

**В. К. Крутько¹, А. И. Кулак²,
О. Н. Мусская³, Ю. А. Лесникович⁴**

УДК 546.41'185

^{1,2,3} Институт общей и неорганической химии,
Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь

⁴ Кафедра неорганической химии, химический факультет,
Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

СИНТЕТИЧЕСКИЙ ГИДРОКСИАПАТИТ – ОСНОВА КОСТНОЗАМЕЩАЮЩИХ БИОМАТЕРИАЛОВ

Жидкофазным методом синтезирован гель однофазного гидроксиапатита путем взаимодействия водных растворов хлорида либо нитрата кальция с гидрофосфатом аммония при pH 10–11 и комнатной либо пониженной (до –14 °С) температурах. Методом темплатного синтеза с использованием пенополиуретановых матриц и термообработанного при 800 °С мелкодисперсного (63–71 мкм) порошка гидроксиапатита получена пористая гидроксиапатитовая керамика со средней пористостью 30–55% и статистической прочностью 0,6–4,7 МПа при конечной температуре прогрева 1300 °С. Нанокристаллическое гидроксиапатитовое покрытие было нанесено на пористую гидроксиапатитовую керамику путем ее центрифугирования в 3% геле гидроксиапатита при 1000 об./мин в течение 3 мин для повышения степени биоактивности. Пористая гидроксиапатитовая керамика с биоактивным гидроксиапатитовым покрытием может быть использована для имплантации в различные костные повреждения.

Ключевые слова: биоматериалы, гидроксиапатит, пористая керамика.

Образец цитирования: Синтетический гидроксиапатит – основа костнозамещающих биоматериалов / В. К. Крутько [и др.] // София. 2017. № 1. С. 50–57.

**V. Krut'ko¹, A. Kulak²,
O. Musskaya³, J. Lesnikovich⁴**

^{1,2,3} Institute of General and Inorganic Chemistry,
National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

⁴ Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry,
Belarusian State University, Minsk, Belarus

SYNTHETIC HYDROXYAPATITE – BASE OF ARTIFICIAL BONE BIOMATERIALS

The single phase hydroxyapatite gel have been synthesized by liquid method by reacting aqueous solutions of calcium chloride or nitrate with ammonium hydrogen phosphate at pH 10–11 and room or low (up to –14 °C) temperatures. The porous hydroxyapatite ceramics with average porosity of 30–55% and statistical strength of 0.6–4.7 MPa was obtained by template synthesis using polyurethane matrices and annealed at 800 °C the fine (63–71 μm) hydroxyapatite powder at a final temperature of 1300 °C. Nanocrystalline hydroxyapatite coating was applied on the porous hydroxyapatite ceramics by centrifugation in 3% hydroxyapatite gel at 1000 rpm during 3 min for increasing its bioactivity. The porous hydroxyapatite ceramic with bioactive hydroxyapatite coating can be used for the implantation of different bone damages.

Keywords: biomaterials, Hydroxyapatite, porous ceramics.

For citation: Krut'ko, V., Kulak, A., Musskaya, O., & Lesnikovich, J. (2017). Synthetic hydroxyapatite – base of artificial bone biomaterials. *Sophia*, 1, 50–57 (in Russ.).

**Авторы:**

¹ **Валентина Константиновна Крутько** – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник Института общей и неорганической химии НАН Беларуси.

tsuber@igic.bas-net.by

² **Анатолий Иосифович Кулак** – доктор химических наук, профессор, директор Института общей и неорганической химии, член-корреспондент НАН Беларуси.

kulak@igic.bas-net.by

³ **Ольга Николаевна Мусская** – кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института общей и неорганической химии НАН Беларуси.

musskaja@igic.bas-net.by

⁴ **Юлия Анатольевна Лесникович** – кандидат химических наук, доцент кафедры неорганической химии химического факультета БГУ.

julailal@tut.by

Authors:

¹ **Valentina Krut'ko** – PhD in Chemistry, Leading Researcher of the Institute of General and Inorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus.

