполифосфатом; высокие значения ζ -потенциала частиц в суспензиях с пиро-, тримета- и триполифосфатом свидетельствуют о достаточной агрегативной устойчивости таких суспензий. Процессы агрегации в порошках аморфных фосфатов продолжают при выделении осадка и его последующем хранении; наиболее мелкие частицы и рыхлые неустойчивые агломераты найдены в порошках с триполифосфатом, триметафосфатом и малатом. Практический интерес с точки зрения использования порошков аморфных фосфатов для изготовления биокерамики и композитов методами 3D-печати представляют фосфаты, синтезированные в присутствии тримета- и триполифосфатов – ингибиторов, впервые исследованных в настоящей работе.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке РНФ, грант № 19-19-00587. Результаты, представленные в работе, получены на оборудовании, приобретенном за счет средств Программы развития Московского университета.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Рис. S1. Определение t_0 и Δt .

Рис. S2. Изменение pH для образцов: a – ac, b – mg, c – cit, d – pp, e – suc, f – mg+pp, g – tm, h – tp.

Рис. S3. Диаграммы преимущественных ионных форм/твердых фаз для систем $\text{Ca}^{2+}-\text{PO}_4^{3-}-\text{X}^{n-}-\text{H}^+$ ($[\text{Ca}^{2+}] = 75 \text{ мМ}$, $[\text{PO}_4^{3-}] = 50 \text{ мМ}$) в координатах $\lg[X] - \text{pH}$ для X^{n-} : a – cit³⁻, b – $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$, c – $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$, d – mal²⁻, e – $\text{P}_3\text{O}_9^{3-}$, f – suc²⁻, h – PO_4^{3-} , i – ac⁻, j – EDTMP⁸⁻.

Рис. S4. ИК-спектры некоторых образцов АФК.

Рис. S5. ТГ/ДТА кривые образцов АФК: a – 0, b – pp.

Таблица S1. Данные РЭМ порошков до обжига.

