

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт химии твердого тела и механохимии Сибирского отделения  
Российской академии наук

На правах рукописи



Макарова Светлана Витальевна

**ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И СВОЙСТВ МЕХАНОХИМИЧЕСКИ  
СИНТЕЗИРОВАННЫХ АПАТИТОВ С КАТИОННЫМ И АНИОННЫМ ЗАМЕЩЕНИЕМ**

1.4.15. Химия твердого тела

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель  
кандидат физико-математических наук  
Булина Наталья Васильевна

Новосибирск – 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР</b> .....	12
<b>1.1 Апатиты</b> .....	12
<b>1.2 Кристаллическая структура гидроксиапатита</b> .....	14
<b>1.3 Свойства и применение гидроксиапатита</b> .....	18
<b>1.4 Возможные типы замещений в апатитах</b> .....	22
<i>1.4.1 Катионные замещения</i> .....	24
<i>1.4.2 Анионные замещения фосфатных групп</i> .....	28
<i>1.4.3 Анионные замещения гидроксильных групп</i> .....	30
<i>1.4.4 Катион-анионные замещения</i> .....	31
<b>1.5 Методы получения замещенных апатитов</b> .....	32
<i>1.5.1 Жидкофазные методы</i> .....	34
<i>1.5.2 Твердофазные методы</i> .....	39
<b>1.6 Постановка цели и задач исследования</b> .....	41
<b>ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b> .....	43
<b>2.1 Методика проведения механохимического синтеза и пробоподготовка для дальнейших исследований</b> .....	43
<b>2.2 Используемые методы физико-химического анализа</b> .....	45
<i>2.2.1 Рентгенофазовый анализ и определение параметров кристаллической структуры</i> 45	
<i>2.2.2 Инфракрасная спектроскопия</i> .....	46
<i>2.2.3 Сканирующая электронная микроскопия</i> .....	46
<i>2.2.4 Просвечивающая электронная микроскопия</i> .....	47
<i>2.2.5 Исследование микротвердости</i> .....	47
<b>2.3 Методы <i>in vitro</i> исследований</b> .....	47
<i>2.3.1 Исследование цитотоксичности</i> .....	47
<i>2.3.2 Исследование адгезии клеток</i> .....	48
<i>2.3.3 Исследование растворимости</i> .....	49
<b>ГЛАВА 3. ЛАНТАН-СИЛИКАТ-ЗАМЕЩЕННЫЙ ГИДРОКСИАПАТИТ</b> .....	50
<b>3.1 Определение оптимального времени механохимического синтеза</b> .....	50
<i>3.1.1 Рентгенофазовый анализ</i> .....	50
<i>3.1.2 Инфракрасная спектроскопия</i> .....	55
<b>3.2 Механохимический синтез образцов с разной концентрацией заместителей</b> .....	56
<i>3.2.1 Электронная микроскопия</i> .....	56
<i>3.2.2 Атомно-абсорбционный анализ железа в синтезированных образцах</i> .....	58
<i>3.2.3 Рентгенофазовый анализ</i> .....	58

3.2.4 Инфракрасная спектроскопия .....	60
3.3 Термическая стабильность .....	60
3.3.1 Инфракрасная спектроскопия .....	60
3.3.2 Рентгенофазовый анализ .....	62
3.4 Кристаллическая структура .....	64
3.5 Микротвердость .....	69
3.6 <i>In vitro</i> исследование биологических свойств .....	70
3.7 Выводы по главе 3 .....	72
<b>ГЛАВА 4. ЦИНК-СИЛИКАТ-ЗАМЕЩЕННЫЙ ГИДРОКСИАПАТИТ .....</b>	<b>73</b>
4.1 Механохимический синтез образцов с разной концентрацией заместителей .....	73
4.1.1 Электронная микроскопия .....	73
4.1.2 Рентгенофазовый анализ .....	75
4.1.3 Инфракрасная спектроскопия .....	76
4.2 Термическая стабильность .....	77
4.2.1 Дифференциальный термический анализ .....	77
4.2.2 Инфракрасная спектроскопия .....	78
4.2.3 Рентгенофазовый анализ .....	79
4.3 Кристаллическая структура .....	82
4.4 <i>In vitro</i> исследование биологических свойств .....	86
4.5 Выводы по главе 4 .....	90
<b>ГЛАВА 5. ЖЕЛЕЗО-СИЛИКАТ-ЗАМЕЩЕННЫЙ ГИДРОКСИАПАТИТ .....</b>	<b>91</b>
5.1 Механохимический синтез образцов с разной концентрацией заместителей .....	91
5.1.1 Электронная микроскопия .....	91
5.1.2 Рентгенофазовый анализ .....	93
5.1.3 Инфракрасная спектроскопия .....	95
5.2 Термическая стабильность .....	96
5.2.1 Дифференциальный термический анализ .....	96
5.2.2 Инфракрасная спектроскопия .....	97
5.2.3 Рентгенофазовый анализ .....	99
5.3 Кристаллическая структура .....	103
5.4 <i>In vitro</i> исследование биологических свойств .....	106
5.5 Выводы по главе 5 .....	109
<b>ГЛАВА 6. СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СИНТЕЗА, ОСОБЕННОСТЕЙ СТРУКТУРЫ И СВОЙСТВ СИЛИКАТ-ЗАМЕЩЕННЫХ АПАТИТОВ С РАЗНЫМИ КАТИОНАМИ-ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ .....</b>	<b>110</b>
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>116</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....</b>	<b>118</b>

<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>119</b>
--------------------------------	------------

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования**

Апатит – это группа природных минералов, с общей химической формулой  $M_5(PO_4)_3X$ . Наиболее известным и широко применяемым является гидрок시아патит (ГА) с химической формулой  $Ca_5(PO_4)_3OH$  и мольным соотношением Ca/P 1,67 [1]. ГА является главным минеральным компонентом костной и зубной тканей человека и животных. Благодаря этому ГА и его производные широко применяются в челюстно-лицевой хирургии и ортопедии для восстановления дефектов костных и зубных тканей, а также при производстве имплантатов [2–5]. Кроме того, ГА широко используется в стоматологии в качестве биоактивного компонента зубных паст и чистящих средств, в хроматографии в качестве сорбента, для изготовления катализаторов реакций органического синтеза, в электрохимии в качестве кислородного проводника, из природного апатита изготавливаются фосфатные удобрения.

Уникальная структура апатита позволяет проводить различные виды замещений как в катионной, так и в анионной подрешетках, что позволяет модифицировать свойства материала. Выбор необходимого типа заместителя, обладающего определенными свойствами, зависит от области дальнейшего применения синтезируемого материала. Использование в медицине для восстановления костных тканей требует наличия таких свойств, как биосовместимость, биоактивность, прочность, антибактериальные свойства. Синтетический ГА обладает биосовместимостью с организмом человека. При соблюдении стерильности во время имплантации в кость ГА не вызывает побочных клинических проявлений. Однако, если эти условия будут нарушены, то может начаться отторжение и воспалительный процесс, т.к. ГА не обладает антибактериальными свойствами. ГА способен резорбироваться со временем и замещаться новообразованной костной тканью, но этот процесс весьма длителен в связи с его низкой растворимостью [5]. Кроме того, керамические изделия из ГА не обладают высокими прочностными характеристиками, поэтому он не может использоваться для изготовления имплантатов высоконагружаемой кости. Улучшить данные характеристики можно путем модифицирования структуры ГА определенными ионами, придающими материалу требуемые свойства.

В лабораторных условиях возможно получать апатиты с различными катионными и анионными замещениями. Известно, что введение в структуру ГА таких ионов, как цинк или лантан придает материалу антибактериальные и противовоспалительные свойства, ионы железа, цинка и лантана ускоряют пролиферацию клеток остеобластов и улучшают адгезию синтетического материала к биологической костной ткани. Введение ионов кремния в структуру ГА улучшает механические свойства материала, введение лантана повышает

прочностные характеристики ГА. Благодаря наличию ионов железа в структуре ГА можно проводить гипертермию при лечении рака [3,4].

Среди известных жидкофазных и твердофазных способов получения ГА наиболее перспективным методом является механохимический синтез (МХС), т.к. имеет ряд существенных достоинств, таких как простота в исполнении, низкая времязатратность (~ 30 мин), отсутствие побочных продуктов. Метод не требует участия растворителей, а, следовательно, нет необходимости в контроле рН и отделении синтезированного материала от жидкой фазы и утилизации токсичных сточных вод. Данный способ показал свою эффективность при синтезе ГА с различными вариантами одинарного замещения. Актуальным является исследование возможностей механохимического способа синтеза ГА с мультизамещением, поскольку это позволяет получить апатит с дополнительными свойствами от нескольких ионов-заместителей.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-29-11064 (2021-2023 гг.) и премии Правительства Новосибирской области (2021 г.).

#### **Степень разработанности темы исследования**

В настоящее время в России существует несколько групп, занимающихся синтезом, исследованием свойств и возможностей применения гидроксиапатита как стехиометрического, так и с вариантами замещения, преимущественно одинарного. Для получения материала используют жидкофазные и твердофазные методы синтеза. Работы по жидкофазному синтезу ведутся группами из РХТУ, ИМЕТ СО РАН (Москва) [6,7], СПбГУ (Санкт-Петербург) [8,9], ТГУ (Томск) [10] и НИУ «БелГУ» (Белгород) [11]. Твердофазным синтезом занимаются в МГУ (Москва) [12], ННГУ (Нижний Новгород) [13] и ИХТТМ СО РАН (Новосибирск) [14,15]. В перечисленных работах авторы исследуют свойства стехиометрического ГА или ГА с одним типом замещения.

Значительно больше групп в зарубежных странах заняты этой тематикой, используя для синтеза апатитов жидкофазные [4,16–18] и твердофазные методы [19–21]. В публикациях [22,23] сообщается, что осаждением можно получить апатиты с двойным замещением на катионы магния и карбонат-анион, катионы цинка и силикат-анион.

Механохимический способ синтеза апатитов описан в ряде работ зарубежных авторов [20,21,24–27], где используются шаровые мельницы, при этом процесс синтеза длится часами. М.В. Чайкиной и Н.В. Булиной (ИХТТМ СО РАН) показано, что применение высокоэнергетичной планетарной шаровой мельницы позволяет значительно снизить длительность процесса синтеза [14], а также использовать этот метод для получения апатитов с одинарным замещением [15,28,29].

Синтез и исследование свойств апатита с мультизамещением является малоизученной областью и перспективной для исследователей. Среди возможных ионов-заместителей, которые придают материалу на основе апатита важные для медицинского применения свойства, можно выделить кремний, цинк, железо и лантан.

**Целью работы** является исследование возможностей механохимического синтеза лантан-силикат-, цинк-силикат- и железо-силикат-замещенных апатитов с различными степенями замещения и выявление влияния природы заместителя на структуру и свойства материала.

В работе решались следующие **задачи**:

1. Определить оптимальные условия механохимического синтеза апатитов с двойным катион-анионным замещением в планетарной шаровой мельнице АГО-2.
2. Исследовать предел возможных замещений для механохимического способа синтеза апатита с равной концентрацией ионов-заместителей.
3. Провести анализ влияния заместителей на структурные характеристики синтезированных образцов, термическую стабильность и биологические свойства.
4. Провести сравнение результатов синтеза, выявить влияние природы заместителя на структуру и свойства апатитов с двойным замещением.

#### **Научная новизна**

Научной новизной обладают результаты по исследованию процесса синтеза лантан-силикат-, цинк-силикат- и железо-силикат-замещенных апатитов и исследованию их свойств:

1. Впервые показано, что механохимический способ синтеза может использоваться для получения апатитов с двойным замещением.
2. Обнаружено комплексное влияние ионов-заместителей на структурные характеристики замещенных апатитов и их термическую стабильность.
3. Впервые проведены *in vitro* исследования биологических свойств апатита с двойным замещением на ионы лантана и кремния, цинка и кремния, железа и кремния.
4. Впервые проведены исследования микротвердости образцов апатита с двойным замещением на ионы лантана и кремния.

#### **Теоретическая и практическая значимость**

Теоретическая значимость работы заключается в установлении возможности формирования структуры замещенного апатита с разными вариантами двойного гетерозамещения, а также в установлении влияния типа и концентрации иона заместителя на структуру и свойства апатита, содержащего ионы лантана и кремния, цинка и кремния, железа и кремния.

Практическая значимость работы определяется найденными условиями механохимического синтеза апатитов с двойным замещением, которые могут использоваться

для производства биорезорбируемых гранул и керамических имплантатов. В частности, получены следующие практически важные результаты:

1. Показано, что при синтезе апатитов с большой концентрацией заместителей механохимическим способом требуется более длительное время механической обработки исходной смеси реагентов.

2. При двойном замещении на лантан и силикат, цинк и силикат, железо и силикат с равной концентрацией аниона- и катиона-заместителя имеются ограничения по возможной степени замещения.

3. Полученные серии образцов биосовместимы и перспективны для применения в хирургии при восстановлении костных тканей.

4. Гидроксиапатит с двойным замещением на лантан и силикат обладает более высокой термической стабильностью и микротвердостью по сравнению с незамещенным ГА, поэтому может использоваться для изготовления керамических изделий и покрытий металлических имплантатов высокотемпературными методами. Материалы, имеющие замещение на цинк и силикат, а также железо и силикат, обладают низкой термической устойчивостью, поэтому годятся только для изготовления биорезорбируемых порошков, пористых гранул или паст.

#### **Методология и методы исследования**

Для достижения поставленной цели на первом этапе работы на примере системы лантан-силикат-замещенных апатитов было определено оптимальное время синтеза апатита с двойным замещением. Далее в планетарной шаровой мельнице АГО-2 проведен механохимический синтез серии образцов с различными вариантами и степенью двойного замещения. Для исследования фазового состава и структуры полученных образцов использовали комплекс физико-химических методов: рентгенофазовый и рентгеноструктурный анализ, ИК-спектроскопию, сканирующую и просвечивающую электронную микроскопию. Для исследования биологических свойств проводили ряд *in vitro* исследований, включающих в себя определение цитотоксичности на клетках Нек293, MG-63 и MRC-5, определение адгезии клеток остеобластов MG-63 к поверхности таблетированных образцов. При исследовании термических свойств был проведен синхронный термический анализ синтезированных образцов. На основе полученных данных подобраны температуры для проведения высокотемпературного отжига с целью исследования стабильности и анализа кристаллической структуры однофазных образцов полнопрофильным методом Ритвельда. Микротвердость серии лантан-силикат-замещенных апатитов определялась методом Виккерса на таблетированных образцах, прокаленных при 1200 °С.



### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Для получения лантан-силикат-, цинк-силикат- и железо-силикат-замещенных апатитов составов  $\text{Ca}_{10-x}\text{La}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}\text{O}_{x/2}$ ,  $\text{Ca}_{10-x}\text{La}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x\text{O}_x$ ,  $\text{Ca}_{10-x}\text{Zn}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ ,  $\text{Ca}_{10-x}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}\text{O}_{x/2}$  с равной степенью катион-анионного замещения можно использовать механохимический способ синтеза.

2. Химическая природа вводимых ионов-заместителей влияет на предел замещения. В случае одновременного введения катиона лантана и силикатного аниона предел замещения возможен до  $x = 6,0$ . При введении катионов цинка и железа совместно с силикатной группой замещение ограничивается  $x = 1,0$ .

3. Размер кристаллитов структуры апатита с двойным замещением при механохимическом способе синтеза зависит от концентрации ионов-заместителей. Средний размер кристаллитов во всех исследованных системах при степени замещения  $x = 1,0$  составляет  $\sim 15$  нм.

4. На величину параметров решетки апатита при двойном замещении оказывают влияние оба типа вводимых заместителей и их концентрация.

5. Во всех исследованных системах преимущественное катионное замещение происходит в позиции  $\text{Ca}2$ . Ионы лантана в данной позиции смещаются к кислороду, расположенному на оси  $c$ , в то время как ионы цинка и железа приближаются к кислороду тетраэдра. Силикатные группы замещают фосфатные.

6. Термическая стабильность апатитов с двойным замещением зависит от комбинации замещающих ионов. Одновременное введение катиона лантана и силикат-аниона позволяет повысить термическую стабильность до  $1400$  °С, в то время как одновременное введение силикат-аниона с катионом цинка или железа понижает термическую устойчивость материала до  $650 - 800$  °С и  $600 - 700$  °С, соответственно.

### **Степень достоверности результатов исследования**

Достоверность результатов, полученных в работе, обеспечивается применением современных методов анализа состава и структуры материалов, воспроизводимостью результатов, применением статистической обработки данных, а также соответствием результатов, полученных с помощью различных аналитических методов.

### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертации опубликовано 9 статей (из них 8 в научных изданиях, индексируемых в Web of Science/Scopus/РИНЦ) и 17 тезисов докладов.

### **Апробация результатов работы**

Основные результаты работы были представлены на 17 российских и международных конференциях: 56-я Международная научная студенческая конференция (Новосибирск, Россия, 2018); Всероссийская конференция с международным участием «Химия твердого тела и функциональные материалы» (Санкт-Петербург, Россия, 2018); V International Conference “Fundamental Bases of Mechanochemical Technologies” (Новосибирск, Россия, 2018); Международная научно-техническая молодежная конференция «Перспективные материалы конструкционного и медицинского назначения» (Томск, Россия, 2018); Четвертый междисциплинарный научный форум с международным участием "Новые материалы и перспективные технологии" (Москва, Россия, 2018); XXII Всероссийская конференция молодых учёных-химиков с международным участием (Нижний Новгород, Россия, 2019); 57-я Международная научная студенческая конференция (Новосибирск, Россия, 2019); XX Международная научно-практическая конференция имени профессора Л.П. Кулёва (Томск, Россия, 2019); Наука. Технологии. Инновации (Новосибирск, Россия, 2019); Russia-Japan Joint Seminar “Non-equilibrium processing of materials: experiments and modeling” (Новосибирск, Россия, 2018); III Всероссийская конференция «Методы исследования состава и структуры функциональных материалов» (Новосибирск, Россия, 2020); XVII Международная конференция «Спектроскопия координационных соединений» (Краснодар, Россия, 2020); 23th International Conference: Materials, Methods and Technologies (Бургас, Болгария, 2021); VIII Международная Российско-Казахстанская научно-практическая конференция «Химические Технологии Функциональных Материалов» (Алматы, Казахстан, 2022); XXIII Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера (Томск, Россия, 2022); III Международная научно-практическая конференция «Перспективные технологии и материалы» (Севастополь, Россия, 2022); VI International Conference “Fundamental Bases of Mechanochemical Technologies” (Новосибирск, Россия, 2022).

Работа выполнялась в рамках проекта Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-29-11064), государственного задания ИХТТМ СО РАН (проект № 121032500064-8), а также поддержана стипендией Правительства Новосибирской области в 2021 году.

### **Личный вклад автора**

Все результаты, представленные в данной диссертационной работе, были получены и интерпретированы самим автором или при его непосредственном участии. Анализ литературных данных, синтез образцов и их подготовка к измерениям, температурный отжиг, обработка и анализ экспериментальных данных выполнены автором лично. Постановка целей и

задач, а также выбор объектов исследования и обсуждение результатов, выполнено совместно с научным руководителем канд. физ.-мат. наук Булиной Н.В.

Автор непосредственно занимался определением фазового состава полученных соединений, уточнением кристаллической структуры по методу Ритвельда, расшифровкой данных инфракрасной спектроскопии, производил съемку и обработку данных сканирующей электронной микроскопии и энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии, выполнял анализ данных просвечивающей электронной микроскопии и термического анализа.

Записи дифрактограмм выполнены к.х.н. А.В. Ухиной и Т.А. Борисенко (ИХТТМ СО РАН, г. Новосибирск). Термический анализ проведен к.х.н. К.Б. Герасимовым (ИХТТМ СО РАН, г. Новосибирск). ИК-спектры получены д.ф.-м.н. И.Ю. Просановым (ИХТТМ СО РАН, г. Новосибирск). Данные ПЭМ и их расшифровка получены к.х.н. А.В. Ищенко (ИК СО РАН, г. Новосибирск). Данные по цитотоксичности получены к.х.н. Ю.А. Голубевой (ИНХ СО РАН, г. Новосибирск) и к.б.н. Л.С. Ключовой (ФИЦ ФТМ, г. Новосибирск). Исследование пролиферации клеток проведено Н.Б. Думченко (ГНЦ ВБ «Вектор», р.п. Кольцово). Обсуждение и анализ полученных результатов проводились автором совместно с научным руководителем и соавторами публикаций.

#### **Соответствие специальности 1.4.15. Химия твердого тела**

Представляемая работа соответствует паспорту специальности 1.4.15. Химия твердого тела по пунктам 1, 2, 3, 5, 8:

- 1. Разработка и создание методов синтеза твердофазных соединений и материалов.*
- 2. Конструирование новых видов и типов твердофазных соединений и материалов.*
- 3. Изучение твердофазных химических реакций, их механизмов, кинетики и термодинамики, в том числе зародышеобразования и химических реакций на границе раздела твердых фаз, а также топохимических реакций и активирования твердофазных реагентов.*
- 5. Изучение пространственного и электронного строения твердофазных соединений и материалов.*
- 8. Изучение влияния условий синтеза, химического и фазового состава, а также температуры, давления, облучения и других внешних воздействий на химические и химико-физические микро- и макроскопические свойства твердофазных соединений и материалов.*

#### **Объем и структура работы**

Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Полный объем диссертации составляет 140 страниц, включая 27 таблиц и 67 рисунков. Библиографический список содержит 245 ссылок.

## ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1.1 Апатиты

Апатит – это группа минералов с общей химической формулой  $M_5(ТO_4)_3X$ , где в качестве М могут выступать различные катионы. В природе наиболее часто встречается так называемый кальциевый апатит с катионом кальция в позиции М. Существуют также стронциевый, свинцовый и бариевый апатиты [30]. В качестве Т могут быть ионы Р, С, As, Si, S и др. В положении Х могут быть ионы фтора, образуя фторапатит, гидроксильные ионы – гидроксиапатит (Рисунок 1.1), ионы хлора – хлорапатит или карбонат ионы – карбонатапатит [3,4,30].

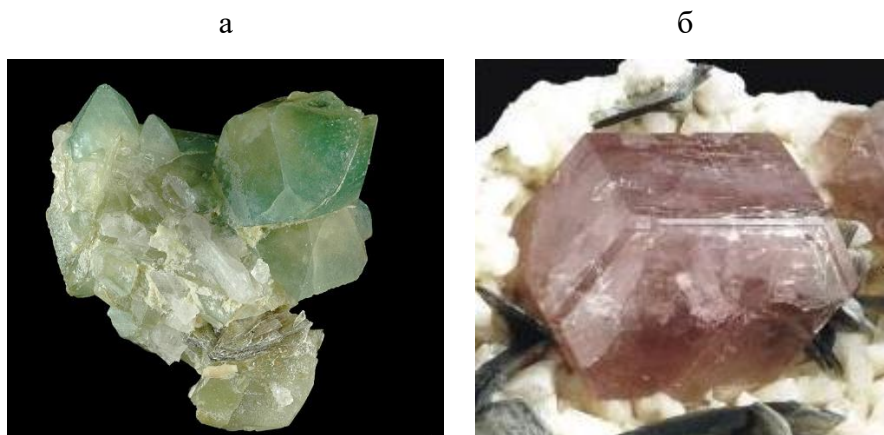


Рисунок 1.1 – Природные кристаллы гидроксиапатита (а) и фторапатита (б).

Местонахождение гидроксиапатита – Рудник Сапо, район Гоябейра, Бразилия; фторапатита – район Нагар, Пакистан [30].

В связи с тем, что в элементарную ячейку апатита входит 2 формульных единицы, то часто встречается вариант записи формулы апатита как  $M_{10}(ТO_4)_6X_2$ . Как видно из этой формулы, в элементарной ячейке апатита содержится 42 атома, из них 10 катионов М, 6 тетраэдрических групп  $ТO_4$  и 2 аниона Х. Ионы М и группы  $ТO_4$  локализованы в объеме элементарной ячейки, а анионы Х находятся на оси  $c$ , образуя сквозной канал, стенками которого являются катионы М. Апатиты чаще всего кристаллизуются в гексагональной сингонии с пространственной группой симметрии (ПГС)  $P6_3/m$ , однако встречаются апатиты гексагональной сингонии с ПГС  $P6_3$  и  $P\bar{6}$ , моноклинной сингонии с ПГС  $P2_1/m$  и  $P2_1$ , тригональной сингонии с ПГС  $P3$  и  $P\bar{3}$  и триклинной сингонии с ПГС  $P1$  и  $P\bar{1}$  [30]. Тип структуры апатита зависит от ионов, входящих в состав вещества. Например, наиболее известные три основных группы апатита – фторапатит с формулой  $Ca_{10}(PO_4)_6F_2$  (ФА), хлорапатит  $Ca_{10}(PO_4)_6Cl_2$  (ХЛА) и гидроксиапатит  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  (ГА) – чаще всего встречаются в гексагональной сингонии с ПГС  $P6_3/m$ . Однако, ХЛА и ГА при определенных

условиях могут понизить свою симметрию до моноклинной сингонии. Это связано с положением определяющего иона X на оси  $c$ . Ионы кальция и кислорода фосфатной группы образуют треугольники вокруг оси  $c$  в структуре апатита (Рисунок 1.2). В структуре ГА ОН-группы располагаются между плоскостью, содержащей катионы кальция, и плоскостью, содержащей анионы кислорода (Рисунок 1.2, а), тогда как у ХЛА ионы хлора расположены в плоскости треугольников кислорода от фосфатных групп (Рисунок 1.2, б), а в структуре ФА ионы фтора расположены в плоскости треугольников кальция (Рисунок 1.2, в) [19, 20]. Возможен также вариант оксиапатита (ОА), когда ион кислорода располагается в плоскости треугольников кальция [33], как у ФА, однако в случае ОА анионы кислорода располагаются не в каждом треугольнике кальция, а чередуются с вакансией, т.к. заряд аниона кислорода в 2 раза больше, чем у фтора, поэтому общая химическая формула выглядит следующим образом:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$ .

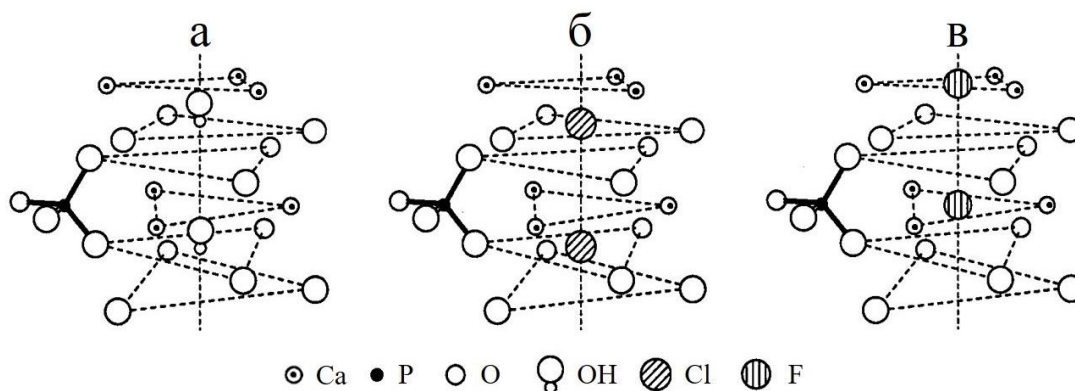


Рисунок 1.2 – Схема структур изоморфных апатитов – ГА (а), ХЛА (б), ФА (в) [31,32].

В случае упорядочения ионов хлора в ХЛА или ОН-групп в ГА происходит удвоение элементарной ячейки вдоль оси  $b$ , что и приводит к переходу из гексагональной структуры в моноклинную (Рисунок 1.3) [31,34]. В случае с ФА такой переход не происходит, поскольку ионы фтора не смещаются из плоскости треугольников кальция.

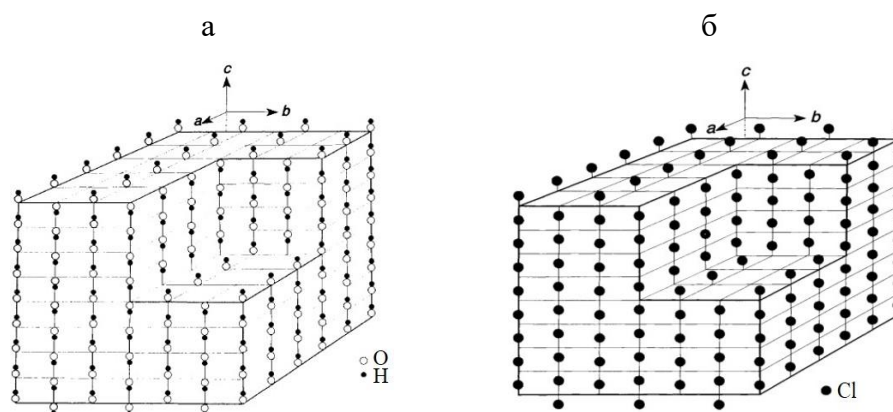


Рисунок 1.3 – Распределение ионов на оси  $c$  в моноклинной структуре апатита: смещение ОН-групп в ГА (а), смещение ионов хлора в ХЛА (б) [31,34].

Однако, изменение симметрии может происходить и при частичном либо полном замещении основных групп апатита – ионов кальция и/или фосфора. Например, ГА с частичным замещением на ионы натрия и серы с образованием структуры  $\text{Ca}_{8,8}\text{Na}_{1,2}(\text{PO}_4)_{4,8}(\text{SO}_4)_{1,2}(\text{OH})_2$  приводит к понижению симметрии до моноклинной сингонии с ПГС  $P2_1/m$ . Замещение всех фосфатных групп во фторапатите на арсенатную с образованием структуры  $\text{Ca}_{10}(\text{AsO}_4)_6\text{F}_2$  приводит к понижению симметрии до триклинной сингонии с ПГС  $P\bar{1}$  [30].

Так как структура апатита непосредственно зависит от ионов, формирующих кристаллическую решетку апатита, то исследование структуры является важным аспектом в изучении замещенных апатитов.

В данной работе за базовую структуру, в которой производятся замещения, взята структура гидроксиапатита  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  – наиболее известного представителя группы апатитов, получившего широкое применение в медицине.

## 1.2 Кристаллическая структура гидроксиапатита

Структура ГА впервые была описана в 1958 году [35] с помощью монокристаллической рентгеновской дифрактометрии. Для этого гидротермальным методом был выращен монокристалл ГА. Было установлено, что структура ГА имеет гексагональную структуру с ПГС  $P6_3/m$ . Разберем более подробно данную структуру.

Пространственная группа симметрии  $P6_3/m$  имеет три вида элементов симметрии (Рисунок 1.4):

1. Винтовые оси шестого порядка, проходящие через вершины элементарных ячеек, отмеченные пунктирными линиями на рисунке. Эти элементы симметрии эквивалентны оси вращения третьего порядка с наложенной винтовой осью второго порядка;
2. Оси вращения третьего порядка, проходящие через  $2/3, 1/3, 0$  и  $1/3, 2/3, 0$ ;
3. Винтовые оси второго порядка, проходящие через средние точки ребер ячейки и ее центры.

Также есть плоскости зеркального отражения, перпендикулярные оси  $c$  при  $z = 1/4$  и  $3/4$ , и многочисленные центры симметрии [36].

Из рисунка 1.4 видно, что в структуре ГА имеется набор гексагональных каналов, расположенных вдоль оси  $c$ .

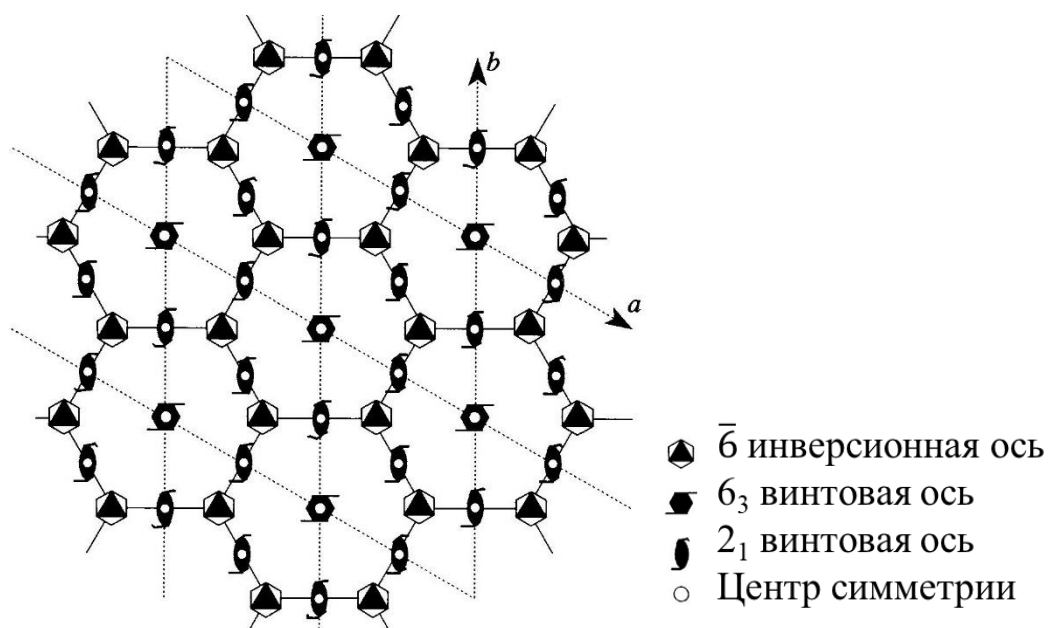


Рисунок 1.4 – Элементы вертикальной симметрии пространственной группы  $P6_3/m$  в структуре апатита. Пунктирными линиями обозначены элементарные ячейки с осью  $c$ , направленной из плоскости  $ba$  [36].

Позднее, в 1964 году [32], при помощи нейтронной дифракции и ранее сделанных рентгеновских снимков было установлено, что ионы кислорода и водорода гидроксильной группы имеют координаты  $(0, 0, 0.201)$  и  $(0, 0, 0.062)$ , соответственно. Авторами было предположено, что гидроксил-ионы имеют по крайней мере кратковременное упорядочение ОН-групп в колонки ...ОН ОН ОН ОН..., иначе атомы водорода были бы слишком близко друг к другу. Далее были представлены две модели упорядочения гидроксильных групп, выведенных из результатов дифракции:

1. Модель «неупорядоченного столбца» – ориентация гидроксильных ионов обращена в противоположных направлениях внутри канала;
2. Модель «упорядоченного столбца» – гидроксильные ионы ориентированы одинаково, но выбор направления случайный (Рисунок 1.3, а) [32].

Результаты дифракции нейтронов на положении атома водорода в 1962 году подтвердили ориентацию связи О-Н, которая была определена по данным ИК-спектроскопии [36]. Также было показано, что существует большое вращательное движение атома водорода вокруг атома кислорода с отклонением от оси  $c$  на  $6-7^\circ$ , что позднее в 1975 году было подтверждено идентификацией либрационных колебаний, наблюдаемых в ИК-спектре на частоте  $630 \text{ см}^{-1}$  [37].

В структуре ГА имеются столбцы ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , расположенные на расстоянии одной половины параметра  $c$  вдоль тройных осей на  $2/3, 1/3, 0$  и  $1/3, 2/3, 0$ , которые составляют две

пятых ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в структуре. Этим ионам присваивается обозначение Ca1. Участок, который они занимают, называется столбчатым участком и соответствует положению позиции Вайкоффа с кратностью 4 и симметрией точечной группы  $C_3$ . Каждый из ионов  $\text{Ca}^{2+}$  соединяется со своими соседними ионами  $\text{Ca}^{2+}$  сверху и снизу тремя общими атомами кислорода, лежащими в зеркальной плоскости (Рисунок 1.5, а); с одной стороны три O1 с длиной связи Ca–O 2.397 Å, а с другой стороны три O2 с длиной Ca–O 2.453 Å. Каждый ион Ca1 координируется тремя дополнительными атомами кислорода O3 при большем расстоянии Ca–O, равном 2.801 Å. Таким образом, столбчатые ионы  $\text{Ca}^{2+}$  координированы девятью атомами кислорода (Рисунок 1.5, а). Эти колонки ионов кальция и атомы кислорода связаны между собой тетраэдрами  $\text{PO}_4$  (Рисунок 1.5, б), в которых три атома кислорода (два O3 и либо O1, либо O2) относятся к одной колонке, а четвертый атом кислорода (O2 или O1, соответственно), относится к соседней колонке. В результате получается трехмерная сеть тетраэдров  $\text{PO}_4$  со столбцами ионов кальция и с проходящими через нее каналами. Оси этих каналов совпадают с винтовой осью шестого порядка (Рисунок 1.4) [38,39].

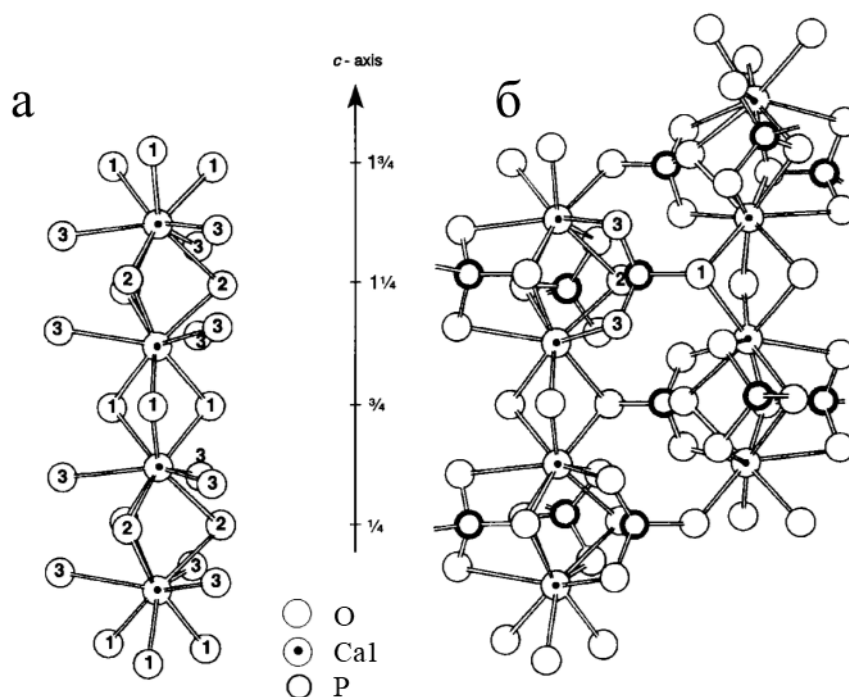


Рисунок 1.5 – Столбцы Ca1, окруженные ионами кислорода, (а) и соединение столбцов через фосфатные тетраэдры (б). Атомы кислорода на рисунке (а) и в одном тетраэдре на рисунке (б) пронумерованы. На оси  $c$  обозначены позиции плоскостей горизонтального отражения  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{3}{4}$  и

Т.Д.



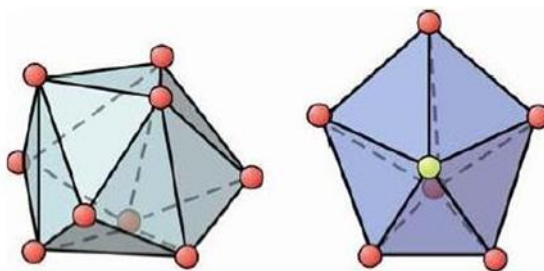


Рисунок 1.6 – Координационные полиэдры Ca1 (левый) и Ca2 (правый).

Оставшиеся шесть ионов кальция в элементарной ячейке образуют гексагональный канал на оси  $c$ , с центровкой на плоскостях зеркального отражения со значениями  $z = 1/4$  и  $3/4$ . Такие ионы кальция имеют обозначение Ca2. Эти ионы образуют два равносторонних треугольника из ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , повернутых на  $60^\circ$  друг от друга вокруг оси  $c$  (Рисунок 1.7). В центре гексагонального канала, образованного катионами Ca2, находятся ОН группы. В обозначениях Вайкоффа Ca2 имеет позицию h с кратностью 6 и точечную группу симметрии m. Ионы Ca2 являются семикратно координированными: шесть атомов кислорода (O1 с длиной связи Ca–O 2.814, O1 с длиной 2.384, два O1 с длиной 2.344 и два O1 с длиной 2.398 Å), а седьмым является ион кислорода гидроксильной группы с расстоянием 2.231 Å (Рисунок 1.6) [38].

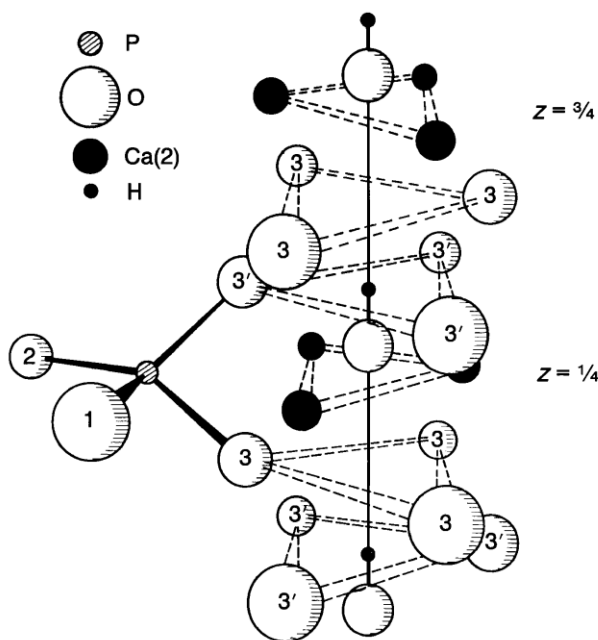


Рисунок 1.7 – Расположение ионов вокруг гексагонального канала [36].

В таблице 1.1 приведены координаты атомов элементарной ячейки ГА, которые использовались как начальные данные при уточнении структуры замещенных апатитов, синтезированных в рамках данной работы.

Таблица 1.1. Координаты атомов в структуре ГА [40].

Атом	Координаты атомов			Заселенность
	x	y	z	
Ca1	0,3333	0,6667	0,0015	1
Ca2	0,2468	0,9934	0,25	1
P	0,3987	0,3685	0,25	1
O1	0,3284	0,4848	0,25	1
O2	0,5873	0,4651	0,25	1
O3	0,3437	0,2579	0,0702	1
O4	0	0	0,1950	0,5
H	0	0	0,0608	0,5

Исследование синтетического монокристалла ГА, полученного в 1973 году путем прокаливании хлорапатита при 1300°C в течение двух недель [31], показало, что кристалл имеет моноклинную сингонию с пространственной группой симметрии  $P2_1/b$ . Такое понижение симметрии с гексагональной до моноклинной также наблюдалось на рентгенограммах некоторых ГА. Авторы объяснили данное понижение симметрии тем, что кристалл был достаточно чистым для того, чтобы в нем образовались центры поворота гидроксильных групп внутри канала, в результате чего кристалл не смог принять структуру «неупорядоченного столбца», который описан выше. Вместо этого, при определении структуры было обнаружено, что ОН-ионы упорядочены внутри каждого канала, так что все они имели одинаковое направление смещения от  $z = 1/4$ . Кроме того, все смещения были направлены в одном и том же направлении внутри плоскости параллельно осям  $a$  и  $c$ , но направления смещений менялось между соседними плоскостями. Это упорядоченное расположение гидроксил-ионов преобразовало зеркальные плоскости отражения в  $P6_3/m$  в скользящую плоскость  $b$  в  $P2_1/b$  и удвоило параметр  $b$ .

Подводя итог по структуре ГА можно сделать вывод, что ГА имеет две структурные модификации: моноклинную ПГС  $P2_1/b$  с параметрами решетки  $a = 9.4214 \text{ \AA}$ ,  $b = 2a$ ,  $c = 6.8814 \text{ \AA}$ ,  $\gamma = 120^\circ$  и гексагональную с ПГС  $P6_3/m$  и параметрами решетки  $a = 9.4176 \text{ \AA}$  и  $c = 6.8814 \text{ \AA}$ . Последний вариант характерен для синтетических ГА, получаемых в порошковом виде.

### 1.3 Свойства и применение гидроксиапатита

Скелет человека состоит из минеральной компоненты (ГА), органической (коллаген) и воды. На рисунке 1.8 показано сравнение дифрактограмм природного минерала ГА и кости. Видно, что ГА кости хуже окристаллизован и на малых углах наблюдается аморфная

органическая фаза (Рисунок 1.8, б) [41]. Костная ткань и дентин содержат 45 – 70 вес.% минеральной компоненты, около 10 вес.% воды, а остальную часть составляет коллаген и белки. Состав эмали зубов отличается от них отсутствием коллагена, а минеральная компонента составляет 96 вес.% [42].

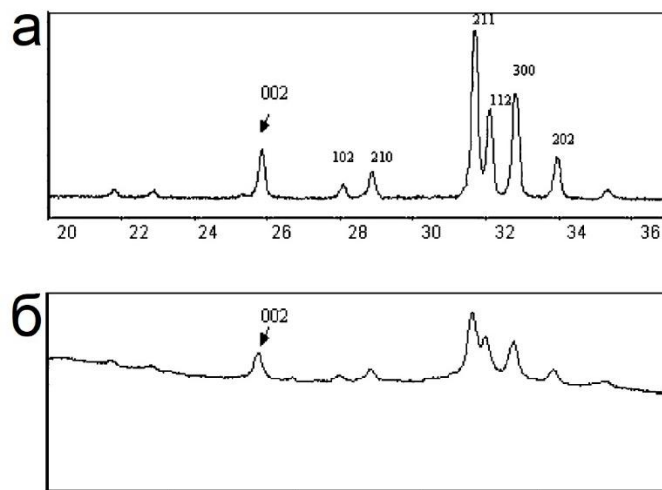


Рисунок 1.8 – Дифрактограммы природного минерала ГА (а) и кости (б) [41].

Состав природного ГА отличается от стехиометрического, имеющего формулу  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Природный ГА содержит различные примесные ионы, такие как углерод, натрий, магний, хлор, фтор и др. Часть ионов встречается в следовых количествах – цинк, железо, кобальт и др. (Таблица 1.2) [43,44]. Данные примесные ионы играют ключевую роль в костном метаболизме. Стоит отметить, что состав апатита в костях и зубах человека отличается, при этом он изменяется и с возрастом человека [45].

Таблица 1.2. Состав минеральной составляющей эмали, дентина и кости в сравнении со стехиометрическим ГА [43,44].

Содержание	Эмаль	Дентин	Кость	Стехиометрический ГА
Ca, вес.%	37,60	40,30	36,60	39,60
P, вес.%	18,30	18,60	17,10	18,50
C, вес.%	3,50	5,60	7,40	–
Na, вес.%	0,70	0,10	1,00	–
K, вес.%	0,05	0,07	0,07	–
Mg, вес.%	0,2	1,10	0,60	–
Sr, вес.%	0,03	0,04	0,05	–
Cl, вес.%	0,40	0,27	0,10	–
F, вес.%	0,01	0,07	0,10	–
Zn, $\text{млн}^{-1}$	263,0	173,0	39,0	–

Ba, млн <sup>-1</sup>	125,0	129,0	–	–
Fe, млн <sup>-1</sup>	118,0	93,0	–	–
Al, млн <sup>-1</sup>	86,0	69,0	–	–
Ag, млн <sup>-1</sup>	0,6	2,0	–	–
Cr, млн <sup>-1</sup>	1,0	2,0	0,33	–
Co, млн <sup>-1</sup>	0,1	1,0	<0,025	–
Sb, млн <sup>-1</sup>	1,0	0,7	–	–
Mn, млн <sup>-1</sup>	0,6	0,6	0,17	–
Au, млн <sup>-1</sup>	0,1	0,07	–	–
Br, млн <sup>-1</sup>	34,0	114,0	–	–
Si, млн <sup>-1</sup>	–	–	500	–

Поскольку ГА составляет основную часть костной ткани, его синтетический аналог интенсивно используют в медицине [5,46]. ГА обладает низкими механическими свойствами (микротвердость по Виккерсу 1 – 4 ГПа), тогда как значения микротвердости костной ткани могут варьироваться от 1 до 10 ГПа [47]. Следовательно, ГА может применяться для замещения костного материала только в тех областях скелета, которые не подвергаются сильной нагрузке, например, в челюстно-лицевой хирургии. Прочность ГА может быть повышена добавлением полимеров, которые позволяют получать плотную керамику [48,49]. Такая керамика применяется для создания имплантатов для среднего уха и глаза [50]. Благодаря высокой биосовместимости ГА широко применяется в качестве покрытия металлических имплантатов (Рисунок 1.9), что ускоряет процесс остеоинтеграции имплантата [51–53].



Рисунок 1.9 – Титановый имплантат тазобедренного сустава. Ствол и чашка покрыты гидроксиапатитом [40].

На основе ГА можно получать пористый материал, который может быть использован для заполнения зубных пустот после удаления зуба. Также пористый материал может служить каркасом для роста нативной кости [54]. Порошок на основе ГА применяется для лечения гиперчувствительности пульпы и дентина [55,56], ГА является компонентом пломбирочных материалов [57]. Присутствие ГА в зубных пастах и гелях приводит к уменьшению образования зубного налета. Также стоит отметить, что микропористый ГА выступает матрицей для медикаментов при адресной доставке лекарственных веществ. Ряд работ посвящен исследованию систем на основе ГА для контролируемого высвобождения противоопухолевых препаратов и антибиотиков [58,59].

Многие из перечисленных выше применений ГА требуют предварительной высокотемпературной обработки материала, следовательно, исследование термической стабильности ГА является важным аспектом исследования данного материала. Исследования показали, что стехиометрический ГА с соотношением  $\text{Ca/P} = 1,67$  термически устойчив до  $1300^\circ\text{C}$ , дальнейшее повышение температуры приводит к частичному разложению ГА с появлением примесных фаз других фосфатов кальция [60]. Следует отметить, что отклонение соотношения ионов в структуре ГА от значения 1,67 приводит к значительному понижению термической стабильности материала [60]. На рисунке 1.10 показаны дифрактограммы ГА с различным соотношением  $\text{Ca/P}$ , которые прошли термообработку при  $1000^\circ\text{C}$ . Видно, что однофазным является только образец с  $\text{Ca/P} = 1,67$ . При пониженном соотношении  $\text{Ca/P}$  происходит выделение фазы  $\beta$ -трикальцийфосфата ( $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\beta\text{-ТКФ}$ ), имеющей  $\text{Ca/P}=1,5$ , а при повышенном значении данного соотношения при нагреве выделяется фаза оксида кальция. Таким образом, отклонение соотношения катионов к анионам в ГА от стехиометрии дестабилизирует его структуру и приводит к понижению его термической стабильности.