² **Anatoly Kulak** – Doctor of Chemistry, Professor, Director of the Institute of General and Inorganic Chemistry, Corresponding Member of National Academy of Sciences of Belarus.

³ **Olga Musskaya** – PhD in Chemistry, Senior Researcher of the Institute of General and Inorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus.

⁴ **Julija Lesnikovich** – PhD in Chemistry, Associate Professor of the Department of Inorganic Chemistry of the Chemical Faculty, BSU.

Лечение и восстановление костных дефектов, возникающих в результате травм либо различных патологий твердых тканей, является важной задачей для обеспечения нормальной жизнедеятельности человека [1]. Кость представляет собой сложный материал, обладающий упругими и вязкими свойствами, а также адаптивной функцией (рис. 1). Превосходные свойства костей составляют единство с их функциями: 1) образование скелетной системы, которая выполняет адаптивную функцию путем изменения своей формы; 2) поддержание баланса минеральных веществ в организме, а также сохранение и обмен кальция и фосфора. В костных тканях содержатся клетки, волокна и костный матрикс, состоящий из органических и неорганических компонентов. Основной ортофосфат кальция формулой $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, известный в химической и медицинской литературе под названием гидроксиапатит (ГА), является главной неорганической составляющей костной и зубной тканей живого организма, так как составляет около 65 % от всего костного матрикса. Органические вещества костного матрикса в основном представлены мукополисахаридными белками, образующими коллагеновое волокно. Кристаллы ГА располагаются рядами вдоль оси коллагеновых волокон, что придает кости высокую прочность на сжатие. Структура ГА, как и кости достаточно сложная, ГА имеет гексагональную кристаллическую решетку, в которой ионы Ca^{2+} окружены шестью атомами кислорода и соединены с группами PO_4^{3-} и OH^- ; атомы фосфора тетраэдрически окружены четырьмя атомами кислорода (рис. 2). Элементарная ячейка отвечает пространственной группе $\text{P6}_3/m$ и содержит две формульные единицы $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$.