Таблица S2. Данные РЭМ порошков после обжига при 900°C.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Langer R.* // *Molecular Therapy*. 2000. V. 1. № 1. P. 12. <https://doi.org/10.1006/mthe.1999.0003>
2. *Laurencin C.T., Ambrosio A.M.A., Borden M.D., Cooper Jr. J.A.* // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 1999. V. 1. P. 19. <https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.1.1.19>
3. *Eshraghi S., Das S.* // *Acta Biomaterialia*. 2010. V. 6. P. 2467. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.02.002>
4. *Kolk A., Handschel J., Drescher W. et al.* // *J. Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 2012. V. 40. P. 706. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2012.01.002>
5. *Navarro M., Michiardi A., Castaño O., Planell J.A.* // *J. R. Soc. Interface*. 2008. V. 5. P. 1137. <https://doi.org/10.1098/rsif.2008.0151>
6. *Currey J.D.* // *J. Mater. Sci.* 2012. V. 47. P. 41. <https://doi.org/10.1007/s10853-011-5914-9>
7. *Williams D.F.* // *Biomaterials*. 2008. V. 29. P. 2941. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.04.023>
8. *Heinemann S., Gelinsky M., Worch H., Hanke T.* // *Orthopade*. 2011. V. 40. P. 761. <https://doi.org/10.1007/s00132-011-1748-z>
9. *Hench L.L.* // *J. Biomed. Mater. Res.* 1998. V. 41. P. 511. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(19980915\)41:4<511::aid-jbm1>3.0.co;2-f](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(19980915)41:4<511::aid-jbm1>3.0.co;2-f)
10. *Schilling A.F., Filke S., Brink S. et al.* // *Eur. J. Trauma*. 2006. V. 32. P. 107. <https://doi.org/10.1007/s00068-006-6043-1>
11. *Juhasz J.A., Best S.M.* // *J. Mater. Sci.* 2012. V. 47. P. 610. <https://doi.org/10.1007/s10853-011-6063-x>
12. *Chernousova S., Epple M.* // *Adv. Biomaterials Devices Medicine*. 2014. V. 1. P. 74.
13. *Vallet-Regí M., González-Calbet J.M.* // *Prog. Solid State Chem.* 2004. V. 32. № 1–2. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.progsolidstchem.2004.07.001>
14. *Uskoković V., Uskoković D.P.* // *J. Biomed. Mater. Res., Part B: Appl. Biomater.* 2011. V. 96. № 1. P. 152. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31746>
15. *Neumann M., Epple M.* // *Eur. J. Trauma*. 2006. V. 32. № 2. P. 125. <https://doi.org/10.1007/s00068-006-6044-y>
16. *Tadic D., Epple M.* // *Biomaterials*. 2004. V. 25. № 6. P. 987. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00621-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00621-5)
17. *Tamimi F., Le Nihouannena D., Bassett D.C. et al.* // *Acta Biomaterialia*. 2011. V. 7. № 6. P. 2678. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.02.007>
18. *Tao J., Haihua Pan, Yaowu Zeng et al.* // *J. Phys. Chem. B. Am. Chem. Soc.* 2007. V. 111. № 47. P. 13410. <https://doi.org/10.1021/jp0732918>
19. *Dorozhkin S.* // *Acta Biomaterialia*. 2010. V. 6. № 12. P. 4457. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.06.031>
20. *Dorozhkin S.* // *Biomater. Sci.* 2021. V. 9. P. 7748. <https://doi.org/10.1039/D1BM01239H>
21. *Bose S., Vahabzadeh S., Bandyopadhyay A.* // *Mater. Today*. 2013. V. 16. № 12. P. 496. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2013.11.017>
22. *Georgalis Y., Kierzek A.M., Saenger W.* // *J. Phys. Chem. B. Am. Chem. Soc.* 2000. V. 104. № 15. P. 3405. <https://doi.org/10.1021/jp000132e>
23. *Combes C., Rey C.* // *Acta Biomaterialia*. 2010. V. 6. № 9. P. 3362. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2010.02.017>
24. *Gelli R., Scudero M., Gigli L. et al.* // *J. Colloid Interface Sci.* 2018. V. 531. P. 681. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.07.102>
25. *Hirsch A. et al.* // *Chem. Mater. Am. Chem. Soc.* 2014. V. 26. № 9. P. 2934.
26. *Kazakova G., Safronova T., Golubchikov D. et al.* // *Materials*. 2021. V. 14. № 17. <https://doi.org/10.3390/ma14174857>
27. *Morozov V.A., Belik A.A., Kotov R. N. et al.* // *Cryst. Reports*. 2000. V. 45. № 1. P. 13. <https://doi.org/10.1134/1.171129>
28. *Lee D., Kumta P.N.* // *Mater. Sci. Eng. C*. 2010. V. 30. № 8. P. 1313. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2010.05.009>
29. *Legeros R.Z.* *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine*. Karger, 1991.
30. *La Fontaine A., Zavgorodniy A., Liu H. et al.* // *Sci. Adv. Am. Association Advancem. Sci.* 2016. V. 2. № 9. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1601145>
31. *Vecstaudza J., Locs J.* // *Key Eng. Mater.* 2017. V. 721. P. 172. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.721.172>
32. *Boskey A.L., Posner A.S.* // *J. Phys. Chem.* 1973. V. 79. P. 2313.
33. *Holt C. et al.* // *Mater. Res. Bull.* 1989. V. 23. P. 55.
34. *Blumenthal N.C., Posner A.S.* // *Mater. Res. Bull.* 1972. V. 7. P. 1181.
35. *Bar-Yosef Ofir P., Govrin-Lippman R., Garti N. et al.* // *Cryst. Growth Des.* 2004. V. 4. № 1. P. 177. <https://doi.org/10.1021/cg034148g>
36. *Smith R.M., Martell A.E., Motekaitis R.J.* // 2003. NIST critically selected stability constants of metal complexes database. NIST standard reference database 46, version 7.0. NIST, Gaithersburg, MD, USA.
37. *Stumm W., Morgan J.J.* // *Aquatic Chemistry*. 3-rd ed. N.Y.: John Wiley & Sons, 1996.
38. *Tas A.C.* // *J. Mater. Chem. B. Royal Soc. Chem.* 2013. V. 1. № 35. P. 4511. <https://doi.org/10.1039/c3tb20854k>
39. *Ievlev V.M., Kannykin S.V., Kostyuchenko A.V. et al.* // *Inorg. Mater.* 2020. V. 56. № 8. P. 859. <https://doi.org/10.1134/S0020168520080051>
40. *Вересов А.Г.* Дис. ... канд. хим. наук. М., 2003.
41. *Larionov D.S., Kuzina M.A., Evdokimov P.V. et al.* // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2020. V. 65. № 3. P. 312. <https://doi.org/10.1134/S0036023620030079>
42. *Путляев В.И., Евдокимов П.В., Сафронова Т.В. и др.* // Неорган. материалы. 2017. Т. 53. № 5. С. 534. [*Putlyayev V.I., Evdokimov P.V., Safronova T.V. et al.* // *Inorg. Mater.* 2017. V. 53. № 5. P. 529. <https://doi.org/10.1134/S0020168517050168>]
43. *Sadia M., Sośnicka A., Arafata B. et al.* // *Int. J. Pharm.* 2016. V. 513. № 1–2. P. 659. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.050>
44. *Tikhonov A., Evdokimov P., Klimashina E. et al.* // *J. Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2020. V. 110. P. 103922. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.103922>