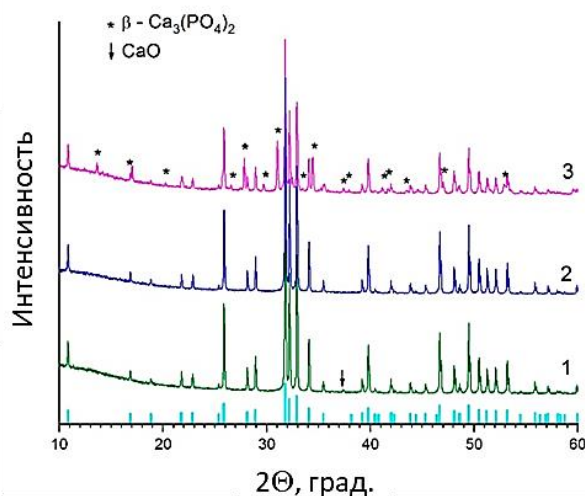


Рисунок 1.10 – Дифрактограммы отожженных ГА с различным соотношением  $\text{Ca/P}$ :  $\text{Ca/P} = 1,7$  (1),  $\text{Ca/P} = 1,67$  (2) и  $\text{Ca/P} = 1,6$  (3) [60].

### 1.4 Возможные типы замещений в апатитах

Введение ионов-заместителей в структуру ГА оказывает влияние на его свойства. Можно изменять морфологию частиц, термическую стабильность, растворимость, механические свойства и биологическое поведение материала [61]. При этом разные ионы могут придавать материалу идентичные свойства, но с разной эффективностью. Основные свойства ионов-заместителей, используемых для допирования ГА, приведены на рисунке 1.11.



Рисунок 1.11 – Свойства ионов-заместителей в ГА [62].

В литературе описаны различные варианты замещений в структуре ГА (Рисунок 1.12). Данные работы можно разделить на три группы: 1) замещение гидроксильных групп в гексагональном канале; 2) замещение катионов кальция; 3) замещение фосфатных групп. Важным фактором при замещении является соблюдение стехиометрии в катионной и анионной подрешетках апатита. Для общей формулы  $M_{10}(TO_4)_6X_2$  сумма катионов М (кальций + заместитель, если он есть) должна соотноситься к сумме анионов Т (фосфор + заместитель, если он есть) как  $10/6 = 1,67$ . При несоблюдении данного соотношения и получении материала с низкой степенью кристалличности (наноразмерный материал) может оказаться, что при синтезе получен однофазный материал, однако при проведении экспериментов с его нагреванием будет происходить выделение излишков катиона либо аниона в виде соответствующей фазы, что может быть ошибочно интерпретировано как низкая термическая стабильность замещенного апатита.

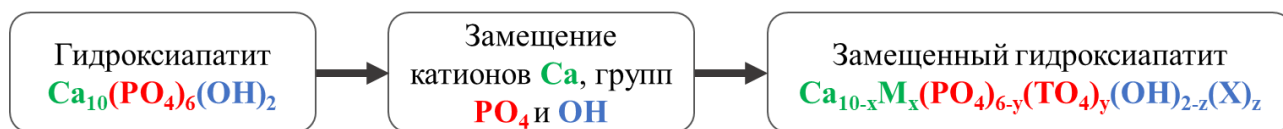


Рисунок 1.12 – Схема возможных замещений в структуре ГА [3,4,62].

К первому типу замещений относятся работы по исследованию вакансий, нейтральных молекул или ионов, расположенных в гексагональном канале на оси  $c$  [4,63–65]. В качестве ионов-заместителей возможны анионы кислорода, йода и брома, а также комплексный карбонат-анион. В таких замещенных апатитах наблюдаются значительные изменения в обоих параметрах решетки, причем как уменьшение, так и увеличение, которое главным образом зависит от ионного радиуса заместителя [66–68]. В случае вакансионного варианта замещения происходит образование дефицита гидроксильных групп – вакансий на оси  $c$  в положении аниона  $(\text{OH})^-$ . Данные апатиты являются термически менее стабильными. Такой вариант обычно является следствием необходимости создания электронейтральности при замещении других ионов в решетке ГА (компенсация избыточного отрицательного заряда) и приводит к уменьшению параметра  $c$ . При замещении на нейтральные молекулы обычно происходит адсорбция молекул из воздуха, например, воды или углекислого газа [69], которые локализуются в вакантных позициях на оси  $c$ . При таком внедрении наблюдается незначительное изменение параметров решетки. В отличие от замещения на анионы, замещение нейтральными молекулами, также как и создание вакансий, возможно только для части гидроксильных групп (не более 1 на элементарную ячейку), т.к. для стабилизации ионной кристаллической решетки в канале, созданном катионами кальция, необходимо наличие хотя бы 1 аниона на элементарную ячейку [33].

Второй тип замещения – это замещение катионов кальция. Вариант катионного замещения является наиболее распространенным, т.к. катионы кальция можно заменить на широкий ряд элементов таблицы Менделеева, но не все из них имеют биомедицинское применение из-за отсутствия полезных свойств. Возможно, как гомовалентное замещение, так и гетеровалентное [3,4]. Так как в структуре апатита существуют две позиции для катиона кальция,  $\text{Ca(I)}$  и  $\text{Ca(II)}$ , то может происходить как равномерное, так и неравномерное распределение ионов-заместителей между этими позициями, что по-разному отражается на параметрах решетки. В случае гомовалентного замещения влияние заместителя на параметры решетки определяется в большинстве случаев относительным размером заместителя. При большем радиусе катиона заместителя наблюдается увеличение параметров решетки, при меньшем – уменьшение [3,4,70,71]. Неискаженная структура апатита в случае катионного замещения сохраняется в интервале ионных радиусов  $0,95 \leq R_{\text{Ca}} \leq 1,35 \text{ \AA}$ . Распределение

катионов-заместителей в позициях Ca(I) и Ca(II) может изменяться в зависимости от степени замещения, температуры обработки (например, закалка при высоких температурах) и зависит от метода синтеза (вероятно, из-за включения примесей или изменения валентности). Если замещающий катион не является двухвалентным (гетеровалентное замещение), то происходит компенсация заряда путем создания вакансий или дополнительных замещений на оси  $c$ , что оказывает свое влияние на параметры решетки дополнительно к влиянию радиуса катиона заместителя и значительно усложняет анализ структуры. Как сообщалось выше, координационное число Ca(I) равно девяти, в то время как для Ca(II) оно равно семи. Исходя из этого различия и, основываясь на правиле Полинга, которое гласит, что общая электростатическая прочность связей катионов, окружающих анион, должна быть равна величине заряда на анионе, автор работы [72] пришел к выводу, что замещение в позиции Ca(II) будет благоприятно для катионов с меньшим радиусом и/или большим зарядом. В качестве ионов-заместителей для варианта замещения кальция используют катионы магния, марганца, натрия, меди, кобальта, железа, стронция, бария, олова и др. [3,4]. В данном случае максимально возможная степень замещения зависит от типа иона заместителя.

К последнему типу замещений в структуре ГА относятся замещения фосфат-ионов. В литературе описаны как частичное, так и полное замещение фосфатной группы на  $\text{SiO}_4^{4-}$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$ ,  $\text{MnO}_4^{3-}$  и другие [4]. Следует отметить, что неискаженная структура апатита в данном случае сохраняется в интервале ионных радиусов  $0,29 \leq R_P \leq 0,60 \text{ \AA}$  [39]. В данном случае, также, как и в варианте замещения катионов кальция, параметры решетки находятся в прямой зависимости от радиуса комплексного аниона-заместителя. Гетеровалентное замещение, сопровождающееся дополнительными изменениями на оси  $c$  в следствие необходимости создания электронейтральности, дает сложный комплексный эффект влияния на параметры решетки НА [4,73].

Для анализа структуры замещенных апатитов проводят как правило дифрактометрические исследования (как порошковые, так и монокристалльные). В качестве дополнительных методов используют ИК и КР-спектроскопию, оптическую, ЭПР, ЯГР и ЯМР спектроскопию [3,4,74].

Ниже будут приведены наиболее яркие представители замещенных апатитов, обладающих новыми свойствами, актуальными для медицины.

### ***1.4.1 Катионные замещения***

#### **Стронций-замещенный гидроксиапатит**

Стронций является микроэлементом, входящим в состав кости человека, причем с возрастом его концентрация уменьшается [75]. Стронций играет важную роль в пролиферации клеток остеобластов, способствуя формированию новой кости и остеоинтеграции [76,77].



Соединения стронция широко применяются для лечения остеопороза, причем благодаря его способности усиливать пролиферацию клеток, он ускоряет восстановление кости даже у пожилых пациентов [78]. Стронций-замещенный ГА был исследован в широком диапазоне концентраций 1–40 ат.% [76,77,79,80]. В литературе приведены результаты *in vitro* исследований, показывающих, что стронций-замещенный ГА не проявляет цитотоксический эффект, при этом усиливает пролиферацию и дифференцировку клеток остеобластов [77,81]. Исследования *in vivo* на животных показали, что костная ткань лучше формируется при использовании стронций-замещенного ГА, по отношению к незамещенному ГА [82]. Также было отмечено, что введение стронция повышает плотность кости [83] и улучшает механические свойства ГА [80,84]. Не смотря на большое количество публикаций по синтезу и исследованию свойств стронций-замещенного ГА, данных о пределе термической стабильности стронций-замещенного ГА в литературе не найдено. Опираясь на данные работ [29,85], можно полагать, что стронций не снижает устойчивости структуры апатита.

Параметры решетки стронций-замещенного ГА увеличиваются по сравнению с незамещенным, что согласуется с разницей ионных радиусов, т.к. радиус стронция ( $R(\text{Sr}^{2+}) = 1,13 \text{ \AA}$ ) выше, чем у кальция [86]. Показано, что ионы стронция занимают позицию Ca1 при концентрациях до 3,5 ат.%, с ростом концентрации стронция, катионы занимают обе позиции кальция с преимуществом в позиции Ca2 [86,87]. Замещение катионов кальция возможно в широком диапазоне вплоть до полной замены с получением стронциевого апатита  $\text{Sr}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ .

### **Магний-замещенный гидроксипатит**

Магний – важный элемент в организме человека. В костной ткани он стимулирует пролиферацию остеобластов на ранних стадиях остеогенеза [88]. Синтетический магний-замещенный ГА не обладает цитотоксическим действием [79,89]. Благодаря высокой биосовместимости магний-замещенного ГА, он применяется для создания покрытий на металлических имплантатах [90]. Исследования *in vitro* показали, что он улучшает адгезию материала и способствует пролиферации остеобластов [79]. Магний-замещенный ГА проявляет бактерицидное действие в отношении грамположительных (*Staphylococcus aureus*) и грамотрицательных бактерий (*Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*) при концентрациях магния от 6 ат.% [91]. Испытания *in vivo* на животных показали, что введение магния увеличивает osteoconductive по сравнению со стехиометрическим ГА [89]. Введение магния в структуру ГА понижает термическую стабильность апатита до 650°C [88], что не позволяет использовать магний-замещенный ГА для создания керамических имплантатов или для нанесения на металлические имплантаты высокотемпературными методами.

Введение в структуру ГА магния с меньшим ионным радиусом ( $R(\text{Mg}^{2+}) = 0,69 \text{ \AA}$ ), чем радиус кальция, приводит к уменьшению параметров решетки [92,93]. Возможно, именно малый радиус является причиной низкой термостабильности магний-замещенного ГА. По поводу локализации катионов магния в литературе имеются противоречивые данные. Одни авторы полагают, что ионы магния занимают преимущественно позицию Ca1 [94], другие – Ca2 [95]. Не смотря на идентичную валентность заместителя и замещаемого иона, в случае магний-замещенного ГА невозможно заместить все катионы кальция. Максимальная степень замещения, указанная в литературе для магний-замещенного ГА – 35 ат.% [94]. При большей концентрации формируется аморфный фосфат.

### Цинк-замещенный гидроксипатит

Цинк является одним из наиболее распространенных следовых катионов в составе кости человека и играет важную роль в некоторых функциях организма. При имплантации ГА, содержащего катионы цинка, было установлено, что данный материал увеличивает жизнеспособность, адгезию и пролиферацию клеток остеобластов, а также стимулирует остеогенную активность, сцепление материала с костью и заживление [96–99]. Цинк-замещенный ГА эффективен для реминерализации эмали после отбеливания [99]. Допирование ионами цинка оказывает положительное влияние на ингибирование образования бактериального налета на эмали и на улучшение реминерализации эмали при реставрации зубных протезов. В большинстве работ посвященных исследованию биологических свойств цинк-замещенного ГА рассматривается концентрация цинка в пределах 0,1 – 4 ат.% [98,100–103]. Наилучшие результаты с точки зрения биосовместимости, остеокондуктивности и противомикробной активности достигаются при концентрациях 1 – 2 ат.% [96,99,104]. При *in vivo* испытаниях на животных обнаружено, что цинк способствует образованию новой костной ткани по сравнению с незамещенным ГА при имплантации крысам [105] и кроликам [106] уже после 1 – 2 мес. Однако термическая стабильность цинк-замещенного ГА значительно ниже, чем ГА [107]. Рентгенофазовый анализ показал, что при прокаливании Zn-ГА уже при 600°C происходит образование фазы  $\beta$ -трикальцийфосфата [108].

Сообщается, что ионы цинка преимущественно замещают кальций в положении Ca2 [109]. Уточнение параметров решетки показало, что параметр *c* для цинк-замещенного ГА постепенно уменьшается с увеличением содержания цинка из-за разницы в размерах ионных радиусов между  $\text{Zn}^{2+}$  (0,74 Å) и  $\text{Ca}^{2+}$  (0,99 Å) [110]. В то же время параметр решетки *a* склонен к уменьшению до концентрации цинка 1 ат.%, а при бóльших концентрациях этот параметр начинает увеличиваться, что связывают со структурными преобразованиями в цинк-замещенном ГА [111–113].

### Лантан-замещенный гидроксипатит

Введение ионов лантана в структуру ГА позволяет увеличить термическую стабильность материала, а также дает новое свойство – ингибирование резорбции кости [114,115]. Было обнаружено, что микротвердость лантан-замещенного ГА улучшается с увеличением содержания вводимых ионов лантана [114,116]. Добавление ионов лантана придает материалу антибактериальные свойства [115]. Лантан может предотвращать воспалительный процесс при ревматоидном артрите и остеоартрите [117]. В работе [114] лантан-замещенный ГА с концентрацией заместителя до 30 ат.% использовали для изготовления покрытий имплантатов на Ti-подложках методом погружения. Данные покрытия показали хорошую прочность сцепления на границе раздела покрытие-подложка, сопровождающуюся хорошей цитосовместимостью с клетками черепа мыши MC3T3-E1 для концентраций лантана до 20 ат.%.

Включение лантана в кристаллическую решетку ГА стабилизирует структуру апатита [118]. Не смотря на разное зарядовое состояние, катионы лантана подходят для замещения катионов кальция в структуре ГА из-за сходства размеров их ионных радиусов ( $R(\text{La}^{3+}) = 1,02 \text{ \AA}$ ), потребности в донорных атомах и геометрии координационных полиэдров [119]. Однако гетеровалентное замещение требует компенсации заряда. Компенсация может идти за счет образования катионных вакансий либо за счет потери протона из гидроксильных групп с формированием в гексагональном канале отдельного иона  $\text{O}^{2-}$ . Исследования показали, что предпочтительнее второй вариант компенсации, который позволяет довести степень замещения до  $x = 2$  с образованием апатита состава  $\text{Ca}_8\text{La}_2(\text{PO}_4)_6\text{O}_2$  [120]. Компенсация заряда происходит по механизму:  $\text{O}^{2-} = \text{Ca}^{2+} + (\text{OH})^-$ . Рентгеноструктурные исследования указывают на предпочтительную локализацию катионов лантана в позиции Ca2, причем отмечается тенденция смещения катионов-заместителей к кислороду в гексагональном канале [119]. При замещении наблюдается снижение кристалличности лантан-замещенного ГА по сравнению с незамещенным ГА [4].

### Железо-замещенный гидроксипатит

Железо принимает участие в различных функциях организма, в том числе в костном метаболизме. Ионы железа способствуют зарождению кристаллитов апатита, что было показано как в исследованиях *in vitro* в растворе, имитирующем человеческую кровь [121], так и в тестах *in vivo* на моделях овец [122]. Наблюдается усиление адгезии, деления и пролиферации клеток остеобластов и индуцирование остеогенной функции [123,124]. Железо-замещенный ГА показал хорошую биосовместимость и не проявлял цитотоксические свойства до концентрации 12 ат.% [125]. Железо-замещенный ГА обладает магнитными свойствами и

применяется в качестве нагревательных посредников в гипертермии при лечении рака [126]. На магнитные свойства наночастиц такого апатита влияют разные факторы, такие, как например микроструктура, анизотропия и ориентация.

В литературе [127,128] показано, что введение ионов железа с меньшим ионным радиусом ( $R(\text{Fe}^{3+}) = 0,55 \text{ \AA}$ ), чем у кальция, практически не изменяет параметр  $c$ , при этом параметр  $a$  увеличивается, а также снижается кристалличность материала. Ионы железа занимают преимущественно позицию  $\text{Ca}_2$ . При этом наблюдается смещение катиона железа к кислороду фосфатных тетраэдров, а кислород гидроксильной группы смещается из гексагонального канала к железу [128]. Такое гетеровалентное замещение возможно до  $x = 1$  с формированием апатита состава  $\text{Ca}_{10-x}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-x}\text{O}_x$  [7,124,129]. Компенсация избыточного положительного заряда катиона железа происходит по механизму:  $\text{O}^{2-} = \text{Ca}^{2+} + (\text{OH})^-$ .

#### **1.4.2 Анионные замещения фосфатных групп**

##### **Карбонат-замещенный гидроксиапатит**

Карбонат-замещенный ГА является наиболее широко изученным синтетическим замещенным ГА, при этом он также является наиболее распространенным замещенным ГА в костной ткани человека [130,131]. Карбонат-замещенный ГА обладает повышенной растворимостью [132], что объясняется наличием связей  $\text{Ca}-\text{CO}_3$ , которые слабее, чем связи  $\text{Ca}-\text{PO}_4$ . Для карбонатных апатитов выявлена более высокая степень остеокондуктивности по сравнению с незамещенным ГА за счет повышенной скорости растворения [133].

Наличие  $\text{CO}_3^{2-}$ -группы в структуре ГА снижает его термическую стабильность до  $700^\circ\text{C}$  [134], что ускоряет процесс спекания ГА, снижая температуру необходимую для получения высокоплотной керамики [135]. Однако при этом керамика представляет собой смесь фаз стехиометрического ГА и оксида кальция, причем концентрация последнего зависит от концентрации карбоната в исходном материале. Объясняется это тем, что при  $700^\circ\text{C}$  из карбонат-замещенного ГА удаляется карбонатный ион с выделением  $\text{CO}_2$ , что приводит к уменьшению концентрации анионов в структуре апатита. Соотношение катионов к анионам, которое прежде было  $(\text{Ca}/(\text{P}+\text{C})) = 1,67$ , становится более 1,67. В связи с этим излишки катионов выделяются в виде примесной фазы  $\text{CaO}$  и апатит становится стехиометричным с соотношением  $(\text{Ca}/\text{P}) = 1,67$  [60].

Дефицит отрицательного заряда, вызванный заменой  $\text{PO}_4^{3-}$  на  $\text{CO}_3^{2-}$ , может быть компенсирован тремя вариантами: (а) потерей положительного заряда, например, удалением иона кальция из решетки в комбинации с уменьшением числа  $\text{OH}$ -групп; (б) замещением иона кальция протоном (формирование  $\text{HPO}_4$ -группы); (в) заменой катиона кальция одновалентным ионом, (обычно натрий или калий) [136,137]. При синтезе синтетического карбонат-

замещенного ГА при отсутствии примесных катионов реализуются первый и второй варианты, сопровождающиеся увеличением параметров решетки [137–139].

### Силикат-замещенный гидроксиапатит

Кремний является важным элементом для формирования кости и минерализации в организме человека. Отсутствие кремния может привести к задержке роста, деформации костей и неправильному развитию скелета [140,141]. Кремний-замещенный ГА имеет улучшенные механические свойства [142], ускоряет биорезорбцию материала по сравнению с незамещенным ГА [143]. Исследования термической стабильности кремний-замещенного ГА показали, что устойчивость данной структуры зависит от концентрации иона-заместителя. Чем выше концентрация, тем менее устойчив материал (Рисунок 1.13) [73].

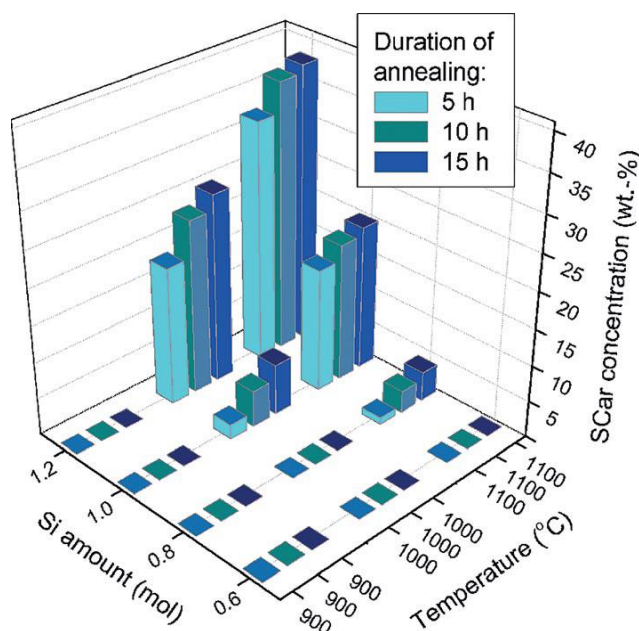


Рисунок 1.13 – Диаграмма изменения фазового состава кремний-замещенного ГА от концентрации кремния и температуры [73]. SCar – силикокарнотит,  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$ .

В литературе имеется ряд работ по изучению анионного замещения фосфатных групп на силикатные [144,145]. Поскольку замена фосфатных групп силикатными является гетеровалентным замещением, было предложено множество возможных механизмов компенсации заряда, включая кислородные или анионные вакансии и избыток Ca и/или H. Наиболее вероятным считается образование вакансий OH-групп на оси *c* в решетке ГА с формированием структуры  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$  [146,147]. В данном случае имеется ограничение по степени замещения фосфатных групп, определяемое концентрацией гидроксильных групп.

Уточнение параметров элементарной ячейки кремний-замещенного ГА показало, что параметр  $a$  незначительно уменьшается, тогда как параметр  $c$  увеличивается с увеличением концентрации силикатных групп в структуре ГА. Сообщается, что силикатный анион имеет наибольшее влияние на параметр  $c$  [148], что связано с его бóльшим ионным радиусом  $\text{Si}^{4+}$  (0,42 Å) по сравнению с радиусом  $\text{P}^{5+}$  (0,35 Å) [149]. Кроме того, длина связи P–O (1,55 Å) короче, чем связи Si–O (1,61 Å), и, следовательно, радиус тетраэдров  $\text{PO}_4$  фактически меньше, чем тетраэдров  $\text{SiO}_4$  [63]. Изменения параметра  $a$  могут быть связаны с формированием вакансий гидроксильных групп в следствие компенсации избыточного положительного заряда при данном гетеровалентном замещении [148].

### 1.4.3 Анионные замещения гидроксильных групп

#### **Фтор-замещенный гидроксиапатит**

Фтор-замещенный ГА обладает высокими прочностными характеристиками и низкой растворимостью по сравнению с незамещенным ГА [150]. Благодаря этому, фтор-замещенный ГА широко распространен в стоматологии. Его применяют в качестве покрытий дентальных имплантатов для повышения остеоиндукции, а также в качестве добавок для стоматологических материалов и зубных паст [5]. Исследования *in vitro* показали, что фтор-замещенный ГА может быть использован в качестве источника ионов фтора с контролируемой скоростью высвобождения ионов, что способствует формированию прочной костной ткани [151].

При замещении гидроксильных групп на ионы фтора происходит смещение анионов в гексагональном канале в плоскость треугольников, образуемых ионами  $\text{Ca}_2$  [28,152,153]. Параметры решетки при данном типе замещения изменяются следующим образом: параметр  $a$  уменьшается, параметр  $c$  увеличивается [28].

#### **Хлор-замещенный гидроксиапатит**

Хлор-замещенный ГА обладает высокими прочностными характеристиками [64] и повышенной биологической активностью [154], но основным свойством хлор-замещенных ГА является способность создавать кислую среду на поверхности имплантата. Ионы хлора при высвобождении из хлор-замещенного ГА понижают pH среды на поверхности материала и способствуют активации остеокластов [154,155]. Однако концентрация хлора в хлор-замещенном ГА не может превышать 0,13 вес.%, поскольку сильное понижение pH среды приводит к осаждению слабо растворимых солей [156].

В хлор-замещенном ГА ионы хлора занимают позицию гидроксильных групп, однако ионы хлора смещаются и занимают координату  $z = 1/2$ . Что приводит к увеличению параметра  $a$  и уменьшению параметра  $c$  [153].

#### **1.4.4 Катион-анионные замещения**

Структура и свойства ГА с одинарным вариантом катионного или анионного замещения на сегодняшний день достаточно хорошо изучены. Имеется большое количество обзоров по данной теме [3,4,79]. При этом вариант комбинированного замещения освящен очень слабо, причем опубликованные работы имеют узкую направленность исследований, например, исследование либо структуры, либо свойств полученного материала. В последнее время данное направление начало развиваться более активно в связи с необходимостью разработки новых материалов, являющихся заменителями костной ткани. Комбинация нескольких вариантов замещения в структуре ГА позволяет получить материал с более широким спектром полезных свойств.

##### **Магний-карбонат-замещенный гидроксиапатит**

Одновременное введение магния и карбонатной группы в структуру ГА может улучшить остеокондуктивность материала и придать ему бактерицидные свойства. Авторы работы [157] показали неожиданное свойство магний-карбонат-замещенного ГА: введение данных ионов повысило термическую стабильность материала до 1250 °С, несмотря на низкую термостабильность, наблюдаемую для вариантов одинарного замещения на используемые катионы [88]. Анализ структуры полученных образцов магний-карбонат-замещенного ГА показал, что параметры решетки замещенного апатита практически не отличаются от стехиометрического ГА. Карбонатная группа замещает как фосфат-ион, так и гидроксильную группу [157].

В работе Lala и соавт. [158] сообщается о получении магний-карбонат-замещенного ГА с замещением карбонатом только ОН-группы. В данном случае параметры решетки апатита уменьшаются с ростом концентрации допантов. Также показано, что ионы магния занимают позицию Ca<sub>2</sub>.

Исследования *in vitro* показали, что магний-карбонат-замещенный ГА не проявляет цитотоксических свойств и является биосовместимым [158].

##### **Цинк-силикат-замещенный гидроксиапатит**

Получение цинк-силикат-замещенного ГА и исследование его свойств является перспективным направлением, поскольку предполагается, что полученный материал будет обладать объединенными свойствами от вводимых заместителей. Ионы цинка придадут противовоспалительные свойства апатиту и ускорят пролиферацию остеобластов, а силикат-ион улучшит механические свойства и биорезорбцию материала, а также могут повысить низкую термическую стабильность материала, связанную с присутствием цинка. Однако

работы по исследованию свойств цинк-силикат-замещенного ГА в литературе не встречаются, только исследование свойств композитов на основе силикатов цинка и ГА [159,160]. Эти работы подтвердили высокую биологическую активность материалов на основе комбинации данных ионов.

Friederichs и соавт. [23] показали, что при одновременном замещении ионов в ГА на ионы цинка и кремния параметры решетки цинк-силикат-замещенного ГА увеличиваются. Ионы цинка занимают обе позиции кальция, причем цинк в позиции Ca2 смещен к оси *c*.

### **Лантан-силикат-замещенный гидроксипатит**

Лантан-силикат-замещенный ГА интересен в качестве покрытий имплантатов, т.к. при одновременном замещении должно наблюдаться объединение свойств силикат-замещенного апатита и лантан-замещенного апатита, перечисленные выше. Тесты на биологические свойства такого покрытия показали высокую биосовместимость и отсутствие цитотоксического действия. В литературе показано, что лантан-силикат-замещенный оксипатит может быть использован в качестве кислородного проводника [161].

В работе [162] показано, что при одновременном неравном замещении ионов кремния и лантана с ростом их концентраций оба параметра решетки увеличиваются. Силикатная группа замещает фосфатную, а ионы лантана занимают обе позиции кальция с преимуществом в позиции Ca1.

## **1.5 Методы получения замещенных апатитов**

В течение последних десятилетий было открыто множество различных методов получения наноразмерного ГА [163,164], которые также применимы и для получения замещенного ГА. Все известные методы синтеза можно разделить на жидкофазные и твердофазные. Каждый из методов имеет как ряд преимуществ, так и ряд недостатков (Таблица 1.3).

Таблица 1.3. Основные методы получения ГА.

Метод, размер частиц		Преимущества	Недостатки	Ссылки
Жидкофазные	Осаждение, нм – мкм	+ Низкая стоимость; + Возможность получить частицы различной формы и размера	– Необходима очистка продукта; – Агрегация частиц; – Четкий контроль pH; – Широкое распределение частиц по размеру	[165–167]



	Золь-гель, нм	+ Узкое распределение частиц по размеру	– Необходима очистка продукта; – Высокая стоимость реагентов; – Четкий контроль pH	[168–170]
	Гидротермальный, нм – мкм	+ Высокая кристалличность; + Возможность получить частицы различной формы и размера; + Узкое распределение частиц по размеру	– Необходима очистка продукта; – Высокая стоимость; – Четкий контроль pH	[163,171, 172]
	Гидролиз, нм – мкм	+ Возможность получить частицы различной формы и размера	– Необходима очистка продукта; – Высокая стоимость	[166,173]
	Эмульсионный, Нм	+ Возможность получить частицы различной формы; + Узкое распределение частиц по размеру	– Необходима очистка продукта; – Высокая стоимость	[174,175]
	Сонохимический, Нм	+ Узкое распределение частиц по размеру	– Необходима очистка продукта; – Очень маленькие частицы	[176,177]
Твердофазные	Механохимически, нм – мкм	+ Продукт не требует очистки; + Безотходное производство	– Агрегация; – Возможность загрязнения порошка материалом мелющих тел	[178,179]
	Керамический, нм – мкм	+ Высокая кристалличность	– Высокая агрегация; – Неоднородный фазовый состав	[180,181]

Выбор метода синтеза влияет на характеристики конечного продукта ГА, в том числе на морфологию частиц и размер частиц (Рисунок 1.14). Ниже будут подробно описаны наиболее часто встречающиеся методы синтеза ГА, в частности и те, которые позволяют получать замещенный ГА.

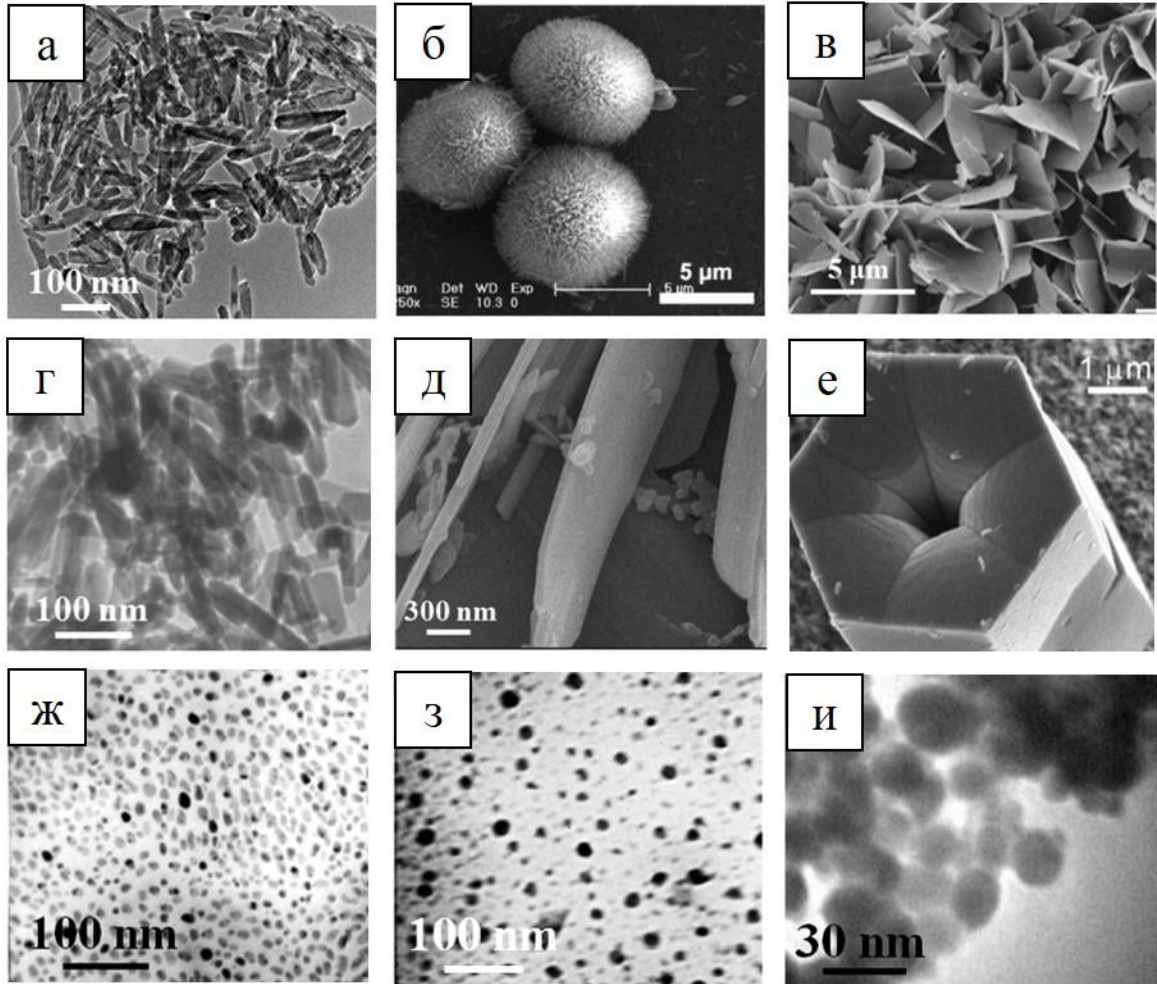


Рисунок 1.14 – Варианты форм частиц ГА в зависимости от метода синтеза: метод осаждения – нанои́глы (а) [182], микросферы (б) [166], чешуйки (в) [165]; гидротермальный метод – наностержни (г) [172], микростержни (д) [171], вытянутые вдоль оси *c* полые шестиугольные призмы на анодной мембране  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (е) [183]; золь-гель метод с последующей прокалкой при  $700^\circ\text{C}$  в течение 4 ч (ж) и 48 ч (з) [168]; механохимический метод (и) [178].

### 1.5.1 Жидкофазные методы

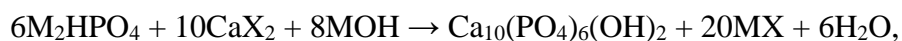
Жидкофазные методы синтеза ГА основаны на реакции химического взаимодействия исходных реагентов, являющихся жидкостями. Они позволяют получать порошки с частицами различного размера и формы. Однако одним из основных потенциальных недостатков данных методов является необходимость точного контроля pH реакционной смеси, т.к. эта величина влияет на соотношение Ca/P в осаждающемся апатите. Выход показателя кислотности среды из интервала значений  $\text{pH} = 10 - 11$  приводит к формированию нестехиометрического ГА (как

правило дефицитного по катиону), у которого соотношение катионов к анионам Ca/P (в случае синтеза замещенного ГА будет  $(Ca+M)/(P+T)$ ) отличается от значения 1,67, свойственного стехиометрическому ГА. Дефицитный ГА имеет весьма низкую термостабильность по сравнению со стехиометрическим ГА [60], при высоких температурах (700 – 900°C) он переходит в стехиометрическое состояние с выделением дополнительных примесных фаз (излишек катионов или анионов).

Жидкофазные реакции могут проводиться в органическом растворителе или в воде при температуре окружающей среды или при повышенных температурах. Более того, реакции можно проводить рядом технических способов с использованием различных химических веществ, вспомогательных добавок и аппаратуры. В связи с этим жидкофазные методы можно разделить на несколько способов получения.

### Метод осаждения

Среди различных жидкофазных методов химическое осаждение является самым распространенным способом синтеза наноразмерного ГА. В литературе [18] приводятся различные реакции синтеза, в которых используется как минимум два жидкофазных реагента, являющихся источниками ионов кальция и фосфатной группы, которые постепенно прикапывают в реакционную смесь. Приводимые реакции можно обобщить следующим образом:



где M = Na, K, NH<sub>4</sub>, H; X = Cl, NO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>COO, OH.

Химическое осаждение основано на том факте, что при комнатной температуре и pH = 4,2 фаза ГА является наименее растворимой и наиболее стабильной фазой среди фосфатов кальция в водном растворе [131]. Однако реакцию осаждения обычно проводят при значениях pH = 10 – 11 и температурах ~90 °C [184–186]. На рисунке 1.15 представлена схематическая диаграмма этапов химического осаждения ГА вместе с параметрами, которые влияют на характеристики конечного продукта. Самый простой вариант синтеза незамещенного ГА – это использование гидроксида кальция или нитрата кальция в качестве источника Ca<sup>2+</sup> и ортофосфорной кислоты или гидрофосфата диаммония в качестве источника PO<sub>4</sub><sup>3+</sup>. Стандартная процедура включает добавление одного реагента к другому капельно при непрерывном перемешивании, при этом молярное соотношение элементов должно поддерживаться стехиометрическим (Ca/P = 1,67) в соответствии с его соотношением в ГА [163,187,188]. На последнем этапе полученную суспензию подвергают процессу старения при атмосферном давлении [188–190] и/или сразу промывают, отфильтровывают, высушивают и измельчают [191].



Рисунок 1.15 – Схема получения ГА методом осаждения [18].

Очень часто ГА, полученный методом осаждения, нестехиометричен и плохо кристаллизуется, не имеет правильной формы частиц [192]. Утверждается, что эти особенности вызваны многими факторами, включая высокое химическое сродство ГА к некоторым ионам, сложную природу кристаллов фосфатов кальция, водородные связи между частицами ГА и роль кинетических параметров, которые, в зависимости от условий эксперимента, преобладают над термодинамическими параметрами [193]. Например, нестехиометрия может возникать в результате вакансий в кристаллической решетке [194], замещения различных ионов, таких как карбонат, калий и хлорид [195], или наличия дополнительных фаз [196] и т. д. Поэтому всегда рекомендуется точный контроль условий обработки для получения порошка с минимальными дефектами. Особое внимание необходимо уделять контролю значений pH и температур, необходимых во время реакции осаждения и/или выдержки (Рисунок 1.16).

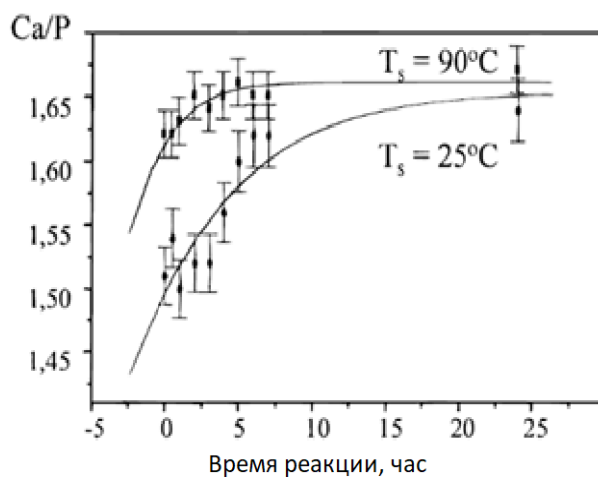


Рисунок 1.16 – Изменение стехиометрии осадка ГА в зависимости от температуры раствора и времени реакции при pH = 10 [130].

Различные замещенные ГА также наиболее часто получают методом осаждения. Так с помощью данного способа были получены Zn-ГА [96], La-ГА [114], Fe-ГА [47, 49], Si-ГА [198] и др. [4].

### Гидротермальный метод

Гидротермальный метод заключается в получении ГА методом осаждения с последующими этапами старения при высоких температурах внутри автоклавов или сосудов под давлением [172,199]. Путем гидротермального метода обычно получают высококристаллический и стехиометричный ГА [183,200]. Кроме того, чистота фазы апатита и соотношение Ca/P значительно улучшаются с увеличением температуры [201]. Гидротермальный метод позволяет получать и замещенные ГА, например, Zn-замещенный ГА [202], Si-замещенный ГА [203] и др. [4].

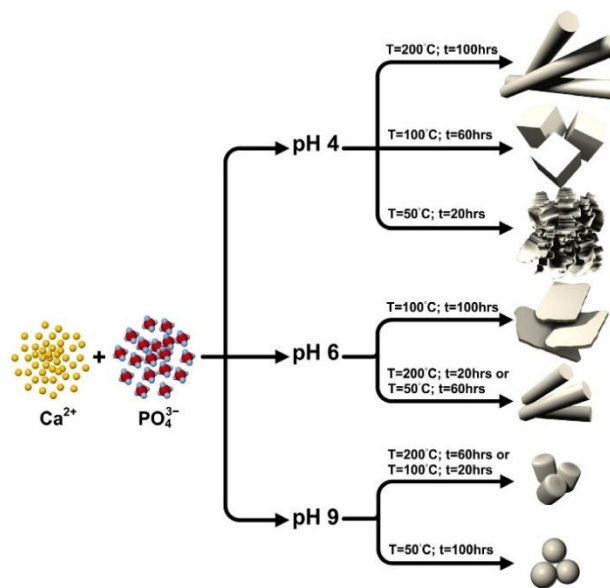


Рисунок 1.17 – Морфология частиц ГА в зависимости от pH среды при гидротермальном методе [18].

Опубликовано множество работ о гидротермальном синтезе ГА, при этом в разных работах имеется расхождение в оптимальных условиях синтеза (Рисунок 1.17). Наибольшее число работ описывает условия, при которых могут быть получены удлиненные частицы; некоторые исследования показывают, что стержнеобразный ГА синтезируется в кислых [204–206] или приблизительно нейтральных условиях [207], а другие показывают, что наностержни синтезируются в щелочных условиях [208,209]. Однако следует отметить, что гидротермальный синтез идет при высоких температурах и давлениях, для создания которых необходимо дорогое оборудование, что делает данный метод значительно дороже других.

### Золь-гель метод

Золь-гель метод был одним из первых методов, предложенных для жидкофазного метода получения ГА. Данный метод также подходит для получения замещенных ГА (Zn-замещенный ГА [210], С-замещенный ГА [170], Si-замещенный ГА [211] и др. [4]). Золь-гель позволяет

получать однородный конечный порошок [212,213]. Порошок, полученный типичным золь-гель методом, обычно имеет стехиометрическую структуру с малым размером кристаллитов (от 50 нм до 1 мкм в зависимости от параметров обработки), что дает большую площадь поверхности [214–216]. Основные недостатки метода включают образование примесной фазы (обычно оксида кальция, CaO) и высокую стоимость некоторых исходных материалов, особенно прекурсоров на основе алкоксидов. Было показано, что примесная фаза CaO вредна для биосовместимости ГА, и поэтому были предприняты попытки удалить CaO либо путем промывки прокаленного порошка с использованием разбавленного раствора кислоты (в основном HCl), либо путем модификации основной процедуры, например, за счет увеличения времени старения [217].

Обычно золь-гель процесс включает приготовление трехмерной неорганической сетки путем смешивания алкоксидов (или других подходящих предшественников) либо в водной, либо в органической фазе с последующим старением при комнатной температуре, гелеобразованием, сушкой на горячей плите и удалением органических остатков из полученного высушенного геля с помощью последующей термической обработки или прокаливания [218,219].

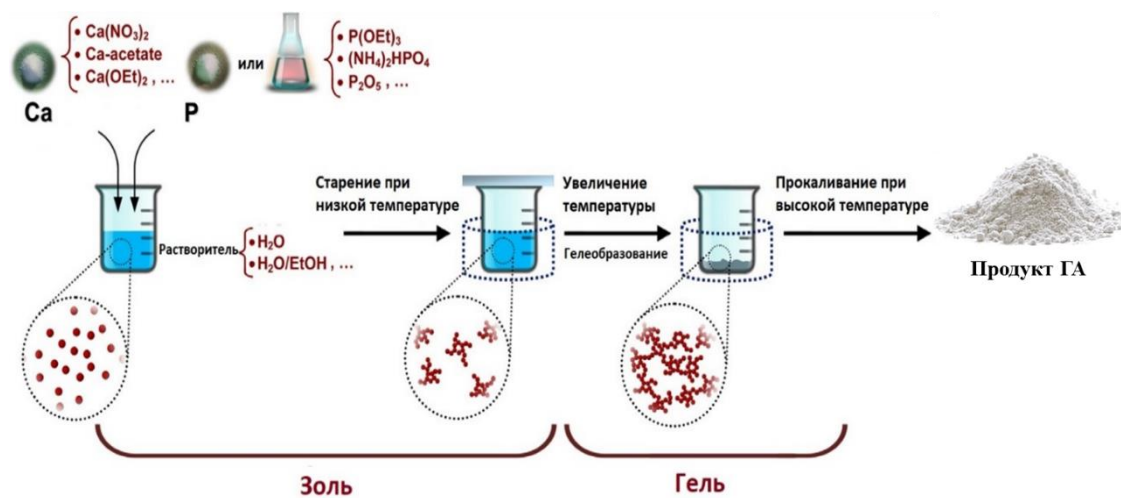


Рисунок 1.18 – Схема получения ГА золь-гель методом [18].

Общая процедура синтеза показана на рисунке 1.18. На первом этапе реакция между источниками кальция и фосфора протекает медленно, поэтому обычно требуется длительный период старения для образования фазы апатита. Стоит отметить также, что термическая обработка является важным этапом, при котором получается чистый ГА и происходит удаление из пористого геля остаточных органических составляющих, газообразных продуктов и молекул воды [212,213,220]. Недостаточное старение и/или неконтролируемое гелеобразование и термообработка могут привести к образованию различных примесей, главным образом CaO,  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  и  $\text{CaCO}_3$  [217,221]. Кроме того, скорость гелеобразования, природа

растворителя, а также температура и pH, используемые во время процесса, сильно зависят от химической природы реагентов, используемых в золь-гель синтезе.

### 1.5.2 Твердофазные методы

В отличие от жидкофазных методов, при твердофазном синтезе не требуется участие растворителей. В данном методе целевой порошковый продукт получается из смеси исходных порошковых реагентов в результате определенных процедур обработки. Нет необходимости в проведении отмывки и последующей сушки полученного апатита. Согласно литературным данным, характеристики порошка, синтезированного твердофазным методом, не имеют сильную зависимость от параметров обработки, поэтому большинство твердофазных методов не требуют точно контролируемых условий синтеза.

#### Керамический метод

В стандартном процессе керамического синтеза смесь исходных реагентов сначала тщательно измельчают, а затем, как правило длительно прокаливают при температуре  $T \geq 1000\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Рисунок 1.19) с многократными повторами цикла помол-прокалка до получения однофазного продукта [18]. В данном способе синтеза происходит твердофазное взаимодействие исходных реагентов за счет процесса диффузии, поэтому требуется максимально хорошая гомогенизация реагентов и малый размер частиц. В связи с использованием высокой температуры при прокалке данный способ синтеза называют также «высокотемпературным». Керамическим методом возможно получить замещенный Si-ГА [222] и LaSi-ГА [161].



Рисунок 1.19 – Схема получения ГА керамическим методом [18].

Исходными реагентами могут быть кальций- и фосфатсодержащие химические вещества различного типа. Высокая температура прокаливания приводит к образованию хорошо

окристаллизованной плотной структуры частиц с относительно высокой твердостью и большим размером кристаллитов. Главный недостаток этого метода - длительность и многократность цикла помол-прокалка из-за недостаточно эффективного смешения исходных реагентов и того, что размер частиц исходных реагентов как правило гораздо больше, чем расстояние, которое может преодолеть диффундирующий катион за один цикл прокаливания [19,223]. Для получения однофазного продукта необходимо проводить многократные циклы отжига и перетирания, которые растягивают процесс синтеза до 6-15 часов [161]. Кроме того, данным методом невозможно получить наноразмерные частицы с высокой удельной поверхностью, а также замещенные апатиты, обладающие низкой термической стабильностью. Однако, только этим методом можно получить замещенные апатиты, которые содержат в гидроксильном канале катионы 3d-элементов [108]. Такой вариант замещения возможен только при одновременном удалении гидроксильных групп и диффузии катиона заместителя в образовавшееся вакантное место, что осуществимо только при нагревании апатита до высоких температур.

#### **Механохимический метод**

Механохимический синтез (МХС) представляет собой простой твердофазный метод получения материала путем обработки реакционной смеси в шаровой мельнице [20,25]. При МХС химические реакции между компонентами смеси стимулируются энергией, выделяемой при ударе и трении шаров, непрерывно вращающихся с большой скоростью. Выделяемая энергия зависит от технических характеристик мельницы [20,21] и влияет на длительность обработки смеси реагентов. Чем больше энергии выделяется, тем меньше время синтеза. Так длительность обработки смеси реагентов может составлять десятки часов для шаровой мельницы [224] и десятки минут для планетарной шаровой [15].

В качестве исходных реагентов используются порошковые смеси. Как правило, это кислая соль с оксидом или основанием [15,20], реакция между которыми усиливается при подводе небольшой энергии. Непрерывное перемешивание реагентов и постоянный подвод энергии за счет удара и трения шаров позволяют постоянно обновлять зоны контакта частиц исходной смеси и осуществлять эффективную конверсию исходной смеси в целевой продукт. В опубликованных работах для синтеза ГА использовали такие реагенты, как  $\text{CaHPO}_4$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  и др. [14,225–227].

Преимуществом механохимического способа является простота и воспроизводимость результатов синтеза. В процессе МХС ионное соотношение сохраняется постоянным, т.к. вся реакционная смесь находится в изолированном пространстве, поэтому соотношение элементов в исходной смеси полностью совпадает с соотношением в конечном продукте. При данном методе синтеза формируются агрегированные частицы ГА неправильной формы с размером кристаллитов нанометрового диапазона и высокой удельной поверхностью [164].



Механохимическим методом можно получить как стехиометрический ГА, так и апатиты с различными замещениями [25,29,148,228]. В ИХТТМ СО РАН при использовании планетарной шаровой мельницы был получен ряд замещенных апатитов с одинарным типом замещения на ионы стронция [29], лантана [120], фтора [28], меди [229], цинка [230].



Рисунок 1.20 – Схема получения ГА механохимическим методом [18].

### 1.6 Постановка цели и задач исследования

Гидроксиапатит, благодаря его химическому сходству с минеральной составляющей кости, служит материалом для получения биосовместимой керамики, используется для восстановления костной ткани, а также в качестве покрытий металлических имплантатов для улучшения их интеграции в организме человека. Структура ГА позволяет проводить широкий ряд замещений, как в катионной подрешетке, так и в анионной. Замещение меняет физико-химические и биологические свойства ГА, что позволяет улучшить его эффективность и расширить область применения.