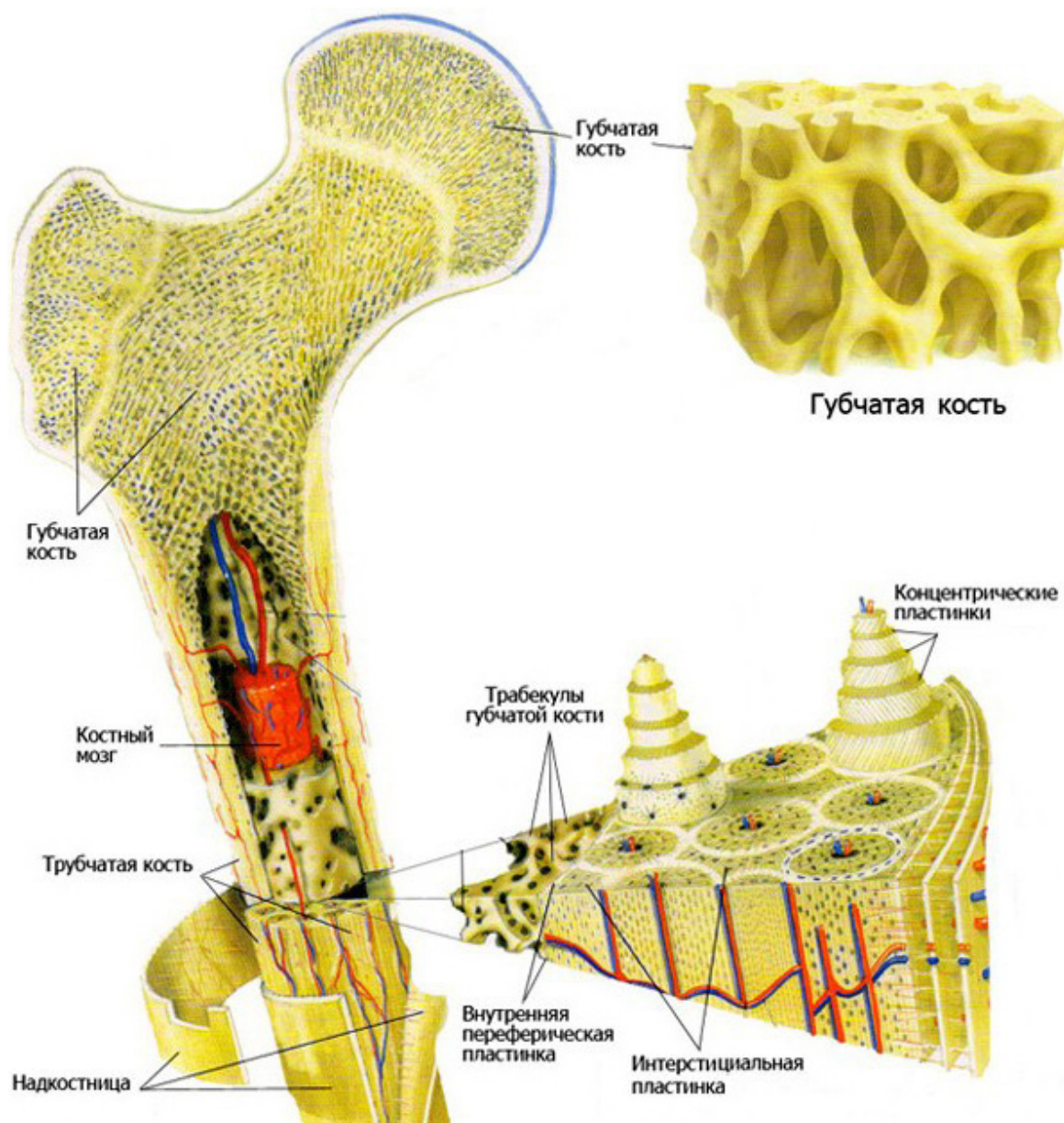


Рис. 1
Структура бедренной кости

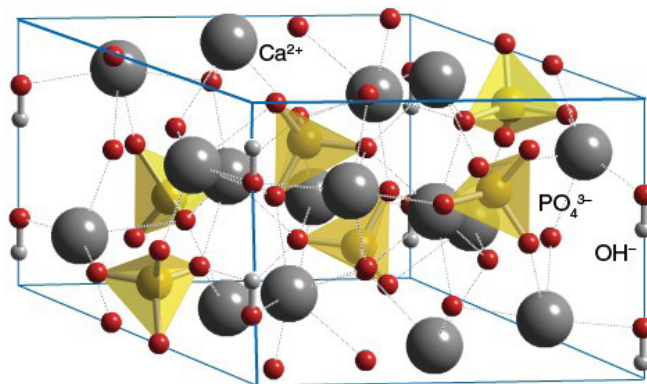


Рис. 2
Структура ГА

Биоматериалы на основе ГА в настоящее время широко исследуются в различных странах с целью их использования в качестве искусственного аналога кости, имеющего значительные преимущества по сравнению с имплантатами из натуральной кости. Поскольку химически синтезированный ГА не несет на себе генетических особенностей, он значительно легче приживается в организме, не вызывая реакцию иммунного отторжения. При введении ГА в организм в мелкодисперсном нанокристаллическом состоянии он полностью или частично резорбируется и активирует остеогенез (костеобразование). В отличие от биоинертных материалов и стеклокерамики, нанокристаллический ГА обладает биоактивными свойствами [2–5], вследствие чего пористые материалы на основе ГА легко прорастают коллагеном и хорошо совмещаются с мягкими тканями организма.

В последнее десятилетие наблюдается повышение интереса к разработке новых методов синтеза ГА и созданию на его основе сложных композиционных биоматериалов, препаратов и биопокрытий [4–10], которые могут использоваться в качестве эндопротезов в травматологии и ортопедии, пломбировочных материалов в стоматологии, имплантатов в челюстно-лицевой хирургии, нейрохирургии, офтальмологии, ринопластике и др. областях медицины. Несмотря на большое количество научных публикаций и патентов по методам синтеза различных форм ГА, на стадии реального внедрения этих методов на производстве остро встает задача выбора метода идентификации биоактивных форм ГА [11], необходимость обоснования оптимальных режимов синтеза и отделения ГА, приемлемых не только для лабораторных условий, но и для масштабных заводских установок. Республиканское унитарное предприятие «Белмедпрепараты» (Минск, Беларусь) с 2006 г. производит изделие медицинского назначения «Гель гидроксиапатита» (рис. 3), которое в шприцах реализуются в медицинских учреждениях Минздрава Беларуси (рис. 4).



Рис. 3

Производственная установка
получения ГА

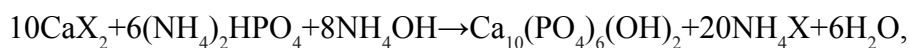


Рис. 4

Изделие медицинского назначения
«Гель гидроксиапатита» в шприце

В рамках данной научно-исследовательской работы поставлена задача получить гель ГА с использованием водных растворов хлорида либо нитрата кальция в условиях комнатной либо пониженной (до $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$) температурах для последующего использования в качестве основного компонента для получения костных имплантатов в виде пористой ГА керамики с использованием пенополиуретановых матриц.

Гель ГА синтезировали жидкофазным методом по разработанной нами методике в ИОНХ НАН Беларуси [12–14] путем взаимодействия растворимой соли кальция с гидрофосфатом аммония в сильно щелочной среде (рН 10–11) в течение 10 сут с последующим вторичным созреванием в процессе декантации дистиллированной водой до рН 7,2–7,0. Осаждение ГА происходило согласно следующему уравнению реакции:



где $\text{X} = \text{Cl}^-; \text{NO}_3^-$.

Для поддержания высокого значения рН синтез ГА проводили в водной среде аммиака в герметичной установке при постоянном перемешивании. В условиях жидкофазного синтеза на начальной стадии осаждается трикальцийфосфат $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (предшественник ГА), который при выдерживании в соответствующих условиях трансформируется в ГА. На скорость этого превращения влияет ряд факторов: 1) концентрация исходных растворов, необходимая для соблюдения соотношения Ca/P равное 1,67; 2) порядок сливания исходных растворов; 3) скорость перемешивания; 4) рН реакционной среды; 5) температура реакционной смеси; 6) время выдерживания осадка фосфата кальция под маточным раствором. Соблюдение всех указанных условий синтеза позволяет получать однофазный ГА высокой степени чистоты. Свежеосажденный ГА промывают дистиллированной водой или спиртом, отфильтровывают и сушат на воздухе при 40–60 °С. В результате можно получить ГА в виде геля, пасты или порошка, высушенного при 60 °С, с размером частиц ≥ 63 мкм (рис. 5), которые обладают высокой биологической активностью [4; 5].