В литературе описано множество различных одинарных катионных либо анионных замещений в структуре ГА с указанием свойств полученного материала. Различные ионы могут давать как кардинально отличающиеся свойства, так и аналогичные, но с разной эффективностью. Одними из ярких представителей являются ионы кремния, цинка, лантана и железа. Известно, что силикат-ионы способствуют остеосинтезу, что позволяет увеличить скорость образования клеток костной ткани на имплантате, покрытом таким ГА, и ускорить процесс его вживления. Введение иона цинка придает ГА одновременно антибактериальные свойства, способствующие предотвращению воспалительных процессов, а также остеогенную активность. Путем введения лантана можно повысить термостойкость и микротвердость материала. Катион железа обладает магнитными свойствами, поэтому апатит с таким замещением может применяться в качестве нагревательных посредников для гипертермии при лечении рака.

Данных по мультizamещению на катион и анион одновременно гораздо меньше, хотя такой вариант замещения является весьма перспективным, т.к. он позволяет объединить перечень возможных полезных свойств апатита в одном материале. Имеются отдельные работы разных групп, где исследуются либо структура, либо свойства ГА с двойным замещением. Как показал обзор литературы, синтез замещенного апатита можно реализовать разными способами, однако морфологические, а иногда и структурные особенности у полученных продуктов будут отличаться, поэтому нельзя считать, что авторы разных групп, получившие замещенный апатит разными методиками синтеза, исследуют разные свойства одного и того же вещества. Для нового материала весьма важно иметь полный спектр информации, касающийся его состава, структурных особенностей и свойств. Таким образом, комплексное исследование структуры и свойств апатитов с одновременным катион-анионным замещением является актуальным направлением. В качестве заместителей выбраны ионы, имеющие разные биологические свойства: кремний, лантан, цинк, железо. В качестве способа синтеза был выбран механохимический, т.к. он прост в исполнении, не относится к времязатратным, в нем нет возможности для потери введенного допирующего элемента, что весьма важно для соблюдения стехиометрии получаемого соединения.

**Целью работы** является исследование возможностей механохимического синтеза лантан-силикат-, цинк-силикат- и железо-силикат-замещенных апатитов с различными степенями замещения и выявление влияния природы заместителя на структуру и свойства материала.

В работе решались следующие **задачи**:

1. Определить оптимальные условия механохимического синтеза апатитов с двойным катион-анионным замещением в планетарной шаровой мельнице АГО-2.
2. Исследовать предел возможных замещений для механохимического способа синтеза апатита с равной концентрацией ионов-заместителей.
3. Провести анализ влияния заместителей на структурные характеристики синтезированных образцов, термическую стабильность и биологические свойства.
4. Провести сравнение результатов синтеза, выявить влияние природы заместителя на структуру и свойства апатитов с двойным замещением.

## ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### 2.1 Методика проведения механохимического синтеза и пробоподготовка для дальнейших исследований

Синтез катион-анион-замещенных ГА проводился в планетарной мельнице АГО-2 с водяным охлаждением. Реагенты помещались в стальные барабаны со стальными мелющими телами. Диаметр мелющих тел был равен 8 мм. Скорость вращения барабанов составляла 1800 об/мин. Оценочная энергонапряженность процесса МХС составляла 5,5 Дж/с на 1 г реакционной смеси. МХС проводился при комнатной температуре в атмосфере воздуха с относительной влажностью 15-20 %. Отношение массы реакционной смеси к массе мелющих тел составляло 1/20. Для уменьшения натира железа во время проведения МХС в стальных барабанах была проведена футеровка барабанов и мелющих тел смесью исходных реагентов того же состава, который использовался для синтеза.

В качестве исходных реагентов для синтеза стехиометрического незамещенного ГА использовали порошок оксида кальция (ИМП, квалификации «чда») и порошок гидроортофосфата кальция (ТУ-6-09-4291-76, квалификации «ч»). В качестве источника ионов кремния при замещении использовали 0,7 водный оксид кремния (IV) (ГОСТ 4214-78, квалификации «чда»), источником ионов лантана был оксид лантана (III) (ИМП, квалификации «хч»), источником ионов цинка – 2-водный дигидрофосфат цинка (ГОСТ 16992-78, квалификации «чда»), источником ионов железа – фосфат железа (III) (ИМП, квалификации «хч»). Порошки оксида кальция и оксида лантана предварительно отжигали в печи ПВК-1.4-8 («Теплоприбор», Россия) при 900°C в течение 2 ч для удаления адсорбированной воды и углекислого газа. Рентгенограммы исходных соединений приведены на рисунке 2.1. Все реагенты являются однофазными, примесные фазы не обнаружены.

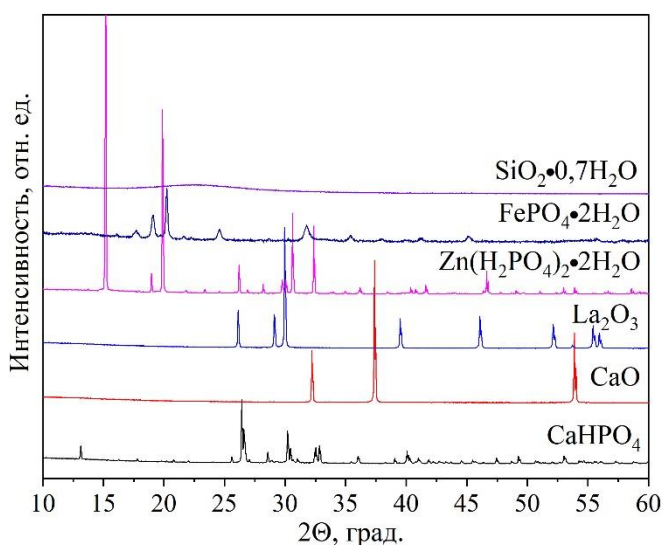


Рисунок 2.1 – Дифрактограммы исходных реагентов для механохимического синтеза.

Исходные реагенты смешивали в стехиометрическом соотношении в соответствии с уравнениями реакций, приведенными в таблице 2.1.

Таблица 2.1. Реакции получения апатитов с катион-анионным замещением.

Наименование образца	Уравнение реакции	Степень замещения
ГА	$4\text{CaO} + 6\text{CaHPO}_4 \rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	$x = 0,0$
1-LaSi-Ап	$4\text{CaO} + 5\text{CaHPO}_4 + 0,5\text{La}_2\text{O}_3 + (\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_9\text{La}_1(\text{PO}_4)_5(\text{SiO}_4)_1(\text{OH})_{1,0}\text{O}_{0,5} + 2,7\text{H}_2\text{O}$	$x = 1,0$
2-LaSi-Ап	$4\text{CaO} + 4\text{CaHPO}_4 + \text{La}_2\text{O}_3 + 2(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_8\text{La}_2(\text{PO}_4)_4(\text{SiO}_4)_2\text{O} + 3,4\text{H}_2\text{O}$	$x = 2,0$
4-LaSi-Ап	$4\text{CaO} + 2\text{CaHPO}_4 + 2\text{La}_2\text{O}_3 + 4(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_6\text{La}_4(\text{PO}_4)_2(\text{SiO}_4)_4\text{O} + 3,8\text{H}_2\text{O}$	$x = 4,0$
6-LaSi-Ап	$4\text{CaO} + 3\text{La}_2\text{O}_3 + 6(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_4\text{La}_6(\text{SiO}_4)_6\text{O} + 4,2\text{H}_2\text{O}$	$x = 6,0$
0.2-ZnSi-Ап	$4,4\text{CaO} + 5,4\text{CaHPO}_4 + 0,2(\text{Zn}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) + 0,2(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_{9,8}\text{Zn}_{0,2}(\text{PO}_4)_{5,8}(\text{SiO}_4)_{0,2}(\text{OH})_{1,8} + 2,74\text{H}_2\text{O}$	$x = 0,2$
0.6-ZnSi-Ап	$5,2\text{CaO} + 4,2\text{CaHPO}_4 + 0,6(\text{Zn}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) + 0,6(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_{9,4}\text{Zn}_{0,6}(\text{PO}_4)_{5,4}(\text{SiO}_4)_{0,6}(\text{OH})_{1,4} + 4,22\text{H}_2\text{O}$	$x = 0,6$
1.0-ZnSi-Ап	$6,0\text{CaO} + 3,0\text{CaHPO}_4 + 1,0(\text{Zn}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) + 1,0(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_{9,0}\text{Zn}_{1,0}(\text{PO}_4)_{5,0}(\text{SiO}_4)_{1,0}(\text{OH})_{1,0} + 5,7\text{H}_2\text{O}$	$x = 1,0$
1.5-ZnSi-Ап	$7,0\text{CaO} + 1,5\text{CaHPO}_4 + 1,5(\text{Zn}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) + 1,5(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_{8,5}\text{Zn}_{1,5}(\text{PO}_4)_{4,5}(\text{SiO}_4)_{1,5}(\text{OH})_{0,5} + 7,55\text{H}_2\text{O}$	$x = 1,5$
2.0-ZnSi-Ап	$8,0\text{CaO} + 2,0(\text{Zn}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) + 2,0(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_{8,0}\text{Zn}_{2,0}(\text{PO}_4)_{4,0}(\text{SiO}_4)_{2,0} + 9,4\text{H}_2\text{O}$	$x = 2,0$
0.2-FeSi-Ап	$4,2\text{CaO} + 5,6\text{CaHPO}_4 + 0,2(\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) + 0,2(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_{9,8}\text{Fe}_{0,2}(\text{PO}_4)_{5,8}(\text{SiO}_4)_{0,2}(\text{OH})_{1,8}\text{O}_{0,1} + 2,34\text{H}_2\text{O}$	$x = 0,2$
0.5-FeSi-Ап	$4,5\text{CaO} + 5,0\text{CaHPO}_4 + 0,5(\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) + 0,5(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,5}(\text{PO}_4)_{5,5}(\text{SiO}_4)_{0,5}(\text{OH})_{1,5}\text{O}_{0,25} + 2,85\text{H}_2\text{O}$	$x = 0,5$
1.0-FeSi-Ап	$5,0\text{CaO} + 4,0\text{CaHPO}_4 + 1,0(\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) + 1,0(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_{9,0}\text{Fe}_{1,0}(\text{PO}_4)_{5,0}(\text{SiO}_4)_{1,0}(\text{OH})_{1,0}\text{O}_{0,5} + 3,7\text{H}_2\text{O}$	$x = 1,0$
1.5-FeSi-Ап	$5,5\text{CaO} + 3,0\text{CaHPO}_4 + 1,5(\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) + 1,5(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_{8,5}\text{Fe}_{1,5}(\text{PO}_4)_{4,5}(\text{SiO}_4)_{1,5}(\text{OH})_{0,5}\text{O}_{0,75} + 4,55\text{H}_2\text{O}$	$x = 1,5$
2.0-FeSi-Ап	$6,0\text{CaO} + 2,0\text{CaHPO}_4 + 2,0(\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) + 2,0(\text{SiO}_2 \cdot 0,7\text{H}_2\text{O}) \rightarrow \text{Ca}_{8,0}\text{Fe}_{2,0}(\text{PO}_4)_{4,0}(\text{SiO}_4)_{2,0}\text{O} + 5,4\text{H}_2\text{O}$	$x = 2,0$

Реакции в таблице 2.1 составлены исходя из предположения, что катионы кальция замещаются катионами лантана, цинка или железа, а фосфатная группа замещается на силикатную, при этом концентрация замещающих катионов и анионов была равная.

При определении оптимального времени синтеза замещенных апатитов длительность механической обработки в мельнице составляла 3, 5, 10, 15, 20, 30, 35 и 40 мин. Нарботка образцов с разными вариантами замещений проводилась при длительности механической обработки 40 мин.

Для исследования термической стабильности продукты синтеза отжигались в порошковом виде в корундовых тиглях в высокотемпературной печи ПВК-1.4-8 при различных температурах в диапазоне от 300 до 1100 °С. Образцы серии LaSi-Ап имели более высокую термостабильность, поэтому для них проводился дополнительный нагрев до более высокой температуры – до 1400 °С. Для того, чтобы порошок не вступал в контакт с материалом тигля при высоких температурах, порошки серии LaSi-Ап отжигались в виде таблеток диаметром 1 см и массой 1 г, прессование проводилось при нагрузке 19,6 кН.

Для измерения микротвердости синтезированные порошковые образцы серии LaSi-Ап были спрессованы в таблетки диаметром 1 см и массой 1 г при нагрузке 29,4 кН. Затем таблетки отжигались на подложке из ГА при 1200 °С в течение 2 часов. Относительная плотность ( $\rho_{\text{отн}}$ ) полученных материалов была рассчитана как отношение кажущей плотности ( $\rho$ ) к рентгеновской ( $\rho_{\text{рентген}}$ ):  $\rho_{\text{отн}} = \rho / \rho_{\text{рентген}} \cdot 100\%$ . Отожженные образцы были залиты эпоксидной смолой (85-5 CRYSTAL). После застывания смолы образцы подвергались ряду шлифовок на алмазных дисках и полировок алмазными суспензиями.

Для проведения *in vitro* исследований продукты синтеза были промыты в дистиллированной воде до постоянного значения рН среды, затем высушены при 300 °С в течение 2 часов. Для исследования морфологии клеток из отмытого порошка дополнительно были спрессованы таблетки диаметром 5 мм и массой 0,06 г при нагрузке 9,8 кН.

## **2.2 Используемые методы физико-химического анализа**

### **2.2.1 Рентгенофазовый анализ и определение параметров кристаллической структуры**

Рентгенограммы образцов снимали на порошковом дифрактометре "D8 Advance" (Bruker AXS, Германия) с  $\Theta$ - $\Theta$  гониометром, оснащенным одномерным детектором Lynx-Eye и К $\beta$  фильтром с Cu-K $\alpha$  излучением. Для проведения рентгенофазового анализа съемка образцов проходила в интервале углов  $10^\circ < 2\Theta < 70^\circ$  с шагом  $\Delta 2\Theta = 0.0195^\circ$  и временем накопления 35 с на шаг, для уточнения структуры – в интервале углов  $10^\circ < 2\Theta < 120^\circ$  с шагом  $\Delta 2\Theta = 0.0195^\circ$  и временем накопления 177 с на шаг.

Качественный рентгенофазовый анализ (РФА) проводили с использованием порошковой базы структурных данных ICDD PDF-4 (2011 г.).

Уточнение структурных характеристик фазы ГА, таких как параметры элементарной ячейки  $a$  и  $c$ , ее объем, область когерентного рассеяния (ОКР), проводили методом Ритвельда по порошковым дифрактограммам с помощью программного обеспечения Topas 4.2 (Bruker AXS, Германия). Значение величины ОКР оценивалось из уширения рефлексов путем моделирования профиля функцией Лоренца, изменяющейся с углом  $2\theta$  как  $1/\cos(\theta)$ , инструментальный вклад при этом рассчитывали методом фундаментальных параметров [231]. Исходная информация о структуре ГА была взята из работы [32]. При первой итерации проводилось уточнение параметров фона, смещение образца из плоскости фокусировки, а также параметров решетки и ОКР. Далее проводилось последовательное уточнение координат атомов, затем их заселенностей с фиксацией параметров, уточненных на предыдущей итерации. Используемые в работе катионы-заместители имеют большее общее число электронов, чем у кальция, поэтому получение заселенности кальция более 1 (100 %-ное заполнение позиции) означает наличие в данной позиции катиона с более высокой электронной плотностью. В связи с этим, если при уточнении заселенность катионов кальция в замещенных образцах превышала величину, равную 1, то в данную позицию добавлялся соответствующий катион-заместитель, использованный при синтезе. Затем проводилось повторное уточнение заселенностей. Поскольку электронная плотность кремния отличается от фосфора незначительно, то заселенность кремния определялась по величине средней длины связи в тетраэдре исходя из предположения линейного изменения данной величины при переходе от фосфатного тетраэдра к силикатному. Крайние значения для фосфатного и силикатного тетраэдров брались из монокристалльных данных базы ICSD (2010 г.) соответствующих фосфатов:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  (№169498),  $\text{CaLa}_4(\text{SiO}_4)_3\text{O}$  (№10082),  $\text{Zn}_2\text{SiO}_4$  (№187839),  $\text{Fe}_5(\text{SiO}_4)_3$  (№77434). Заселенность атомов кислорода фосфатной группы практически не менялась во всех образцах, поэтому при финальном уточнении эта величина фиксировались на значении 1.

### ***2.2.2 Инфракрасная спектроскопия***

Инфракрасные (ИК) спектры регистрировали в диапазоне  $4000 - 500 \text{ см}^{-1}$  на спектрометре «Инфралюм-801» (Симекс, Россия). Для анализа синтезированные порошки смешивали с KBr и прессовали в таблетированные образцы.

### ***2.2.3 Сканирующая электронная микроскопия***

Морфологию поверхности образцов исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на электронном микроскопе Hitachi TM-1000. Анализ элементного состава

наблюдаемых частиц выполнен с помощью приставки для энергодисперсионного рентгено-спектрального микроанализа (ЭДРМ). Перед проведением измерений на образцы наносили слой золота методом вакуумного напыления.

#### **2.2.4 Просвечивающая электронная микроскопия**

Кристаллическую структуру частиц анализировали с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на микроскопе JEM-2200FS (JEOL Ltd., Акишима, Япония). ЭДРМ образцов выполняли четырехсегментным детектором Super-X в сканирующем темнопольном режиме с построением карт распределения элементов по характерным линиям спектра из каждой точки в анализируемой области. Образцы для ПЭМ-исследования наносили на алюминиевую подложку путем ультразвукового диспергирования из спиртовой суспензии.

#### **2.2.5 Исследование микротвердости**

Микротвердость полученных материалов измеряли по методу Виккерса с использованием прибора DuraScan-50 (EMCO-TEST, Кухль, Австрия) при нагрузке 0,9807 Н и времени выдержки 10 с. Для каждого образца делали 15 индентирований. Полученные средние значения микротвердости приведены с величиной стандартного отклонения.

### **2.3 Методы *in vitro* исследований**

#### **2.3.1 Исследование цитотоксичности**

Цитотоксичность полученных материалов изучали на клеточной линии эмбриональной почки человека Hek293 (ATCC, Вирджиния, США) и на клеточной линии фибробластов человека MRC-5 (ATCC, Вирджиния, США) с помощью окрашивания флуоресцентными красителями Hoechst 33342 (Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Массачусетс, США) и пропидием йодидом (Invitrogen, Waltham, MA, США) по стандартной методике, описанной в [232]. Клетки высевали на дно 96-луночных планшетов по  $5 \cdot 10^3$  клеток на лунку и культивировали в модифицированной по способу Искова среде Дульбекко (pH 7,4; DMEM, «Вектор», Кольцово, Россия) с добавлением 10 % эмбриональной бычьей сыворотки в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °С. Через 24 ч клетки обрабатывали водной суспензией синтезированных порошков в диапазоне концентраций 0,01 – 50 мг/мл в течение 48 ч. Для идентификации живых, апоптотических и мертвых клеток обработанные и контрольные клетки окрашивали красителями в течение 30 мин при 37 °С. Для выполнения автоматической визуализации четырех полей на лунку в каналах светлого поля и флуоресценции использовали систему высокопроизводительного клеточного скрининга IN Cell Analyzer 2200 (GE Healthcare, Чикаго, Иллинойс, США). Клетки классифицировали как живые, мертвые или апоптотические по морфологическим изменениям

ядер с помощью программного обеспечения для анализа изображений IN Cell Investigator (версия 1.5, GE Healthcare, Чикаго, Иллинойс, США). Все приведенные ниже данные являются средним значением для трех лунок. Количественные данные выражены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение.

Цитотоксичность также оценивалась на остеобластоподобных клетках линии MG-63 (Costar, Вашингтон, округ Колумбия, США) с помощью стандартного МТТ-теста. Клетки высевали на дно 96-луночных планшетов по  $2 \cdot 10^3$  клеток на лунку и культивировали в модифицированной среде Дульбекко (рН 7,4; DMEM, «Вектор», Кольцово, Россия) с добавлением 5% эмбриональной бычьей сыворотки в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °С. Затем добавляли стерильный исследуемый порошок до концентрации  $2,5 \cdot 10^{-5}$  мг/мл. Данная концентрация экспериментально была подобрана для измерения оптической плотности в бромиде 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия (МТТ). Через 96 ч жизнеспособность клеток оценивали с помощью МТТ-анализа. Для этого в лунки добавляли по 5 мкл раствора МТТ (Sigma, Сент-Луис, Массачусетс, США) и инкубировали в течение 4 ч. В конце инкубации добавляли 100 мкл диметилсульфоксида (Вектон, Санкт-Петербург, Россия) и определяли жизнеспособность клеток по интенсивности окраски полученного раствора формазана относительно отрицательного контроля. Оптическую плотность измеряли на микропланшет-ридере Tecan Sunrise (Tecan, Grödig, Австрия) при длине волны 492 нм. Все приведенные ниже данные являются средним значением для трех лунок. Количественные данные выражены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение.

### ***2.3.2 Исследование адгезии клеток***

Для оценки адгезии костеобразующих клеток, стерильные таблетированные образцы помещались на дно 96-луночных планшетов, затем клетки MG-63 высевали на поверхность таблеток по  $2 \cdot 10^3$  клеток на лунку в питательной среде Дульбекко и культивировали в течение 7 дней в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °С. Затем клетки на образцах осадка фиксировали 2% глутаральдегидным буфером (рН 7,4) при комнатной температуре в течение 12 ч, после чего трижды промывали 0,1 М буфером 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоты и обезживали дважды по 10 мин растворами с постепенным повышением концентрации спирта (50%, 70%, 95% и 100%). Затем образцы были химически высушены: сушка проводилась в 4 этапа с различным соотношением спирта и гексаметилдисилазана (2:1, 1:1, 1:2, 0:1). После этого поверхность образцов покрывалась 10 нм слоем золота путем вакуумного распыления и проводился СЭМ-анализ морфологии поверхности таблеток.



### ***2.3.3 Исследование растворимости***

Для оценки биорезорбции проводился анализ растворимости синтезированных порошков в воде. Порошки помещали в дистиллированную воду с концентрацией 0,2 г/мл и выдерживали в течение 1, 3 и 5 суток. По истечении указанного времени суспензии фильтровали. Количественное определение ионов в маточном растворе проводили на атомно-абсорбционном спектрометре AA-280FS (Varian, Inc., Калифорния, США) с использованием лампы с полым катодом при токе 5 мА и пламени воздушно-ацетиленового окислителя, длине волны 213,9 нм, ширине щели монохроматора 1,0 нм и оптимальной рабочей области 0,01–2 мг/кг.

## ГЛАВА 3. ЛАНТАН-СИЛИКАТ-ЗАМЕЩЕННЫЙ ГИДРОКСИАПАТИТ

### 3.1 Определение оптимального времени механохимического синтеза

#### 3.1.1 Рентгенофазовый анализ

Для определения оптимального времени синтеза ГА с двойным замещением, смесь исходных реагентов прокручивали в планетарной мельнице АГО-2 в течение 3, 5, 10, 15, 20, 30, 35 и 40 мин. Дифрактограммы полученных образцов, приведенные на рисунке 3.1, показывают, что после 3 минут механической обработки наблюдается значительное уширение рефлексов  $\text{CaHPO}_4$  на  $26,5$  и  $30,2$   $^{\circ}2\Theta$ . Аналогичная динамика наблюдается при механической активации порошка  $\text{CaHPO}_4$  в чистом виде (Рисунок 3.2), указывающая на измельчение реагента. При дальнейшей механической обработке происходит уменьшение интенсивности рефлексов  $\text{CaHPO}_4$  и  $\text{CaO}$  с появлением рефлексов ГА, что говорит о начале процесса синтеза ГА. Несмотря на то, что фаза ГА появляется уже при 5 мин обработки, полное исчезновение рефлексов исходных реагентов наблюдается только после 20 мин. (Рисунок 3.1).

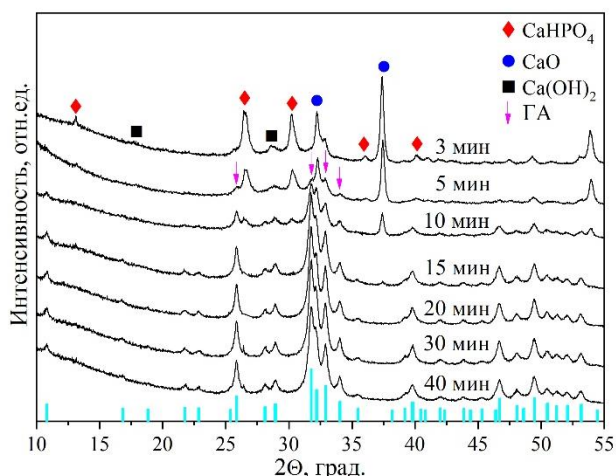


Рисунок 3.1 – Дифрактограммы смеси исходных реагентов для получения ГА после механохимической обработки длительностью от 3 до 40 мин. Вертикальные полосы внизу графика соответствуют рефлексам ГА карточки 40–11–9308 ICDD (PDF-4, 2011).

Стоит отметить, что при механической активации порошка  $\text{CaHPO}_4$  в индивидуальном виде (без добавления  $\text{CaO}$ ) рефлексы  $\text{CaHPO}_4$  перестают изменяться при обработке свыше 10 мин, сохраняясь до 20 мин включительно (Рисунок 3.2). В случае обработки смеси  $\text{CaO}$  и  $\text{CaHPO}_4$  рефлексы  $\text{CaHPO}_4$  полностью исчезают уже после 15 мин, что является дополнительным доказательством наличия реакции взаимодействия измельченных реагентов с образованием новой фазы. Однако рефлексы  $\text{CaO}$  еще присутствуют в образце после 15 мин обработки. Исходя из литературных данных [15] можно полагать, что рефлексы фазы ГА, наблюдаемые при малых временах обработки (менее 20 мин), относятся к фазе дефицитного по

кальцию ГА, который является промежуточным продуктом синтеза. При дальнейшей механической обработке происходит насыщение структуры ГА катионами кальция (из реагента CaO) до стехиометрического состояния.

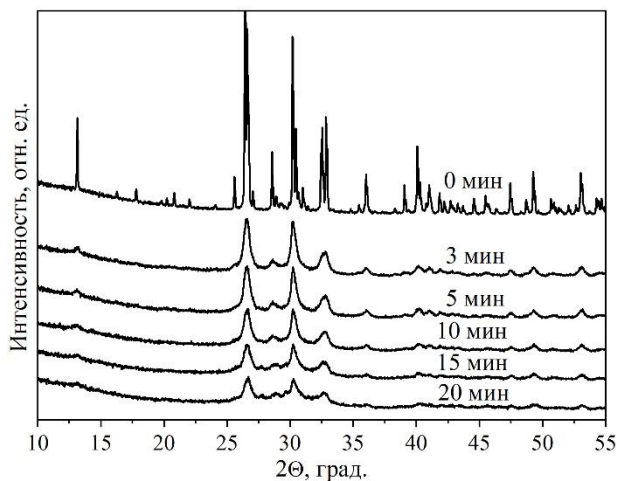
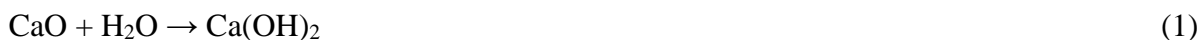
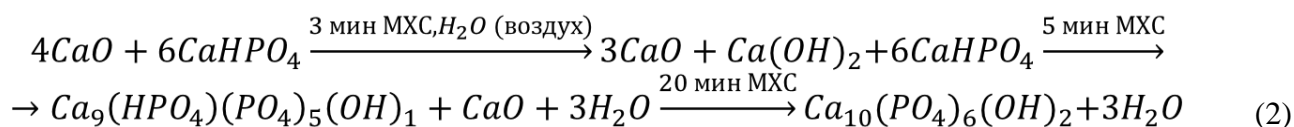


Рисунок 3.2 – Дифрактограммы исходного CaHPO<sub>4</sub> после механохимической обработки длительностью от 3 до 20 мин.

Как видно из рисунка 3.1, при первых минутах обработки смеси реагентов часть оксида кальция превращается в гидроксид за счет взаимодействия с молекулами воды из воздуха по реакции 1:



Затем происходит взаимодействие Ca(OH)<sub>2</sub> с CaHPO<sub>4</sub> с выделением молекул воды (реакция нейтрализации). Наглядно механизм взаимодействия представлен на рисунке 3.3. При механическом воздействии происходит сдвиговая пластическая деформация в слоистой структуре CaHPO<sub>4</sub> вдоль плоскости скольжения (200) (Рисунок 3.3, а). На данной плоскости локализованы водороды HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-группы. Затем происходит «мягкий» МХС, при котором свежесформированные поверхности CaHPO<sub>4</sub> реагируют с поверхностью гидроксида кальция с формированием ГА (Рисунок 3.3, в) через стадию образования дефицитного по кальцию ГА по реакции 2:



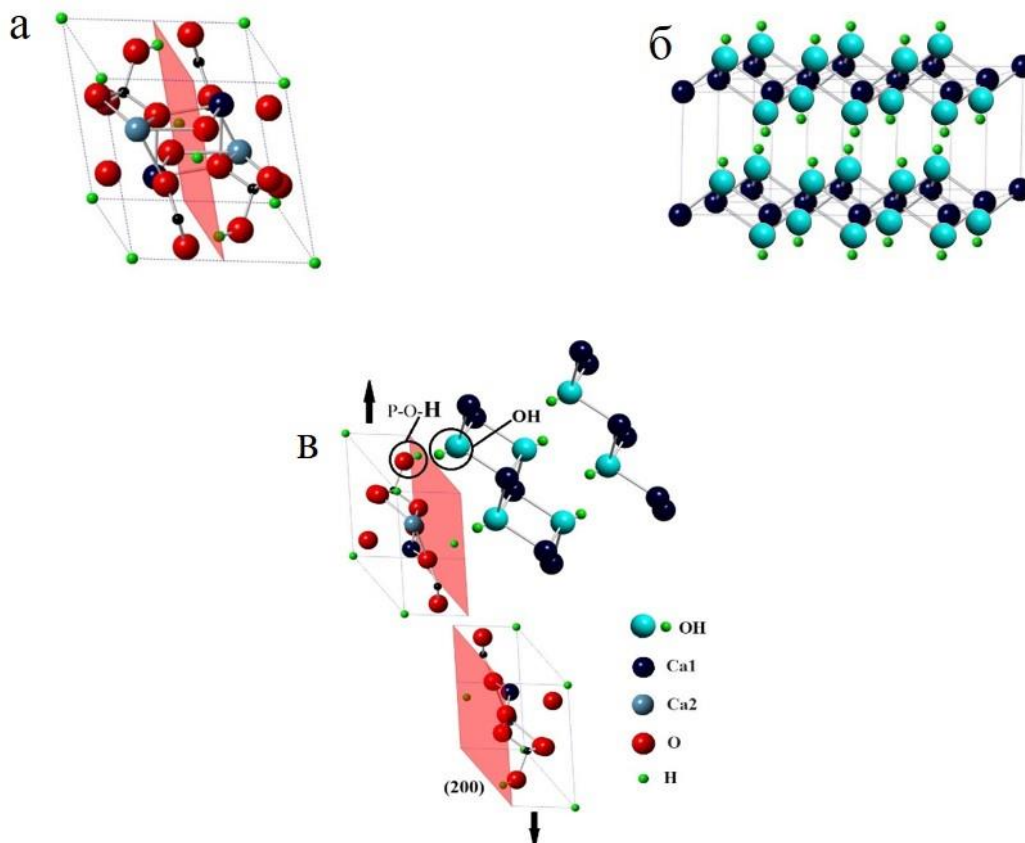


Рисунок 3.3 – Структура  $\text{CaHPO}_4$  (а), структура  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (б) и схема их взаимодействия (в) при сдвиговой деформации слоев  $\text{CaHPO}_4$ .

Таким образом, из данных рисунка 3.1 можно заключить, что при механохимическом способе получения стехиометрического ГА однофазный продукт образуется после 20 мин обработки.

Рисунок 3.4 иллюстрирует динамику дифрактограмм замещенных образцов 1-LaSi-Ап и 6-LaSi-Ап при механической обработке. Видно, что в образце 1-LaSi-Ап рефлексы апатита появляются после 5 мин обработки, при этом рефлексы исходных реагентов сохраняются до 15 мин, также как и в незамещенном ГА. После 20 мин МХС фазовый состав образца перестает меняться, все наблюдаемые рефлексы относятся к фазе ГА. Следовательно, полная конверсия исходных реагентов для получения 1-LaSi-Ап происходит при 20 мин МХС.

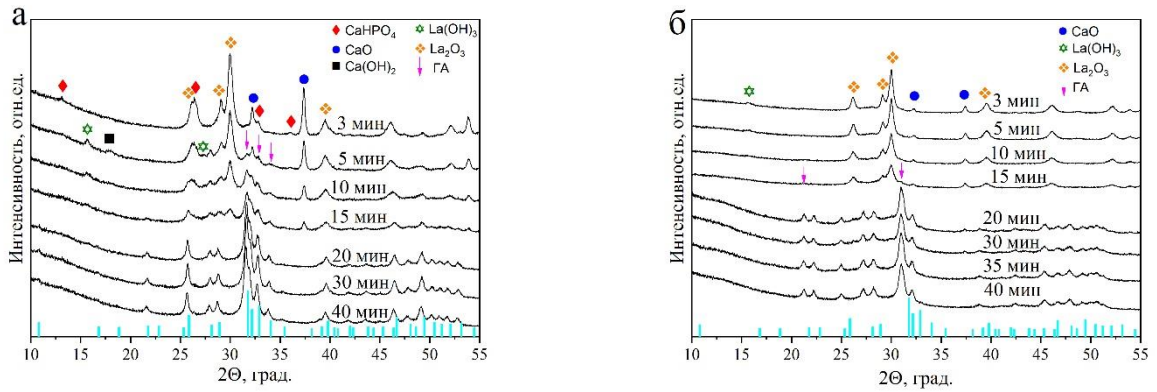


Рисунок 3.4 – Дифрактограммы смеси исходных реагентов для получения образцов 1-LaSi-Ап (а) и 6-LaSi-Ап (б) после механической обработки длительностью до 40 мин. Вертикальные полосы внизу графика соответствуют рефлексам ГА карточки 40–11–9308 ICDD (PDF-4, 2011).

При максимальной концентрации заместителей ( $x = 6,0$ , образец 6-LaSi-Ап) взаимодействие реагентов идет гораздо медленнее, т.к. самый интенсивный рефлекс апатита ( $31,5^\circ 2\theta$ ) начинает появляться только при 15 мин механической обработки, а рефлексы исходных реагентов сохраняются до 30 мин обработки (Рисунок 3.4 б). Следовательно, чем больше концентрация вводимых заместителей, тем сложнее процесс формирования структуры апатита, и для синтеза 6-LaSi-Ап необходима более длительная обработка порошковой смеси. Данный синтез отличается от остальных тем, что в реакционной смеси не участвует  $\text{CaHPO}_4$  (Таблица 2.1), который является кислой солью и играет важную роль в реакции нейтрализации. Поэтому для МХС 6-LaSi-Ап требуется более длительное механическое воздействие на реакционную смесь. При этом положение рефлексов сформированной фазы замещенного апатита значительно отличается от положения рефлексов стехиометрического ГА из базы данных PDF-4 (Рисунок 3.4 б). Все рефлексы замещенного ГА смещены в область малых углов, что указывает на значительно большие параметры элементарной ячейки, чем у стехиометрического ГА.

По полученным дифрактограммам было проведено уточнение параметров элементарной ячейки, ее объема и ОКР (Рисунок 3.5). Установлено, что для ГА параметры  $a$  и  $c$  немного падают с увеличением длительности механической обработки, затем после 20 мин МХС параметры выходят на плато при значениях  $a = 9,433$  и  $c = 6,895$  Å. Для замещенных апатитов 1-LaSi-Ап и 6-LaSi-Ап наблюдается интенсивный рост параметров с увеличением времени обработки, значения параметров выходят на плато при  $a = 9,481$ ,  $c = 6,934$  Å и  $a = 9,666$ ,  $c = 7,134$  Å, соответственно. Поведение параметров для ГА объясняется тем, что в первые минуты МХС формируются зародыши дефицитного по кальцию ГА, параметры решетки которого больше значений стехиометрического ГА [36]. При дальнейшей механической обработке

происходит процесс постепенного внедрения в решетку ГА недостающих катионов кальция, что и приводит к постепенному уменьшению параметров. В случае замещенных апатитов параметры элементарной ячейки имеют большие значения, чем у стехиометрического ГА, что обусловлено наличием в структуре ионов лантана ( $R_{La^{3+}} = 1,02 \text{ \AA}$ ) и кремния ( $R_{Si^{4+}} = 0,42 \text{ \AA}$ ) с значительно бóльшими ионными радиусами, по сравнению с ионами кальция ( $R_{Ca^{2+}} = 0,99 \text{ \AA}$ ) и фосфора ( $R_{P^{5+}} = 0,35 \text{ \AA}$ ) [233].

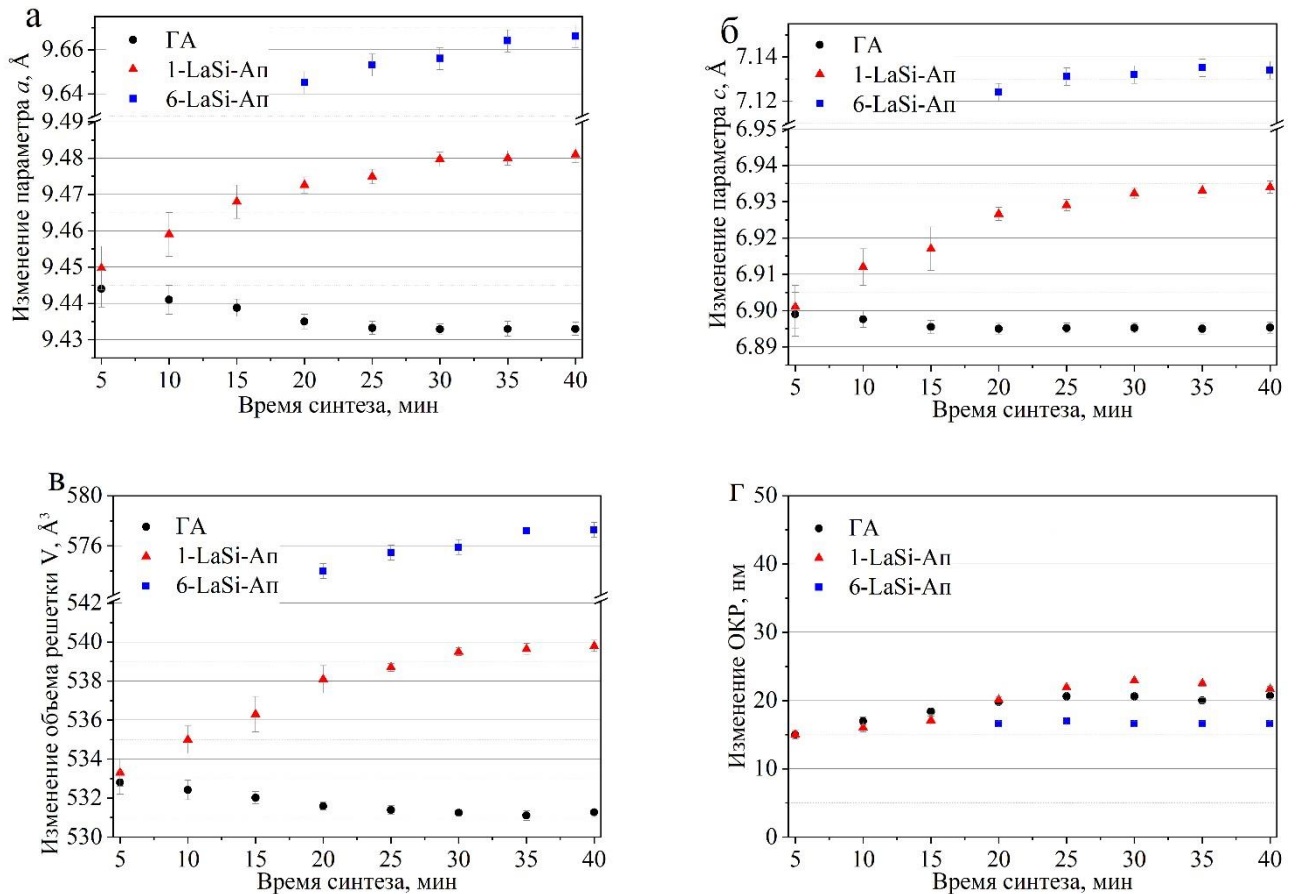


Рисунок 3.5 – Изменение параметров элементарной ячейки  $a$  (а) и  $c$  (б), ее объема (в) и ОКР (г) фазы апатита в зависимости от длительности синтеза для образцов ГА, 1-LaSi-Ап и 6-LaSi-Ап.

Значение объема элементарной ячейки фазы ГА в исследуемых образцах изменяется аналогично параметрам  $a$  и  $c$ , тогда как ОКР меняется слабо. С увеличением времени МХС до 25 мин происходит небольшой рост размера кристаллитов, затем достигается плато с разницей в значениях между образцами в пределах 5 нм относительно незамещенного образца.

Изменения параметров решетки апатита, происходящие во время механической обработки, указывают на незавершенность процесса МХС. Прекращение изменений, т.е. выход на плато, является индикатором конца процесса формирования структуры апатита. В связи с этим можно сделать вывод, что синтез незамещенного ГА завершается после 30 мин

механической обработки, а для замещенных апатитов необходимо 40 мин [234]. Данные значения превышают величины времен, установленных по результатам РФА (Рисунки 3.1, 3.4, 3.5).

### 3.1.2 Инфракрасная спектроскопия

На ИК-спектрах реакционных смесей образцов ГА и 1-LaSi-Ап после 5 минут обработки (Рисунок 3.6) присутствуют полосы поглощения  $\text{CaHPO}_4$  ( $568, 893, 1067, 1136 \text{ см}^{-1}$ ) и  $\text{Ca(OH)}_2$  ( $3646 \text{ см}^{-1}$ ) [15], что согласуется с данными РФА, приведенными выше. Постепенно, с увеличением времени обработки спектры трансформируются, приобретая вид, характерный для ГА. Конечный продукт образуется при 20 мин МХС как в случае синтеза ГА, так и в случае замещенного образца 1-LaSi-Ап (Рисунок 3.6). При дальнейшем увеличении времени обработки спектры не меняются. Полученные продукты имеют полосы поглощения деформационных колебаний связи О-Р-О фосфатной группы ГА с волновыми числами  $570$  и  $600 \text{ см}^{-1}$ , полосы валентных колебаний Р-О фосфатной группы с волновыми числами  $961, 1048$  и  $1090 \text{ см}^{-1}$ , а также либрационные и валентные колебания ОН-групп, расположенных на оси  $b_3$  структуры ГА, с волновыми числами  $631$  и  $3574 \text{ см}^{-1}$ , соответственно. На рисунке 3.7, б ИК-спектр образца 1-LaSi-Ап кроме полос фосфатного тетраэдра ГА, имеет еще и полосу на  $888 \text{ см}^{-1}$ , относящуюся к колебаниям силикатной группы [148], при этом не наблюдается полос колебаний гидроксильной группы. В соответствии с реакцией синтеза для данного образца, приведенной в таблице 2.1, в образце 1-LaSi-Ап содержание гидроксильных групп должно быть в 4 раза меньше, следовательно, интенсивность полос ОН-группы должна быть в 4 раза меньше. Вероятно, при такой низкой концентрации данные полосы не проявляются в ИК-спектрах данного материала.

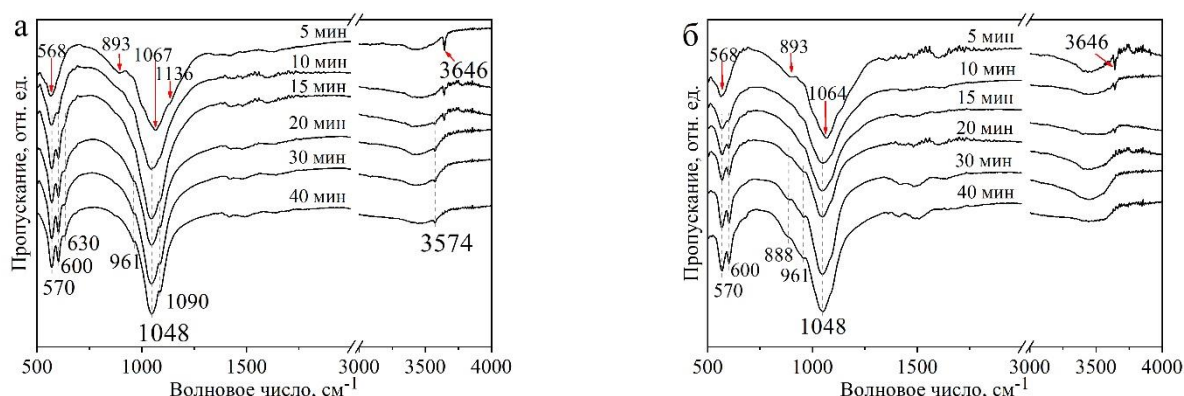


Рисунок 3.6 – ИК-спектры смеси исходных реагентов для получения образцов ГА (а) и 1-LaSi-Ап (б) после механической обработки длительностью от 5 до 40 мин.

Таким образом можно заключить, что полученные данные указывают на необходимость более длительной механической обработки смеси реагентов при высокой концентрации вводимых ионов заместителей. В связи с этим синтез всех образцов с катион-анионным замещением, результаты которого приведены ниже, проводился при 40 мин обработки.

### 3.2 Механохимический синтез образцов с разной концентрацией заместителей

#### 3.2.1 Электронная микроскопия

При сравнении СЭМ-изображений смесей исходных реагентов до и после механической обработки (Рисунок 3.7) установлено, что при МХС происходит изменение морфологии частиц. До МХС наблюдаются частицы разной формы, имеющие огранку и без нее, размер частиц изменяется от 5 до 20 мкм. После МХС огранка частиц исчезает, наблюдается образование агломератов, размер которых доходит до 50 мкм.

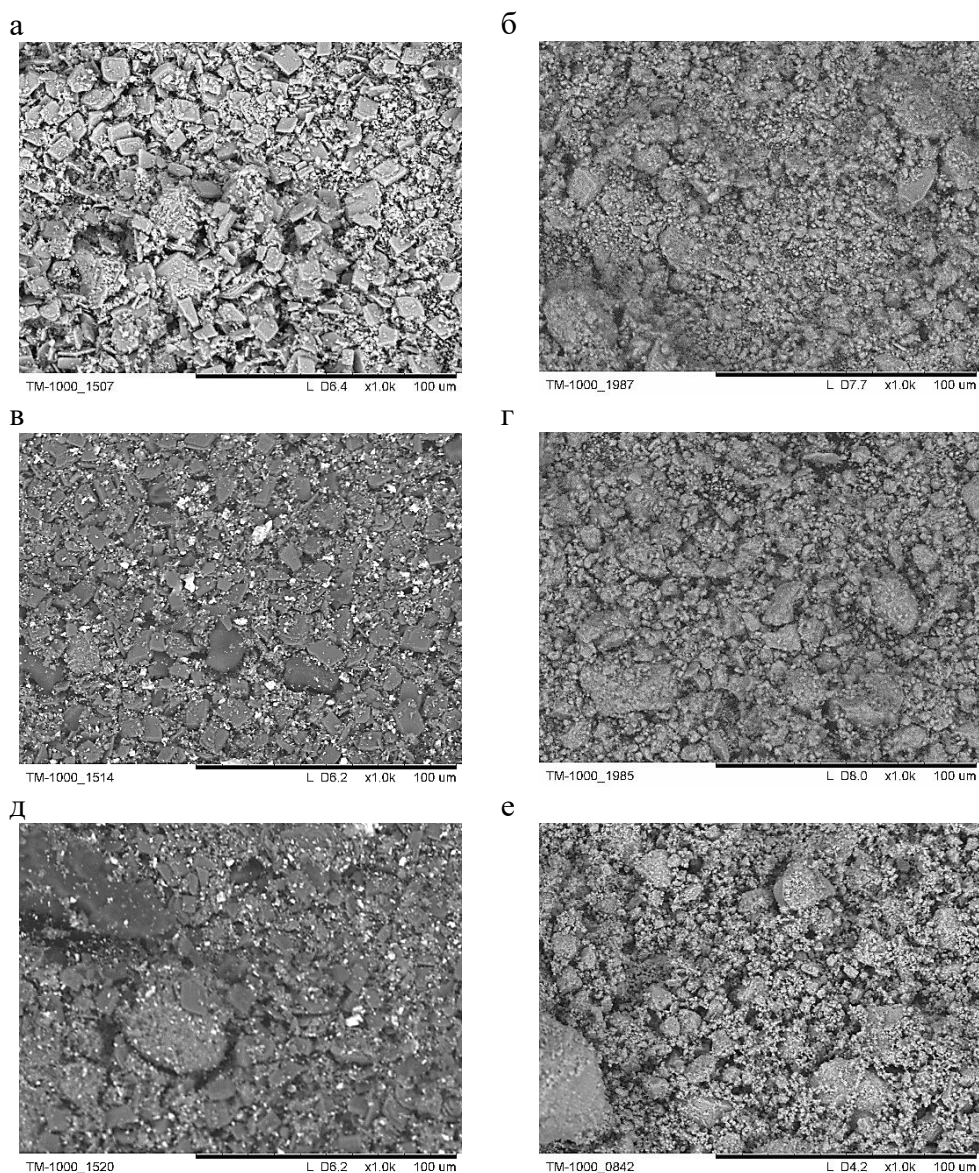


Рисунок 3.7 – СЭМ-изображения порошков смесей исходных реагентов до механической обработки и после 40 мин МХС, соответственно: ГА (а, б), 1-LaSi-Ап (в, г), 6-LaSi-Ап (д, е).



При сравнении данных элементного анализа (Таблица 3.1) смеси исходных реагентов и порошков после механической обработки в течение 40 мин можно сделать вывод, что концентрация ионов в процессе МХС не изменяется.

Таблица 3.1. Концентрации (С) элементов, зарегистрированных в исследуемых образцах до и после механической обработки в течение 40 мин ЭДРМ анализ.

Образец	C(Ca), вес.%		C(La), вес.%		C(P), вес.%		C(Si), вес.%	
	до	после	до	после	до	после	до	после
ГА	74,9(8)	72,2(5)	–	–	25,1(8)	27,8(5)	–	–
1-LaSi-Ап	55,6(9)	54,6(6)	22,9(8)	21,5(7)	19,0(5)	18,4(8)	3,7(8)	4,5(7)
6-LaSi-Ап	15,8(3)	15,1(2)	74,8(2)	74,6(3)	–	–	9,4(2)	10,3(5)

На ПЭМ-изображениях синтезированных образцов были зарегистрированы частицы размером 20-50 нм (Рисунок 3.10, а, б). На ПЭМ-изображениях высокого разрешения (ВРПЭМ) видно, что частицы имеют кристаллическую структуру. Размер ОКР находится в диапазоне 10-20 нм.