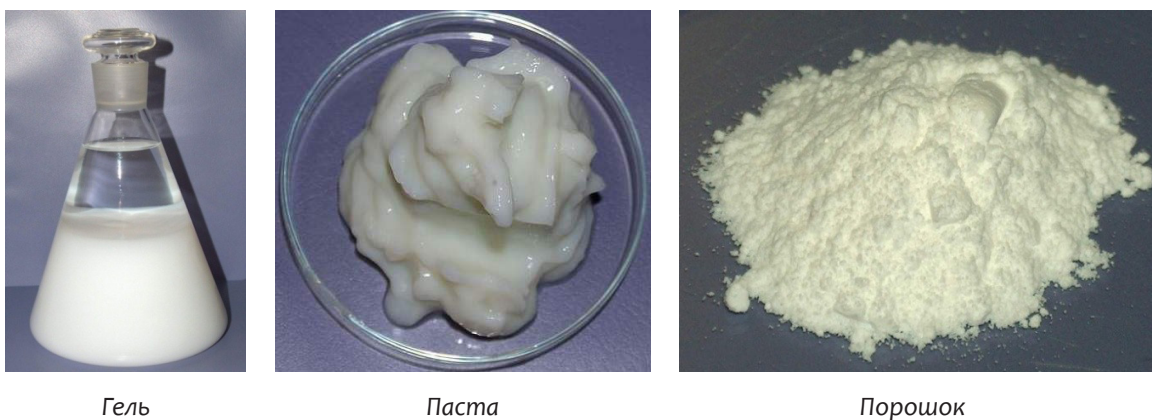


Рис. 5
Различные формы ГА

Методами сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе Hitachi S-806 и атомно-силовой микроскопии (АСМ) на микроскопе Femtoscan-001 установлено, что синтетический гель ГА состоит из агрегированных частиц сферической формы размером от 400 нм до 2 мкм (рис. 6), которые состоят из наноразмерных частиц диаметром 16–30 нм. Получена 30 % паста ГА путем центрифугирования геля ГА при 7500 об/мин в течение 15 мин.

Рентгенофазовым анализом на дифрактометре D8 ADVANCE (Bruker, Германия) с излучением $\text{Cu}_{\text{K}\alpha} = 1,5405\text{\AA}$ установлено, что синтезированный из водных растворов ГА, высушенный при 60 °С, является нанокристаллическим вследствие слабого

разрешения его основных дифракционных линий. С целью перевода ГА в состояние со степенью кристалличности, достаточной для рентгенофазового анализа, его термообрабатывали при 800 °С в течение 5 ч. Важно подчеркнуть, что после термообработки до 1300 °С изменение стехиометрического соотношения Са/Р в ГА не происходит и на дифракционной картине кристаллического ГА видны характерные линии с высокой интенсивностью, позволяющей осуществлять количественный анализ. Синтезированный в рамках данной работы однофазный ГА полностью совпадает с эталоном [15].

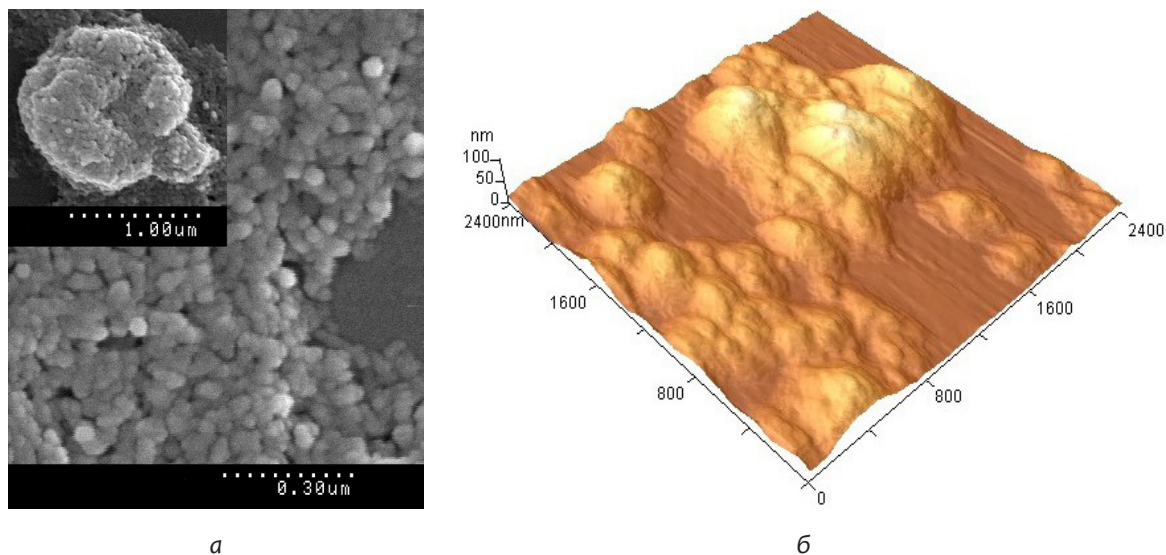


Рис. 6
Изображения СЭМ (а) и АСМ (б) сферических наночастиц геля ГА

Нанокристаллический ГА (в форме геля, пасты либо порошка, высушенного до 60 °С) имеет преимущества перед кристаллическим ГА (керамика, прогретая при 800–1300 °С) за счет своей высокой химической и биологической активности. Поэтому нанокристаллический ГА быстрее встраивается в поврежденную костную ткань, наиболее эффективно стимулирует процессы костной регенерации и ускоряет процессы заживления, протекающие в костной ране. Кристаллический ГА не вступает в видимые обменные процессы с костной тканью и выполняет роль биосовместимого наполнителя, способствующего увеличению механической прочности кости, препятствуя ее перелому и последующему присоединению вторичной инфекции.

Пористую ГА керамику получали методом темплатного синтеза и в качестве матрицы использовали пенополиуретан (ППУ) Regicell 60 (Германия) открытопористый 99,8 % со средним размером ячеек 420 мкм и плотностью 0,028–0,034 г/см³. Микроскопически установлено, что размер ячеек ППУ матрицы составляет около 440 мкм (рис. 7 а). Предварительную обработку ППУ матриц проводили 20 % раствором КОН на водяной бане при 70 °С; промывали холодной проточной водой и высушивали при 60 °С в течение 4 ч. Ранее было установлено, что пропитка ППУ матриц гелем ГА, не дает положительного результата, так как последующая термообработка приводит к значительной усадке и разрушению образцов. Поэтому для получения пропитывающей суспензии использовали прогретый порошок ГА, из которого уже удалась кристаллогидратная вода, для снижения усадки пористых образцов при высокотемпературной

обработке. Пропитывающую суспензию получали на основе порошка ГА, прогретого при 800 °С в течение 5 ч, с размером частиц 63–71 мкм, и дистиллированной воды при соотношении (порошок ГА) / (вода) равном 1:2. Пропитывающую суспензию наносили на ППУ матрицы на водяной бане; влажные образцы высушивали на тепло-вентиляторе, затем в сушильном шкафу при 60 °С. Пористая ГА керамика (рис. 7 б) была получена в процессе термообработки при 800 °С и последующего спекания при 1300 °С при времени выдерживания 1–3 ч.

Термообработка образцов при 800 °С приводила к полному выгоранию ППУ матрицы, которая начинала выгорать при 400 °С; образцы сохраняли форму ППУ матрицы, однако были не достаточно прочными. Последующее спекание при 1300 °С приводило к усадке образцов в 1,5 раза и значительному повышению прочности. Микроскопическое изображение пористой ГА керамики с пористостью 55 % подтверждает наличие пористой структуры без дефектов ячеек, в которой присутствуют незначительные области с закрытыми порами (рис. 7 в), что может быть связано с неравномерным распределением пропитывающей суспензии по всей поверхности исходной ППУ матрицы.



Рис. 7
Матрица ППУ (а), пористая ГА керамика (б), микроструктура ГА керамики (в)

Установлено, что пористая ГА керамика со средней пористостью от 55 до 30 % имеет статическую прочность от 0,6 до 4,7 МПа соответственно. Для повышения биоактивных свойств пористой ГА керамики наносили тонкий слой нанокристаллического ГА путем ее центрифугирования в 3 % геле ГА при 1000 об./мин в течение 3 мин с последующим высушиванием при 60 °С до постоянной массы. Полученная в рамках данного исследования пористая ГА керамика с биоактивным ГА покрытием может быть использована в качестве костных биоматериалов в челюстно-лицевой хирургии, офтальмологии, проктологии и др. областях медицины.

Таким образом, получение чистого однофазного ГА и пористой керамики на его основе является сложным многостадийным процессом. Способ получения ГА и последующее его отделение определяют не только его форму (гель, паста, порошок, керамика), но и биологическую активность конечного материала.