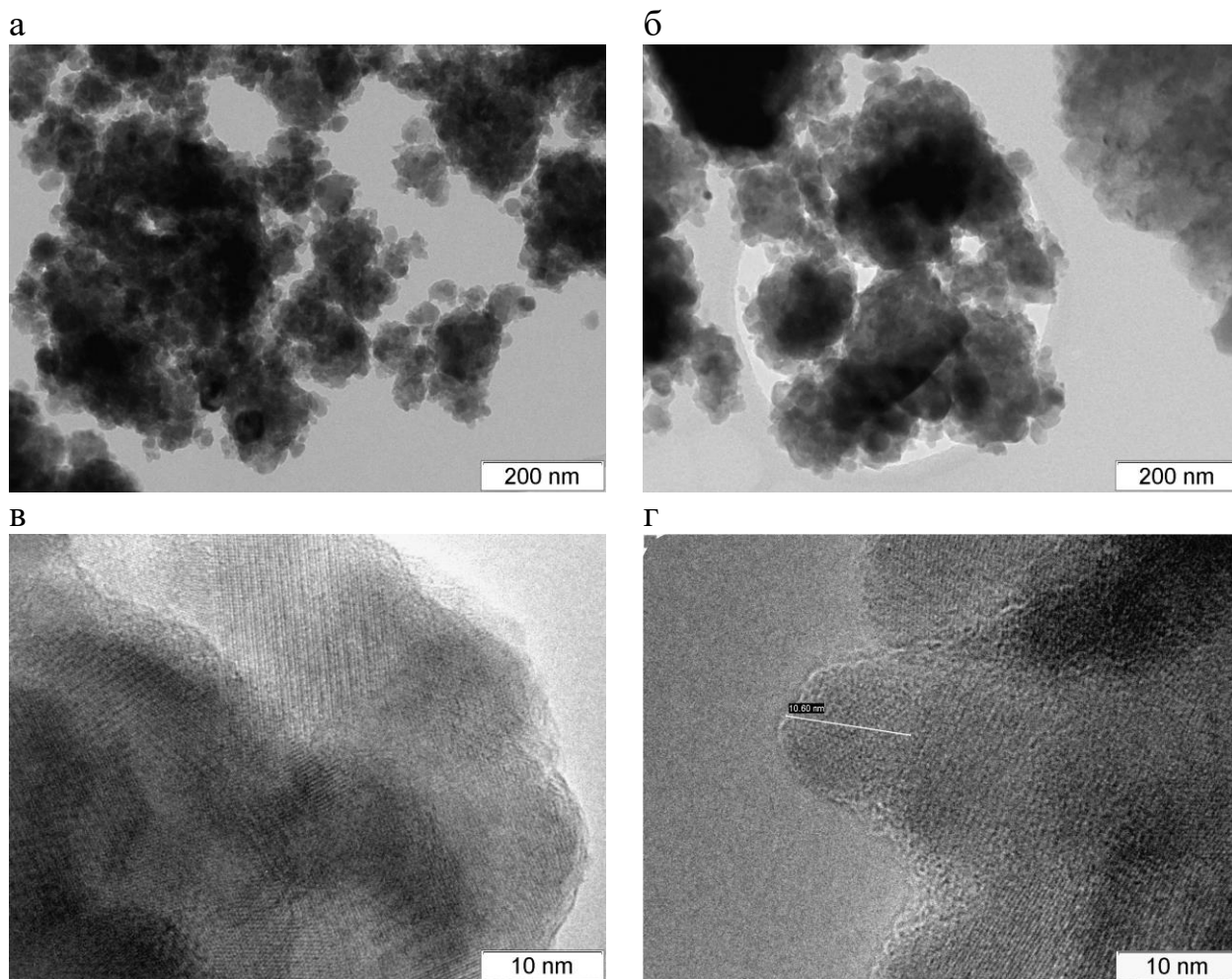


Рисунок 3.8 – ПЭМ (а, б) и ВРПЭМ-изображения (в, г) порошков ГА (а, в) и 1-LaSi-Ап (б, г) после 40 мин МХС.

### 3.2.2 Атомно-абсорбционный анализ железа в синтезированных образцах

Для оценки эффективности футеровки был проведен атомно-абсорбционный анализ концентрации железа в образцах после 40 мин МХС с заранее проведенной футеровкой стальных барабанов и без нее. Результаты данного анализа приведены в таблице 3.2. Видно, что футеровка значительно уменьшает концентрацию железа в продукте синтеза. В незамещенном образце концентрация снижается в 7 раз, однако с увеличением концентрации введенных заместителей натир увеличивается. Данное наблюдение можно объяснить тем, что источником ионов кремния в данной работе служил 0,7 водный оксид кремния, который является очень слабой кислотой, а кислоты, как известно, реагируют с металлом. С увеличением концентрации кремниевой кислоты в исходной смеси увеличивается концентрация продукта реакции кремниевой кислоты и железа, однако концентрация этого продукта весьма мала, поэтому он не детектируется на дифрактограммах.

Таблица 3.2. Концентрация железа в продукте синтеза (40 мин механической обработки) по данным атомно-абсорбционного анализа.

Образец	C(Fe), вес. %		Соотношение БФ/Ф
	Без футеровки (БФ)	С футеровкой (Ф)	
ГА	0,125(8)	0,037(1)	6,8
1-LaSi-Ап	0,130(7)	0,050(1)	2,6
6-LaSi-Ап	0,099(6)	0,058(3)	1,7

Таким образом можно заключить, что проведение футеровки стенок барабана и шаров является необходимым условием при проведении механохимического синтеза апатитов. По данным атомно-абсорбционного анализа футеровка позволяет уменьшить концентрацию железа в продукте синтеза в 2 – 7 раза, в зависимости от концентрации ионов заместителей.

### 3.2.3 Рентгенофазовый анализ

Сравнение дифрактограмм полученных соединений серии LaSi-Ап с разной концентрацией заместителей после 40 мин МХС приведено на рисунке 3.9, а. С ростом концентрации вводимых заместителей наблюдается постепенное смещение рефлексов в сторону меньших углов, что указывает на увеличение параметров решетки. Кроме того, с увеличением концентрации вводимых ионов меняется соотношение интенсивностей рефлексов фазы ГА. Большинство рефлексов уменьшают свою интенсивность, однако имеется рефлекс (111), который сначала исчезает, а позже появляется. Интенсивность рефлексов (200), (102), (210) и (120) не меняется при введении заместителей. Согласно данным порошковой базы ICDD

(PDF-4, 2011), дифрактограмма образца 6-LaSi-Ап соответствует структуре  $\text{Ca}_4\text{La}_6(\text{SiO}_4)_6\text{O}$  (PDF 040-07-9090), что согласуется с предполагаемой химической формулой (Таблица 2.1). Дальнейшее увеличение концентрации заместителей невозможно в связи с достигнутым пределом по концентрации силиката.

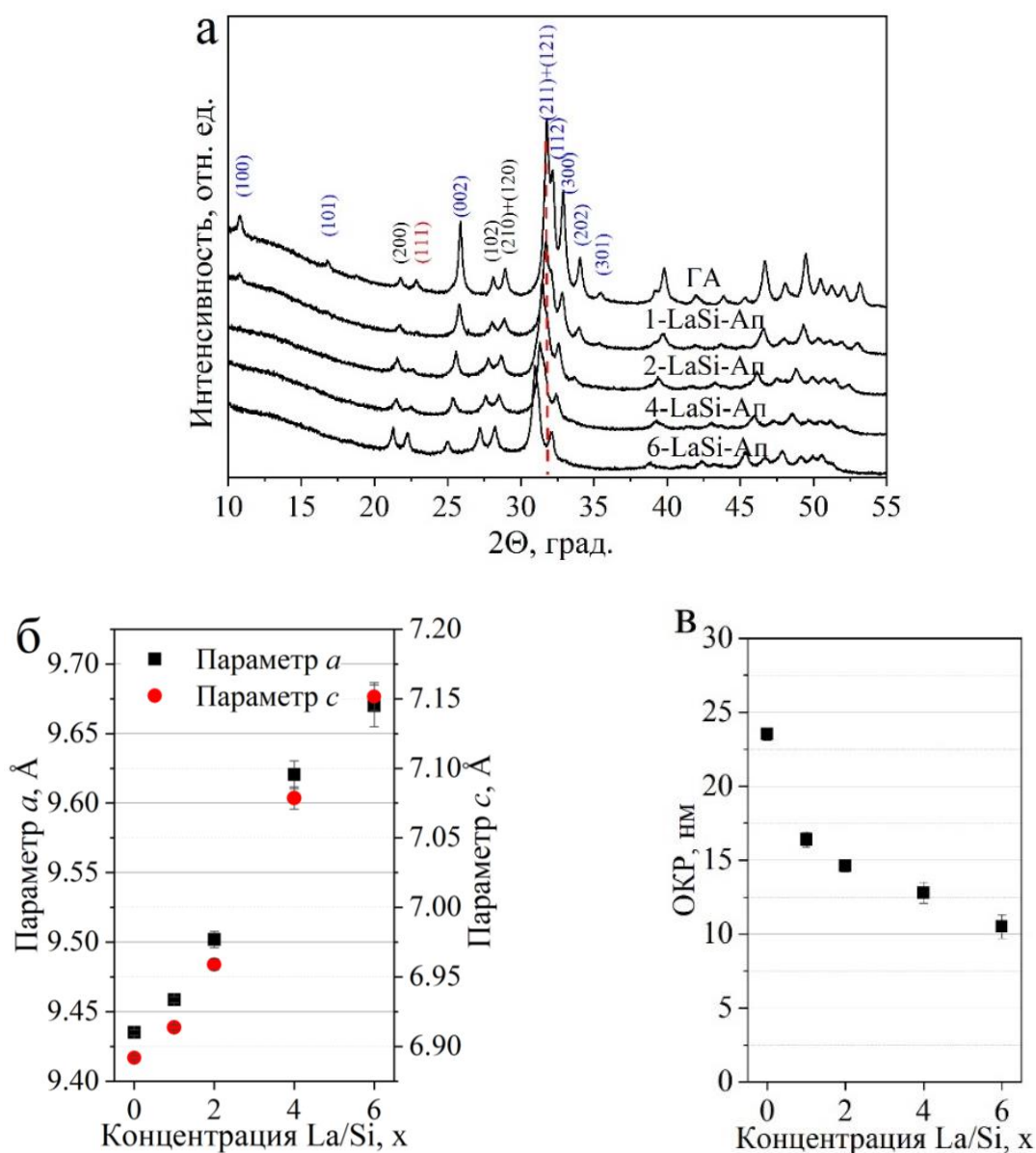


Рисунок 3.9 – Дифрактограммы (а), параметры элементарной ячейки  $a$  и  $c$  (б) и ОКР (в) образцов серии LaSi-Ап после 40 мин синтеза.

На рисунке 3.9, б показано, что параметры элементарной ячейки замещенного ГА увеличиваются с увеличением концентрации введенных заместителей, что согласуется с предположением, сделанным на основе изменения положений рефлексов на дифрактограммах.

С ростом концентрации заместителей размер кристаллитов уменьшается до 10 нм при  $x = 6,0$  (Рисунок 3.9, в). При моделировании профиля рефлексов с учетом вклада в ширину

рефлекса не только малого размера кристаллитов, но и микронапряжений, получены малые значения, близкие к величине стандартного отклонения, что указывает на отсутствие микронапряжений в структуре механохимически синтезированных образцов.

### 3.2.4 Инфракрасная спектроскопия

Сравнение ИК-спектров образцов с разной концентрацией лантана и кремния (Рисунок 3.10) показало, что с ростом концентрации заместителей наблюдается существенное изменение характера спектров. Полосы поглощения фосфатной группы (570, 600, 960, 1048, 1088  $\text{см}^{-1}$ ) с увеличением концентрации заместителей в образце уменьшаются, что согласуется с изменением состава образцов (см. Таблицу 2.1), при этом появляются полосы силикатной группы в структуре апатита при 880 и 940  $\text{см}^{-1}$  (образец 2-LaSi-Ап), которые трансформируются в полосы при 880 и 960  $\text{см}^{-1}$  (образцы 4-LaSi-Ап и 6-LaSi-Ап) с другим соотношением интенсивностей. Также на ИК-спектрах замещенных образцов присутствуют слабо выраженные полосы группы  $\text{CO}_3^{2-}$  с волновыми числами 1412 и 1491  $\text{см}^{-1}$ .

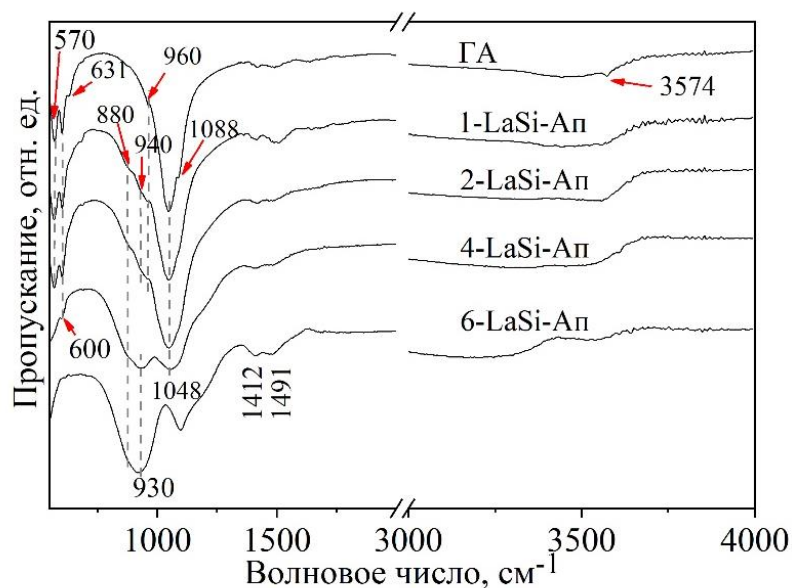


Рисунок 3.10 –ИК-спектры образцов серии LaSi-Ап после 40 мин синтеза.

## 3.3 Термическая стабильность

### 3.3.1 Инфракрасная спектроскопия

Исследование термической стабильности образцов серии LaSi-Ап, полученных механохимическим способом, проводилось для таблетированных образцов диаметром 1 см массой 0,7 г. Отжиг образцов проводился при температурах 1000, 1100, 1200, 1300, 1400 и 1500  $^{\circ}\text{C}$  в течение 2 ч.

На рисунке 3.11 приведены ИК-спектры отожженных образцов. При сравнении ИК-спектров для всех образцов можно отметить уширение наблюдаемых полос поглощения с ростом температуры отжига, что указывает на рост кристаллитов. Новых полос поглощения либо смещения не наблюдается. Стоит отметить, что для образца незамещенного ГА ( $x = 0$ ), нагретого выше  $1200\text{ }^\circ\text{C}$ , наблюдается также исчезновение полос поглощения либрационных и валентных колебаний ОН-группы ( $633, 3572\text{ см}^{-1}$ ). Данное явление объясняется тем, что при высоких температурах происходит дегидроксилирование образца и гидроксиапатит переходит в окси-форму (оксиапатит) с сохранением гексагональной структуры [47]. На ИК-спектрах замещенных апатитов такое явление не наблюдается, поскольку замещенные образцы изначально (после МХС) были оксиапатитами (Таблица 2.1). В данных образцах наблюдается замещение гидроксильной группы на анион  $\text{O}^{2-}$ :  $2(\text{OH})^- = \text{V}_{\text{OH}}^+ + \text{O}^{2-} + \text{H}_2\text{O}$ . В результате этого уже при  $x = 2,0$  апатит имеет состав, не содержащий гидроксильных групп:  $\text{Ca}_8\text{La}_2(\text{PO}_4)_4(\text{SiO}_4)_2\text{O}$  (Таблица 2.1).

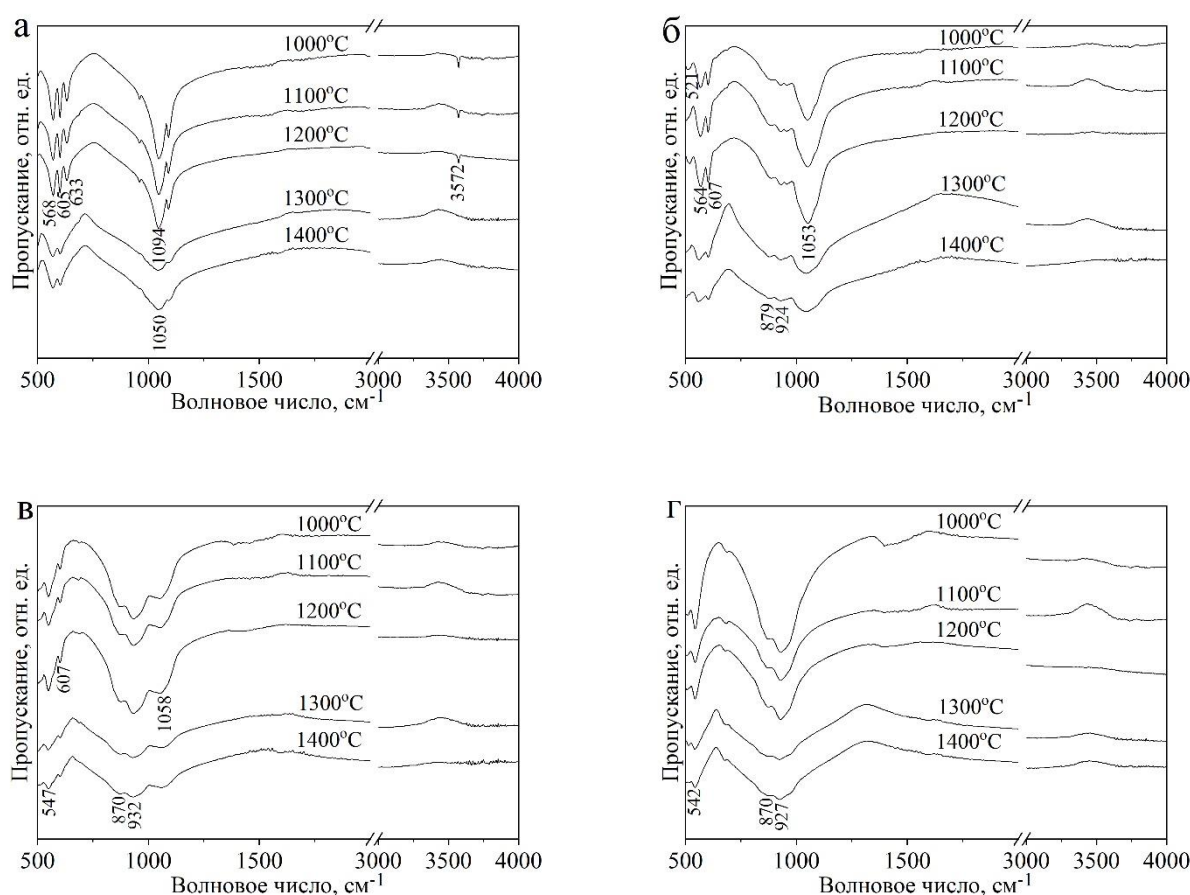


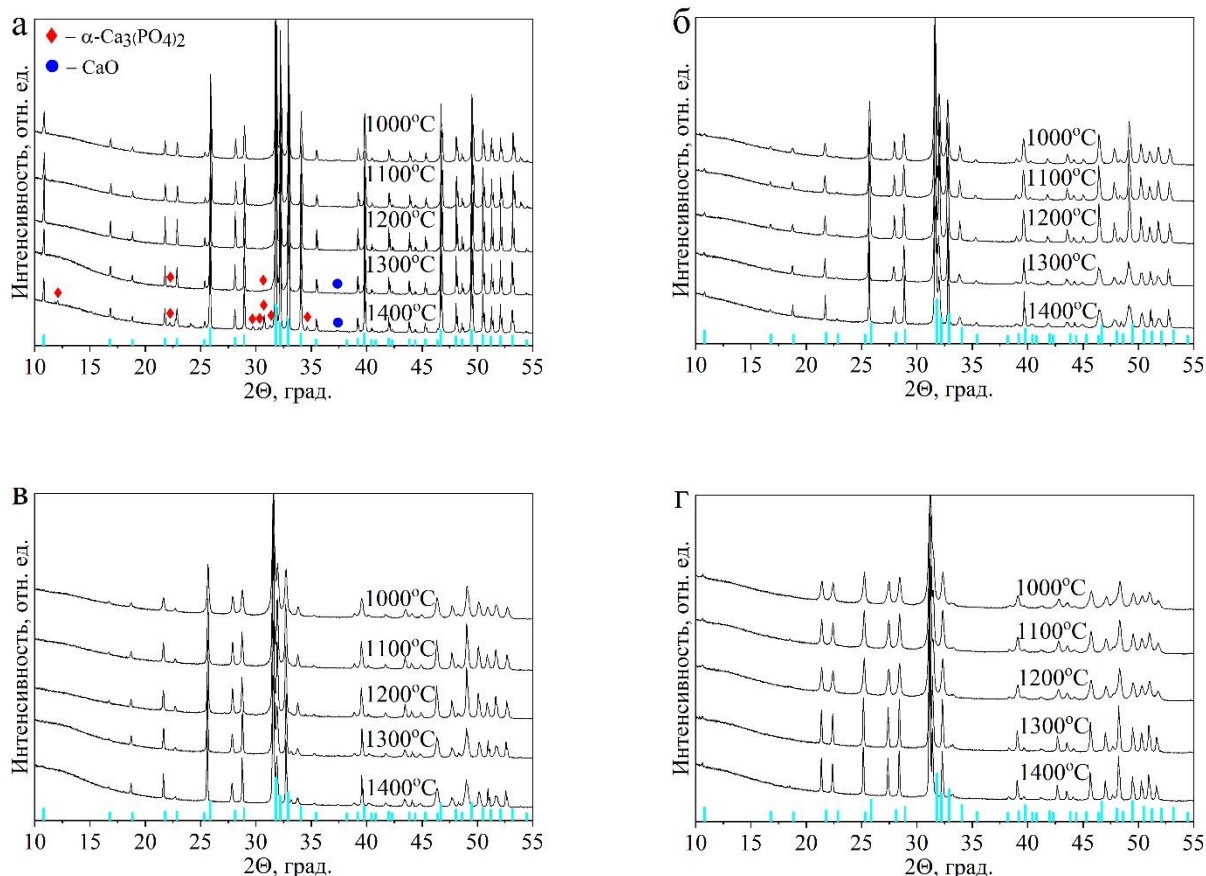
Рисунок 3.11 – ИК-спектры отожженных образцов серии LaSi-Ап: ГА (а), 2-LaSi-Ап (б), 4-LaSi-Ап (в) и 6-LaSi-Ап (г).

### 3.3.2 Рентгенофазовый анализ

На дифрактограммах незамещенного ГА после отжига при 1300 и 1400 °С (Рисунок 3.12) кроме рефлексов фазы ГА были зарегистрированы рефлексы, соответствующие структурам  $\alpha$ -ТКФ и СаО. Результаты количественного анализа показали присутствие 3 вес.%  $\beta$ -ТКФ и 1 вес.% СаО при 1300 °С, и 8 вес.%  $\alpha$ -ТКФ и 2 вес.% СаО при 1400 °С. Наличие данной фазы указывает на процесс частичного разложения ГА [60], при котором на поверхности частиц происходит формирование твердых фаз по реакции 3:



На дифрактограммах замещенных апатитов рефлексов примесных фаз не наблюдается (Рисунок 3.12), следовательно, образцы однофазны при всех температурах отжига.



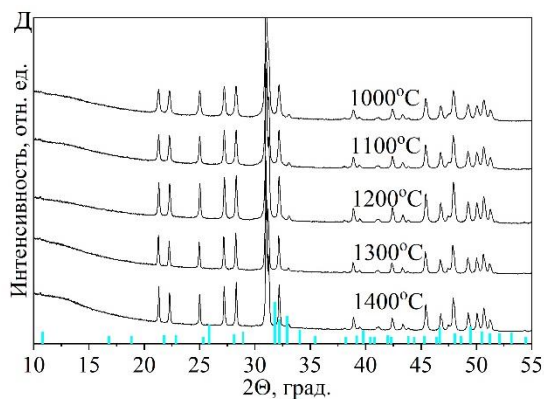


Рисунок 3.12 – Дифрактограммы отожженных образцов серии LaSi-Ап: ГА (а), 1-LaSi-Ап (б), 2-LaSi-Ап (в), 4-LaSi-Ап (г) и 6-LaSi-Ап (д). Вертикальные полосы внизу графика соответствуют рефлексам ГА карточки PDF 40–11–9308 ICDD (PDF-4, 2011).

Параметры решетки  $a$ ,  $c$  и ОКР отожженных образцов серии LaSi-Ап представлены на рисунке 3.13. С ростом температуры отжига наблюдаются изменения в параметрах незамещенного ГА: при 1300 °С параметр  $a$  уменьшается, а параметр  $c$  увеличивается. Это можно объяснять частичной потерей гидроксильных групп, что согласуется с данными ИК-спектроскопии, приведенными в разделе 3.3.1. При полном дегидроксилировании происходит искажение кристаллической решетки апатита (переход в оксиформу), содержащей в гексагональном канале анионы  $O^{2-}$ , чередующиеся с вакансиями [191]. Такой апатит имеет меньший параметр решетки  $a$  и больший параметр  $c$  по сравнению с ГА [33].

Подобная динамика параметров, но менее ярко выраженная, наблюдается для замещенных образцов. В соответствии с химической формулой синтезированных соединений (Таблица 2.1), а также данными ИК-спектроскопии (Рисунок 3.11), в этих образцах не содержатся ОН-группы, соответственно дегидроксилирования при температурах 1200 и 1300 °С быть не может. Очевидно, в данных образцах происходят аналогичные структурные искажения, которые наблюдаются при переходе апатита в окси-состояние (поворот тетраэдров, смещение катионов) [33].

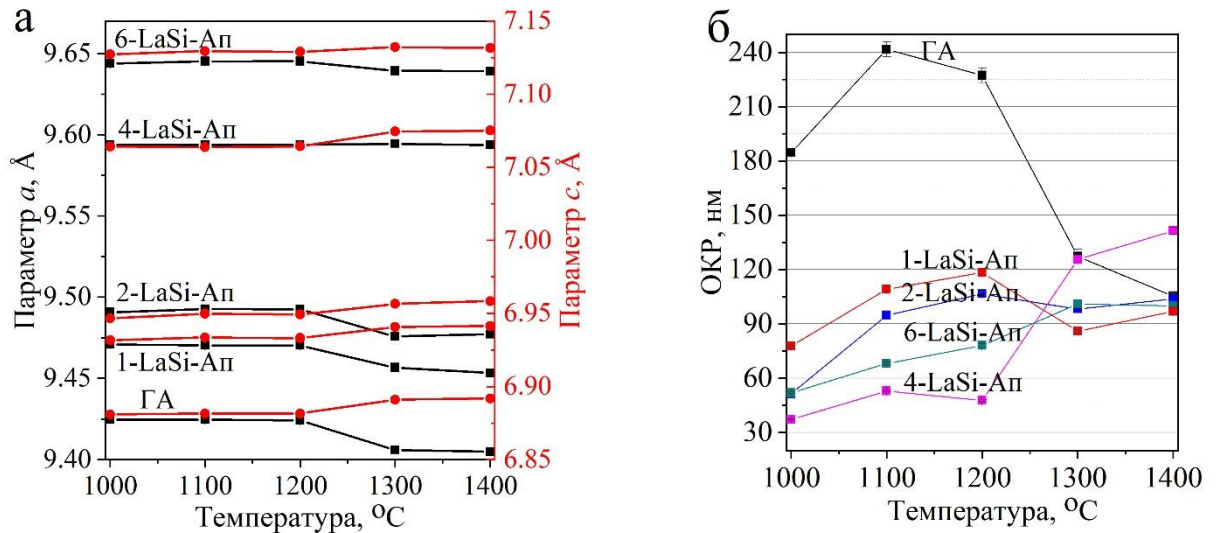


Рисунок 3.13 – Изменение параметров решетки (а) и ОКР (б) отожженных образцов серии LaSi-Ап.

С ростом температуры отжига величина ОКР образцов апатита должна увеличиваться, т.к. при высоких температурах в керамических материалах идет рекристаллизация. Из рисунка 3.13, б видно, что ОКР незамещенного ГА увеличивается до 1100 °С, а затем начинает уменьшаться, что связано с дегидроксилированием поверхностного слоя частиц и разложением при 1300°С. ОКР замещенных апатитов также имеет в точке  $T = 1300$  °С изменение динамики во всех образцах, но менее выраженное, что согласуется с изменением параметров элементарной ячейки (Рисунок 3.13, а).

Исходя из вышеизложенного можно заключить, что лантан-силикат-замещенные апатиты имеют более высокую термостабильность по сравнению с незамещенным ГА. Они устойчивы вплоть до температуры 1400 °С. Нагрев до более высоких температур не проводился в связи с ограничением по максимально допустимой температуре в печи.

### 3.4 Кристаллическая структура

Поскольку полученные МХС образцы серии LaSi-Ап имеют ОКР меньше 20 нм, а для уточнения кристаллической структуры необходимы образцы с высокой степенью кристалличности, то анализ структуры проводился для образцов после прокалики при 1200 °С.

При сравнении дифрактограмм образцов после 1200 °С (Рисунок 3.14) была замечена аналогичная тенденция смещения положения рефлексов и изменения их интенсивности с ростом концентрации заместителя, которая наблюдалась для МХС образцов (Рисунок 3.9, а).



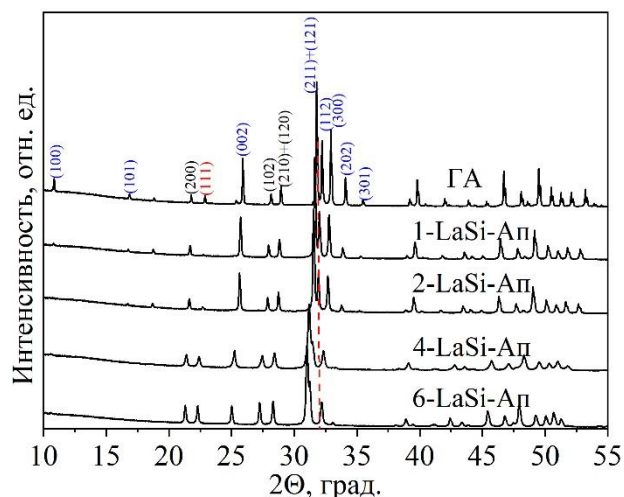


Рисунок 3.14 – Дифрактограммы образцов серии LaSi-Ап, отожженных при 1200 °С.

В данной серии образцов параметры решетки также растут с увеличением концентрации заместителей (Рисунок 3.15, а, б), как и в МХС образцах, однако ОКР имеет немного иную динамику (Рисунок 3.15, в). С увеличением концентрации заместителей до  $x = 4,0$  наблюдается падение ОКР, а при  $x = 6,0$  ОКР увеличивается. При этом микронапряжения имеют зеркально противоположное поведение. Такая динамика может быть связана с наличием ионов заместителей, вносящих локальные искажения в кристаллической решетке. Чем больше концентрация заместителей, тем больше искажение и меньше ОКР. В случае образца 6-LaSi-Ап апатит имеет состав  $\text{Ca}_4\text{La}_6(\text{SiO}_4)_6\text{O}$  – в решетке содержатся только силикатные тетраэдры, элементарные ячейки симметричны по комплексному аниону, поэтому ОКР увеличивается и микронапряжения уменьшаются, однако незначительно, т.к. остается нарушение симметрии по катионам.

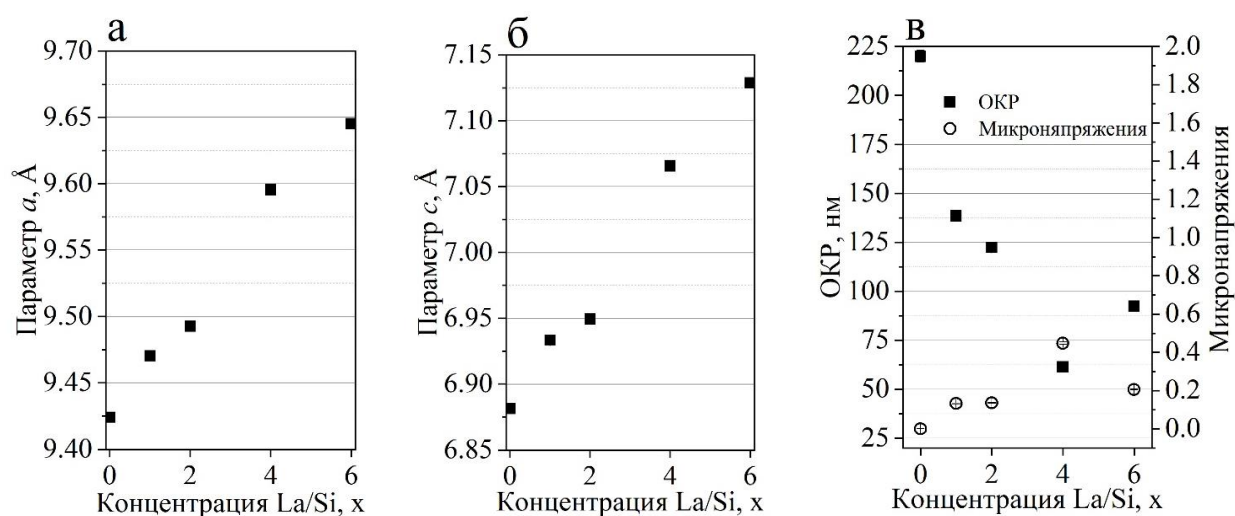


Рисунок 3.15 – Изменение параметров решетки  $a$  (а),  $c$  (б), ОКР и микронапряжений (в) в образцах серии LaSi-Ап, отожженных при 1200 °С.

Результаты полнопрофильного анализа методом Ритвельда приведены на рисунке 3.16. Образцы однофазны, все наблюдаемые рефлексы хорошо описываются профилем единственной фазы ГА, в структуру которой введены ионы заместители. В таблице 3.3 приведены уточненные значения для координат атомов.

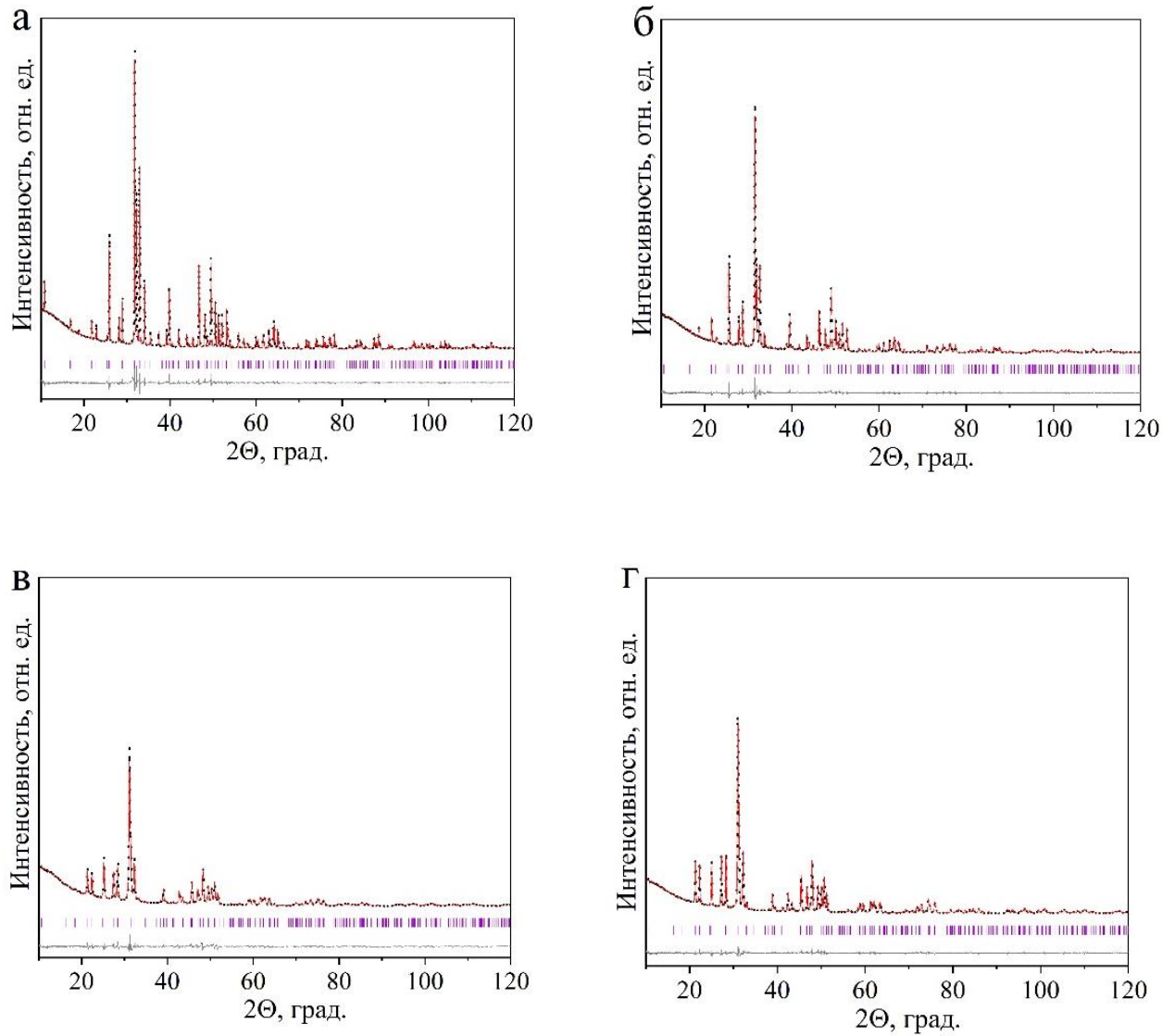


Рисунок 3.16 – Полнопрофильный анализ методом Ритвельда образцов серии LaSi-Ап, отожженных при 1200 °С.

Таблица 3.3. Рассчитанные координаты атомов для замещенных апатитов, отожженных при 1200 °С образцов серии LaSi-Ап.

Атом	Координаты	ГА-1200	1-LaSi-Ап- 1200	2-LaSi-Ап- 1200	4-LaSi-Ап- 1200	6-LaSi-Ап- 1200
Ca1	x	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333
	y	0,6667	0,6667	0,6667	0,6667	0,6667
	z	0,0018(4)	0,0011(6)	0,0000(4)	-0,0028(7)	-0,0054(4)
La1	x	–	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333
	y	–	0,6667	0,6667	0,6667	0,6667
	z	–	0,0011(6)	0,0000(4)	-0,0028(7)	-0,0054(4)
Ca2	x	0,2473(2)	0,2542(5)	0,2544(7)	0,237(3)	0,270(2)
	y	0,9933(3)	0,9963(5)	0,9955(9)	0,987(1)	0,999(5)
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
La2	x	–	0,2276(6)	0,2283(5)	0,2356(7)	0,2336(1)
	y	–	0,9775(6)	0,9808(6)	0,9848(7)	0,9848(2)
	z	–	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
P	x	0,3979(3)	0,3987(2)	0,3999(3)	0,4027(7)	–
	y	0,3681(3)	0,3698(2)	0,3710(3)	0,3745(7)	–
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500	–
Si	x	–	0,3987(2)	0,3999(3)	0,4027(7)	0,3994(5)
	y	–	0,3698(2)	0,3710(3)	0,3745(7)	0,3747(5)
	z	–	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
O1	x	0,3270(6)	0,3292(5)	0,3299(6)	0,3275(9)	0,3313(8)
	y	0,4814(6)	0,4847(5)	0,4853(6)	0,4887(9)	0,4861(8)
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
O2	x	0,5854(6)	0,5848(5)	0,5875(6)	0,5933(8)	0,5870(9)
	y	0,4650(7)	0,4612(5)	0,4624(6)	0,4583(8)	0,4650(9)
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
O3	x	0,3393(4)	0,3397(3)	0,3405(4)	0,3387(7)	0,3361(6)
	y	0,2531(4)	0,2547(3)	0,2564(4)	0,2577(8)	0,2499(6)
	z	0,0678(5)	0,0708(3)	0,0689(4)	0,0611(7)	0,0642(6)
O4	x	0	0	0	0	0
	y	0	0	0	0	0
	z	0,185(2)	0,192(2)	0,195(3)	0,208(4)	0,214(2)
R <sub>wp</sub> /GOF		3,10/1,21	3,91/1,41	4,49/1,63	4,99/1,90	4,12/1,50

Уточнение структуры замещенных образцов показало, что ионы лантана занимают обе позиции ионов кальция (Ca1 и Ca2), образуя позиции La1 и La2 (Рисунок 3.17). Было установлено, что положения ионов лантана La1 совпадают с положением Ca1, что объясняется симметричным ближайшим окружением в данной позиции. В тоже время координаты ионов лантана, находящихся в позиции La2 смещены относительно Ca2, в сторону иона кислорода O4 на оси *c*. Длина связи La2-O4 короче связи Ca2-O4 для всех замещенных апатитов (Таблица 3.4). Подобное поведение описано в работе [120], где исследовалась структура лантан-замещенного ГА. По полученным заселенностям определено, что ионы лантана занимают преимущественно позиции La2. С ростом концентрации вводимых заместителей концентрация ионов лантана, и кремния увеличивается. При этом концентрация ионов фосфора и кальция уменьшается, таким образом подтверждая замещение фосфатных групп силикатными и катионов кальция катионами лантана.

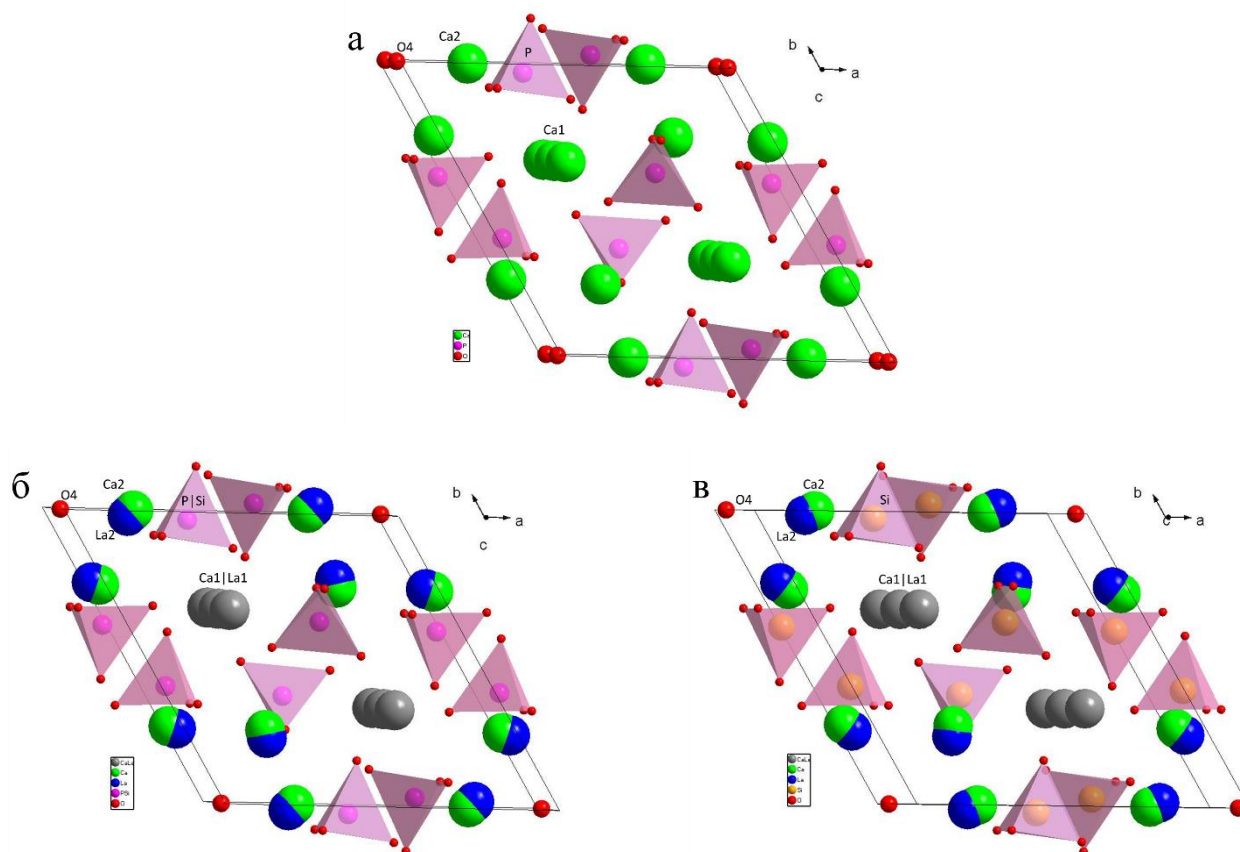


Рисунок 3.17 – Структура элементарной ячейки незамещенного ГА (а), 1-LaSi-Ап (б) и 6-LaSi-Ап (в) отожженных при 1200 °С.

Таблица 3.4. Рассчитанные длины связей и заселенности в структуре апатита для отожженных при 1200 °С образцов серии LaSi-Ап.

Образец	Длина связи, Å		Заселенность					
	Ca2-O4	La2-O4	Ca1	La1	Ca2	La2	P	Si
ГА-1200	2,392(3)	–	1,000(2)	–	1,000(3)	–	1	–
1-LaSi-Ап-1200	2,458(5)	2,305(6)	0,958(2)	0,042(2)	0,841(3)	0,159(3)	0,81	0,19
2-LaSi-Ап-1200	2,467(8)	2,297(6)	0,947(2)	0,053(6)	0,702(3)	0,298(3)	0,65	0,35
4-LaSi-Ап-1200	2,365(3)	2,356(1)	0,813(3)	0,187(3)	0,421(4)	0,579(4)	0,37	0,63
6-LaSi-Ап-1200	2,617(4)	2,344(2)	0,586(4)	0,414(4)	0,254(5)	0,746(5)	–	1

По полученным данным заселенностей были получены формулы синтезированных апатитов и проведено сравнение с номинальными формулами (Таблица 3.5). Полученный формульный состав имеет аналогичный порядок величин концентрации ионов-заместителей, как и в заданном составе. Концентрации ионов лантана практически совпадают с ионами кремния в замещенных образцах [235].

Таблица 3.5. Рассчитанные длины связей и заселенности апатитов, отожженных при 1200 °С.

Образец	Заданный состав		Полученный состав
ГА-1200	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	$\text{Ca}_{10}\text{P}_6\text{O}_{26}$	$\text{Ca}_{10,0}\text{P}_6\text{O}_{26,3}$
1-LaSi-Ап-1200	$\text{Ca}_9\text{La}_1(\text{PO}_4)_5(\text{SiO}_4)_1(\text{OH})_1\text{O}_{0,5}$	$\text{Ca}_9\text{La}_1\text{P}_5\text{Si}_1\text{O}_{25,5}$	$\text{Ca}_{8,9}\text{La}_{1,1}\text{P}_{4,9}\text{Si}_{1,1}\text{O}_{26,2}$
2-LaSi-Ап-1200	$\text{Ca}_8\text{La}_2(\text{PO}_4)_4(\text{SiO}_4)_2\text{O}$	$\text{Ca}_8\text{La}_2\text{P}_4\text{Si}_2\text{O}_{25}$	$\text{Ca}_{8,0}\text{La}_{2,0}\text{P}_{3,9}\text{Si}_{2,1}\text{O}_{26,1}$
4-LaSi-Ап-1200	$\text{Ca}_6\text{La}_4(\text{PO}_4)_2(\text{SiO}_4)_4\text{O}$	$\text{Ca}_6\text{La}_4\text{P}_2\text{Si}_4\text{O}_{25}$	$\text{Ca}_{5,8}\text{La}_{4,2}\text{P}_{2,2}\text{Si}_{3,8}\text{O}_{26,1}$
6-LaSi-Ап-1200	$\text{Ca}_4\text{La}_6(\text{SiO}_4)_6\text{O}$	$\text{Ca}_4\text{La}_6\text{Si}_6\text{O}_{25}$	$\text{Ca}_{3,9}\text{La}_{6,1}\text{Si}_6\text{O}_{26,0}$

### 3.5 Микротвердость

Результаты анализа микротвердости, измеренной по методу Виккерса при нагрузке алмазным индентером 0,9807 Н на таблетированных образцах, отожженных при 1200 °С, приведены на рисунке 3.18. Показано, что при идентичных условиях пробоподготовки у

образцов отличается относительная плотность. У незамещенного ГА-1200 она на ~10 % выше, чем у замещенных. Установлено, что микротвердость 2-LaSi-Ап-1200 ниже, чем у ГА-1200. Максимальная микротвердость наблюдается у образца со степенью замещения  $x = 6,0$ :  $698 \pm 20$   $HV_{0,1}$ . Следовательно, одновременное введение ионов лантана и кремния повышает микротвердость апатита. Таким образом, LaSi-Ап можно рекомендовать для изготовления керамических имплантатов с улучшенными прочностными характеристиками.

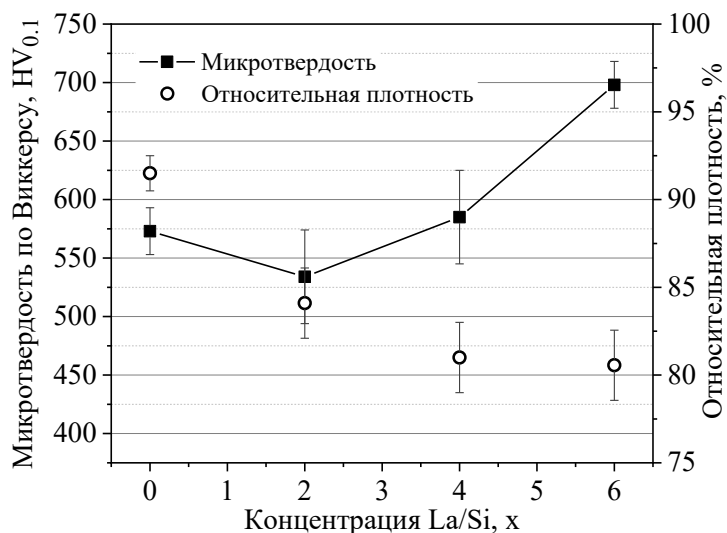


Рисунок 3.18 – Данные микротвердости и относительной плотности для образцов серии LaSi-Ап, отожженных при 1200 °С.

### 3.6 *In vitro* исследование биологических свойств

Цитотоксичность МХС образцов (без отжига) исследовали на клеточной линии Нек293 (эмбриональная почка человека). При инкубации клеток Нек293 совместно с порошком образцов серии LaSi-Ап с различными концентрациями заместителей в течение 48 ч наблюдалась высокая жизнеспособность клеток до концентрации 0,1 мг/мл порошка апатита в биологической среде, как показано на рисунке 3.19. С ростом концентрации порошка в среде до 1 мг/мл в незамещенном образце (ГА) наблюдается уменьшение общей концентрации клеток, что может быть связано с гипоксией и дефицитом питательных веществ, вызванным оседанием частиц апатита на клетки [3,101]. На замещенных образцах данный эффект усиливается, причем видна зависимость от концентрации ионов-заместителей, что указывает на дополнительный токсический эффект от их присутствия, вероятнее всего из-за ионов лантана. Таким образом, для применения в качестве наполнителей/заменителей недостающей костной ткани можно рекомендовать исследуемые составы с условием, что в кровь попадает не более 1 мг/мл. Однако стоит отметить, что при имплантации порошка в кость, имеющую слабый кровоток, попадание такой концентрации порошка в кровяное русло маловероятно.

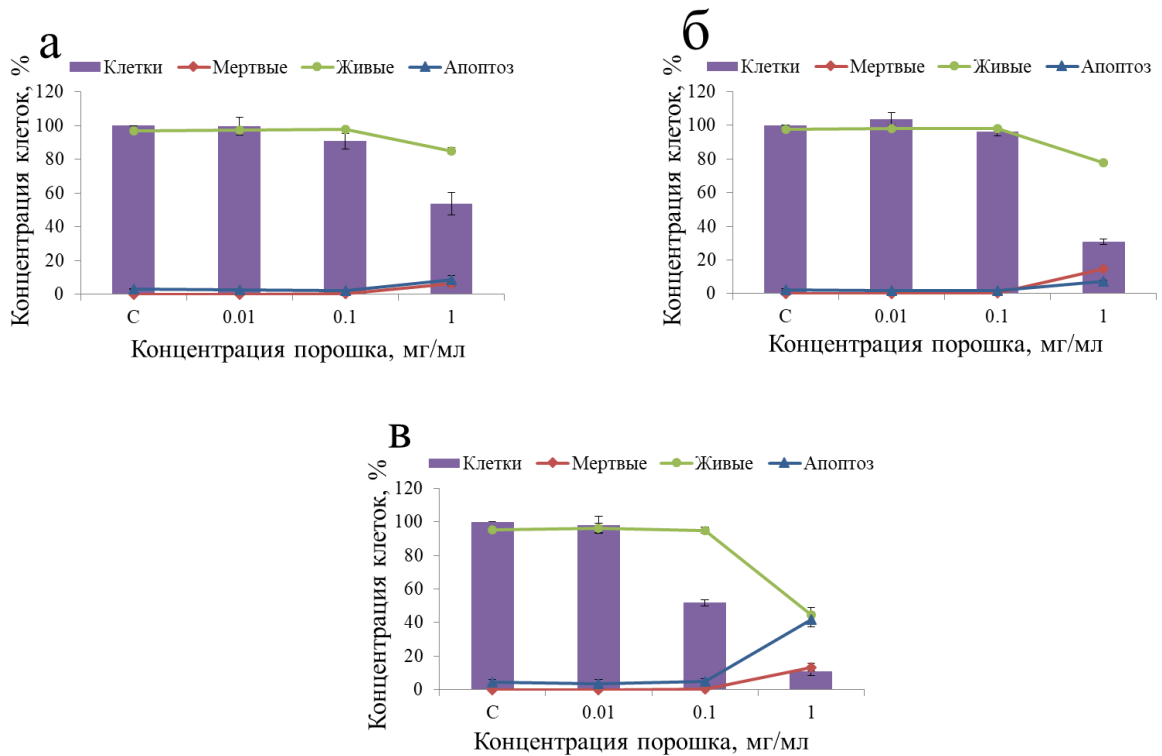


Рисунок 3.19 – Жизнеспособность клеток Нек293 после инкубации с порошками ГА (а), 1,0-LaSi-Ап (б) и 6,0-LaSi-Ап (в) в течение 48 ч.

Цитотоксичность образцов серии LaSi-Ап проверялась также на остеобластоподобных клетках человека MG-63 с помощью стандартного МТТ-теста. В таблице 3.6 представлены результаты инкубации клеток в среде с порошками синтезированных образцов ГА в течение 4 суток. Результаты исследования показали, что при всех исследуемых концентрациях ионов-заместителей оптическая плотность сравнима с незамещенным ГА, и цитотоксического эффекта не наблюдается, т.к. полученные значения оптической плотности превышают контроль (Таблица 3.6). Следовательно, для остеобластов образцы серии LaSi-Ап являются не токсичными.

Таблица 3.6. Результаты МТТ-теста после 4 суток инкубации остеобластов MG-63 с порошками серии LaSi-Ап после 40 мин МХС. Оптическая плотность формазана обратно пропорциональна гибели клеток.

Образец	Оптическая плотность
ГА	$0,58 \pm 0,01$
1,0-LaSi-Ап	$0,59 \pm 0,04$
6,0-LaSi-Ап	$0,57 \pm 0,01$
Контроль	$0,53 \pm 0,02$

### 3.7 Выводы по главе 3

1. Установлено, что механохимический синтез апатитов с двойным замещением с большой концентрацией заместителей требует более длительной обработки исходной смеси реагентов по сравнению с синтезом стехиометрического апатита. Оптимальное время для получения лантан-силикат-замещенного апатита в планетарной мельнице АГО-2 составляет 40 мин.

2. При одновременном введении лантана и силиката в равной концентрации механохимическим способом синтеза можно получить апатит со степенью замещения до  $x = 6,0$ . Такое замещение приводит к увеличению параметров элементарной ячейки и ее объема. Чем больше ионов заместителей, тем больше параметры и объем ячейки. Размер кристаллитов при этом уменьшается.

3. Одновременное введение ионов лантана и кремния в структуру апатита приводит к увеличению термической стабильности материала до  $1400\text{ }^{\circ}\text{C}$ , тогда как незамещенный гидроксипатит стабилен до  $1200\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

3. Уточнение координат атомов и заселенностей в структуре апатита показало, что ионы лантана преимущественно занимают позицию Ca2 со смещением к кислороду на оси  $c$ .

4. Одновременное введение ионов лантана и кремния приводит к повышению микротвердости апатита.

5. Исследования *in vitro* показали, что лантан-силикат-замещенный апатит является биосовместимым материалом.



## ГЛАВА 4. ЦИНК-СИЛИКАТ-ЗАМЕЩЕННЫЙ ГИДРОКСИАПАТИТ

### 4.1 Механохимический синтез образцов с разной концентрацией заместителей

#### 4.1.1 Электронная микроскопия

Как видно на рисунке 4.1, одновременное введение ионов цинка и кремния меняет морфологию частиц. В образце незамещенного ГА наблюдаются неагрегированные частицы размером менее 20 нм, тогда как частицы образца с наибольшей концентрацией заместителей ( $x = 2,0$ ) образовались более крупные агрегаты размером  $\sim 100$  нм. По данным ВРПЭМ частицы имеют кристаллическую структуру. На рисунке 4.2 видно, что частицы имеют равномерное распределение элементов, с концентрацией близкой к заданной (Таблица 4.1). Следовательно, смешение компонент смеси было эффективным, несмотря на то, что при синтезе 2,0-ZnSi-Ап выделяется в 4,7 раза больше воды (Таблица 2.1), чем при синтезе незамещенного ГА, когда известно, что излишнее количество воды в реакционной среде может привести к повышенной агрегации реагентов.

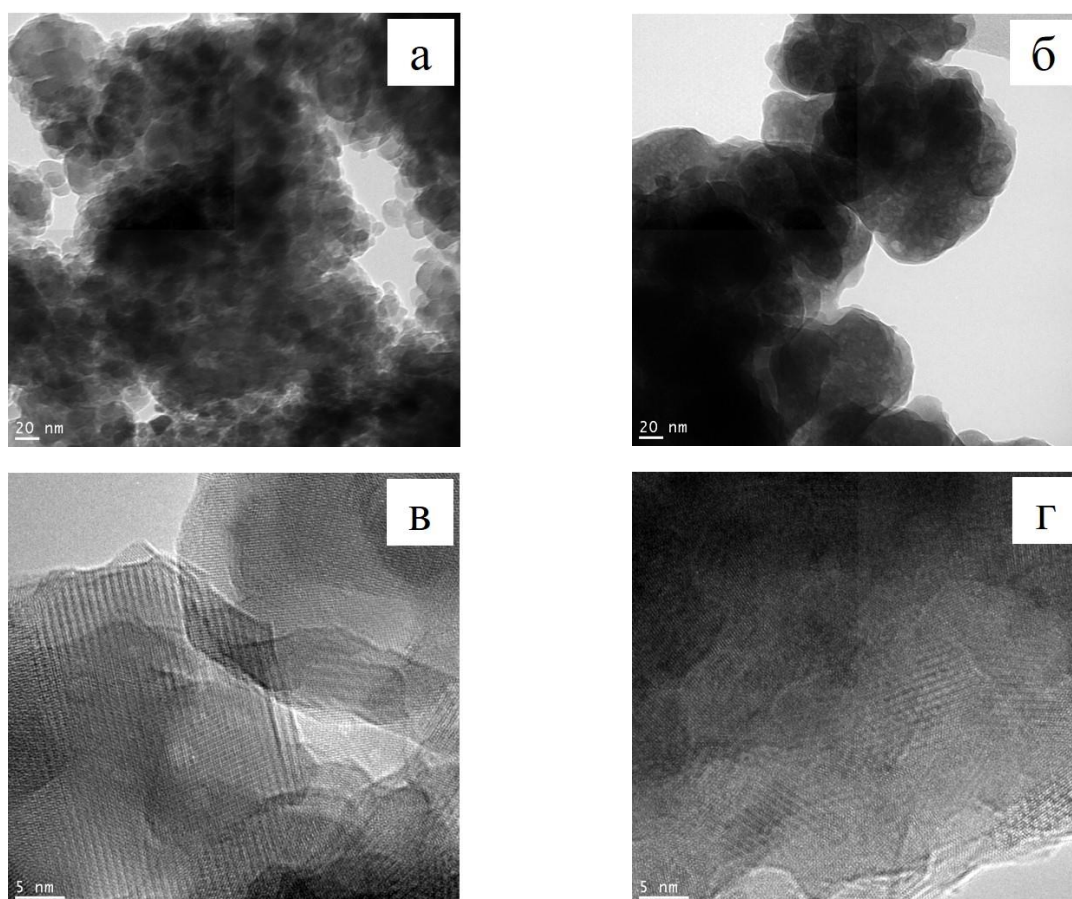


Рисунок 4.1 – ПЭМ (а, б) и ВРПЭМ-изображения (в, г) порошков ГА (а, в) и 2,0-ZnSi-Ап (б, г) после 40 мин МХС.

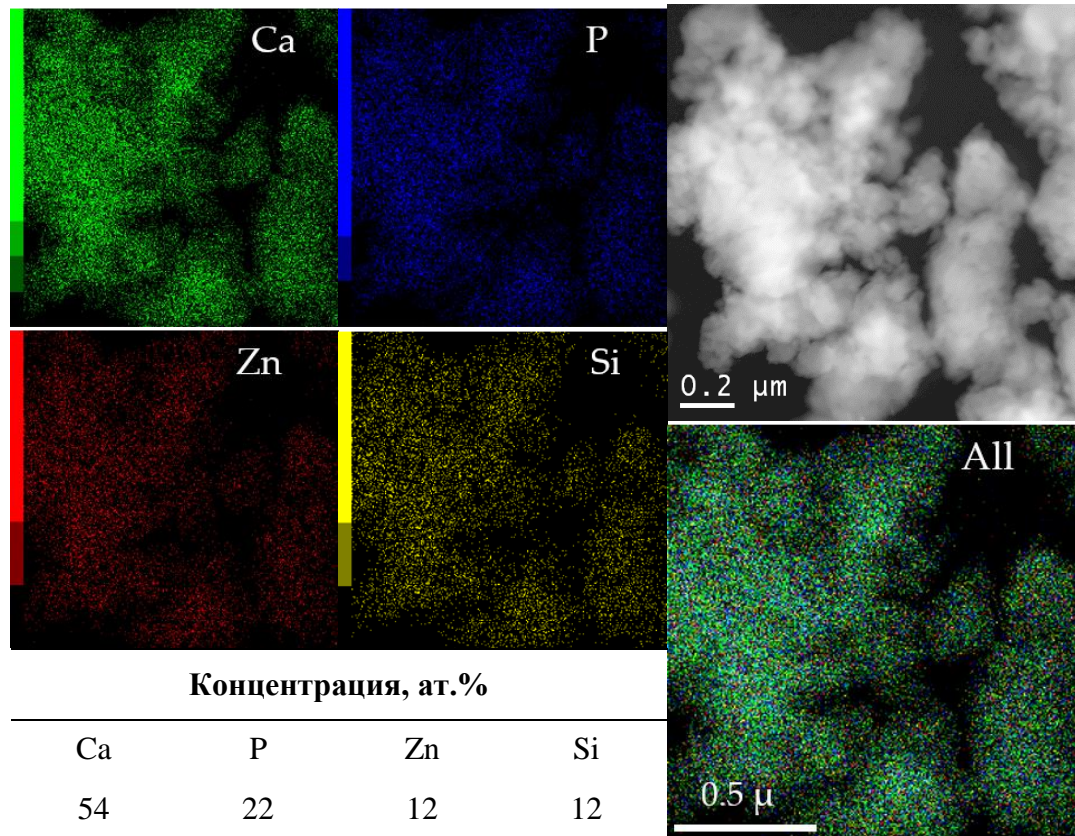


Рисунок 4.2 – Карта распределения элементов в образце 2,0-ZnSi-Ап после 40 мин МХС по данным ПЭМ.

В таблице 4.1 представлены результаты ЭДРМ анализа замещенных ГА, которые показывают, что с увеличением концентрации вводимых ионов-заместителей определяемая концентрация элементов растет. Также наблюдается хорошее совпадение с заданными составами (в пределах ошибки измерения).

Таблица 4.1. Результаты ЭДРМ анализа при СЭМ-исследованиях образцов серии ZnSi-Ап после 40 мин МХС.

Образец	Концентрация, ат.%							
	Полученный состав				Заданный состав			
	Ca	P	Zn	Si	Ca	P	Zn	Si
ГА	66	34	-	-	62	38	-	-
0,2-ZnSi-Ап	63	34	1	2	61	37	1	1
0,6-ZnSi-Ап	63	31	2	4	59	33	4	4
1,0-ZnSi-Ап	60	30	4	6	57	31	6	6
1,5-ZnSi-Ап	59	27	5	9	54	28	9	9
2,0-ZnSi-Ап	55	25	8	12	51	25	12	12

#### 4.1.2 Рентгенофазовый анализ

На рисунке 4.3 представлены дифрактограммы образцов серии ZnSi-Ап после 40 мин МХС. Анализ дифрактограмм показал, что все образцы содержат одну кристаллическую фазу - апатит. С увеличением концентрации заместителей наблюдается уменьшение интенсивности рефлексов без явно выраженного смещения, при этом после  $x = 1,0$  наблюдается образование аморфной фазы (гало в области 25 – 35 град.  $2\theta$ ). При максимальной степени замещения 2-ZnSi-Ап доля аморфной фазы составляет 40 вес.%. Хотя данные ВРПЭМ показали, что образец 2,0-ZnSi-Ап является кристаллическим, данные РФА указывают на присутствие большого количества аморфной фазы. Это расхождение можно объяснить тем, что аморфные фосфаты кальция склонны к кристаллизации под электронным пучком из-за интенсивного нагрева при большом увеличении [179].

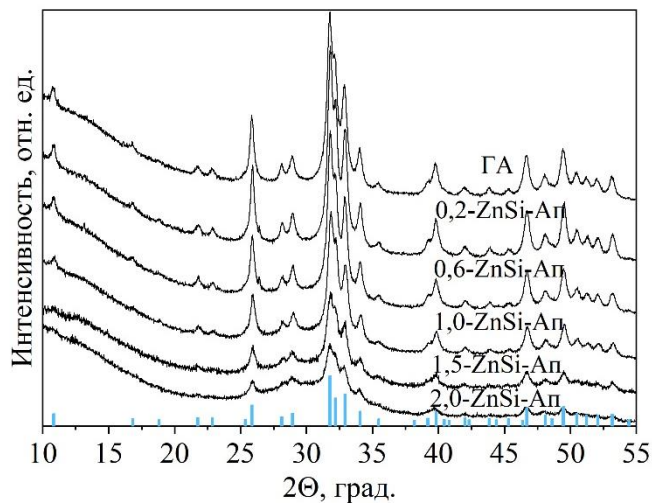


Рисунок 4.3 – Дифрактограммы замещенных образцов серии ZnSi-Ап после 40 мин синтеза. Вертикальные полосы внизу графика соответствуют рефлексам Ап карточки PDF 40–11–9308 ICDD (PDF-4, 2011).

Параметры решетки данных образцов (Рисунок 4.4, а) имеют сложную зависимость от концентрации заместителей с общей тенденцией к увеличению значений с ростом концентрации заместителей. Динамика объема элементарной ячейки более сглаженная, из нее хорошо видно, что при малой концентрации введенных заместителей объем уменьшается, а при  $x > 0,6$  увеличивается (Рисунок 4.4, б). Возможно, это связано с тем, что при низких концентрациях заместителей в решетке апатита произошли некоторые структурные изменения, связанные с наличием иона цинка, имеющего меньший ионный радиус по сравнению с ионным радиусом кальция [233]. При высоких концентрациях объем решетки увеличивается за счет увеличения концентрации большого комплексного аниона  $(\text{SiO}_4)^{4-}$ , имеющего больший радиус, чем фосфатный анион. Кроме того, объем элементарной ячейки может увеличиваться и в

следствие внедрения большого количества молекул воды, которые выделяются в ходе реакции (Таблица 2.1) [152] и их число увеличивается с увеличением концентрации заместителей. Как выделившиеся молекулы воды, так и сами ионы-заместители усложняют формирование кристаллической решетки ГА, поэтому размер кристаллитов плавно уменьшается с увеличением концентрации заместителей (Рисунок 4.4, в). На основании данных, представленных на рисунке 4.4, был сделан вывод, что предел замещения для МХС цинк-силикат-замещенного апатита составляет  $x = 1,0$ . При более высоких концентрациях вводимых заместителей формируется большое количество аморфной фазы [236].

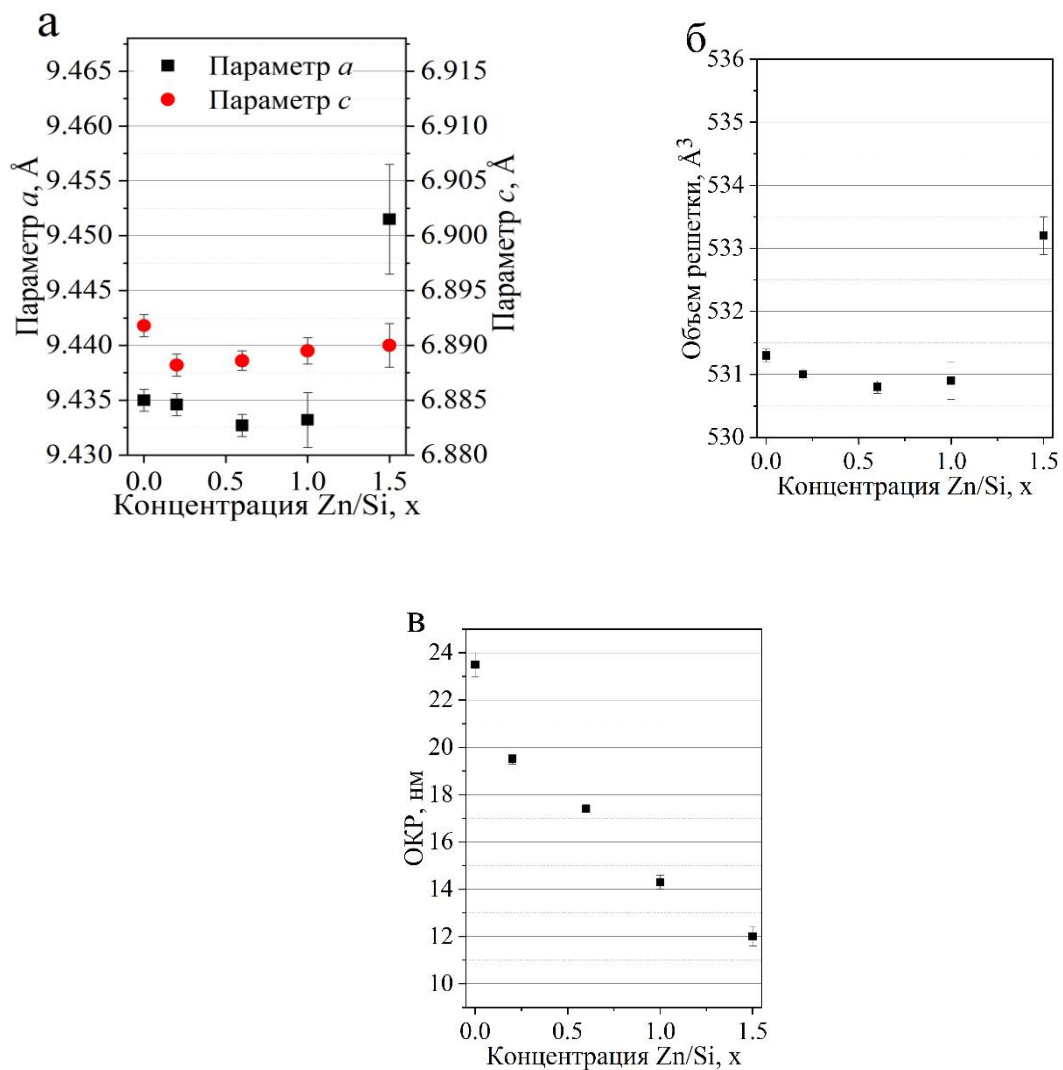


Рисунок 4.4 – Изменение параметров  $a$  и  $c$  (а), объема элементарной ячейки (б) и ОКР (в) апатита в серии образцов ZnSi-Ап после 40 мин синтеза.

#### 4.1.3 Инфракрасная спектроскопия

На рисунке 4.5 показаны ИК-спектры замещенных апатитов серии образцов ZnSi-Ап после 40 мин синтеза. На них наблюдаются полосы поглощения, соответствующие структуре

ГА: полосы поглощения фосфатного иона ( $570, 602, 960, 1048$  и  $1088 \text{ см}^{-1}$ ) и гидроксильной группы ( $630$  и  $3574 \text{ см}^{-1}$ ) [36]. Помимо полос апатита на ИК-спектре ГА наблюдаются полосы поглощения с малыми интенсивностями при  $1420$  и  $1480 \text{ см}^{-1}$ , которые относятся к карбонатной группе в положении фосфатной группы в структуре ГА [237]. С ростом концентрации заместителя наблюдается уширение полос поглощения фосфатных групп и исчезновение полос ОН-групп. Полосы поглощения карбонатной группы отсутствуют на ИК-спектрах замещенных ГА. Кроме того, на ИК-спектрах замещенного ГА наблюдается полоса поглощения на длине волны  $935 \text{ см}^{-1}$ . Эта полоса была обнаружена в ИК-спектрах ГА с одинарным замещением фосфата на силикат и отнесена к колебанию силикатного иона [148]. Широкие полосы поглощения при длинах волн  $1645$  и  $3423 \text{ см}^{-1}$  связаны с колебаниями молекул воды. Рисунок 4.5 показывает, что форма полосы поглощения при  $3420 \text{ см}^{-1}$  постепенно меняется. Полоса становится шире, а ее интегральная интенсивность увеличивается с увеличением концентрации вводимых заместителей. В образце с максимальным количеством выделившейся воды, а именно  $2,0\text{-ZnSi-Ап}$ , эта полоса выражена сильнее, чем в других образцах, а полосы фосфат-ионов плохо разрешены.

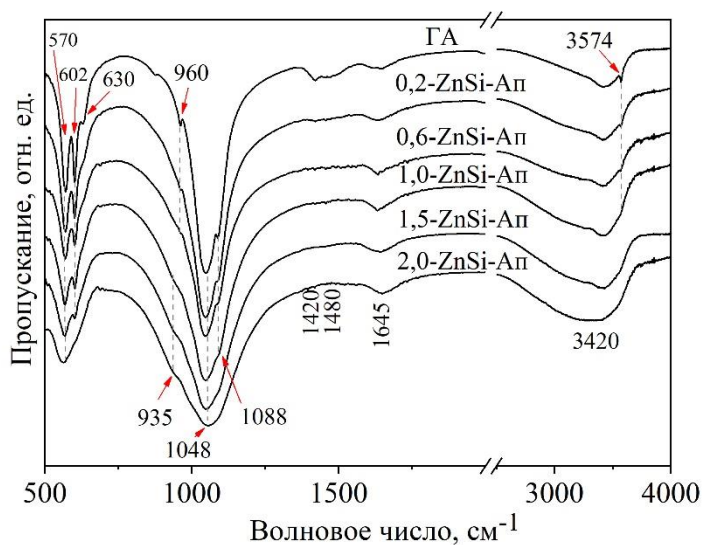


Рисунок 4.5 – ИК-спектры замещенных образцов серии ZnSi-Ап после 40 мин синтеза.

## 4.2 Термическая стабильность

### 4.2.1 Дифференциальный термический анализ

Согласно уравнению реакции (Таблица 2.1), в процессе МХС выделяется вода, часть которой адсорбировалась на поверхности частиц, а часть вошла в решетку апатита [152]. На данных термического анализа полученных образцов (Рисунок 4.6) наблюдается рост кривой ДСК (линия 2) до  $600 \text{ °C}$ , сопровождающийся уменьшением массы образца (линия 1), что соответствует выделению адсорбированной и кристаллизационной воды (кривая 3). С

увеличением концентрации введенных ионов-заместителей количество выделяемой воды увеличивается. У образца с максимальной степенью замещения ионов 2,0-ZnSi-Ап (Рисунок 4.6, г) количество выделяемой воды достигает 11,3 вес.%. При дальнейшем нагреве происходит упорядочение структуры апатита. На кривой ДСК образца 2,0-ZnSi-Ап наблюдается экзоэффект при 725 °С (Рисунок 4.6, г), который связан со структурными изменениями и началом разложения структуры ГА, сопровождающимся выделением фазы  $\beta$ -ТКФ [179].

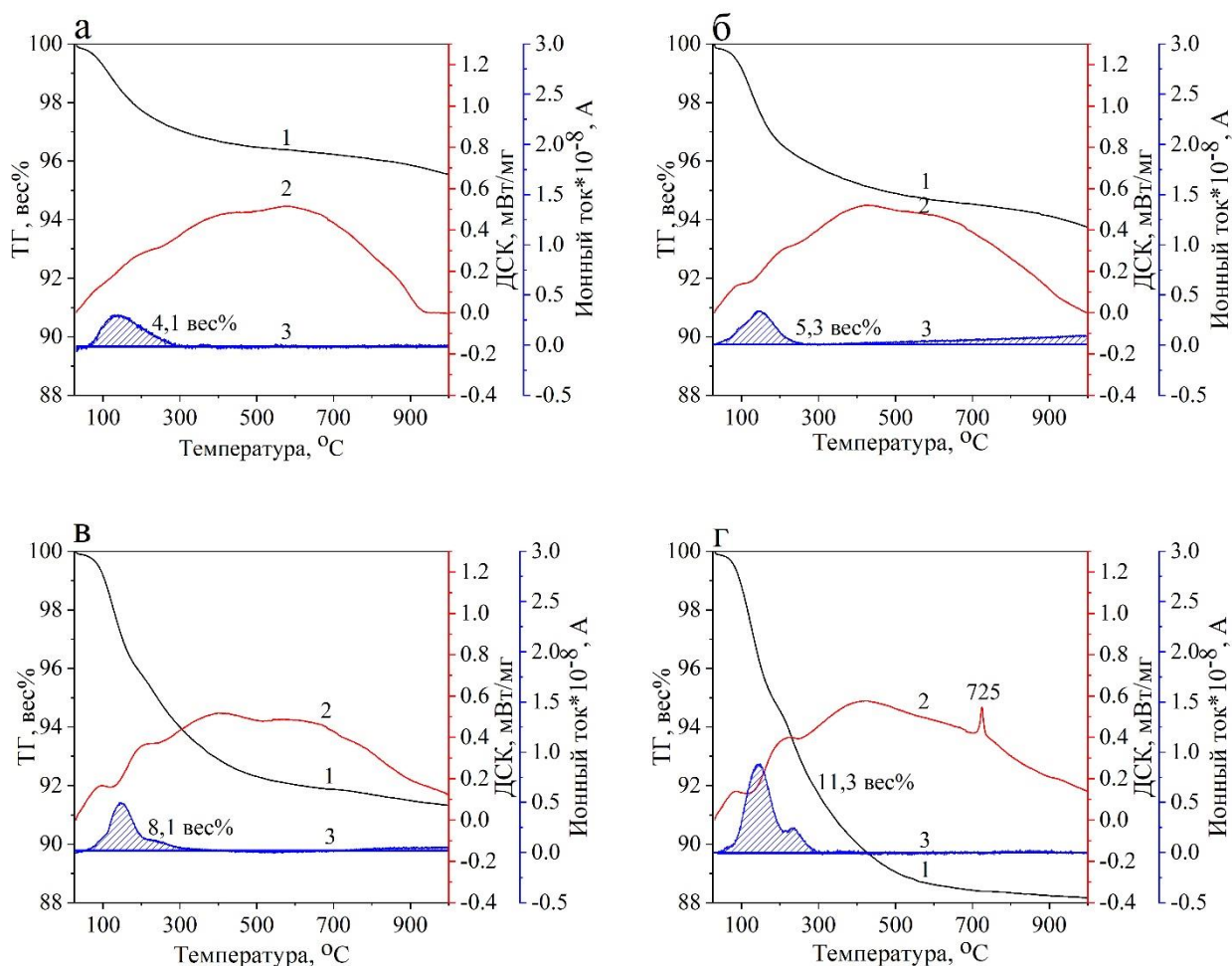


Рисунок 4.6 – Синхронный термический анализ образцов ГА (а), 0,2-ZnSi-Ап (б), 1,0-ZnSi-Ап (в) и 2,0-ZnSi-Ап (г) после 40 мин МХС. 1 –ТГ, 2 –ДСК, 3 –ионный ток масс-спектрометра.

#### 4.2.2 Инфракрасная спектроскопия

Для того, чтобы понять, какие же структурные преобразования происходят в образцах после удаления воды, был проведен анализ ИК-спектров образцов, прокаленных при температурах 650 и 800 °С. После отжига при 650 °С новые полосы в спектрах не наблюдаются (Рисунок 4.7, а), хотя происходит небольшое сужение полос фосфатной группы. По-прежнему наблюдаются явно выраженные полосы колебаний фосфатной группы ( $570, 602, 1088 \text{ см}^{-1}$ ) для образца 2,0-ZnSi-Ап. Также следует отметить, что полосы колебаний ОН-групп ( $631 \text{ и } 3574 \text{ см}^{-1}$ )

<sup>1)</sup> для данного образца отсутствуют. Согласно уравнениям в таблице 2.1, с ростом концентрации заместителей, количество ОН-групп в образцах ZnSi-Ап с составом  $\text{Ca}_{10-x}\text{Zn}_x(\text{PO}_4)_6(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$  должно уменьшаться, чтобы компенсировать избыточный отрицательный заряд, вносимый силикатной группой. Уменьшение интенсивности полос ОН-групп и их полное исчезновение на ИК-спектре образца 2,0-ZnSi-Ап подтверждает данное предположение.

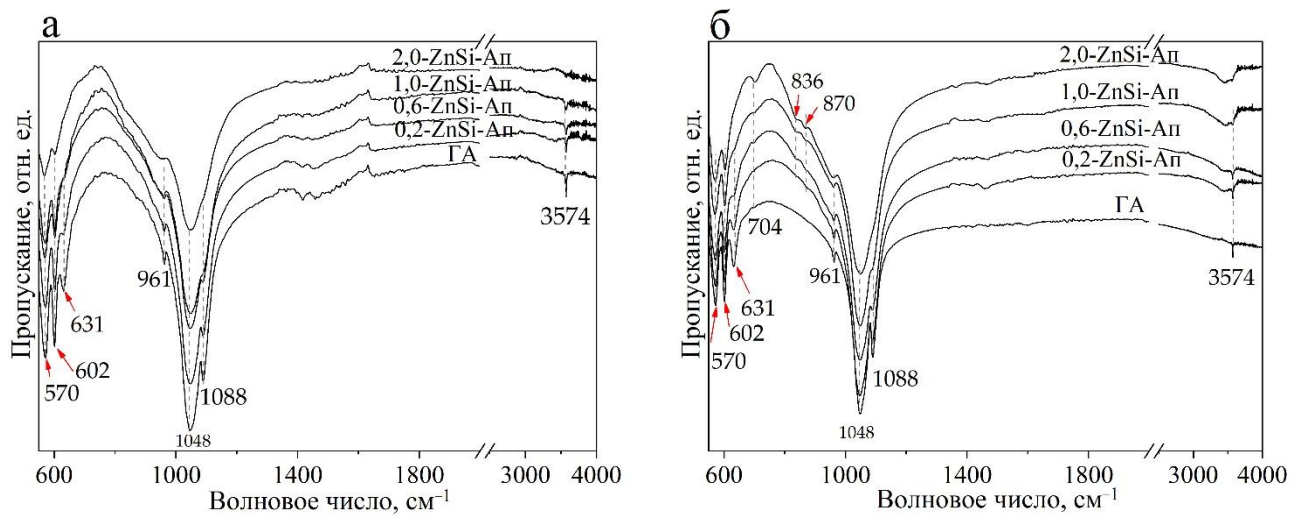


Рисунок 4.7 – ИК-спектры образцов серии ZnSi-Ап, отожженных при 650 (а) и 800 °С (б).

При повышении температуры отжига до 800 °С на ИК-спектрах замещенных апатитов наблюдается появление новых полос – 836 и 870 см<sup>-1</sup> (Рисунок 4.7, б), которые можно отнести к валентным колебаниям в силикатном тетраэдре в структуре ГА на основании работы [148]. Отсутствие данных полос на ИК-спектрах МХС образцов, а также после отжига при 650 °С может быть связано с дефектностью структуры ГА.

#### 4.2.3 Рентгенофазовый анализ

Дифрактограммы образцов серии ZnSi-Ап, отожженных до температуры 1000 °С, представлены на рисунке 4.8. Для всех образцов наблюдается уменьшение ширины и увеличение относительной интенсивности рефлексов, что указывает на увеличение размера кристаллитов. Незамещенный ГА во всем диапазоне температур остается однофазным (Рисунок 4.8, а), однако образцы, содержащие заместители, оказались менее стабильны (Рисунок 4.8, а, б). В них наблюдается выделение фаз оксида цинка и β-ТКФ, причем при разных температурах. Фаза ZnO выделяется первой. В образце 0,2-ZnSi-Ап при 1000 °С, в образцах 0,6-ZnSi-Ап и 1,0-ZnSi-Ап при 800 °С, а в 2,0-ZnSi-Ап при 750 °С (Рисунок 4.8, б-д). Фаза β-ТКФ появляется при температуре отжига 1000 °С во всех образцах. На основании этих данных можно сделать вывод,

что чем выше концентрация заместителей в апатите, тем ниже его термическая стабильность [229].

Интересным фактом является то, что примесной фазы, содержащей кремний, в замещенных образцах при их разложении не наблюдается. В случае Si-замещенного ГА при нагревании выделялась фаза силикокарнотита [73], в данном же случае кремний остается в фазе апатита.

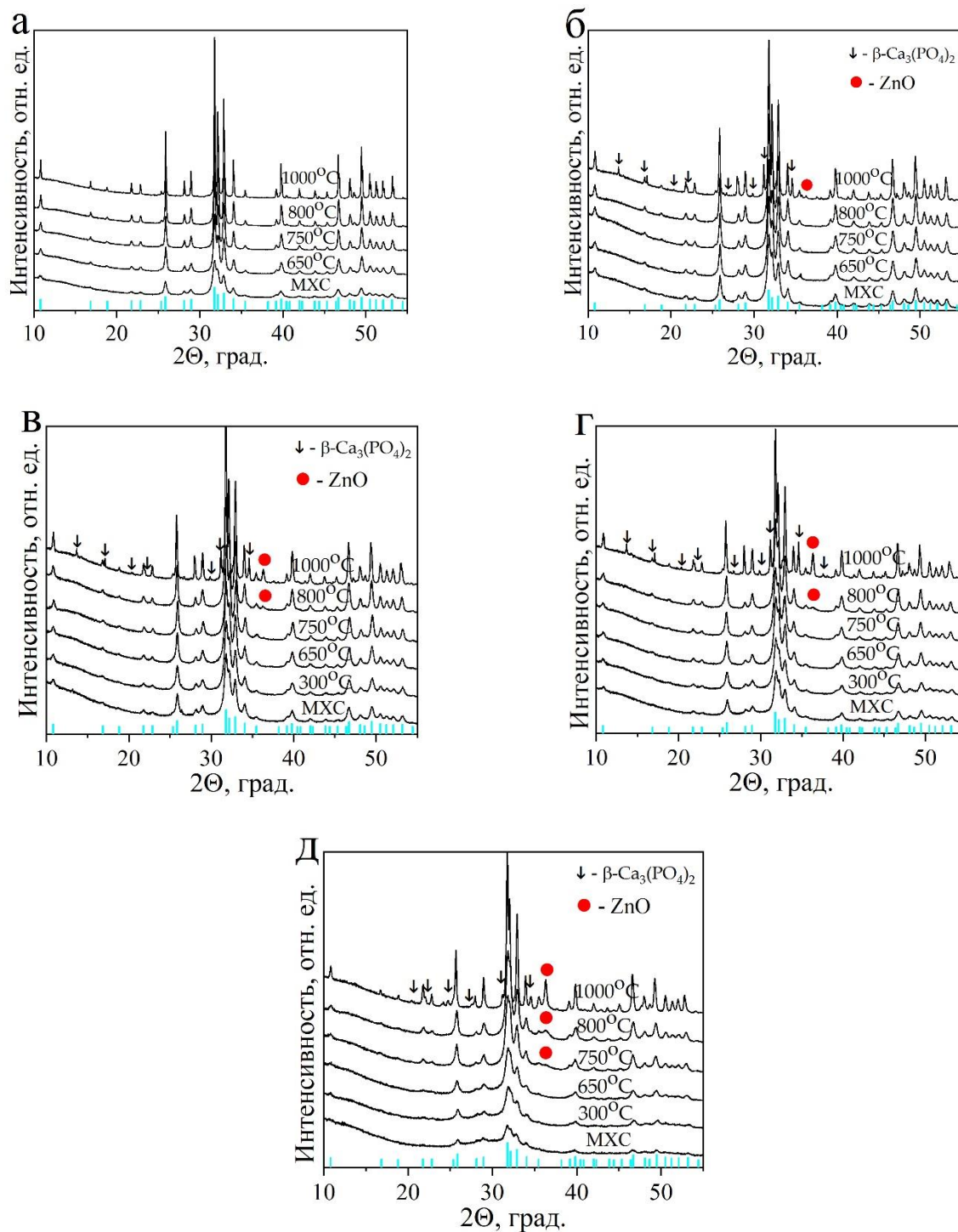


Рисунок 4.8 – Дифрактограммы отожженных образцов серии ZnSi-Ап: ГА (а), 0,2-ZnSi-Ап (б), 0,6-ZnSi-Ап (в), 1,0-ZnSi-Ап (г) и 2,0-ZnSi-Ап (д).



Стоит также отметить, что образцы с двойным замещением на Zn и Si термически более стабильны по сравнению с Zn-ГА с одинарным типом замещения [108], у которого фазы  $\beta$ -ТКФ и оксида цинка появляются уже при 600 °С. Однако ZnSi-Ап является менее стабильным по сравнению с Si-ГА [73], у которого разложение начинается при 1000 °С, причем с образованием фазы силикокарнотита. Таким образом, в случае двойного замещения мы наблюдаем одновременное влияние свойств обоих ионов.

По полученным дифрактограммам было проведено уточнение параметров элементарной ячейки цинк-силикат-замещенных ГА с различной концентрацией допантов в зависимости от температуры отжига (Рисунок 4.9). Параметры решетки незамещенного ГА немного уменьшаются при малых температурах, что связано с удалением воды. У замещенных образцов параметры также уменьшаются при 300 °С. При дальнейшем увеличении температуры параметр  $a$  имеет небольшие колебания в пределах 0,01 Å, тогда как параметр  $c$  значительно возрастает с ростом температуры прокалики образца, причем чем больше концентрация заместителя, тем больше приращение относительно параметра  $c$  для незамещенного ГА. Данное изменение может быть связано с изменением положения комплексного силикатного иона, имеющего больший ионный радиус по сравнению с фосфатным, а также с наличием вакансий на оси  $c$ , что согласуется с химической формулой соединения:  $\text{Ca}_{10-x}\text{Zn}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ . Чем больше концентрация заместителей, тем более сильные структурные преобразования наблюдаются в образцах.

С ростом температуры также увеличивается размер кристаллитов для всех образцов (Рисунок 4.9). Наиболее интенсивный рост наблюдается в интервале 700 – 1000 °С, однако полученные значения не достигают величины незамещенного ГА, что связано с процессом частичного разложения замещенного ГА, а также с наличием ионов заместителей, вносящих локальные искажения элементарной ячейки, тем самым препятствуя ее росту.

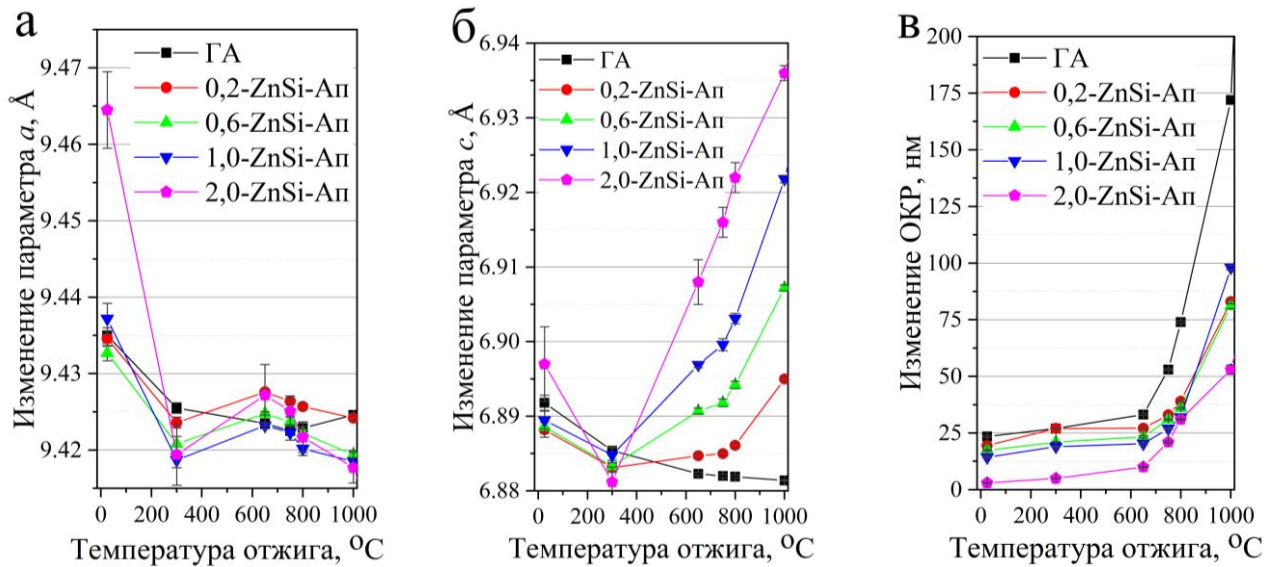


Рисунок 4.9 – Изменение параметров решетки  $a$  (а),  $c$  (б) и ОКР (в) отожженных образцов серии ZnSi-Ap.

### 4.3 Кристаллическая структура

Уточнение структуры цинк-силикат-замещенных апатитов проводилось по дифрактограммам образцов, отожженных при максимально допустимой температуре, при которой не происходит разложения продукта, 650 °C в течение 2 ч. На рисунке 4.10 показано, что при температуре 650 °C происходят небольшие изменения величины параметра  $a$ : при  $x = 0.2$  наблюдается увеличение параметра по сравнению с незамещенным ГА, а затем с ростом концентрации заместителей идет уменьшение параметра, но при максимальной концентрации параметр  $a$  возрастает. Параметр  $c$  изменяется более интенсивно – наблюдается значительный линейный рост величины во всем диапазоне концентраций. В связи с тем, что объем элементарной ячейки замещенных апатитов увеличивается с ростом концентрации заместителей, то можно предположить, что основной вклад в изменение структуры ГА при двойном замещении на цинк и силикат вносит силикатный анион. ОКР замещенных ГА уменьшается с ростом концентрации заместителей, причем для образца 2,0-ZnSi-Ap значение ОКР равно 12 нм, такой размер кристаллитов не позволяет провести уточнение координат атомов и заселенностей с удовлетворительными факторами надежности, поэтому уточнение проводилось до  $x = 1,0$ . Микронапряжения немного уменьшаются от  $x = 0,2$  до  $x = 1,0$ .

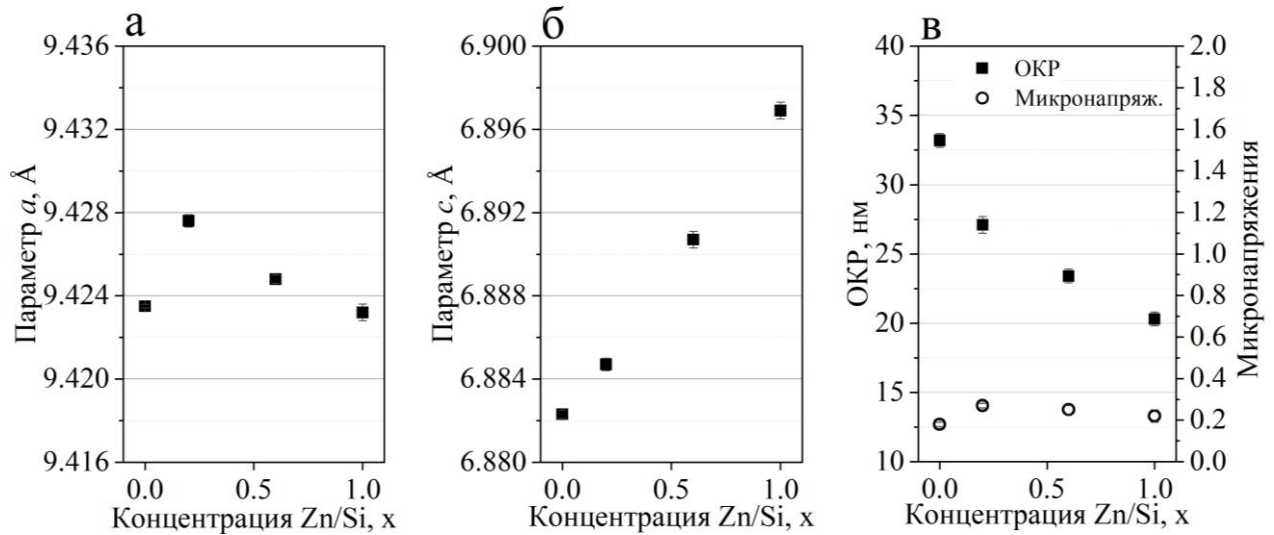


Рисунок 4.10 – Изменение параметров решетки  $a$  (а),  $c$  (б), ОКР и микронапряжений (в) отожженных при 650 °С образцов серии ZnSi-Ап.

В таблице 4.2 приведены результаты уточнения координат атомов и их заселенностей для образцов, отожженных при 650 °С, на основе которых были построены структуры замещенных апатитов (Рисунок 4.11). Из полученных данных видно, что ионы цинка занимают обе позиции, Ca1 и Ca2, образуя позиции Zn1 и Zn2. Было установлено, что положения ионов цинка в позиции Zn1 совпадают с положением Ca1, а ионы цинка в позиции Zn2 смещены относительно Ca2 и удалены от оси  $c$ . Длина связи Zn2–O4 длиннее связи Ca2–O4 для всех замещенных апатитов, тогда как длина связи Zn–O3 короче длины Zn2–O4 и уменьшается с ростом  $x$  (Таблица 4.3).

С ростом концентрации вводимых заместителей концентрация ионов цинка и кремния увеличивается (Таблица 4.3). Причем содержание ионов цинка в позиции Zn2 немного больше, чем в позиции Zn1. В публикациях сообщалось, что предпочтение данной позиции характерно и для одинарного замещения только на ионы цинка (Zn-ГА) [109].

Таблица 4.2. Рассчитанные координаты атомов замещенных апатитов, отожженных при 650°C.

Атом	Координаты	ГА-650	0,2-ZnSi-Ап-650	0,6-ZnSi-Ап-650	1,0-ZnSi-Ап-650
Ca1	x	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333
	y	0,6667	0,6667	0,6667	0,6667
	z	0,0012(3)	0,0017(4)	0,0013(4)	0,0011(5)
Zn1	x	–	0,3333	0,3333	0,3333
	y	–	0,6667	0,6667	0,6667
	z	–	0,0017(4)	0,0013(4)	0,0011(5)
Ca2	x	0,2462(2)	0,2442(3)	0,2415(3)	0,2482(5)
	y	0,9916(2)	0,9878(3)	0,9891(5)	0,9995(5)
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
Zn2	x	–	0,278(3)	0,278(1)	0,254(2)
	y	–	1,043(2)	0,999(3)	0,961 (1)
	z	–	0,2500	0,2500	0,2500
P	x	0,3998(2)	0,3995(5)	0,3991(5)	0,3990(3)
	y	0,3710(2)	0,3699(2)	0,3708(3)	0,3711(3)
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
Si	x	–	0,3995(5)	0,3991(5)	0,3990(3)
	y	–	0,3699(2)	0,3708(3)	0,3711(3)
	z	–	0,2500	0,2500	0,2500
O1	x	0,3265(4)	0,3271(5)	0,3273(5)	0,3263(6)
	y	0,4812(4)	0,4832(5)	0,4841(6)	0,4840(7)
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
O2	x	0,5862(4)	0,5850(5)	0,5809(6)	0,5814(6)
	y	0,4629(4)	0,4617(5)	0,4588(6)	0,4612(7)
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
O3	x	0,3400(3)	0,3423(3)	0,3417(4)	0,3453(4)
	y	0,2534(4)	0,2558(3)	0,2556(4)	0,2586(4)
	z	0,0698(3)	0,0667(3)	0,0652(4)	0,0621(4)
O4	x	0	0	0	0
	y	0	0	0	0
	z	0,190(1)	0,185(2)	0,1764(1)	0,175(2)
R <sub>wp</sub> /GOF		4,03/1,34	4,17/1,40	4,24/1,45	4,29/1,47

Таблица 4.3. Рассчитанные длины связей и заселенности в структуре апатита для образцов серии ZnSi-Ап, отожженных при 650 °С.