В данной работе жидкофазным методом синтезирован гель однофазного ГА путем взаимодействия водных растворов хлорида либо нитрата кальция с гидрофосфатом аммония при pH 10–11 и комнатной либо пониженной до –14 °С температурах. Получен термообработанный при 800 °С мелкодисперсный (63–71 мкм) порошок из геля ГА, на основе которого была синтезирована пористая ГА керамика. Методом темплатного синтеза с использованием ППУ матриц получена пористая ГА керамика

со средней пористостью 30–55 % и статистической прочностью 0,6–4,7 МПа при конечной температуре прогрева 1300 °С. Нанокристаллическое ГА покрытие было нанесено на пористую ГА керамику путем ее центрифугирования в 3 % геле ГА при 1000 об./мин в течение 3 мин для повышения ее биоактивности. Пористая ГА керамика с биоактивным ГА покрытием может быть использована для имплантации в различные костные повреждения.

Литература

1. Мусская, О. Н. Использование препарата «Гель гидроксиапатита» в медицине / О. Н. Мусская [и др.] // Медицина. – 2015. – Т. 3, № 3. – С. 70–74.
2. Крутько, В. К. Гель гидроксиапатита – новое средство для стимуляции остеогенеза: технология производства и опыт клинического применения в травматологии и стоматологии / В. К. Крутько [и др.] // Медицинские новости. – 2009. – № 1. – С. 60–62.
3. Крутько, В. К. Композиционные биоматериалы и покрытия на основе нанокристаллического гидроксиапатита / В. К. Крутько [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. – 2008. – № 4. – С. 100–105.
4. Лесникович, Л. А. Гидроксиапатит: биоматериалы и лекарственные препараты на его основе / Л. А. Лесникович [и др.] // Наука и инновации / НАН Беларуси. – 2003. – № 5–6. – С. 75–82.
5. Цубер, В. К. Влияние размера частиц на реакционную способность и биохимическую активность гидроксиапатита / В. К. Цубер [и др.] // Вести НАН Беларуси. Сер. хім. навук. – 2004. – № 1. – С. 37–40.
6. Вересов, А. Г. Химия неорганических биоматериалов на основе фосфатов кальция / А. Г. Вересов, В. И. Путляев, Ю. Д. Третьяков // Журн. Рос. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева. – 2004. – Т. 48, № 4. – С. 52–64.
7. Баринов, С. М. Биокерамика на основе фосфатов кальция / С. М. Баринов, В. С. Комлев ; [отв. ред. К. А. Солнцев] ; Ин-т физ.-хим. проблем керам. материалов. – Москва : Наука, 2005. – 204 с.
8. Сафронова, Т. В. Медицинское неорганическое материаловедение в России : кальцийфосфатные материалы / Т. В. Сафронова, В. И. Путляев // Наносистемы : физика, химия, математика. – 2013. – № 4 (1). – С. 24–47.
9. Dorozhkin, S. V. Calcium Orthophosphate-Based Bioceramics // Materials. – 2013. – Vol. 6. – P. 3840–3942 ; doi:10.3390/ma6093840.
10. Dorozhkin, S. V. Self-Setting Calcium Orthophosphate Formulations // J. Funct. Biomater. – 2013. – Vol. 4. – P. 209–311 ; doi:10.3390/jfb4040209.
11. Цубер, В. К. Синтез, идентификация и определение примесей в биоактивном гидроксиапатите / В. К. Цубер [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – Т. 40, № 8. – С. 48–51.
12. Крутько, В. К. Влияние способа дегидратации геля гидроксиапатита на физико-химические свойства нанокристаллического ксерогеля / В. К. Крутько [и др.] // Журнал общей химии. – 2007. – Т. 77, № 3 – С. 1–8.
13. Уласевич, С. А. Влияние условий созревания геля гидроксиапатита на состав ксерогеля / С. А. Уласевич [и др.] // Журнал прикладной химии. – 2013. – Т. 86, № 2. – С. 161–165.
14. Уласевич, С. А. Образование гидроксиапатита в условиях комбинированной обработки геля на стадии вторичного созревания / С. А. Уласевич [и др.] // Журнал общей химии. – 2015. – Т. 85, № 1. – С. 3–8.
15. JCPDS card [9–432].