Образец	Длина связи, Å			Заселенность					
	Ca2-O4	Zn2-O4	Zn2-O3	Ca1	Zn1	Ca2	Zn2	P	Si
ГА-650	2,389(2)	—	—	1,000(2)	—	1,000(3)	—	1	—
0,2-ZnSi-Ап-650	2,404(3)	2,49(3)	2,46(3)	0,980(1)	0,020(1)	0,956(6)	0,044(6)	0,95	0,05
0,6-ZnSi-Ап-650	2,384(4)	2,67(4)	2,52(5)	0,961(5)	0,039(5)	0,902(3)	0,098(3)	0,91	0,09
1,0-ZnSi-Ап-650	2,398(6)	2,65(2)	2,32(2)	0,915(6)	0,085(6)	0,851(4)	0,149(4)	0,86	0,14

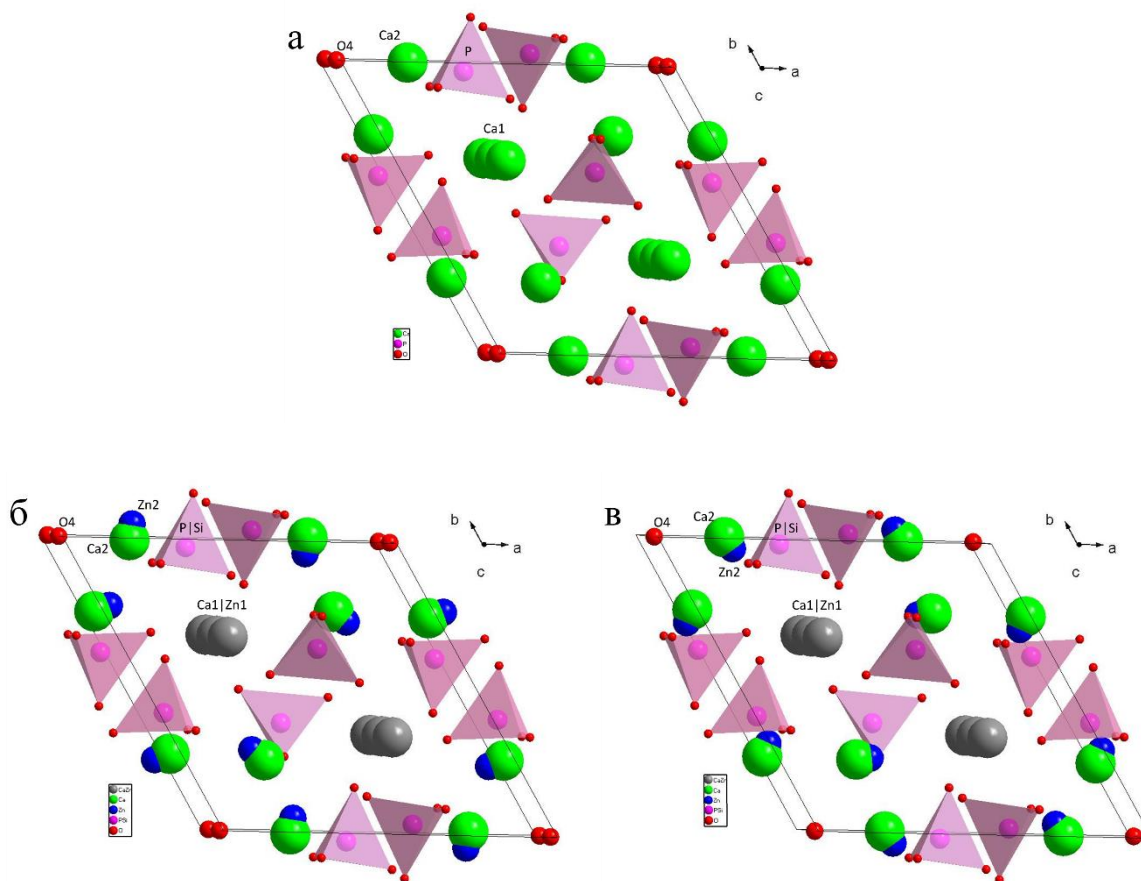


Рисунок 4.11 – Структура элементарной ячейки незамещенного ГА-650 (а), 0,2-ZnSi-Ап-650 (б) и 1,0-ZnSi-Ап-650 (в).

Используя значения заселенностей были получены формулы синтезированных апатитов и сравнены с заданными формулами (Таблица 4.4). Сравнение формул показало, что полученный

состав имеет аналогичный порядок величин концентрации ионов-заместителей, как и в заданном составе. Концентрации ионов цинка сравнимы с концентрацией ионов кремния в замещенных образцах.

Таблица 4.4. Сравнение заданного и полученного состава замещенных образцов серии ZnSi-Ап.

Образец	Заданный состав	Полученный состав
ГА-650	$\text{Ca}_{10}\text{P}_6\text{O}_{26}$	$\text{Ca}_{10,0}\text{P}_6\text{O}_{26,3}$
0,2-ZnSi-Ап-650	$\text{Ca}_{9,8}\text{Zn}_{0,2}\text{P}_{5,8}\text{Si}_{0,2}\text{O}_{25,8}$	$\text{Ca}_{9,7}\text{Zn}_{0,3}\text{P}_{5,7}\text{Si}_{0,3}\text{O}_{26,4}$
0,6-ZnSi-Ап-650	$\text{Ca}_{9,4}\text{Zn}_{0,6}\text{P}_{5,4}\text{Si}_{0,6}\text{O}_{25,4}$	$\text{Ca}_{9,3}\text{Zn}_{0,7}\text{P}_{5,5}\text{Si}_{0,5}\text{O}_{26,2}$
1,0-ZnSi-Ап-650	$\text{Ca}_{9,0}\text{Zn}_{1,0}\text{P}_{5,0}\text{Si}_{1,0}\text{O}_{25,0}$	$\text{Ca}_{8,8}\text{Zn}_{1,2}\text{P}_{5,2}\text{Si}_{0,8}\text{O}_{26,7}$

#### 4.4 *In vitro* исследование биологических свойств

Поскольку ранее был установлен предел двойного замещения на цинк и кремний при  $x = 1,0$ , исследования *in vitro* проводились только для образцов ГА, 0,2-ZnSi-Ап, 0,6-ZnSi-Ап и 1,0-ZnSi-Ап.

Цитотоксичность образцов исследовали на клеточной линии Нек293. При инкубации клеток Нек293 с различными концентрациями заместителей в течение 48 ч наблюдалась высокая жизнеспособность клеток вплоть до концентрации 1 мг/мл порошка апатита в биологической среде, как показано на рисунке 4.12. При концентрации 1 мг/мл для всех исследованных образцов наблюдается небольшой цитотоксический эффект, который растет при увеличении концентрации порошка. Сравнивая образцы с разной концентрацией ионов-заместителей, можно сделать вывод, что при концентрации порошка 1 мг/мл для образца 1,0-ZnSi-Ап наблюдается наименьший цитостатический эффект. При концентрации порошка 10 мг/мл количество клеток снижено по сравнению с контролем для всех образцов (около 45%). Общая динамика уменьшения числа клеток во всех образцах может быть связана с гипоксией и дефицитом питательных веществ, вызванным оседанием частиц апатита на клетки [3,101]. Тем не менее, несмотря на цитостатический эффект, оказываемый образцом 0,2-ZnSi-Ап на Нек293, цитотоксический эффект образца с низкой концентрацией ионов цинка и кремния слабый.

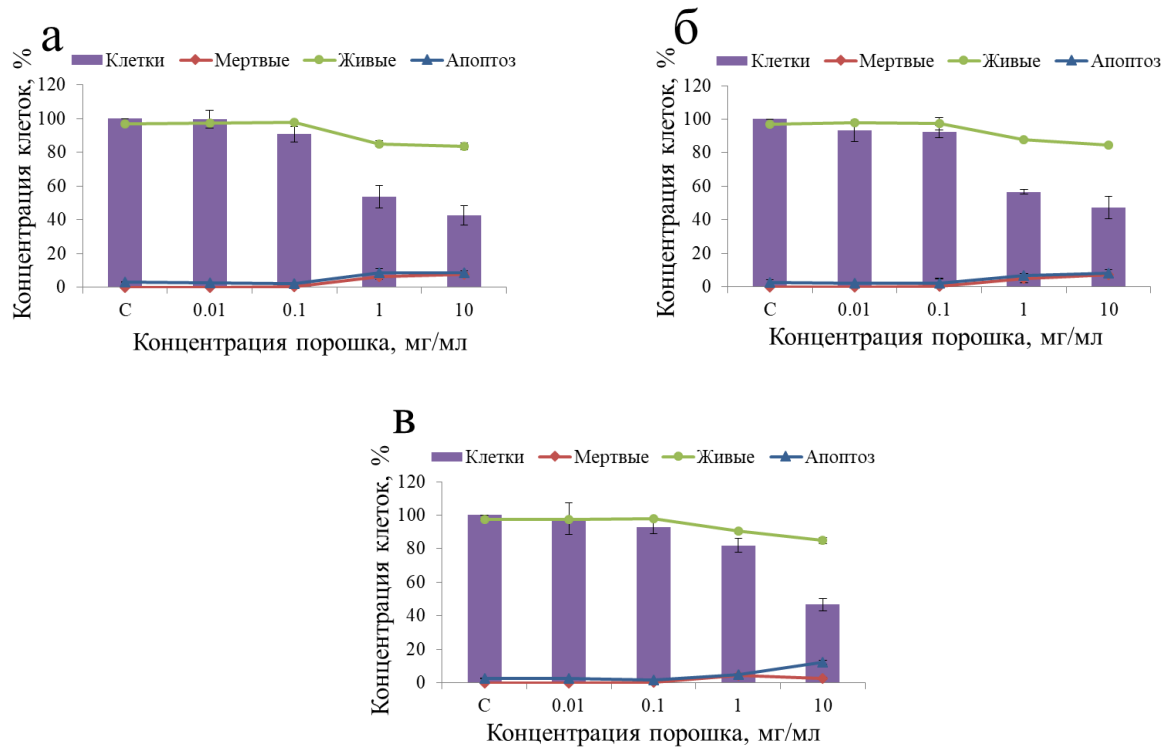


Рисунок 4.12 – Жизнеспособность клеток Нек293 после инкубации с порошками ГА (а), 0,2-ZnSi-Ап (б) и 1,0-ZnSi-Ап (в) в течение 48 ч.

Полученные данные об относительно низкой токсичности и высокой жизнеспособности клеток при воздействии ГА и цинк-силикат-замещенных ГА согласуются с литературными данными [97,238]. Следовательно, можно сделать вывод, что полученные соединения серии ZnSi-Ап низкотоксичны.

Исследование цитотоксичности серии образцов ZnSi-Ап на клеточной линии фибробластов MRC-5 с концентрацией порошка в культуральной среде 1 мг/мл показало, что все исследуемые соединения являются биосовместимыми, но наилучшие свойства наблюдаются у образца 0,2-ZnSi-Ап (Рисунок 4.13), что совпадает с данными токсичности на клетках Нек293.

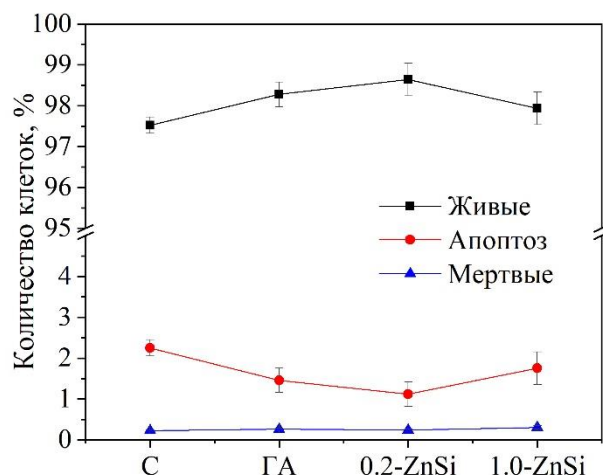


Рисунок 4.13 – Жизнеспособность клеток фибробластов MRC-5 после инкубации с порошками ГА, 0,2-ZnSi-Ап и 1,0-ZnSi-Ап при концентрации 0,1 мг/мл в течение 48 ч.

Был проведен также стандартный МТТ-тест для определения цитотоксичности порошка на остеобластах человека MG-63. В таблице 4.5 представлены результаты инкубации клеток в среде с порошками замещенных ГА в течение 4 суток. Результаты показали, что ни один из исследованных образцов не обладает цитотоксическим эффектом. Более того, замещенный образец 0,2-ZnSi-Ап показал значительный рост оптической плотности, однако введение ионов кремния и цинка в больших концентрациях приводит к уменьшению плотности. Следовательно, для остеобластов ZnSi-Ап является нетоксичным при концентрации  $x \leq 0,2$  [236,239].

Таблица 4.5. Результаты МТТ-теста после 4 суток инкубации остеобластов с порошками серии ZnSi-Ап после 40 мин МХС. Оптическая плотность формазана обратно пропорциональна гибели клеток.

Образец	Оптическая плотность
ГА	$0,58 \pm 0,01$
0,2-ZnSi-Ап	$0,60 \pm 0,01$
0,6-ZnSi-Ап	$0,48 \pm 0,02$
Контроль	$0,53 \pm 0,02$

Для оценки адгезии костных клеток остеобласты MG-63 культивировали на поверхности таблетированных образцов замещенного ГА. СЭМ-фотографии остеобластов после 7 дней культивирования на таблетках показаны на рисунке 4.14. Видно, что наибольшее количество клеток находится на образцах незамещенного ГА (Рисунок 4.14, а) и 0,2-ZnSi-Ап (Рисунок 4.14, б). На таблетках образцов 0,6-ZnSi-Ап (Рисунок 4.14, в) и 1,0-ZnSi-Ап (Рисунок 4.14, г)



количество прикрепленных клеток наименьшее. Сравнительный анализ морфологии клеток показал, что хорошо прикрепленные веретенообразные клетки наблюдаются только на образцах ГА (Рисунок 4.14, а) и 0,2-ZnSi-Ап (Рисунок 4.14, б), при этом самое большое количество клеток наблюдается на таблетке незамещенного ГА. Поскольку таблетки были спрессованы из частиц одинакового размера, влияние размера частиц на рост клеток исключается. Возможно имело место токсическое воздействие ионов-заместителей, скорее всего, ионов цинка [3]. Это наблюдение согласуется с результатами, полученными другими авторами при изучении ГА с одинарным замещением на ионы цинка. Наблюдалось снижение пролиферации клеток [99], биосовместимости и остеокондуктивности [3] для образцов ГА, содержащих ионы цинка  $x > 0,2$ . Этот эффект не проявлялся в кремний-замещенных ГА [4]. Таким образом, можно сделать вывод, что допустимая степень одновременного замещения цинка и силиката не должна превышать  $x = 0,2$ .

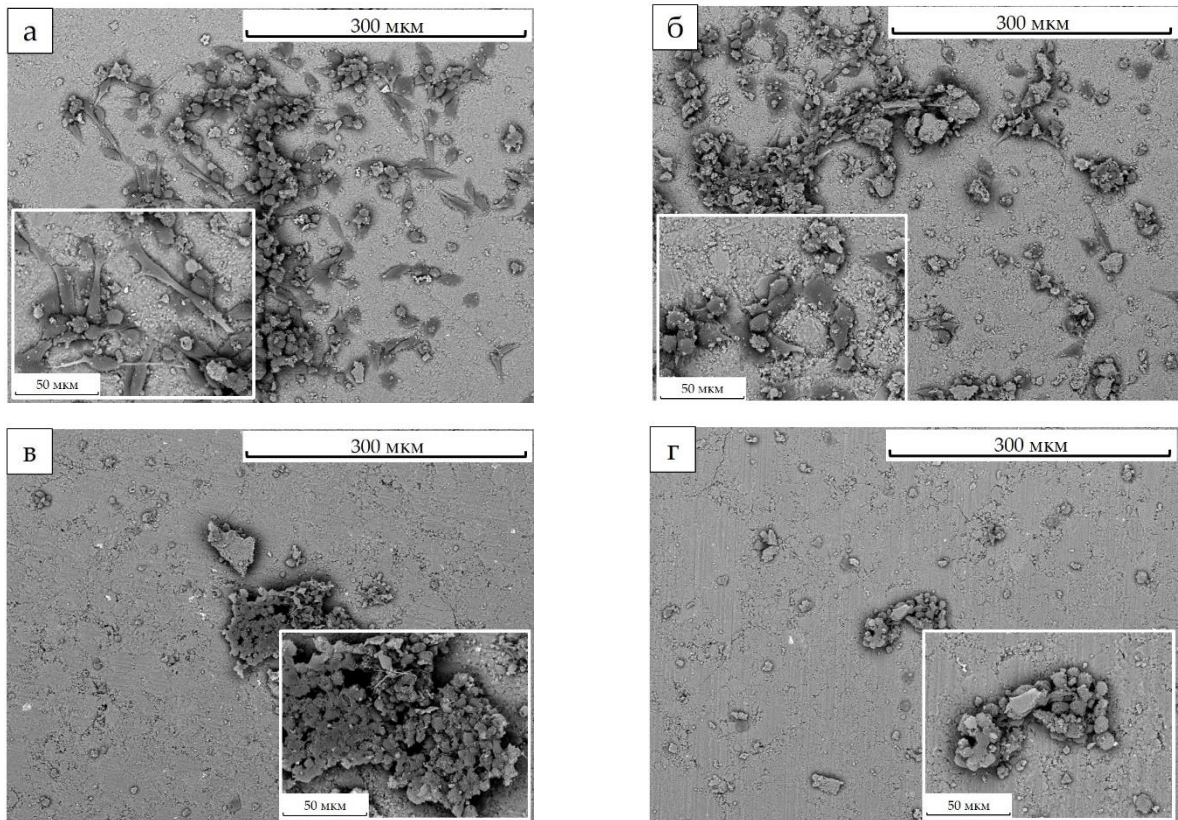


Рисунок 4.14 – СЭМ-изображения поверхности таблеток серии ZnSi-Ап после инкубации на их поверхности клеток MG-63 в течение 7 сут: ГА (а), 0,2-ZnSi-Ап (б), 0,6-ZnSi-Ап (в) и 1,0-ZnSi-Ап (г).

Поскольку ранее было установлено, что наилучшими биологическими свойствами обладает образец 0,2-ZnSi-Ап, то для исследования растворимости апатита в воде были взяты образцы незамещенного ГА (эталон сравнения) и 0,2-ZnSi-Ап. Полученные результаты

показали, что замещенный ГА имеет растворимость примерно в два раза выше, чем незамещенного ГА (Таблица 4.6). Следовательно, введение ионов цинка и кремния в структуру ГА ускоряет биорезорбцию материала.

Таблица 4.6. Результаты элементного анализа раствора после выдержки порошков ГА и 0,2-ZnSi-Ап в дистиллированной деионизованной воде.

Время выдержки, сут	Концентрация, мг/кг					
	ГА		0,2-ZnSi-Ап			
	Ca	P	Ca	P	Si	Zn
1	2,8 ± 0,4	0,7 ± 0,1	5,0 ± 0,6	2,1 ± 0,3	0,7 ± 0,1	0,13 ± 0,02
3	3,6 ± 0,5	2,0 ± 0,3	3,3 ± 0,5	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,2	0,06 ± 0,01
5	1,7 ± 0,4	1,0 ± 0,1	2,4 ± 0,4	1,1 ± 0,2	0,7 ± 0,1	0,08 ± 0,01

#### 4.5 Выводы по главе 4

1. Показано, что в течение 40 мин механохимического синтеза возможно получить цинк-силикат-замещенный гидроксиапатит с равной концентрацией ионов-заместителей. Предел замещения при механохимическом синтезе составляет  $x = 1,0$ .

2. Показано, что введение ионов цинка и кремния приводит к уменьшению параметра  $a$  и увеличению параметра  $c$ . Размер кристаллитов замещенных апатитов падает. Уточнение координат атомов в структуре гидроксиапатита показало, что ионы цинка занимают обе позиции Ca1 и Ca2, с небольшим преимуществом в позиции Ca2. Ионы цинка приближены к кислороду тетраэдра. Силикатные группы замещают фосфатные. Полученный ионный состав цинк-силикат-замещенных ГА близок к заданному.

3. Установлено, что введение ионов цинка и кремния в структуру гидроксиапатита приводит к уменьшению термической стабильности материала до 650 – 800 °С.

4. Исследования *in vitro* показали, что цинк-силикат-замещенный гидроксиапатит является биосовместимым материалом и при малых концентрациях ионов-заместителей не проявляет цитотоксических свойств. Наилучшими свойствами обладает образец с концентрацией ионов-заместителей  $x = 0,2$ . Установлено, что для данной концентрации ионов заместителей наблюдается повышение растворимости материала, по сравнению с незамещенным ГА.

## ГЛАВА 5. ЖЕЛЕЗО-СИЛИКАТ-ЗАМЕЩЕННЫЙ ГИДРОКСИАПАТИТ

### 5.1 Механохимический синтез образцов с разной концентрацией заместителей

#### 5.1.1 Электронная микроскопия

На рисунке 5.1, а-в представлены ПЭМ-изображения образцов серии FeSi-Ап, на которых видно, что введение ионов-заместителей не изменяет морфологию частиц. Незамещенный ГА и образцы с малой концентрацией ионов-заместителей имеют отдельные частицы размером 20–30 нм, а также крупные плотные агрегаты размером порядка 1000 нм. При максимальной концентрации заместителей большая часть порошка представляет собой крупные агрегаты.

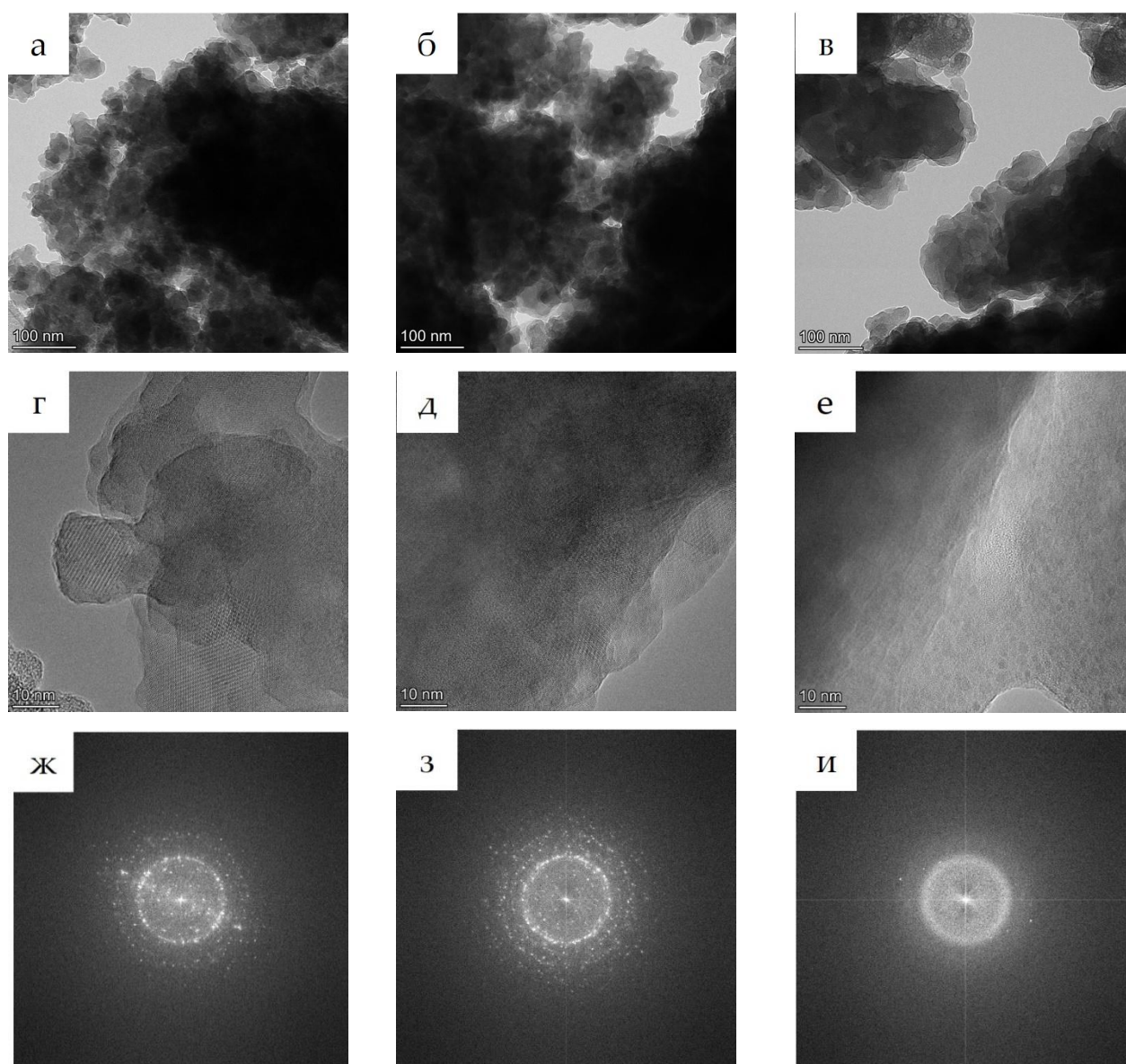


Рисунок 5.1 – ПЭМ (а, б, в), ВРПЭМ (г, д, е) и Фурье-изображения (ж, з, и) порошков ГА (а, г), 0,5-FeSi-Ап (б, д) и 2,0-FeSi-Ап (в, е) после 40 мин МХС.

По данным ВРПЭМ (Рисунок 5.1, г, д) частицы образцов незамещенного ГА и 0,5-FeSi-Ап имеют кристаллическую структуру, тогда как в образце 2,0-FeSi-Ап кристаллическая решетка

не просматривается ВРПЭМ (Рисунок 5.1, е). Аналогичные выводы можно сделать и по Фурье-изображениям (Рисунок 5.1, ж-и): образец 2,0-FeSi-Ап имеет диффузное гало, которое характерно для аморфного материала, следовательно, данный образец является аморфным.

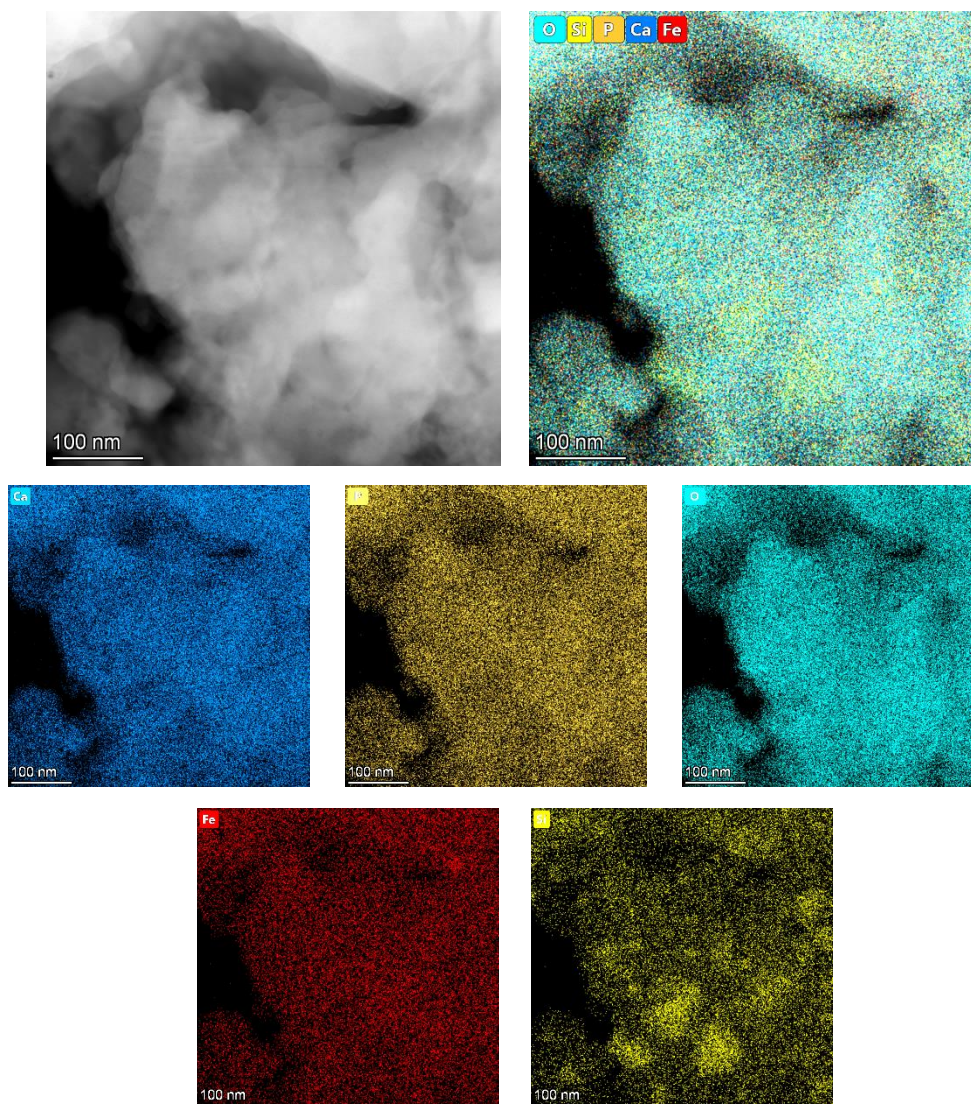


Рисунок 5.2 – Карта распределения элементов в образце 2,0-FeSi-Ап после 40 мин МХС.

Распределение элементов в частицах образца 2,0-FeSi-Ап практически однородно за исключением кремния (Рисунке 5.2). Имеются частицы размером 50 – 100 нм с большим содержанием кремния. Это связано с тем, что кремниевая кислота, используемая в качестве исходного реагента, из-за большого содержания воды в ней плохо перемешивается с остальными реагентами. Часть кремния равномерно распределилась по объему порошка, а часть осталась в виде нанометровых агрегатов. При меньших концентрациях кремниевой кислоты в исходной смеси этот эффект не наблюдается.

В таблице 5.1 представлены результаты ЭДРМ анализа замещенных ГА, которые показывают, что с увеличением концентрации вводимых ионов-заместителей концентрация

элементов в финальном продукте синтеза растет, при этом наблюдается хорошее совпадение с заданными составами (в пределах ошибки измерения).

Таблица 5.1. Результаты ЭДРМ анализа при СЭМ-исследованиях образцов серии FeSi-Ап после 40 мин МХС.

Образец	Концентрация, ат.%							
	Полученный состав				Заданный состав			
	Ca	P	Fe	Si	Ca	P	Fe	Si
ГА	66	34	–	–	62	38	–	–
0,5-FeSi-Ап	59	35	3	3	59	35	3	3
1,0-FeSi-Ап	58	29	8	5	57	31	6	6
2,0-FeSi-Ап	44	33	11	12	50	26	12	12

### 5.1.2 Рентгенофазовый анализ

Дифрактограммы образцов серии FeSi-Ап после 40 мин МХС показаны на рисунке 5.3. Установлено, что все рефлексы относятся к единственной фазе ГА (карта PDF 40-11-9308). Рефлексы исходных реагентов не наблюдаются. С увеличением концентрации вводимых ионов-заместителей наблюдается уширение рефлексов и уменьшение их интенсивностей, что свидетельствует об уменьшении размера кристаллитов. По данным количественного анализа образец 1,5-FeSi-Ап имеет 45 вес.% аморфной фазы, а образец 2,0-FeSi-Ап полностью аморфен, что согласуется с Фурье-изображением (Рисунок 5.1, и). Таким образом, структура FeSi-Ап с  $x > 1,0$  не может быть получена при МХС, и, следовательно, ГА с одновременным замещением на ионы железа и кремния можно получить до концентрации ионов вплоть до  $x = 1,0$ .

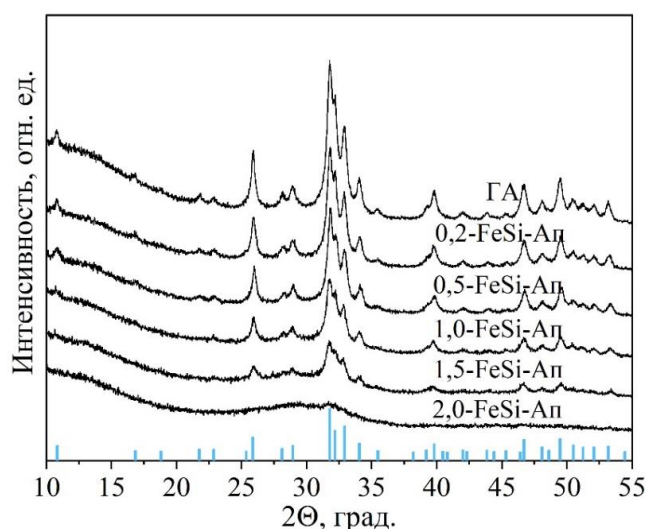
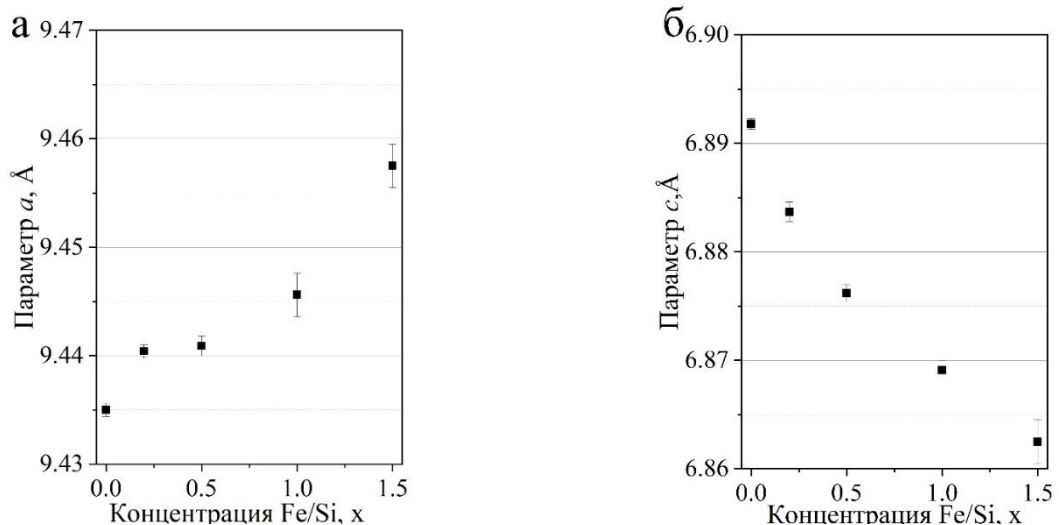


Рисунок 5.3 – Дифрактограммы образцов серии FeSi-Ап после 40 мин синтеза. Вертикальные полосы внизу графика соответствуют рефлексам ГА карточки PDF 40–11–9308 ICDD (PDF-4, 2011).

На рисунке 5.4 представлены изменения параметров решетки  $a$  и  $c$ , объема решетки и ОКР апатитов с одновременным замещением на ионы железа и кремния от концентрации вводимых заместителей. Уточнение параметров показало, что одновременное введение двух типов заместителей в структуру ГА увеличивает параметр решетки  $a$  и уменьшает параметр решетки  $c$ . Подобная динамика наблюдается в образцах с одинарным замещением на ионы железа [240]. Вероятно данный ион вносит наибольший вклад в структурные изменения при одновременном двойном замещении. Объем элементарной ячейки при двойном замещении изменяется нелинейно с увеличением концентрации заместителей, а размер кристаллитов уменьшается (Рисунок 5.4, в, г) [241].

Поскольку катион железа  $Fe^{3+}$  имеет меньший ионный радиус (0,55 Å) по сравнению с катионом кальция  $Ca^{2+}$  (0,99 Å), следовательно, введение ионов железа в структуру ГА должно приводить к уменьшению параметров  $a$  и  $c$ . Однако в работе [240] включение катионов железа в решетку ГА приводит к небольшому увеличению параметра  $a$  и уменьшению параметра  $c$ . Аналогичный эффект также был отмечен в работах [242,243] для Fe-ГА. Такое поведение может быть связано с образованием вакансий OH-групп на оси  $c$  для компенсации избыточного положительного заряда от иона  $Fe^{3+}$ , замещающего катион кальция  $Ca^{2+}$ . Ион кремния (0,39 Å) имеет больший ионный радиус по сравнению с ионом фосфора (0,35 Å), поэтому при высоких концентрациях одновременного двойного замещения в ГА наблюдается увеличение параметра  $a$ . Следует также отметить, что в случае двойного замещения на параметры решетки должно оказывать влияние изменение состава ионов, находящихся в гидроксильном канале, а именно наличие OH-групп и вакансий  $O^{2-}$  (Таблица 2.1). Кроме того, необходимо также учитывать разное количество молекул воды в кристаллической решетке FeSi-Ап апатитов при разной концентрации заместителей, что также может влиять на значения параметров решетки [36,152].



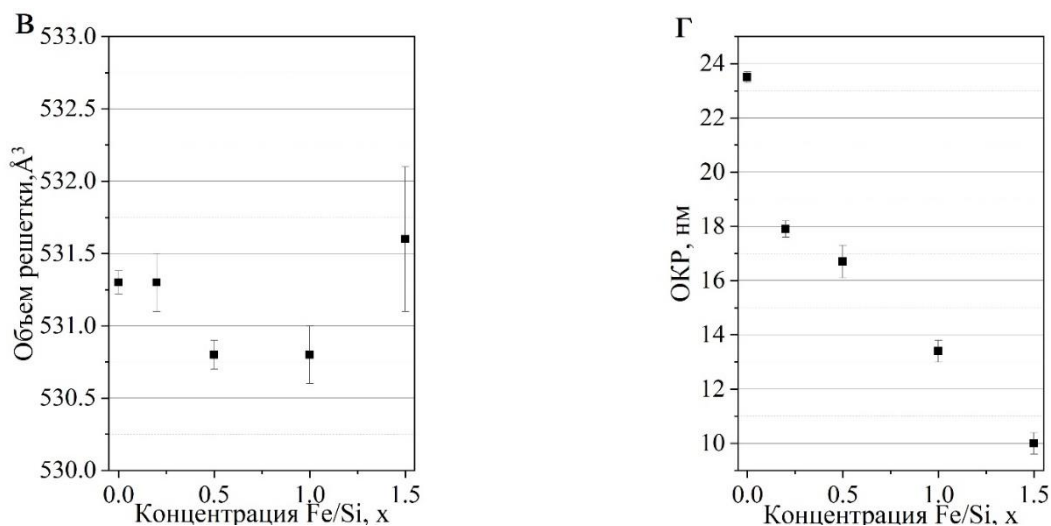


Рисунок 5.4 – Изменение параметров  $a$  (а) и  $c$  (б), объема решетки (в) и ОКР (г) апатитов серии FeSi-Ап после 40 мин синтеза.

### 5.1.3 Инфракрасная спектроскопия

На рисунке 5.5 показаны ИК-спектры замещенных апатитов серии FeSi-Ап после 40 мин синтеза. В спектрах наблюдаются полосы поглощения ГА, относящиеся к деформационным колебаниям связи О-Р-О при  $570$  и  $602$   $\text{см}^{-1}$  и валентным колебаниям связи Р-О при  $1048$  и  $1088$   $\text{см}^{-1}$ . Полосы поглощения при  $631$  и  $3574$   $\text{см}^{-1}$  принадлежат либрационным и валентным колебаниям ОН-группы в структуре ГА соответственно. По мере увеличения концентрации вводимых заместителей происходит уширение полос поглощения и незначительное смещение некоторых полос фосфатной группы, что указывает на изменение локального окружения в структуре ГА. Так, в ИК-спектре 2,0-FeSi-Ап отчетливо наблюдаются только две интенсивные полосы фосфат-иона при  $567$  и  $1060$   $\text{см}^{-1}$ . Полоса при  $940$   $\text{см}^{-1}$ , обнаруженная в замещенных образцах, относится к силикатной группе в структуре ГА. Эта полоса зарегистрирована при  $950$   $\text{см}^{-1}$  для Si-ГА, полученного аналогичным методом синтеза [148]. Наблюдаемый сдвиг, а также отсутствие остальных полос поглощения силиката в структуре ГА [148,244] можно объяснить наличием дополнительного иона-заместителя и низкой кристалличностью полученного порошка. Следует отметить, что полосы поглощения исходного силиката не наблюдаются даже в образце с максимальной степенью замещения (2,0-FeSi-Ап), в элементарной ячейке которого находятся два силикатных тетраэдра из шести.

Увеличение концентрации заместителей до  $x = 0,5$  (образец 0,5-FeSi-Ап) приводит к уменьшению интенсивности полос поглощения валентных ( $3574$   $\text{см}^{-1}$ ) и либрационных ( $631$   $\text{см}^{-1}$ ) колебаний ОН-группы (Рисунок 5.5). При этом происходит смещение положения полосы валентных колебаний. При концентрации заместителей выше  $x = 1,0$  эти полосы не

проявляются, что, вероятно, связано с тем, что при этих концентрациях каждая ОН-группа в гидроксильном канале изолирована от соседней ОН-группы либо анионом  $O^{2-}$ , либо вакансией.

ИК-спектры всех синтезированных образцов имеют широкие полосы поглощения адсорбированной воды ( $1645$  и  $3420$   $cm^{-1}$ ), которая выделяется при МХС и поглощается частицами, а также захватывается формирующейся кристаллической решеткой апатита [237]. Полосы поглощения карбонатной группы при  $875$ ,  $1420$  и  $1480$   $cm^{-1}$  наблюдаются только для незамещенного ГА [36].

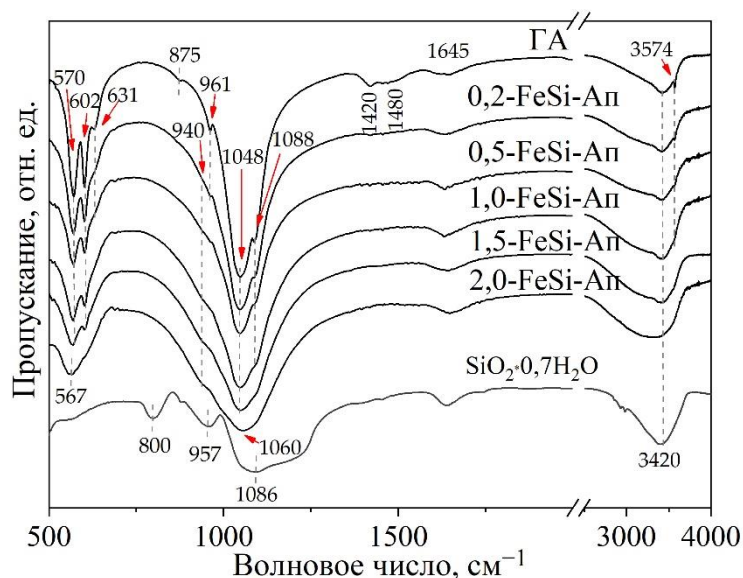


Рисунок 5.5– ИК-спектры образцов серии FeSi-Ап после 40 мин синтеза.

## 5.2 Термическая стабильность

### 5.2.1 Дифференциальный термический анализ

По данным ДТА все образцы при нагреве до  $600$   $^{\circ}C$  интенсивно теряют массу за счет выделения сорбированной и кристаллизационной воды (Рисунок 5.6). Видно, что с ростом концентрации вводимых заместителей, количество выделяемой воды увеличивается, что согласуется с реакциями взаимодействия исходных реагентов (Таблица 2.1). Небольшое количество воды, выделяющееся при температуре выше  $700$   $^{\circ}C$ , связывают с дегидроксилированием апатита [60]. Кроме того, на кривой ДСК образца 2,0-FeSi-Ап (Рисунок 5.6, г) наблюдается экзоэффект при  $735$   $^{\circ}C$ , что указывает на структурные превращения, сопровождающиеся выделением фазы  $\beta-Ca_3(PO_4)_2$  [179]. Можно предположить, что при данной температуре происходит кристаллизация аморфной фазы, т.к. данный образец был аморфен. В образцах 0,5-FeSi-Ап и 1,0-FeSi-Ап экзоэффект при  $735$   $^{\circ}C$  отсутствует, хотя наклон кривой ДСК также меняется. Вероятно, процесс структурного превращения в этом случае менее ярко выражен из-за меньшего количества выделившейся фазы.



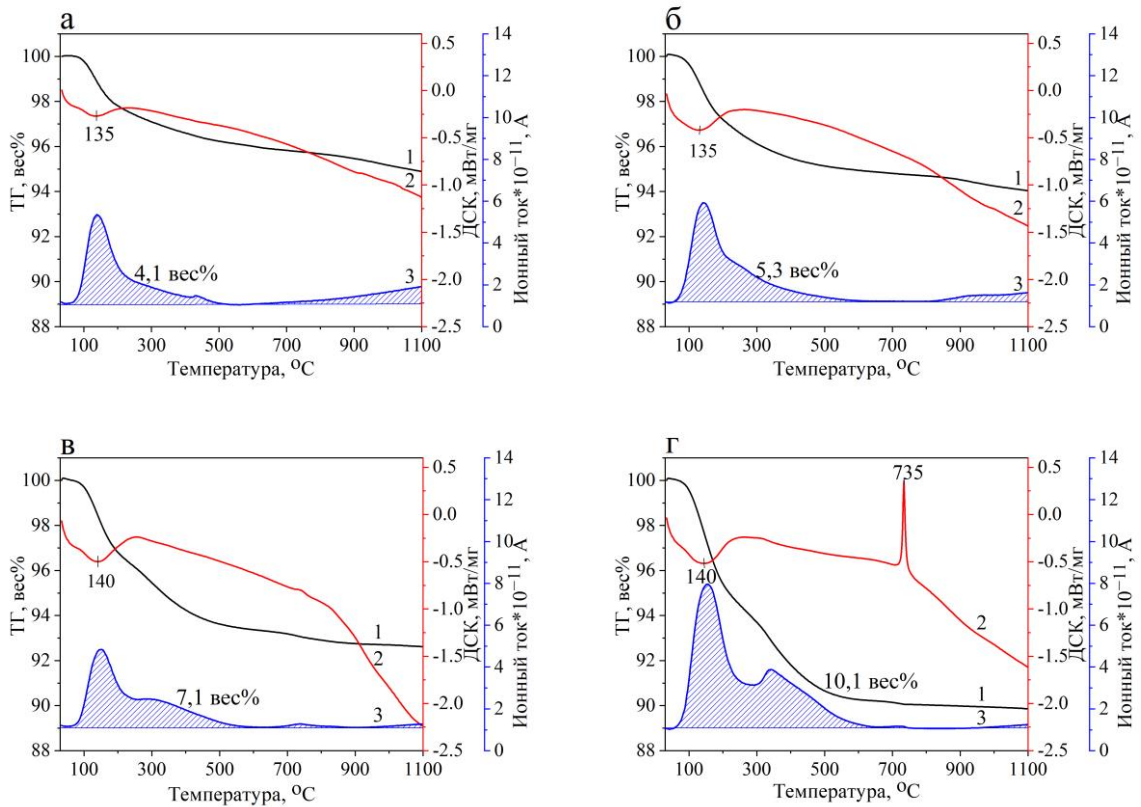


Рисунок 5.6 – Дифференциальный термический анализ МХС образцов серии FeSi-Ап после 40 мин синтеза: ГА (а), 0,5-FeSi-Ап (б), 1,0-FeSi-Ап (в) и 2,0-FeSi-Ап (г).

На основании данных ДТА для дальнейшего более детального исследования были выбраны температуры отжига 600 и 800 °С, при которых происходят основные структурные изменения образцов. До 600 °С наблюдается удаление адсорбированной воды и кристаллизационной воды, а после 800 °С образец будет после структурного превращения.

### 5.2.2 Инфракрасная спектроскопия

Согласно ИК-спектрам фазовый состав образцов, отожженных при 600 °С (Рисунок 5.7, а), не изменяется, хотя по сравнению с образцами после МХС (Рисунок 5.5) наблюдается небольшое сужение всех полос поглощения. Как и до отжига полосы поглощения фосфат-иона уширяются с увеличением концентрации вводимых заместителей, а при высоких концентрациях заместителей часть полос смещается. Интенсивности полос поглощения ОН-групп при 630 и 3574  $\text{см}^{-1}$  постепенно уменьшаются и отсутствуют в образцах 1,5-FeSi-Ап и 2,0-FeSi-Ап, при этом наблюдается набор слабо выраженных полос в области валентных колебаний ОН-группы (Рисунок 5.7, в). Полоса поглощения, относящаяся к колебаниям силикатных тетраэдров в структуре ГА, наблюдается при 930  $\text{см}^{-1}$ .

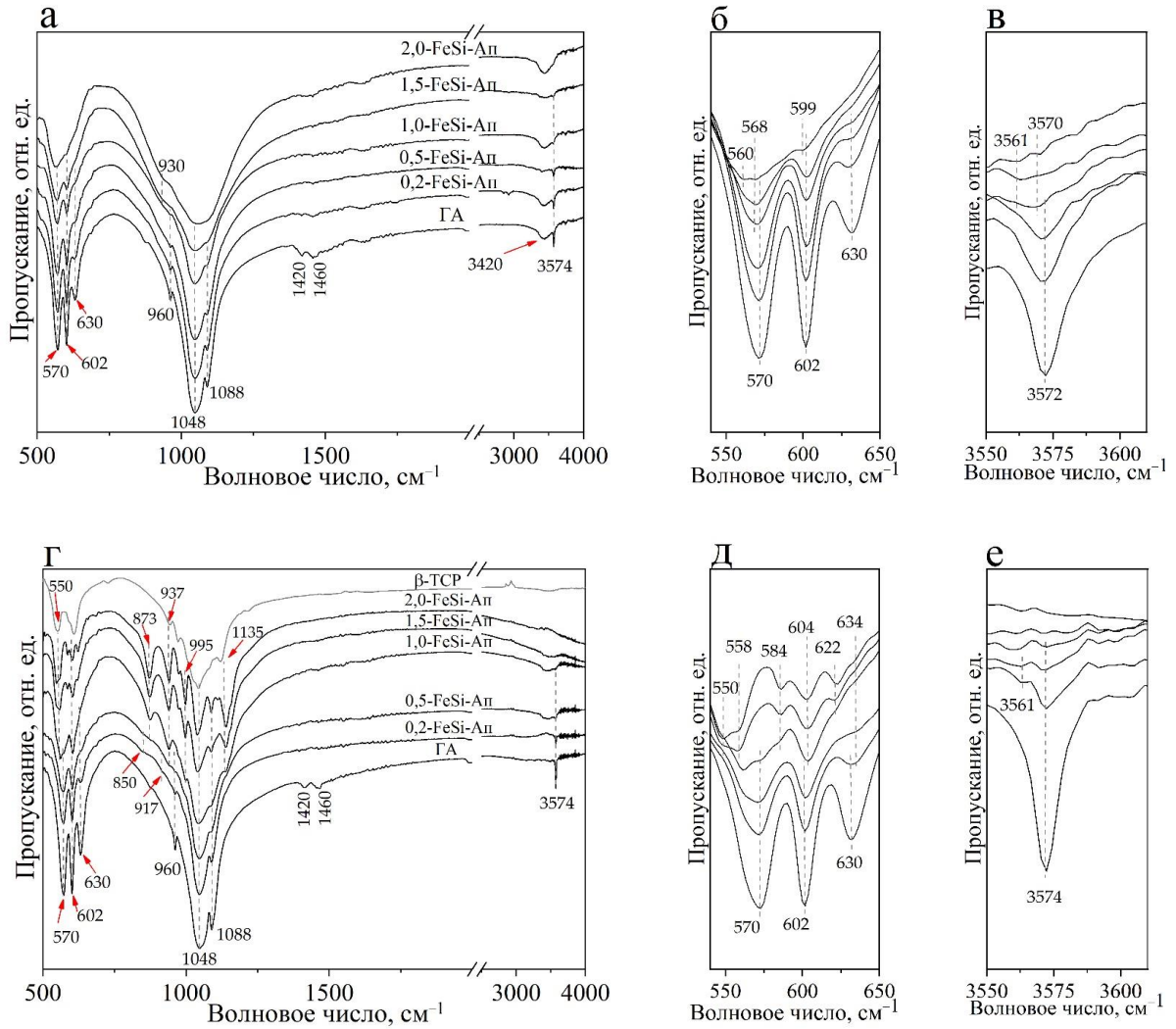


Рисунок 5.7 – ИК-спектры образцов серии FeSi-Ап, отожженных при 600 (а, б, в) и 800 °С (г, д, е).

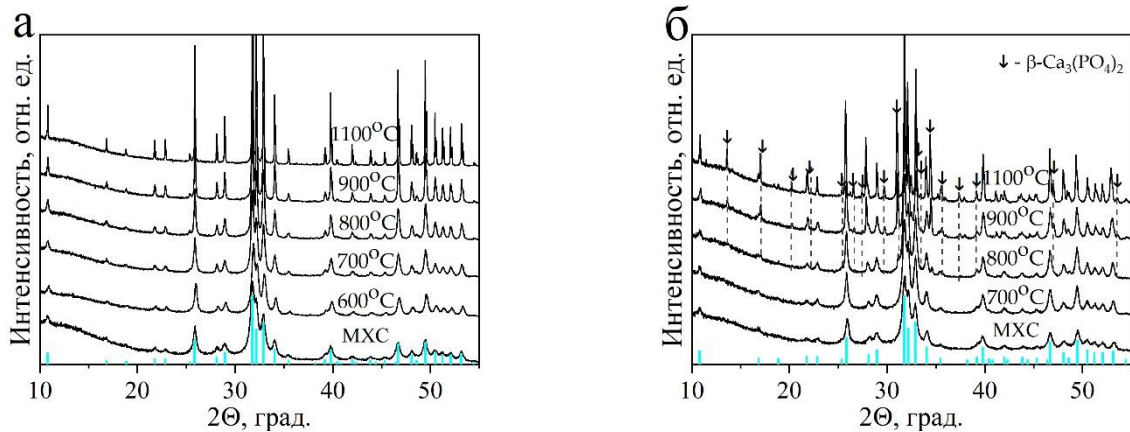
Следует отметить, что поведение либрационных и валентных колебаний ОН-групп подтверждает правильность химических составов синтезированных образцов с общей формулой  $\text{Ca}_{10-x}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}\text{O}_{x/2}$ , приведенных в таблице 2.1. Более простой вариант взаимного уравнивания избыточных зарядов замещающих катионов и анионов по уравнению  $\text{Ca}^{2+} + (\text{PO}_4)^{3-} = \text{Fe}^{3+} + (\text{SiO}_4)^{4-}$  не реализуется в случае двойного замещения, т.к. он не согласуется с данными ИК-спектроскопии. Возможно, при замещении  $\text{Ca}^{2+}$  катионами  $\text{Fe}^{3+}$  стенки гидроксильного канала в месте замещения приобретают избыточный положительный заряд, что требует компенсации, которая может быть достигнута за счет потери группы  $\text{OH}^-$  в пользу аниона  $\text{O}^{2-}$ . Аналогичная ситуация наблюдается в структуре образцов LaSi-Ап.

При повышении температуры отжига до 800 °С полосы на ИК-спектрах образцов с концентрацией  $x = 0,5 - 2,0$  существенно изменяются (Рисунок 5.7, г), что свидетельствует о структурных превращениях, выявленных по данным ДТА. Как видно на рисунке 5.7, г, спектр

фазы  $\beta$ -ТКФ, который может выделяться при температуре 735 °С, значительно отличается от спектра замещенных образцов с концентрацией заместителей  $x = 1,0 - 2,0$ . Учитывая, что при нагревании замещенных образцов может образоваться не стехиометрический, а замещенный  $\beta$ -ТКФ, то ионы-заместители должны изменять ИК-спектр  $\beta$ -ТКФ. ИК-спектры образцов с  $x = 1,0 - 2,0$  схожи со спектрами железо-замещенного  $\beta$ -ТСП [245]. Однако в нашем случае положения полос поглощения немного отличаются, что может быть связано с присутствием в структуре  $\beta$ -ТКФ как катионов железа, так и силикатных групп.

### 5.2.3 Рентгенофазовый анализ

Дифрактограммы после отжига порошков серии FeSi-Ап при разных температурах (Рисунок 5.8) показывают, что фаза  $\beta$ -ТКФ появляется во всех замещенных образцах при температурах выше 600 – 700 °С. Для образцов с концентрацией заместителей  $x = 0,2 - 0,5$   $\beta$ -ТКФ начинает проявляться при 800 °С, а при больших концентрациях эта фаза обнаруживается при 700 °С. Повышение температуры отжига приводит к увеличению количества фазы  $\beta$ -ТКФ во всех замещенных образцах (Таблица 5.2), тогда как незамещенный ГА остается однофазным при всех температурах обработки. При концентрациях заместителей  $x = 1,0 - 2,0$  при температурах выше 800 °С в замещенных образцах появляется дополнительная фаза — оксид железа (III), концентрация которого увеличивается с повышением температуры и степени замещения [241].



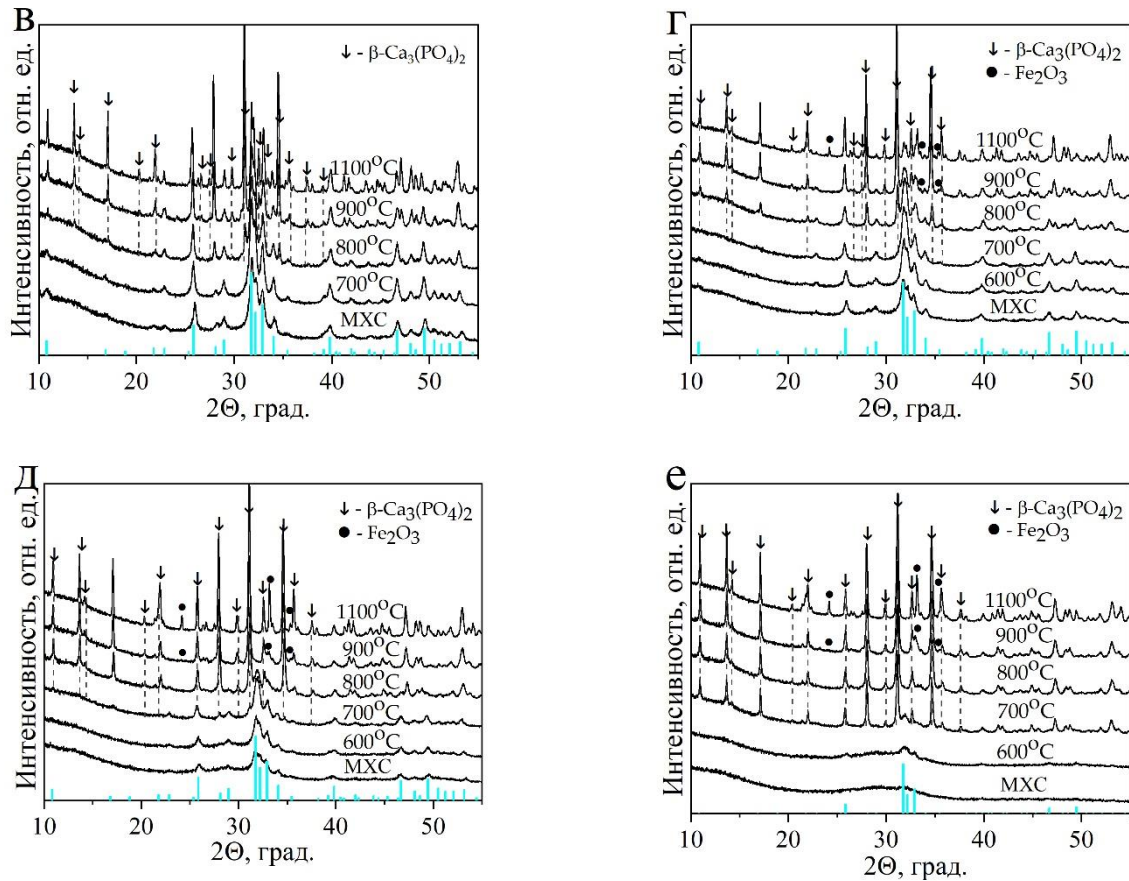


Рисунок 5.8 – Дифрактограммы образцов серии FeSi-Ап отожженных при разных температурах в течение 2 ч: ГА (а), 0,2-FeSi-Ап (б), 0,5-FeSi-Ап (в), 1,0-FeSi-Ап (г), 1,5-FeSi-Ап (д) и 2,0-FeSi-Ап (е).

Таблица 5.2. Концентрации фаз (вес.%) в отожженных образцах серии FeSi-Ап, рассчитанные методом Ритвельда.

Образец	Фаза	700 °С	800 °С	900 °С	1000 °С	1100 °С
ГА	ГА	100	100	100	100	100
0,2-FeSi-Ап	ГА	100	95	76	70	66
	β-ТКФ	0	5	24	30	34
0,5-FeSi-Ап	ГА	100	85	57	43	37
	β-ТКФ	0	15	43	57	63
1,0-FeSi-Ап	ГА	97	67	32	14	12
	β-ТКФ	3	33	67	81	83
	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0	0	1	5	6
1,5-FeSi-Ап	ГА	79	31	7	2	1
	β-ТКФ	21	69	93	90	90
	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0	0	1	8	9
2,0-FeSi-Ап	ГА	15	6	7	3	1
	β-ТКФ	85	94	91	89	89
	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0	0	1	8	10

Интересным фактом является то, что фаза силикокарнотита, выделяющаяся при нагревании Si-ГА [73], в образцах серии FeSi-Ап также не образуется. Очевидно, что при разложении железо-силикат-замещенного апатита, силикат-анион остается в фазе апатита и/или в фазе  $\beta$ -ТСП. Катион железа, введенный в высоких концентрациях ( $x > 0,5$ ), выходит из структуры фосфата и образует индивидуальную оксидную фазу.

Учитывая тот факт, что кремний-замещенные ГА проявляют более высокую термическую стабильность [73] по сравнению с железо-замещенными ГА [229], можно предположить, что основная дестабилизация в решетке FeSi-Ап вызвана катионами железа, имеющими ионный радиус почти в два раза меньше, чем у ионов кальция. Температурное расширение решетки, происходящее при нагреве образцов серии FeSi-Ап, увеличивает межатомное расстояние, уменьшая тем самым электростатическое притяжение между катионами и анионами. Вероятно, разрушение кристаллической решетки апатита с двойным замещением при нагреве происходит в области локализации катионов железа, поскольку расстояние между катионом железа и ближайшими анионами кислорода становится больше, чем необходимо для их притяжения. Наличие силикатных анионов в структуре FeSi-Ап должно дополнительно увеличивать объем элементарной ячейки, поэтому предел термической стабильности образцов серии FeSi-Ап по сравнению с Fe-ГА снижается на 100 °С.

На рисунке 5.9, а-в показано изменение параметров решетки и ОКР апатита при увеличении температуры отжига образцов с разной степенью замещения. В образце 2,0-FeSi-Ап концентрация фазы апатита менее 10 вес.%, поэтому параметры для этого образца не приводятся. Как видно, удаление адсорбированной воды при 300 °С приводит к уменьшению параметров решетки во всех образцах. Удаление кристаллизационной воды при 600 °С не изменяет параметр  $a$ , а параметр  $c$  увеличивается. Дальнейшее увеличение содержания заместителей приводит к увеличению параметра  $c$ . При дальнейшем повышении температуры параметр  $c$  продолжает увеличиваться, а параметр  $a$  начинает уменьшаться. В обоих случаях чем выше концентрация заместителей, тем сильнее изменяется параметр. В образцах с высокой концентрацией заместителей ( $x \geq 1,0$ ) при высоких температурах (выше 900°С), при которых происходит образование оксида железа, имеет место значительное отклонение параметров от линейной динамики с приближением анализируемых значений к значениям для незамещенного ГА. Следовательно, можно сделать вывод, что при высоких температурах в образцах с  $x \geq 1,0$  в фазе апатита наблюдается снижение концентрации катионов железа. Эти изменения не влияют на размер образовавшихся кристаллитов (Рисунок 5.9, в). Размер кристаллитов монотонно увеличивается с ростом температуры отжига.

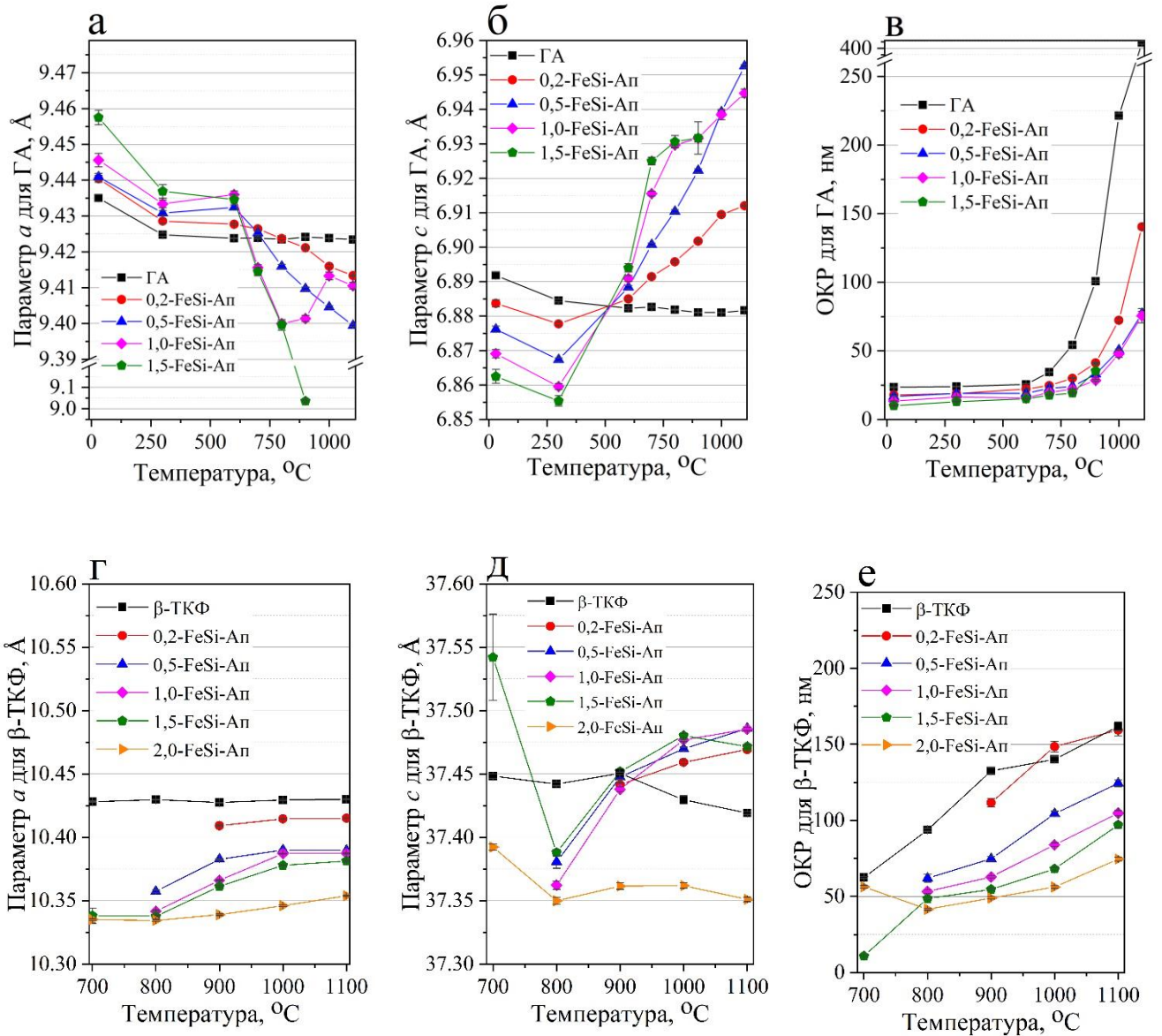


Рисунок 5.9 – Изменение параметров решетки и ОКР отожженных образцов серии FeSi-Al в фазах  $\Gamma$ А (а-в) и  $\beta$ -ТКФ (г-е).

Изменение параметров решетки фазы  $\beta$ -ТКФ при повышении температуры обработки образцов показано на рисунке 5.9, г-е. Для сравнения на рисунке также приведены структурные параметры незамещенного стехиометрического  $\beta$ -ТКФ. Эти данные подтверждают, что часть замещающих ионов находится в структуре  $\beta$ -ТКФ. С увеличением концентрации заместителей параметр  $a$  замещенных образцов при фиксированной температуре уменьшается, тогда как его значение увеличивается с повышением температуры. Для незамещенного  $\beta$ -ТКФ параметры решетки  $a$  и  $c$  практически не изменяются. Параметр  $c$  в замещенных образцах имеет более сложную динамику изменения (Рисунок 5.9, д). Для образцов с концентрацией заместителей до  $x = 1,5$  значения параметра  $c$  практически идентичны при всех температурах обработки, что вероятно связано с одинаковой концентрацией заместителя в фазе ТКФ. После 800 °C параметр

$c$  в этих образцах увеличивается с ростом температуры, выходя на плато. Поведение параметра  $c$  для образца 2,0-FeSi-Ап практически аналогично поведению для стехиометрического  $\beta$ -ТКФ, но кривая лежит значительно ниже остальных. Полученная динамика изменений параметров отличается от поведения параметров в  $\beta$ -ТКФ с одинарным замещением на ионы железа [245]. В этом случае параметры  $a$  и  $c$  у  $\beta$ -ТКФ уменьшаются с увеличением содержания железа в нем. Полученное различие в изменении параметров решетки возможно связано с присутствием в решетке  $\beta$ -ТКФ силикатных групп, концентрация которых может увеличиваться с ростом температуры обработки, что отражается на увеличении параметров решетки.

Повышение температуры обработки приводит к увеличению размеров кристаллитов замещенной фазы  $\beta$ -ТКФ во всех образцах (Рисунок 5.9, е). Однако, чем больше концентрация допантов в исходной смеси, тем ниже кривая роста размера кристаллитов для фазы  $\beta$ -ТКФ, что свидетельствует об усложнении процесса роста кристаллитов при нагреве.

### 5.3 Кристаллическая структура

Уточнение структуры железо-кремний-замещенных ГА проводили на образцах, прошедших термообработку при 600 °С, – максимальная температура, при которой не наблюдается разрушения структуры замещенного апатита. Уточнение показало, что параметры  $a$  и  $c$  увеличиваются с ростом концентрации ионов-заместителей (Рисунок 5.10). На увеличение параметров влияет бóльший ионный радиус силикатной группы по сравнению с фосфатной. ОКР падает с увеличением концентрации заместителей, при этом микронапряжения, созданные при  $x = 0,2$ , постепенно уменьшаются.

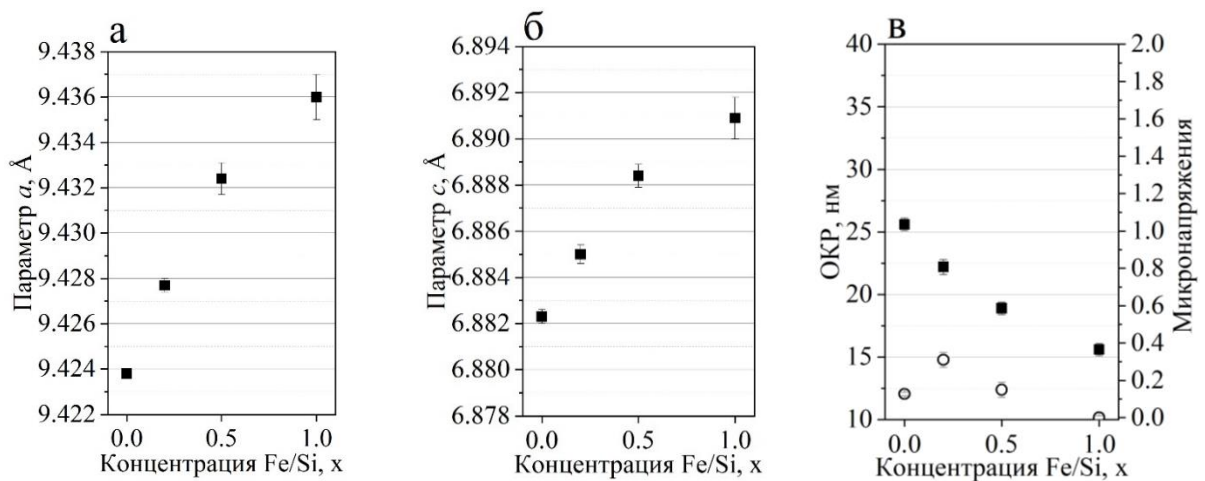


Рисунок 5.10 – Изменение параметров решетки  $a$  (а),  $c$  (б), ОКР и микронапряжений (в) отожженных при 600 °С образцов серии FeSi-Ап.

Таблица 5.3. Рассчитанные координаты атомов в структуре замещенных апатитов, отожженных при 600 °С.

Атом	Координаты	ГА-600	0,2-FeSi-Ап- 600	0,5-FeSi-Ап- 600	1,0-FeSi-Ап- 600
Ca1	x	0,3333	0,3333	0,3333	0,3333
	y	0,6667	0,6667	0,6667	0,6667
	z	0,0012(5)	0,0022(6)	0,0035(7)	0,006(2)
Fe1	x	–	0,3333	0,3333	0,3333
	y	–	0,6667	0,6667	0,6667
	z	–	0,0022(6)	0,0035(7)	0,006(2)
Ca2	x	0,2449(2)	0,2434(5)	0,2412(6)	0,235(1)
	y	0,9908(3)	0,9885(4)	0,9848(4)	0,9773(8)
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
Fe2	x	–	0,273(8)	0,268(4)	0,262(5)
	y	–	1,045(9)	1,036(3)	1,020(4)
	z	–	0,2500	0,2500	0,2500
P	x	0,3998(4)	0,3992(4)	0,3991(5)	0,4014(7)
	y	0,3713(3)	0,3711(4)	0,3700(4)	0,3707(7)
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
Si	x	–	0,3992(4)	0,3991(5)	0,4014(7)
	y	–	0,3711(4)	0,3700(4)	0,3707(7)
	z	–	0,2500	0,2500	0,2500
O1	x	0,3273(7)	0,3282(8)	0,3310(9)	0,335(2)
	y	0,4819(7)	0,4869(8)	0,4890(9)	0,502(2)
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
O2	x	0,5866(7)	0,5856(7)	0,5837(9)	0,574(1)
	y	0,4624(7)	0,4604(8)	0,4557(9)	0,447(2)
	z	0,2500	0,2500	0,2500	0,2500
O3	x	0,3406(5)	0,3454(6)	0,3468(7)	0,351(1)
	y	0,2543(5)	0,2583(6)	0,2602(7)	0,262(1)
	z	0,0717(5)	0,0686(5)	0,0678(6)	0,068(1)
O4	x	0	0	0	0
	y	0	0	0	0
	z	0,192(2)	0,186(3)	0,195(5)	0,20(3)
R <sub>wp</sub> /GOF		5,56/1,24	6,72/1,19	6,84/1,20	7,21/1,27

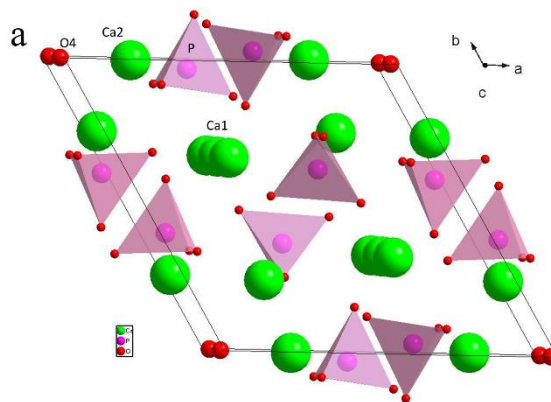


Полнопрофильный анализ образцов, отожженных при 600 °С, (Таблица 5.3) показал, что ионы железа занимают обе позиции ионов кальция Ca1 и Ca2 в структуре ГА, образуя позиции Fe1 и Fe2 (Таблица 5.4). Было установлено, что положение ионов железа Fe1 практически совпадает с положением Ca1. Длина связи Fe2-O4 длиннее связи Ca2-O4 для всех замещенных апатитов, при этом длина связи Fe2-O3 короче длины Fe2-O4 (Таблица 5.4). Следовательно, ионы железа Fe2 смещены к кислороду тетраэдра.

Рассчитанные заселенности показали, что ионы железа занимают преимущественно позицию Fe2. С ростом концентрации вводимых заместителей концентрация ионов железа и кремния в апатите увеличивается, концентрация ионов кальция и фосфора уменьшается, что указывает на процесс замещения ионами железа и кремния ионов кальция и фосфора, соответственно. На основе полученных данных были построены структуры замещенных апатитов (Рисунок 5.11).

Таблица 5.4. Рассчитанные длины связей и заселенности в структуре апатита для образцов серии FeSi-Ап, отожженных при 600 °С.

Образец	Длина связи, Å			Заселенность					
	Ca2-O4	Fe2-O4	Fe2-O3	Ca1	Fe1	Ca2	Fe2	P	Si
ГА-600	2,382(3)	—	—	1,000(2)	—	1,002(2)	—	1	—
0,2-FeSi-Ап-600	2,392(6)	2,43(8)	2,163(6)	0,986(2)	0,014(2)	0,969(5)	0,031(5)	0,97	0,03
0,5-FeSi-Ап-600	2,380(4)	2,403(4)	2,246(5)	0,987(6)	0,013(6)	0,919(7)	0,081(7)	0,94	0,06
1,0-FeSi-Ап-600	2,332(6)	2,383(4)	2,352(6)	0,949(9)	0,051(9)	0,837(9)	0,163(9)	0,85	0,15



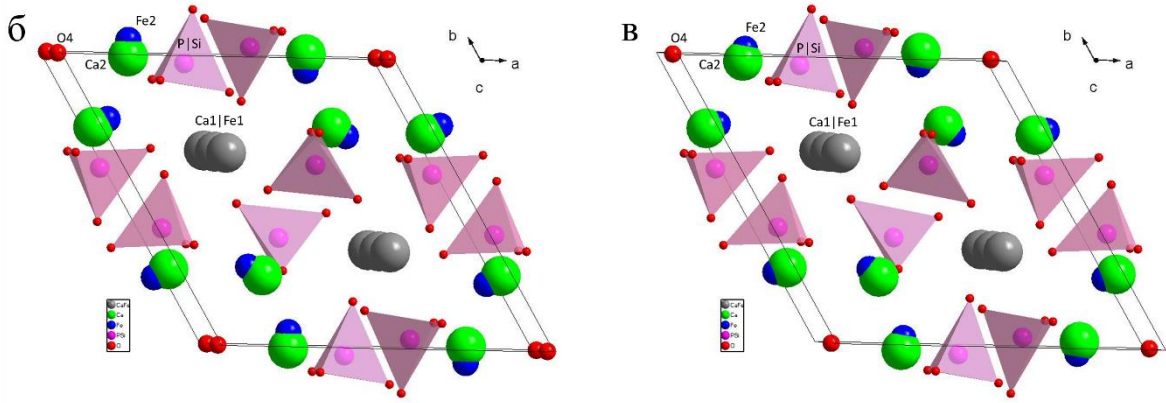


Рисунок 5.11 – Структура элементарной ячейки незамещенного ГА-650 (а), 0,2-FeSi-Ап-600 (б) и 1,0-FeSi-Ап-600 (в).

По полученным данным заселенностей были определены формулы синтезированных апатитов и проведено сравнение с номинальными формулами (Таблица 5.5). Полученный состав имеет аналогичный порядок величин концентрации ионов-заместителей, как и в заданном составе.

Таблица 5.5. Сравнение заданного и полученного состава замещенных ГА, отожженных при 600 °С.

Образец	Заданный состав	Полученный состав
ГА-600	$\text{Ca}_{10}\text{P}_6\text{O}_{26}\text{H}_2$	$\text{Ca}_{10,0}\text{P}_6\text{O}_{26,3}$
0,2-FeSi-Ап-600	$\text{Ca}_{9,8}\text{Fe}_{0,2}\text{P}_{5,8}\text{Si}_{0,2}\text{O}_{25,9}$	$\text{Ca}_{9,8}\text{Fe}_{0,2}\text{P}_{5,8}\text{Si}_{0,2}\text{O}_{26,3}$
0,5-FeSi-Ап-600	$\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,5}\text{P}_{5,5}\text{Si}_{0,5}\text{O}_{25,75}$	$\text{Ca}_{9,5}\text{Fe}_{0,5}\text{P}_{5,6}\text{Si}_{0,4}\text{O}_{26,8}$
1,0-FeSi-Ап-600	$\text{Ca}_{9,0}\text{Fe}_{1,0}\text{P}_{5,0}\text{Si}_{1,0}\text{O}_{25,5}$	$\text{Ca}_{8,8}\text{Fe}_{1,2}\text{P}_{5,1}\text{Si}_{0,9}\text{O}_{27,0}$

#### 5.4 *In vitro* исследование биологических свойств

Для *in vitro* исследований были выбраны составы 0,2-FeSi-Ап и 0,5-FeSi-Ап, поскольку они имеют наибольшую термическую стабильность. Основываясь на литературных данных [122], бóльшие концентрации железа приводят к цитотоксическому эффекту.

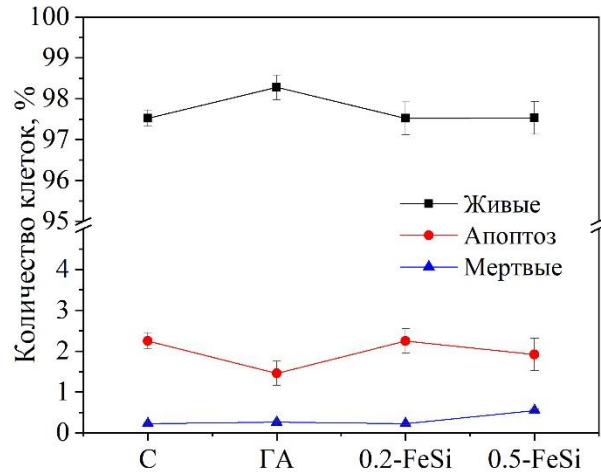


Рисунок 5.12 – Жизнеспособность клеток фибробластов MRC-5 после инкубации с порошками ГА, 0,2-FeSi-Ап и 0,5-FeSi-Ап при концентрации 0,1 мг/мл в течение 48 ч.

Исследования по цитотоксичности серии образцов FeSi-Ап на клеточной линии фибробластов MRC-5 с концентрацией порошка в культуральной среде 0,1 мг/мл показали, что для всех составов наблюдается высокая жизнеспособность клеток (Рисунок 5.12).

В таблице 5.6 представлены результаты стандартного МТТ-теста для определения цитотоксичности порошка на остеобластах человека MG-63. Приведены результаты инкубации клеток в среде с порошками замещенных ГА в течение 4 суток. Замечено, что у образца 0,2-FeSi-Ап наблюдается значительный рост оптической плотности и, следовательно, наилучшая жизнеспособность клеток остеобластов. Увеличение концентрации ионов-заместителей приводит к уменьшению количества остеобластов, что указывает на небольшую токсичность данного образца. Можно сделать вывод, что серия FeSi-Ап является нетоксичной при концентрации  $x \leq 0,2$ .

Таблица 5.6. Результаты МТТ-теста после 4 суток инкубации остеобластов с порошками серии FeSi-Ап после 40 мин МХС. Оптическая плотность формазана обратно пропорциональна гибели клеток.

Образец	Оптическая плотность
ГА	0,58 ± 0,01
0,2-FeSi-Ап	0,65 ± 0,03
0,5-FeSi-Ап	0,51 ± 0,02
Контроль	0,53 ± 0,02

Для оценки пролиферации костных клеток остеобласты MG-63 культивировали на поверхности таблетированных образцов замещенного ГА. СЭМ-фотографии остеобластов после 7 дней культивирования на таблетках показаны на рисунке 5.13. Видно, что максимальная плотность клеток наблюдается на образце 0,2-FeSi-Ап. Сравнительный анализ морфологии клеток показал, что хорошо прикрепленные веретенообразные клетки наблюдаются только на образце 0,2-FeSi-Ап (Рисунок 5.13, а), при этом на этом же образце и высокая пролиферация. Следует отметить, что на таблетке образца 0,2-FeSi-Ап клетки остеобластов соединены между собой, образуя подобие губчатой структуры, чего не наблюдалось в образцах других серий. Малое количество клеток на образце 0,5-FeSi-Ап очевидно связано с токсическим воздействием ионов железа, что согласуется с данными МТТ-теста. Таким образом, можно сделать вывод, что у образца с концентрацией заместителей  $x = 0,2$  наблюдается наибольшая концентрация прикрепленных клеток, которые обладают правильной морфологией. Повышение концентрации  $x > 0,2$  оказывает негативный эффект.

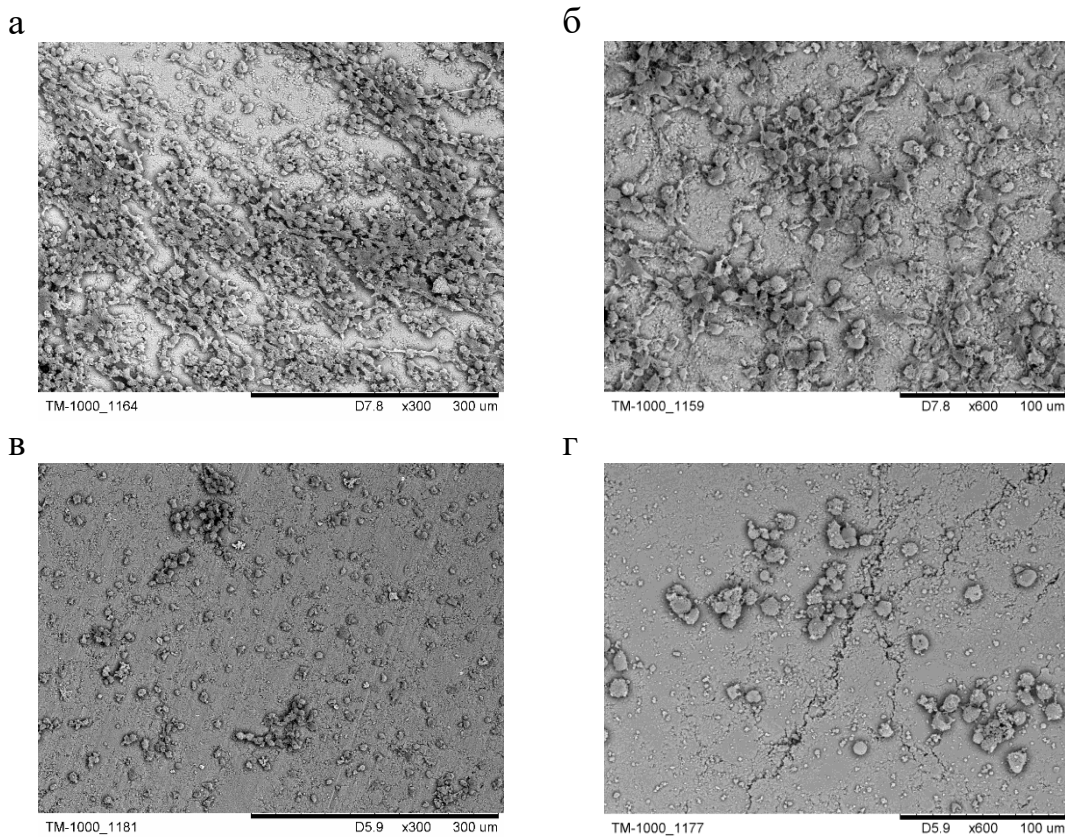


Рисунок 5.13 – СЭМ-изображения поверхности таблеток серии FeSi-Ап после инкубации клеток MG-63 в течение 7 сут.: 0,2-FeSi-Ап (а, б) и 0,5-FeSi-Ап (в, г).

### 5.5 Выводы по главе 5

1. Показано, что путем обработки соответствующей смеси реагентов в течение 40 мин в планетарной шаровой мельнице возможно получить железо-силикат-замещенный гидроксипатит с равной концентрацией ионов-заместителей. Предел замещения составляет  $x = 1,0$ .

2. Установлено, что введение ионов железа и кремния в структуру гидроксипатита приводит к уменьшению термической стабильности апатита до 600 – 700 °С.

3. Показано, что введение ионов железа и кремния в структуру апатита увеличивает параметры решетки  $a$  и  $c$  и уменьшает размер кристаллитов. Ионы железа замещают обе позиции кальция в структуре апатита с преобладанием в позиции  $Ca_2$ . Установлено, что ионы железа, располагающиеся в позиции  $Ca_2$ , смещаются к кислороду тетраэдра, отдаляясь от оси  $c$ , по сравнению с катионами кальция, располагающимися в данной позиции. Положение остальных ионов заместителей совпадает с положением «хозяев».

4. Исследования *in vitro* показали, что железо-силикат-замещенный гидроксипатит является биосовместимым материалом и при малых концентрациях ионов-заместителей не проявляет цитотоксических свойств. Наилучшими свойствами обладает образец с концентрацией ионов-заместителей  $x = 0,2$ .

## ГЛАВА 6. СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СИНТЕЗА, ОСОБЕННОСТЕЙ СТРУКТУРЫ И СВОЙСТВ СИЛИКАТ-ЗАМЕЩЕННЫХ АПАТИТОВ С РАЗНЫМИ КАТИОНАМИ-ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ

### *Предел замещения при механохимическом синтезе*

В таблице 6.1 обобщены данные по исследуемым системам. Видно, что пределы замещения для данных систем при МХС отличаются. В случае лантан-силикат-замещенного апатита можно довести концентрацию заместителей до  $x = 6,0$ , что совпадает с максимальным значением  $x$  в соответствии с химической формулой. В случае синтеза ZnSi-Ап и FeSi-Ап механохимическим способом можно получить замещенные апатиты с максимальной степенью замещения  $x = 1,0$ , тогда как в соответствии с формулой предел должен быть при  $x = 2,0$ . При больших концентрациях формируется аморфный продукт. По сравнению с лантаном, катионы цинка и железа имеют значительно меньший ионный радиус и не склонны к формированию структур с КЧ = 9 и КЧ = 7, которые имеют позиции Ca1 и Ca2, соответственно (Таблица 6.1). Вероятно, это и является причиной формирования аморфного продукта при больших степенях замещения. Кроме того, в случае ZnSi-Ап и FeSi-Ап во время механохимического синтеза выделяется большое количество воды (Таблица 2.1), которая частично встраивается в структуру замещенного ГА, что показано результатами термического анализа, и препятствует формированию кристаллической структуры замещенного апатита при больших значениях  $x$ .

Таблица 6.1. Сводная таблица данных по исследованным системам с одновременным равным катион-анионным замещением.

		x-LaSi-Ап	x-ZnSi-Ап	x-FeSi-Ап
Формула соединений		$Ca_{10-x}La_x(PO_4)_6 \cdot x(SiO_4)_x(OH)_{2-x}O_{x/2}$ для $x \leq 2$ $Ca_{10-x}La_x(PO_4)_6 \cdot x(SiO_4)_xO$ для $x > 2$	$Ca_{10-x}Zn_x(PO_4)_6 \cdot x(SiO_4)_x(OH)_{2-x}$	$Ca_{10-x}Fe_x(PO_4)_6 \cdot x(SiO_4)_x(OH)_{2-x}O_{x/2}$
Максимально допустимая степень замещения, x	По формуле	6	2	2
	Предел для МХС	6	1	1

Тип замещения для катиона	Гетеровалентное $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{La}^{3+}$	Гомовалентное $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{Zn}^{2+}$	Гетеровалентное $\text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$
Радиус катиона-заместителя*, Å	1,02	0,74	0,55
КЧ катиона заместителя**	6, 7, 8, 9, 10, 12	4, 5, 6, 8	4, 6, 8

\* Для сравнения:  $R_{\text{Ca}^{2+}} = 0,99 \text{ Å}$

\*\* Для сравнения:  $\text{КЧ}_{\text{Ca}^{2+}} = 6, 7, 8, 9, 10, 12$

### ***Параметры решетки***

При сравнении величин параметров решетки полученных образцов с  $x = 1,0$  после 40 мин МХС с данными после прогрева этих же образцов при  $600 \text{ °C}$ , установлено, что в этих образцах наблюдаются разные отклонения от значений незамещенного ГА (Таблица 6.2). В связи с тем, что образцы после синтеза содержат в своей структуре разное количество кристаллизационной воды, которая может также оказывать влияние на параметры, то влияние вводимых катионов заместителей на структуру апатита необходимо анализировать на образцах, прошедших термообработку при  $600 \text{ °C}$ .

По данным таблицы 6.2 для образцов после отжига при  $600 \text{ °C}$  установлено, что введение силикатного аниона совместно с катионом лантана или железа увеличивает параметр  $a$ , а введение силикатного аниона с цинком почти не изменяет его величину по сравнению со значением для незамещенного ГА (Таблица 6.2). Величина параметра  $a$  меняется в ряду: 1-LaSi-Ап > 1-FeSi-Ап > ГА > 1-ZnSi-Ап. Значение параметра  $c$  при двойном замещении увеличивается у всех образцов в соответствии с рядом: 1-LaSi-Ап > 1-ZnSi-Ап > 1-FeSi-Ап > ГА. Данные изменения в совокупности дают увеличение объема элементарной ячейки для всех образцов, изменяющегося в соответствии с рядом, аналогичным изменению параметра  $a$ .

Как сообщалось выше, замещение фосфата на силикат, имеющий больший радиус, дает значительное увеличение параметра  $c$  и в меньшей степени оказывает влияние на параметр  $a$ . При добавлении в кристаллическую решетку, содержащую замещение на силикатный анион, катиона с бóльшим ионным радиусом, чем у кальция, получаем дополнительное увеличение параметра  $c$ , что соответствует образцу 1-LaSi-Ап. При добавлении в кристаллическую решетку с силикатным анионом катиона с меньшим ионным радиусом, чем у кальция, получаем уменьшение вклада силикатного аниона. Так как ионный радиус цинка больше радиуса железа, то получаем  $\Delta c_{\text{Fe+Si}} < \Delta c_{\text{Zn+Si}}$ , что согласуется с данными представленными в таблице 6.2.

На изменение параметра  $a$  силикатный тетраэдр оказывает слабое влияние, поэтому дополнительные изменения в структуре на нем должны отразиться более ярко. Так мы видим,

что при одновременном замещении на силикат и лантан наблюдается значительное увеличение параметра  $a$ , т.к. лантан дает дополнительное увеличение. В случае введения ионов цинка и железа наблюдается зависимость  $\Delta a_{\text{Zn+Si}} < \Delta a_{\text{Fe+Si}}$ , что противоположно зависимости ионных радиусов:  $(R_{\text{Zn}^{2+}} + R_{\text{Si}^{4+}}) > (R_{\text{Fe}^{3+}} + R_{\text{Si}^{4+}})$ . Объяснить данное явление можно тем, что полученные соединения имеют разную химическую формулу (Таблица 6.1), отличающуюся ионами, расположенными в гексагональном канале на оси  $c$ . Наличие вакансий гидроксильных групп, как в случае 1-ZnSi-Ап, и вакансий, занятых ионами  $\text{O}^{2-}$ , как в случае 1-FeSi-Ап, должно оказывать разное влияние на диаметр этого канала, что отражается на изменении величин параметров  $a$  и  $b$ .

Значение размера кристаллитов (ОКР) у всех замещенных образцов ниже, чем у незамещенного ГА, как до отжига, так и после, но эти значения также как и параметры имеют разную зависимость (Таблица 6.2). Для МХС образцов характерно значительное уменьшение ОКР относительно незамещенного ГА. При этом видно, что значения между замещенными образцами отличаются незначительно, в пределах 2 нм. Таким образом, можно считать, что величина размера кристаллитов в замещенных образцах после синтеза практически не зависит от типа катиона, однако сильно зависит от общей концентрации заместителей и выделившейся в процессе синтеза воды. Среднее значение ОКР для замещенных образцов с  $x = 1,0$  можно считать равным  $\sim 15$  нм.

После отжига при  $600^\circ\text{C}$  величина ОКР изменилось незначительно (Таблица 6.2), т.к. при этой температуре обычно не наблюдается интенсивного роста кристаллитов. В случае незамещенного ГА, образцов 1-LaSi-Ап и 1-ZnSi-Ап размер кристаллитов увеличился на  $\sim 6$  нм, а в случае 1-FeSi-Ап прирост в размере кристаллитов составил  $\sim 2$  нм. При сравнении величин между отожженными образцами получилась следующая динамика изменения ОКР в замещенных апатитах: 1-LaSi-Ап > 1-ZnSi-Ап > 1-FeSi-Ап. Такое изменение согласуется с изменением ионных радиусов катионов, чем меньше катион, тем более дефектная структура получается и меньше ОКР.

Таблица 6.2. Сравнение параметров решетки катион-анион-замещенных ГА с  $x = 1,0$  для образцов после МХС и отжига при  $600^\circ\text{C}$ .

ГА	1-LaSi-Ап	1-ZnSi-Ап	1-FeSi-Ап
МХС, 40 мин			
$a_0 = 9,4350(2) \text{ \AA}$	$a = 9,4586(2) \text{ \AA}$ $\Delta a = 0,024 \text{ \AA}$	$a = 9,4332(5) \text{ \AA}$ $\Delta a = -0,002 \text{ \AA}$	$a = 9,4456(6) \text{ \AA}$ $\Delta a = 0,011 \text{ \AA}$
$c_0 = 6,8918(3) \text{ \AA}$	$c = 6,9137(2) \text{ \AA}$ $\Delta c = 0,022 \text{ \AA}$	$c = 6,8895(5) \text{ \AA}$ $\Delta c = -0,002 \text{ \AA}$	$c = 6,8691(6) \text{ \AA}$ $\Delta c = -0,023 \text{ \AA}$



$V_0 = 531,3(5) \text{ \AA}^3$	$V = 535,7(5) \text{ \AA}^3$ $\Delta V = 4,4$	$V = 530,9(4) \text{ \AA}^3$ $\Delta V = -0,4$	$V = 530,7(3) \text{ \AA}^3$ $\Delta V = -0,6$
$OKP_0 = 23,5(3) \text{ нм}$	$OKP = 16,4(5) \text{ нм}$ $\Delta OKP = -7,1 \text{ нм}$	$OKP = 14,3(8) \text{ нм}$ $\Delta OKP = -9,2 \text{ нм}$	$OKP = 13,4(5) \text{ нм}$ $\Delta OKP = -10,1 \text{ нм}$
Отжиг при 600 °С			
$a_0 = 9,4239(4) \text{ \AA}$	$a = 9,4486(5) \text{ \AA}$ $\Delta a = 0,025 \text{ \AA}$	$a = 9,4232(4) \text{ \AA}$ $\Delta a = -0,001 \text{ \AA}$	$a = 9,4361(8) \text{ \AA}$ $\Delta a = 0,012 \text{ \AA}$
$c_0 = 6,8823(3) \text{ \AA}$	$c = 6,9105(9) \text{ \AA}$ $\Delta c = 0,028 \text{ \AA}$	$c = 6,8969(4) \text{ \AA}$ $\Delta c = 0,015 \text{ \AA}$	$c = 6,8909(9) \text{ \AA}$ $\Delta c = 0,009 \text{ \AA}$
$V_0 = 529,3(1) \text{ \AA}^3$	$V = 534,3(5) \text{ \AA}^3$ $\Delta V = 5,0 \text{ \AA}^3$	$V = 530,4(6) \text{ \AA}^3$ $\Delta V = 1,1$	$V = 531,3(5) \text{ \AA}^3$ $\Delta V = 2,0$
$OKP_0 = 25,9(1) \text{ нм}$	$OKP = 21,6(4) \text{ нм}$ $\Delta OKP = -4,3 \text{ нм}$	$OKP = 20,3(5) \text{ нм}$ $\Delta OKP = -5,6 \text{ нм}$	$OKP = 15,6(5) \text{ нм}$ $\Delta OKP = -10,3 \text{ нм}$

Прим.:  $\Delta a = a - a_0$ ,  $\Delta c = c - c_0$ ,  $\Delta V = V - V_0$ ,  $\Delta OKP = OKP - OKP_0$ .

### ***Термическая стабильность***

Исходя из данных таблицы 6.3 следует, что наибольшей термической стабильностью обладает серия образцов LaSi-Ап, которая оказалась устойчивой до 1400 °С, что выше устойчивости незамещенного ГА на 200 °С. При введении силикатной группы совместно с 3d элементом термостабильность становится значительно ниже. Образцы ZnSi-Ап стабильны до 650 – 800°С, а FeSi-Ап до 600 – 700 °С в зависимости от концентрации заместителей. Меньшая термостабильность образцов с железом по сравнению с цинком очевидно связана с тем, что ионный радиус железа меньше радиуса цинка (Таблица 6.1). Поскольку силикат-замещенный апатит Si-ГА при  $x = 1,0$  стабилен до 1000°С [73], то можно заключить, что при двойном замещении определяющим фактором для термостабильности является наличие иона с малым ионным радиусом, по сравнению с кальцием. Добавление силикатного аниона не дает значительного повышения стабильности. Ионы лантана, имеющие бóльший ионный радиус и КЧ, необходимое для замещения кальция, повышают стабильность и нивелируют влияние ионов кремния. Таким образом, можно предположить, что в исследуемых системах термическая стабильность материала в большей степени зависит от типа катиона заместителя и его свойств.

Таблица 6.3. Предельные температуры, до которых наблюдается однофазный образец.

ГА	LaSi-Ап	ZnSi-Ап	FeSi-Ап
1200 °С	1400 °С	800 °С ( $x = 0,2$ ) 750 °С ( $0,6 \leq x \leq 1,0$ ) 650 °С ( $x > 1,0$ )	700 °С ( $x \leq 0,5$ ) 600 °С ( $0,5 < x \leq 1,0$ ) 600 °С ( $x \geq 1,0$ )

### *Кристаллическая структура*

Уточнение структурных параметров методом Ритвельда показало, что во всех исследованных системах преимущественное катионное замещение происходит в позиции Ca2. Если сравнить заселенности позиций во всех системах для образцов с  $x = 1,0$  (Таблицы 3.4, 4.3 и 5.4), то можно увидеть, что в серии LaSi-Ап данное преимущество наибольшее. Ионы лантана смещаются к кислороду в позиции O4 на оси  $c$ , в то время как ионы цинка и железа отдаляются от него и приближаются к кислороду O3 фосфатного тетраэдра (Таблица 6.4). Уточнение полученных составов показало, что все замещенные ГА имеют ионный состав близкий к теоретическому (Таблица 6.5).

Таблица 6.4. Сравнение длин связей M2–O в катион-анион-замещенных ГА.

1-LaSi-Ап	1-ZnSi-Ап	1-FeSi-Ап
Длина связи M2–O4, Å		
La2–O4	Zn2–O4	Fe2–O4
2,305(6)	2,65(2)	2,383(4)
Длина связи M2–O3, Å		
La2–O3	Zn2–O3	Fe2–O3
2,351(3)	2,32(2)	2,352(6)

Таблица 6.5. Сравнение полученных составов катион-анион-замещенных ГА с заданным.

	1-LaSi-Ап	1-ZnSi-Ап	1-FeSi-Ап
Заданный состав	$\text{Ca}_9\text{La}_1\text{P}_5\text{Si}_1\text{O}_{25,5}$	$\text{Ca}_{9,0}\text{Zn}_{1,0}\text{P}_{5,0}\text{Si}_{1,0}\text{O}_{25,0}$	$\text{Ca}_{9,0}\text{Fe}_{1,0}\text{P}_{5,0}\text{Si}_{1,0}\text{O}_{25,5}$
Полученный состав	$\text{Ca}_{8,9}\text{La}_{1,1}\text{P}_{4,9}\text{Si}_{1,1}\text{O}_{26,2}$	$\text{Ca}_{8,8}\text{Zn}_{1,2}\text{P}_{5,2}\text{Si}_{0,8}\text{O}_{26,7}$	$\text{Ca}_{8,8}\text{Fe}_{1,2}\text{P}_{5,1}\text{Si}_{0,9}\text{O}_{27,0}$

### ***Микротвердость***

Исследование микротвердости проведено только на образцах серии LaSi-Ап, поскольку высокотемпературную керамику возможно изготовить только из данной серии, остальные серии имеют низкую термическую стабильность. Показано, что одновременное введение ионов лантана и кремния в структуру апатита приводит к увеличению микротвердости материала.

### ***In vitro исследования***

С помощью *in vitro* исследований на клетках Нек293 и MRC-5 установлено, что при всех составов наблюдается высокая жизнеспособность клеток. В случае введения силиката совместно с цинком или железом небольшой цитотоксический эффект был обнаружен для остеобластоподобных клеток MG-63 при концентрации заместителя  $x > 0,2$ .

При культивировании клеток MG-63 на поверхности таблеток синтезированных образцов было обнаружено, что одновременное введение катионов железа и силикат-анионов в структуру апатита в концентрации  $x = 0,2$  улучшает прикрепление клеток остеобластов к поверхности таблетки апатита. Для данного образца зарегистрирована максимальная плотность клеток на поверхности таблетки, при этом клетки остеобластов соединены между собой, образуя подобие губчатой структуры, чего не наблюдалось в образцах других серий. Из этого можно сделать вывод, что одновременное введение катионов железа и силикат-анионов в структуру апатита в концентрации  $x = 0,2$  улучшает прикрепление клеток остеобластов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные результаты и выводы

1. Механохимическим способом синтеза в планетарной шаровой мельнице впервые получены лантан-силикат-, цинк-силикат- и железо-силикат-замещенные апатиты составов  $\text{Ca}_{10-x}\text{La}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}\text{O}_{x/2}$ ,  $\text{Ca}_{10-x}\text{La}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x\text{O}_x$ ,  $\text{Ca}_{10-x}\text{Zn}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ ,  $\text{Ca}_{10-x}\text{Fe}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}\text{O}_{x/2}$  с разной степенью равного катион-анионного замещения. Установлено, что введение большой концентрации ионов-заместителей замедляет формирование структуры апатита, в результате чего требуется более длительная механохимическая обработка исходной смеси реагентов.
2. Показано, что размер кристаллитов апатита с двойным замещением при механохимическом способе синтеза зависит от концентрации вводимых заместителей: чем больше концентрация, тем меньше размер кристаллитов. Средний размер кристаллитов во всех исследованных сериях при степени замещения  $x = 1,0$  составляет  $\sim 15$  нм.
3. Установлено, что в исследованных сериях катион-анионного замещения при механохимическом способе синтеза наблюдаются разные пределы замещения. В случае одновременного введения катиона лантана и силикат-аниона синтез однофазного продукта возможен до  $x = 6,0$ . При введении катионов таких элементов как цинк и железо совместно с силикатным анионом однофазный материал формируется до  $x = 1,0$ . При дальнейшем увеличении концентрации заместителей образуется аморфный продукт.
4. Показано, что на параметры решетки апатита при двойном замещении комплексно влияют как катион-заместитель, так и вводимый анион, а также их концентрация. При введении катионов лантана или железа совместно с силикат-анионом происходит увеличение параметров решетки. В случае введения катиона цинка и силикат-аниона параметр  $c$  также увеличивается, тогда как параметр  $a$  практически не меняется. Максимальное увеличение объема элементарной ячейки апатита наблюдается при одновременном введении катионов лантана и силикат-аниона.
5. Установлено, что во всех исследованных сериях преимущественное катионное замещение происходит в позиции  $\text{Ca}2$ . Ионы лантана в данной позиции приближены к кислороду, расположенному на оси  $c$ , в то время как ионы цинка и железа удалены от него и смещены к кислороду тетраэдра.
6. Установлено, что разные катионы, одновременно введенные с силикат-анионом, оказывают различное влияние на термическую стабильность гидроксипатита. При замещении на катионы лантана и силикатную группу апатит стабилен и остается

однофазным во всей области исследованных температур, а именно до 1400 °С, что на 200 °С выше значения для незамещенного гидроксипатита. Одновременное введение силикат-аниона совместно с катионами цинка или железа понижает термическую устойчивость материала до 650 – 800 °С и 600 – 700 °С, соответственно.

7. Показано, что керамика на основе лантан-силикат-замещенного апатита имеет бóльшую величину микротвердости по сравнению с незамещенным гидроксипатитом.
8. С помощью *in vitro* исследований установлено, что все синтезированные серии являются биосовместимыми. В случае введения силикат-аниона совместно с катионом цинком или железом небольшой цитотоксический эффект для остеобластоподобных клеток проявляется при концентрациях  $x > 0,2$ . Показано, что одновременное введение катионов железа и силикат-аниона в структуру апатита в концентрации  $x = 0,2$  улучшает прикрепление клеток остеобластов.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы**

Исследования *in vitro* показали перспективу дальнейшего применения полученных образцов серий LaSi-Ап, ZnSi-Ап и FeSi-Ап в качестве костных имплантатов. Необходимо проведение дальнейших *in vivo* исследований. В случае положительного результата возможно внедрение данных соединений в медицине. Состав LaSi-Ап перспективен для изготовления биоактивных покрытий на металлических имплантатах, а составы ZnSi-Ап и FeSi-Ап могут быть рекомендованы для изготовления биоразлагаемых гранул для замещения костных дефектов.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ГА – гидроксипатит  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ;

ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия;

МХС – механохимический синтез;

ОКР – область когерентного рассеяния;

отн. ед. – относительные единицы;

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия;

РФА – рентгенофазовый анализ;

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия;

ТКФ – трикальций-фосфат  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ;

ЭДРМ – энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия;

FeSi-Ап – железо-силикат-замещенный гидроксипатит;

LaSi-Ап – лантан-силикат-замещенный гидроксипатит;

ZnSi-Ап – цинк-силикат-замещенный гидроксипатит.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sassoni, E. Hydroxyapatite and other calcium phosphates for the conservation of cultural heritage: A review / E. Sassoni // *Materials*. – 2018. – V. 11. – № 4. – P. 557.
2. Marques, C.F. Biphasic calcium phosphate scaffolds fabricated by direct write assembly: Mechanical, anti-microbial and osteoblastic properties / C.F. Marques, F.H. Perera, A. Marote, S. Ferreira, S.I. Vieira, S. Olhero, P. Miranda, J.M.F. Ferreira // *Journal of the European Ceramic Society*. – 2017. – V. 37. – № 1. – P. 359–368.
3. Tite, T. Cationic substitutions in hydroxyapatite: Current status of the derived biofunctional effects and their in vitro interrogation methods / T. Tite, A.C. Popa, L.M. Balescu, I.M. Bogdan, I. Pasuk, J.M.F. Ferreira, G.E. Stan // *Materials*. – 2018. – V. 11. – № 11. – P. 1–62.
4. Šupová, M. Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: A review / M. Šupová // *Ceramics International*. – 2015. – V. 41. – № 8. – P. 9203–9231.
5. Dorozhkin, S.V. Calcium orthophosphates in nature, biology and medicine / S.V. Dorozhkin // *Materials*. – 2009. – V. 2. – № 2. – P. 399–498.
6. Жибарев, А.М. Синтез гидроксиапатита для биоактивных покрытий / А.М. Жибарев, Э.А. Ахметшин, Е.В. Жариков // *Журнал неорганической химии*. – 2013. – Т. 58. – № 12. – С. 1573–1576.
7. Goldberg, M.A. Mesoporous iron(III)-doped hydroxyapatite nanopowders obtained via iron oxalate / M.A. Goldberg, M.R. Gafurov, F.F. Murzakanov, A.S. Fomin, O.S. Antonova, D.R. Khairutdinova, A.V. Pyataev, O.N. Makshakova, A.A. Konovalov, A.V. Leonov, S.A. Akhmedova, I.K. Sviridova, N.S. Sergeeva, S.M. Barinov, V.S. Komlev // *Nanomaterials*. – 2021. – V. 11. – № 3. – P. 811.
8. Kolesnikov, I.E. Structural and luminescence properties of Ce<sup>3+</sup>-doped hydroxyapatite nanocrystalline powders / I.E. Kolesnikov, A.M. Nikolaev, E. Lähderanta, O.V. Frank-Kamenetskaya, M.A. Kuz'mina // *Optical Materials*. – 2020. – V. 99. – P. 109550.
9. Nikolaev, A. Europium concentration effect on characteristics and luminescent properties of hydroxyapatite nanocrystalline powders / A. Nikolaev, I. Kolesnikov, O. Frank-Kamenetskaya, M. Kuz'mina // *Journal of Molecular Structure*. – 2017. – V. 1149. – P. 323–331.
10. Lytkina, D. Synthesis and properties of zinc-modified hydroxyapatite / D. Lytkina, A. Gutsalova, D. Fedorishin, N. Korotchenko, R. Akhmedzhanov, V. Kozik, I. Kurzina // *Journal of Functional Biomaterials*. – 2020. – V. 11. – № 1. – P. 10.
11. Trubitsyn, M.A. Effect of molar ratios in the crystallochemical structure of biomimetic nanostructured hydroxyapatite on the characteristics of the product / M.A. Trubitsyn, H.V. Hung, L. V. Furda, N.T.T. Hong // *Russian Journal of Inorganic Chemistry*. – 2021. – V. 66. –

- № 5. – P. 654–661.
12. Zykin, M.A. Solid state solubility of copper oxides in hydroxyapatite / M.A. Zykin, A. V. Vasiliev, L.A. Trusov, R.E. Dinnebier, M. Jansen, P.E. Kazin // *Journal of Solid State Chemistry*. – 2018. – V. 262. – P. 38–43.
  13. Knyazev, A.V. Synthesis and thermal expansion of some lanthanide-containing apatites / A.V. Knyazev, E.N. Bulanov, A.O. Korshunov, O. V. Krasheninnikova // *Inorganic Materials*. – 2013. – V. 49. – № 11. – P. 1133–1137.
  14. Chaikina, M.V. Interaction of calcium phosphates with calcium oxide or calcium hydroxide during the “soft” mechanochemical synthesis of hydroxyapatite / M.V. Chaikina, N. V. Bulina, O.B. Vinokurova, I.Y. Prosanov, D. V. Dudina // *Ceramics International*. – 2019. – V. 45. – № 14. – P. 16927–16933.
  15. Chaikina, M.V. Mechanochemical synthesis of  $\text{SiO}_4^{4-}$ -substituted hydroxyapatite, part I - Kinetics of interaction between the components / M.V. Chaikina, N.V. Bulina, A.V. Ishchenko, I.Y. Prosanov // *European Journal of Inorganic Chemistry*. – 2014. – V. 2014. – № 28. – P. 4803–4809.
  16. Shanmugam, S. Copper substituted hydroxyapatite and fluorapatite: Synthesis, characterization and antimicrobial properties / S. Shanmugam, B. Gopal // *Ceramics International*. – 2014. – V. 40. – № 10. – P. 15655–15662.
  17. Frasnelli, M. Synthesis and characterization of strontium-substituted hydroxyapatite nanoparticles for bone regeneration / M. Frasnelli, F. Cristofaro, V.M. Sglavo, S. Dirè, E. Callone, R. Ceccato, G. Bruni, A.I. Cornaglia, L. Visai // *Materials Science and Engineering: C*. – 2017. – V. 71. – P. 653–662.
  18. Sadat-Shojai, M. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures / M. Sadat-Shojai, M.T. Khorasani, E. Dinpanah-Khoshdargi, A. Jamshidi // *Acta Biomaterialia*. – 2013. – V. 9. – № 8. – P. 7591–7621.
  19. Zhang, H.G. Preparation of fluoride-substituted hydroxyapatite by a molten salt synthesis route / H.G. Zhang, Q. Zhu // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2006. – V. 17. – № 8. – P. 691–695.
  20. Silva, C.C. Crystallite size study of nanocrystalline hydroxyapatite and ceramic system with titanium oxide obtained by dry ball milling / C.C. Silva, M.P.F. Graça, M.A. Valente, A.S.B. Sombra // *Journal of Materials Science*. – 2007. – V. 42. – № 11. – P. 3851–3855.
  21. Fathi, M.H. Mechanochemical synthesis of fluoridated hydroxyapatite nanopowder / M.H. Fathi, E.M. Zahrani // *International Journal of Modern Physics B*. – 2008. – V. 22. – № 18–19. – P. 3099–3106.
  22. Gibson, I.R. Effect of silicon substitution on the sintering and microstructure of hydroxyapatite /



- I.R. Gibson, S.M. Best, W. Bonfield // *Journal of the American Ceramic Society*. – 2002. – V. 85. – № 11. – P. 2771–2777.
23. Friederichs, R.J. Synthesis, characterization and modelling of zinc and silicate co-substituted hydroxyapatite / R.J. Friederichs, H.F. Chappell, D.V. Shepherd, S.M. Best // *Journal of the Royal Society Interface*. – 2015. – V. 12. – № 108. – P. 20150190.
24. Kharlamova, T. Low-temperature synthesis and characterization of apatite-type lanthanum silicates / T. Kharlamova, S. Pavlova, V. Sadykov, O. Lapina, D. Khabibulin, T. Krieger, V. Zaikovskii, A. Ishchenko, A. Salanov, V. Muzykantov, N. Mezentsseva, M. Chaikina, N. Uvarov, J. Frade, C. Argirusis // *Solid State Ionics*. – 2008. – V. 179. – № 21–26. – P. 1018–1023.
25. Yeong, B. Mechanochemical synthesis of hydroxyapatite from calcium oxide and brushite / B. Yeong, X. Junmin, J. Wang // *Journal of the American Ceramic Society*. – 2004. – V. 84. – № 2. – P. 465–467.
26. Rhee, S.H. Synthesis of hydroxyapatite via mechanochemical treatment / S.H. Rhee // *Biomaterials*. – 2002. – V. 23. – № 4. – P. 1147–1152.
27. Harilal, M. Experimental Investigation on Synthesis of Nanocrystalline Hydroxyapatite by the Mechanochemical Method / M. Harilal, A. Saikiran, N. Rameshbabu // *Key Engineering Materials*. – 2018. – V. 775. – P. 149–155.
28. Bulina, N.V. Structure and thermal stability of fluorhydroxyapatite and fluorapatite obtained by mechanochemical method / N.V. Bulina, S.V. Makarova, I.Y. Prosanov, O.B. Vinokurova, N.Z. Lyakhov // *Journal of Solid State Chemistry*. – 2020. – V. 282. – P. 121076.
29. Bulina, N.V. Characterization of Sr-substituted hydroxyapatite synthesized by the mechanochemical method / N.V. Bulina, M.V. Chaikina, S.V. Makarova, D.V. Dudina // *Materials Today: Proceedings*. – 2019. – V. 12. – P. 57–60.
30. Pasero, M. Nomenclature of the apatite supergroup minerals / M. Pasero, A.R. Kampf, C. Ferraris, I.V. Pekov, J. Rakovan, T.J. White // *European Journal of Mineralogy*. – 2010. – V. 22. – № 2. – P. 163–179.
31. Elliott, J.C. Monoclinic hydroxyapatite / J.C. Elliott, P.E. Mackie, R.A. Young // *Science*. – 1973. – V. 180. – № 4090. – P. 1055–1057.
32. Kay, M.I. Crystal structure of hydroxyapatite / M.I. Kay, R.A. Young, A.S. Posner // *Nature*. – 1964. – V. 204. – № 4963. – P. 1050–1052.
33. Bulina, N.V. Structural features of oxyapatite / N.V. Bulina, L.A. Avakyan, S.V. Makarova, I.B. Orehov, V.S. Bystrov // *Minerals*. – 2023. – V. 13. – № 1. – P. 102.
34. Mackie, P.E. Monoclinic structure of synthetic  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$ , chlorapatite / P.E. Mackie, J.C. Elliot, R.A. Young // *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal*

- Chemistry. – 1972. – V. 28. – № 6. – P. 1840–1848.
35. Posner, A.S. Refinement of the hydroxyapatite structure / A.S. Posner, A. Perloff, A.F. Diorio // *Acta Crystallographica*. – 1958. – V. 11. – № 4. – P. 308–309.
  36. Elliot, J.C. Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates / J.C. Elliot // Elsevier. – 2013. – 388 p.
  37. Mengeot, M. Paramagnetic holelike defect in irradiated calcium hydroxyapatite single crystals / M. Mengeot, R.H. Bartram, O.R. Gilliam // *Physical Review B*. – 1975. – V. 11. – № 11. – P. 4110–4124.
  38. Beevers, C.A. The atomic structure of fluor-apatite and its relation to that of tooth and bone material. (With Plates XVI-XVIII.) / C.A. Beevers, D.B. McIntyre // *Mineralogical Magazine and Journal of the Mineralogical Society*. – 1946. – V. 27. – № 194. – P. 254–257.
  39. Чайкина, М.В. Механохимия природных и синтетических апатитов / М.В. Чайкина. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. – 205 с.
  40. Sudarsanan, K. Significant precision in crystal structural details. Holly Springs hydroxyapatite / K. Sudarsanan, R.A. Young // *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry*. – 1969. – V. 25. – № 8. – P. 1534–1543.
  41. Boskey, A. Bone mineral crystal size / A. Boskey // *Osteoporosis International*. – 2003. – V. 14. – P. 16–21.
  42. Vallet-Regí, M. Biological apatites in bone and teeth / M. Vallet-Regí, N.D. Arcos. – 2nd ed. – London, UK: Royal Society of Chemistry, 2015. – P. 1–29.
  43. LeGeros, R.Z. Calcium Phosphate-Based Osteoinductive Materials / R.Z. LeGeros // *Chemical Reviews*. – 2008. – V. 108. – № 11. – P. 4742–4753.
  44. McConnell, D. Biologic Apatites. In: *Apatite*. / D. McConnell. – Vienna: Springer, 1973. – P. 68–80.
  45. Handschin, R.G. X-ray diffraction studies on the lattice perfection of human bone apatite (*Crista iliaca*) / R.G. Handschin, W.B. Stern // *Bone*. – 1995. – V. 16. – № 4. – P. S355–S363.
  46. Vallet-Regí, M. Biomimetic Nanoceramics in Clinical Use / M. Vallet-Regí, D. Arcos, D.A. Navarrete. – 1st ed.; ed. H. Kroto. – Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2008. – 192 p.
  47. Oktar, F.N. Sintering of Synthetic Hydroxyapatite Compacts / F.N. Oktar, Y. Genc, G. Göller, E.Z. Erkmen, D. Toykan, L.S. Özyeğin, H. Demirkıran, H. Haybat // *Key Engineering Materials*. – 2004. – V. 264–268. – P. 2087–2090.
  48. Wahl, D. Collagen-Hydroxyapatite Composites for Hard Tissue Repair / D. Wahl, J. Czernuszka // *European Cells and Materials*. – 2006. – V. 11. – P. 43–56.
  49. Tayton, E. A comparison of polymer and polymer-hydroxyapatite composite tissue engineered scaffolds for use in bone regeneration. An *in vitro* and *in vivo* study / E. Tayton, M. Purcell, A.

- Aarvold, J.O. Smith, A. Briscoe, J.M. Kanczler, K.M. Shakesheff, S.M. Howdle, D.G. Dunlop, R.O.C. Oreffo // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2014. – V. 102. – № 8. – P. 2613–2624.
50. Ge, X. Antibacterial coatings of fluoridated hydroxyapatite for percutaneous implants / X. Ge, Y. Leng, C. Bao, S.L. Xu, R. Wang, F. Ren // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2010. – V. 95A. – № 2. – P. 588–599.
51. Sandén, B. Hydroxyapatite coating improves fixation of pedicle screws / B. Sandén, C. Olerud, M. Petré-Mallmin, S. Larsson // *The Journal of Bone and Joint Surgery. British volume*. – 2002. – V. 84-B. – № 3. – P. 387–391.
52. Kuroda, K. Hydroxyapatite coating of titanium implants using hydroprocessing and evaluation of their osteoconductivity / K. Kuroda, M. Okido // *Bioinorganic Chemistry and Applications*. – 2012. – V. 2012. – P. 1–7.
53. Willmann, G. Coating of implants with hydroxyapatite - material connections between bone and metal / G. Willmann // *Advanced Engineering Materials*. – 1999. – V. 1. – № 2. – P. 95–105.
54. Yoo, J.J. Preparation of a hemiporous hydroxyapatite scaffold and evaluation as a cell-mediated bone substitute / J.J. Yoo, H.J. Kim, S.M. Seo, K.S. Oh // *Ceramics International*. – 2014. – V. 40. – № 2. – P. 3079–3087.
55. Mehta, P. An insight into dentin desensitizing agents - *In vivo* study / P. Mehta, N. Vimala, L. Mandke // *Indian Journal of Dental Research*. – 2013. – V. 24. – № 5. – P. 571.
56. Rimondini, L. The remineralizing effect of carbonate-hydroxyapatite nanocrystals on dentine / L. Rimondini, B. Palazzo, M. Iafisco, L. Canegallo, F. Demarosi, M. Merlo, N. Roveri // *Materials Science Forum*. – 2007. – V. 539–543. – P. 602–605.
57. Al-Sanabani, J.S. Application of calcium phosphate materials in dentistry / J.S. Al-Sanabani, A.A. Madfa, F.A. Al-Sanabani // *International Journal of Biomaterials*. – 2013. – V. 2013. – P. 1–12.
58. Rogers-Foy, J.M. Hydroxyapatite composites designed for antibiotic drug delivery and bone reconstruction: A caprine model / J.M. Rogers-Foy, D.L. Powers, D.A. Brosnan, S.F. Barefoot, R.J. Friedman, M. LaBerge // *Journal of Investigative Surgery*. – 1999. – V. 12. – № 5. – P. 263–275.
59. Lee, J.H. Localized drugs delivery hydroxyapatite microspheres for osteoporosis therapy / J.H. Lee, I.H. Ko, S.-H. Jeon, J.H. Chae, E.J. Lee, J.H. Chang // *Biosensing and Nanomedicine IV*. – 2011. – V. 8099. – P. 46–52.
60. Bulina, N.V. A study of thermal stability of hydroxyapatite / N.V. Bulina, S.V. Makarova, S.G. Baev, A.A. Matvienko, K.B. Gerasimov, O.A. Logutenko, V.S. Bystrov // *Minerals*. – 2021. – V. 11. – № 12. – P. 1–15.

61. Koutsopoulos, S. Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods / S. Koutsopoulos // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 2002. – V. 62. – № 4. – P. 600–612.
62. Jiang, Y. Substituted hydroxyapatite: a recent development / Y. Jiang, Z. Yuan, J. Huang // *Materials Technology*. – 2020. – V. 35. – № 11–12. – P. 785–796.
63. Fathi, M.H. Fabrication and characterization of fluoridated hydroxyapatite nanopowders via mechanical alloying / M.H. Fathi, E.M. Zahrani // *Journal of Alloys and Compounds*. – 2009. – V. 475. – № 1–2. – P. 408–414.
64. Hsu, C.S. Effects of chloride substitution on physical, mechanical, and biological properties of hydroxyapatite / C.S. Hsu, S.L. Haag, M.T. Bernards, Q. Li // *Ceramics International*. – 2021. – V. 47. – № 9. – P. 13207–13215.
65. Azami, M. Synthesis and solubility of calcium fluoride/hydroxy-fluorapatite nanocrystals for dental applications / M. Azami, S. Jalilifiroozinezhad, M. Mozafari, M. Rabiee // *Ceramics International*. – 2011. – V. 37. – № 6. – P. 2007–2014.
66. Elliott, J.C. Space group and lattice constants of  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$  / J.C. Elliott // *Journal of Applied Crystallography*. – 1980. – V. 13. – № 6. – P. 618–621.
67. Elliott, J.C. Structure of bromapatite and the radius of the bromide ion / J.C. Elliott, E. Dykes, P.E. Mackie // *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry*. – 1981. – V. 37. – № 2. – P. 435–438.
68. Wallaey, R. Contribution à l'étude des apatites phosphocalciques / R. Wallaey // *Ann Chim*. – 1952. – V. 7. – P. 808–848.
69. Astala, R. First-principles study of hydroxyapatite surfaces and water adsorption / R. Astala, M.J. Stott // *Physical Review B*. – 2008. – V. 78. – № 7. – P. 075427.
70. Rameshbabu, N. Antibacterial nanosized silver substituted hydroxyapatite: Synthesis and characterization / N. Rameshbabu, T.S. Sampath Kumar, T.G. Prabhakar, V.S. Sastry, K.V.G.K. Murty, K. Prasad Rao // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2007. – V. 80A. – № 3. – P. 581–591.
71. Fadeeva, I.V. Nanosized iron-substituted hydroxyapatites / I.V. Fadeeva, I.I. Selezneva, G.A. Davydova, A.S. Fomin, M.R. Gafurov, S.M. Barinov, A.M. Poltavtsev, I.B. Davydova, E.I. Zaraisky, R.A. Poltavtseva // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. – 2020. – V. 747. – № 1. – P. 012066.
72. Blasse, G. Influence of local charge compensation on site occupation and luminescence of apatites / G. Blasse // *Journal of Solid State Chemistry*. – 1975. – V. 14. – № 2. – P. 181–184.
73. Bulina, N.V. Mechanochemical synthesis of  $\text{SiO}_4^{4-}$ -substituted hydroxyapatite, Part III - Thermal stability / N.V. Bulina, M.V. Chaikina, I.Y. Prosanov, K.B. Gerasimov, A.V.

- Ishchenko, D.V. Dudina // *European Journal of Inorganic Chemistry*. – 2016. – V. 2016. – № 12. – P. 1866–1874.
74. Haider, A. Recent advances in the synthesis, functionalization and biomedical applications of hydroxyapatite: a review / A. Haider, S. Haider, S.S. Han, I.-K. Kang // *RSC Advances*. – 2017. – V. 7. – № 13. – P. 7442–7458.
75. Klontzas, M.E. Investigational drugs for fracture healing: preclinical & clinical data / M.E. Klontzas, E.I. Kenanidis, R.J. MacFarlane, T. Michail, M.E. Potoupnis, M. Heliotis, A. Mantalaris, E. Tsiridis // *Expert Opinion on Investigational Drugs*. – 2016. – V. 25. – № 5. – P. 585–596.
76. Aina, V. Sr-containing hydroxyapatite: morphologies of HA crystals and bioactivity on osteoblast cells / V. Aina, L. Bergandi, G. Lusvardi, G. Malavasi, F.E. Imrie, I.R. Gibson, G. Cerrato, D. Ghigo // *Materials Science and Engineering: C*. – 2013. – V. 33. – № 3. – P. 1132–1142.
77. Xue, W. Preparation and cell–materials interactions of plasma sprayed strontium-containing hydroxyapatite coating / W. Xue, H.L. Hosick, A. Bandyopadhyay, S. Bose, C. Ding, K.D.K. Luk, K.M.C. Cheung, W.W. Lu // *Surface and Coatings Technology*. – 2007. – V. 201. – № 8. – P. 4685–4693.
78. Caverzasio, J. Strontium ranelate promotes osteoblastic cell replication through at least two different mechanisms / J. Caverzasio // *Bone*. – 2008. – V. 42. – № 6. – P. 1131–1136.
79. Ran, J. Comparisons among Mg, Zn, Sr, and Si doped nano-hydroxyapatite/chitosan composites for load-bearing bone tissue engineering applications / J. Ran, P. Jiang, G. Sun, Z. Ma, J. Hu, X. Shen, H. Tong // *Materials Chemistry Frontiers*. – 2017. – V. 1. – № 5. – P. 900–910.
80. Fielding, G.A. Antibacterial and biological characteristics of silver containing and strontium doped plasma sprayed hydroxyapatite coatings / G.A. Fielding, M. Roy, A. Bandyopadhyay, S. Bose // *Acta Biomaterialia*. – 2012. – V. 8. – № 8. – P. 3144–3152.
81. Yu, N. Microwave assisted deposition of strontium doped hydroxyapatite coating on AZ31 magnesium alloy with enhanced mineralization ability and corrosion resistance / N. Yu, S. Cai, F. Wang, F. Zhang, R. Ling, Y. Li, Y. Jiang, G. Xu // *Ceramics International*. – 2017. – V. 43. – № 2. – P. 2495–2503.
82. Ge, M. Biomimetic mineralized strontium-doped hydroxyapatite on porous poly(L-lactic acid) scaffolds for bone defect repair / M. Ge, K. Ge, F. Gao, W. Yan, H. Liu, L. Xue, Y. Jin, H. Ma, J. Zhang // *International Journal of Nanomedicine*. – 2018. – V. 13. – P. 1707–1721.
83. Yang, F. Strontium enhances osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and *in vivo* bone formation by activating wnt/catenin signaling / F. Yang, D. Yang, J. Tu, Q. Zheng, L. Cai, L. Wang // *Stem Cells*. – 2011. – V. 29. – № 6. – P. 981–991.

84. Suganthi, R.V. Fibrous growth of strontium substituted hydroxyapatite and its drug release / R.V. Suganthi, K. Elayaraja, M.I.A. Joshy, V.S. Chandra, E.K. Giriya, S.N. Kalkura // *Materials Science and Engineering: C*. – 2011. – V. 31. – № 3. – P. 593–599.
85. Kavitha, M. Solution combustion synthesis and characterization of strontium substituted hydroxyapatite nanocrystals / M. Kavitha, R. Subramanian, R. Narayanan, V. Udhayabanu // *Powder Technology*. – 2014. – V. 253. – P. 129–137.
86. Terra, J. The structure of strontium-doped hydroxyapatite: an experimental and theoretical study / J. Terra, E.R. Dourado, J.G. Eon, D.E. Ellis, G. Gonzalez, A.M. Rossi // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2009. – V. 11. – № 3. – P. 568–577.
87. Li, Z.Y. Chemical composition, crystal size and lattice structural changes after incorporation of strontium into biomimetic apatite / Z.Y. Li, W.M. Lam, C. Yang, B. Xu, G.X. Ni, S.A. Abbah, K.M.C. Cheung, K.D.K. Luk, W.W. Lu // *Biomaterials*. – 2007. – V. 28. – № 7. – P. 1452–1460.
88. Stipniece, L. Characterization of Mg-substituted hydroxyapatite synthesized by wet chemical method / L. Stipniece, K. Salma-Ancane, N. Borodajenko, M. Sokolova, D. Jakovlevs, L. Berzina-Cimdina // *Ceramics International*. – 2014. – V. 40. – № 2. – P. 3261–3267.
89. Landi, E. Biomimetic Mg-substituted hydroxyapatite: from synthesis to *in vivo* behaviour / E. Landi, G. Logroscino, L. Proietti, A. Tampieri, M. Sandri, S. Sprio // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2008. – V. 19. – № 1. – P. 239–247.
90. Prakasam, M. Biodegradable materials and metallic implants – A review / M. Prakasam, J. Locs, K. Salma-Ancane, D. Loca, A. Largeteau, L. Berzina-Cimdina // *Journal of Functional Biomaterials*. – 2017. – V. 8. – № 4. – P. 44.
91. Andrés, N.C. Electroactive Mg<sup>2+</sup>-hydroxyapatite nanostructured networks against drug-resistant bone infection strains / N.C. Andrés, J.M. Sieben, M. Baldini, C.H. Rodríguez, Á. Famiglietti, P.V. Messina // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2018. – V. 10. – № 23. – P. 19534–19544.
92. Mayer, I. Magnesium-containing carbonate apatites / I. Mayer, R. Schlam, J.D. Featherstone // *Journal of Inorganic Biochemistry*. – 1997. – V. 66. – № 1. – P. 1–6.
93. Laurencin, D. Magnesium incorporation into hydroxyapatite / D. Laurencin, N. Almora-Barrios, N.H. de Leeuw, C. Gervais, C. Bonhomme, F. Mauri, W. Chrzanowski, J.C. Knowles, R.J. Newport, A. Wong, Z. Gan, M.E. Smith // *Biomaterials*. – 2011. – V. 32. – № 7. – P. 1826–1837.
94. Tampieri, A. Magnesium doped hydroxyapatite: synthesis and characterization / A. Tampieri, G.C. Celotti, E. Landi, M. Sandri // *Key Engineering Materials*. – 2004. – V. 264–268. – P. 2051–2054.

95. Bigi, A. Rietveld structure refinements of calcium hydroxylapatite containing magnesium / A. Bigi, G. Falini, E. Foresti, M. Gazzano, A. Ripmonti, N. Roveri // *Acta Crystallographica Section B: Structural Science*. – 1996. – V. 52. – № 1. – P. 87–92.
96. Cox, S.C. Preparation and characterisation of nanophase Sr, Mg, and Zn substituted hydroxyapatite by aqueous precipitation / S.C. Cox, P. Jamshidi, L.M. Grover, K.K. Mallick // *Materials Science and Engineering C*. – 2014. – V. 35. – № 1. – P. 106–114.
97. Webster, T.J. Osteoblast response to hydroxyapatite doped with divalent and trivalent cations / T.J. Webster, E.A. Massa-Schlueter, J.L. Smith, E.B. Slamovich // *Biomaterials*. – 2004. – V. 25. – № 11. – P. 2111–2121.
98. Begam, H. MG63 osteoblast cell response on Zn doped hydroxyapatite (HAp) with various surface features / H. Begam, B. Kundu, A. Chanda, S.K. Nandi // *Ceramics International*. – 2017. – V. 43. – № 4. – P. 3752–3760.
99. Li, Y. Zinc-containing hydroxyapatite enhances cold-light-activated tooth bleaching treatment in vitro / Y. Li, X. Shi, W. Li // *BioMed Research International*. – 2017. – V. 2017. – P. 1–10.
100. Samani, S. In vitro antibacterial evaluation of sol-gel-derived Zn-, Ag-, and (Zn + Ag)-doped hydroxyapatite coatings against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / S. Samani, S.M. Hossainipour, M. Tamizifar, H.R. Rezaie // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2013. – V. 101A. – № 1. – P. 222–230.
101. Popa, C.L. Structural and biological assessment of zinc doped hydroxyapatite nanoparticles / C.L. Popa, A. Deniaud, I. Michaud-Soret, R. Guégan, M. Motelica-Heino, D. Predoi // *Journal of Nanomaterials*. – 2016. – V. 2016. – № 7. – P. 1–10.
102. Anwar, A. Novel continuous flow synthesis, characterization and antibacterial studies of nanoscale zinc substituted hydroxyapatite bioceramics / A. Anwar, S. Akbar, A. Sadiqa, M. Kazmi // *Inorganica Chimica Acta*. – 2016. – V. 453. – P. 16–22.
103. Iconaru, S. Structural characterization and antifungal studies of zinc-doped hydroxyapatite coatings / S. Iconaru, A. Prodan, N. Buton, D. Predoi // *Molecules*. – 2017. – V. 22. – № 4. – P. 604.
104. Chung, R.J. Antimicrobial hydroxyapatite particles synthesized by a sol-gel route / R.J. Chung, M.F. Hsieh, K.C. Huang, L.H. Perng, F.I. Chou, T.S. Chin // *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. – 2005. – V. 33. – № 2. – P. 229–239.
105. Yang, H. In vitro and *in vivo* studies on zinc-hydroxyapatite composites as novel biodegradable metal matrix composite for orthopedic applications / H. Yang, X. Qu, W. Lin, C. Wang, D. Zhu, K. Dai, Y. Zheng // *Acta Biomaterialia*. – 2018. – V. 71. – P. 200–214.
106. Begam, H. Effect of bone morphogenetic protein on Zn-HAp and Zn-HAp/collagen composite: A systematic *in vivo* study / H. Begam, S.K. Nandi, A. Chanda, B. Kundu // *Research in*

- Veterinary Science. – 2017. – V. 115. – P. 1–9.
107. Bulina, N.V. Low-temperature mechanochemical synthesis of zinc-substituted hydroxyapatite / N.V. Bulina, M.V. Chaikina, O.B. Vinokurova, I.Y. Prosanov, N.Z. Lyakhov // *Chemistry for Sustainable Development*. – 2019. – № 3. – P. 281–286.
  108. Renaudin, G. First-row transition metal doping in calcium phosphate bioceramics: A detailed crystallographic study / G. Renaudin, S. Gomes, J.M. Nedelec // *Materials*. – 2017. – V. 10. – № 1. – P. 92.
  109. Tang, Y. Zinc incorporation into hydroxylapatite / Y. Tang, H.F. Chappell, M.T. Dove, R.J. Reeder, Y.J. Lee // *Biomaterials*. – 2009. – V. 30. – № 15. – P. 2864–2872.
  110. Miyaji, F. Formation and structure of zinc-substituted calcium hydroxyapatite / F. Miyaji, Y. Kono, Y. Suyama // *Materials Research Bulletin*. – 2005. – V. 40. – № 2. – P. 209–220.
  111. Kumar, G.S. Synthesis, characterization and in vitro studies of zinc and carbonate co-substituted nano-hydroxyapatite for biomedical applications / G.S. Kumar, A. Thamizhavel, Y. Yokogawa, S.N. Kalkura, E.K. Girija // *Materials Chemistry and Physics*. – 2012. – V. 134. – № 2–3. – P. 1127–1135.
  112. Li, M. Structural characterization of zinc-substituted hydroxyapatite prepared by hydrothermal method / M. Li, X. Xiao, R. Liu, C. Chen, L. Huang // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2008. – V. 19. – № 2. – P. 797–803.
  113. Ren, F. Characterization and structural analysis of zinc-substituted hydroxyapatites / F. Ren, R. Xin, X. Ge, Y. Leng // *Acta Biomaterialia*. – 2009. – V. 5. – № 8. – P. 3141–3149.
  114. Lou, W. Preparation and characterization of lanthanum-incorporated hydroxyapatite coatings on titanium substrates / W. Lou, Y. Dong, H. Zhang, Y. Jin, X. Hu, J. Ma, J. Liu, G. Wu // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2015. – V. 16. – № 9. – P. 21070–21086.
  115. El-Meliegy, E. Evaluation of solubility and cytotoxicity of lanthanum-doped phosphate glasses nanoparticles for drug delivery applications / E. El-Meliegy, M.M. Farag, A.M. El-Kady, M.S. Mohamed, H.K. Abdelhakim, M. Moaness // *Journal of Non-Crystalline Solids*. – 2017. – V. 475. – P. 59–70.
  116. Joshy, M.I.A. In vitro sustained release of amoxicillin from lanthanum hydroxyapatite nano rods / Joshy M.I.A., K. Elayaraja, R.V. Suganthi, S. Chandra Veerla, S.N. Kalkura // *Current Applied Physics*. – 2011. – V. 11. – № 4. – P. 1100–1106.
  117. Fricker, S.P. The therapeutic application of lanthanides / S.P. Fricker // *Chemical Society Reviews*. – 2006. – V. 35. – № 6. – P. 524.
  118. Serret, A. Stabilization of calcium oxyapatites with lanthanum(III)-created anionic vacancies / A. Serret, M.V. Cabañas, M. Vallet-Regi // *Chemistry of Materials*. – 2000. – V. 12. – № 12. – P. 3836–3841.



119. Cawthray, J.F. Ion exchange in hydroxyapatite with lanthanides / J.F. Cawthray, A.L. Creagh, C.A. Haynes, C. Orvig // *Inorganic Chemistry*. – 2015. – V. 54. – № 4. – P. 1440–1445.
120. Bulina, N.V. Fast synthesis of La-substituted apatite by the dry mechanochemical method and analysis of its structure / N.V. Bulina, M.V. Chaikina, I.Y. Prosanov, D.V. Dudina, L.A. Solovyov // *Journal of Solid State Chemistry*. – 2017. – V. 252. – P. 93–99.
121. Sarath Chandra, V. Blood compatibility of iron-doped nanosize hydroxyapatite and its drug release / V. Sarath Chandra, G. Baskar, R. V. Suganthi, K. Elayaraja, M.I. Ahymah Joshy, W. Sofi Beaula, R. Mythili, G. Venkatraman, S. Narayana Kalkura // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2012. – V. 4. – № 3. – P. 1200–1210.
122. Ulum, M.F. In vitro and *in vivo* degradation evaluation of novel iron-bioceramic composites for bone implant applications / M.F. Ulum, A. Arafat, D. Noviana, A.H. Yusop, A.K. Nasution, M.R. Abdul Kadir, H. Hermawan // *Materials Science and Engineering: C*. – 2014. – V. 36. – P. 336–344.
123. Zilm, M.E. Magnetic properties and cytocompatibility of transition-metal-incorporated hydroxyapatite / M.E. Zilm, L. Yu, W.A. Hines, M. Wei // *Materials Science and Engineering: C*. – 2018. – V. 87. – P. 112–119.
124. Sheikh, L. Traversing the profile of biomimetically nanoengineered iron substituted hydroxyapatite: synthesis, characterization, property evaluation, and drug release modeling / L. Sheikh, S. Sinha, Y.N. Singhababu, V. Verma, S. Tripathy, S. Nayar // *RSC Advances*. – 2018. – V. 8. – № 35. – P. 19389–19401.
125. Hou, C.H. The *in vivo* performance of biomagnetic hydroxyapatite nanoparticles in cancer hyperthermia therapy / C.H. Hou, S.M. Hou, Y.S. Hsueh, J. Lin, H.C. Wu, F.H. Lin // *Biomaterials*. – 2009. – V. 30. – № 23–24. – P. 3956–3960.
126. Ito, A. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles / A. Ito, M. Shinkai, H. Honda, T. Kobayashi // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 2005. – V. 100. – № 1. – P. 1–11.
127. Zuo, K.H. Synthesis and magnetic property of iron ions-doped hydroxyapatite / K.H. Zuo, Y.P. Zeng, D. Jiang // *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. – 2012. – V. 12. – № 9. – P. 7096–7100.
128. Goldberg, M.A. Iron-doped mesoporous powders of hydroxyapatite as molybdenum-impregnated catalysts for deep oxidative desulfurization of model fuel: synthesis and experimental and theoretical studies / M.A. Goldberg, A.V. Akopyan, M.R. Gafurov, O.N. Makshakova, N.O. Donskaya, A.S. Fomin, P.P. Polikarpova, A.V. Anisimov, F.F. Murzakhanov, A.V. Leonov, A.A. Konovalov, E.A. Kudryavtsev, S.M. Barinov, V.S. Komlev // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2021. – V. 125. – № 21. – P. 11604–11619.

129. Makshakova, O.N. Incorporation of iron(II) and (III) in hydroxyapatite – A theoretical study / O.N. Makshakova, D.V. Shurtakova, A.V. Vakhin, P.O. Grishin, M.R. Gafurov // *Crystals*. – 2021. – V. 11. – № 10. – P. 1219.
130. Rodríguez-Lorenzo, L.M. Controlled Crystallization of Calcium Phosphate Apatites / L.M. Rodríguez-Lorenzo, M. Vallet-Regí // *Chemistry of Materials*. – 2000. – V. 12. – № 8. – P. 2460–2465.
131. Vallet-Regí, M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues / M. Vallet-Regí // *Progress in Solid State Chemistry*. – 2004. – V. 32. – № 1–2. – P. 1–31.
132. Rogers, K.D. An X-ray diffraction study of the effects of heat treatment on bone mineral microstructure / K.D. Rogers, P. Daniels // *Biomaterials*. – 2002. – V. 23. – № 12. – P. 2577–2585.
133. Spence, G. Carbonate substituted hydroxyapatite: Resorption by osteoclasts modifies the osteoblastic response / G. Spence, N. Patel, R. Brooks, N. Rushton // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2009. – V. 90A. – № 1. – P. 217–224.
134. Barralet, J. Thermal decomposition of synthesised carbonate hydroxyapatite / J. Barralet, J.C. Knowles, S.M. Best, W. Bonfield // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2002. – V. 13. – № 6. – P. 529–533.
135. Merry, J.C. Synthesis and characterization of carbonate hydroxyapatite / J.C. Merry, I.R. Gibson, S.M. Best, W. Bonfield // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 1998. – V. 9. – № 12. – P. 779–783.
136. Barralet, J. Carbonate substitution in precipitated hydroxyapatite: An investigation into the effects of reaction temperature and bicarbonate ion concentration / J. Barralet, S. Best, W. Bonfield // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 1998. – V. 41. – № 1. – P. 79–86.
137. Chaikina, M.V. Formation of carbonated apatite in equilibrium system  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{CO}_3\text{-H}_2\text{O}$  at 298 K in air / M.V. Chaikina, N.V. Bulina, I.Y. Prosanov, K.B. Gerasimov, S.V. Makarova // *Chemical Papers*. – 2023. – P. 1–9.
138. Madupalli, H. Carbonate substitution in the mineral component of bone: Discriminating the structural changes, simultaneously imposed by carbonate in A and B sites of apatite / H. Madupalli, B. Pavan, M.M.J. Tecklenburg // *Journal of Solid State Chemistry*. – 2017. – V. 255. – P. 27–35.
139. Makarova, S.V. Mechanochemical Synthesis of Carbonate and Fluoride-Substituted Hydroxyapatite / S.V. Makarova, N.V. Bulina, M.V. Chaikina, I.Y. Prosanov, V.R. Khusnutdinov // *Chemistry For Sustainable Development*. – 2020. – V. 28. – № 1. – P. 49–54.
140. Perez-Granados, A. Silicon, aluminium, arsenic and lithium: Essentiality and human health implications / A. Perez-Granados, M. Vaquero // *The Journal of Nutrition Health and Aging*. –

2002. – V. 6. – № 2. – P. 154–162.
141. Carlisle, E.M. Silicon: A possible factor in bone calcification / E.M. Carlisle // *Science*. – 1970. – V. 167. – № 3916. – P. 279–280.
142. Munir, G. The pathway to intelligent implants: osteoblast response to nano silicon-doped hydroxyapatite patterning / G. Munir, G. Koller, L. Di Silvio, M.J. Edirisinghe, W. Bonfield, J. Huang // *Journal of The Royal Society Interface*. – 2011. – V. 8. – № 58. – P. 678–688.
143. Lozano, D. Osteostatin improves the osteogenic activity of fibroblast growth factor-2 immobilized in Si-doped hydroxyapatite in osteoblastic cells / D. Lozano, M.J. Feito, S. Portal-Núñez, R.M. Lozano, M.C. Matesanz, M.C. Serrano, M. Vallet-Regí, M.T. Portolés, P. Esbrit // *Acta Biomaterialia*. – 2012. – V. 8. – № 7. – P. 2770–2777.
144. Gomes, S. Silicon location in silicate-substituted calcium phosphate ceramics determined by neutron diffraction / S. Gomes, J.M. Nedelec, E. Jallot, D. Sheptyakov, G. Renaudin // *Crystal Growth & Design*. – 2011. – V. 11. – № 9. – P. 4017–4026.
145. Palard, M. Synthesis of silicated hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$  / M. Palard, E. Champion, S. Foucaud // *Journal of Solid State Chemistry*. – 2008. – V. 181. – № 8. – P. 1950–1960.
146. Zhao, J. Solution combustion method for synthesis of nanostructured hydroxyapatite, fluorapatite and chlorapatite / J. Zhao, X. Dong, M. Bian, J. Zhao, Y. Zhang, Y. Sun, J. Chen, X. Wang // *Applied Surface Science*. – 2014. – V. 314. – P. 1026–1033.
147. Zhang, H.G. Mechanochemical–hydrothermal synthesis and characterization of fluoridated hydroxyapatite / H.G. Zhang, Q. Zhu, Z.H. Xie // *Materials Research Bulletin*. – 2005. – V. 40. – № 8. – P. 1326–1334.
148. Bulina, N.V. Mechanochemical synthesis of  $\text{SiO}_4^{4-}$ -substituted hydroxyapatite, part II - Reaction mechanism, structure, and substitution limit / N.V. Bulina, M.V. Chaikina, A.S. Andreev, O.B. Lapina, A. V. Ishchenko, I.Y. Prosanov, K.B. Gerasimov, L.A. Solovyov // *European Journal of Inorganic Chemistry*. – 2014. – V. 2014. – № 28. – P. 4810–4825.
149. Chiranjeevirao, S.V. A method of preparation and characterization of carbonato-apatites / S.V. Chiranjeevirao, J.C. Voegel, R.M. Frank // *Inorganica Chimica Acta*. – 1983. – V. 78. – P. 43–46.
150. Kaygili, O. The effect of simulating body fluid on the structural properties of hydroxyapatite synthesized in the presence of citric acid / O. Kaygili, S. Keser, M. Kom, N. Bulut, S.V. Dorozhkin // *Progress in Biomaterials*. – 2016. – V. 5. – № 3–4. – P. 173–182.
151. Gineste, L. Degradation of hydroxylapatite, fluorapatite, and fluorhydroxyapatite coatings of dental implants in dogs / L. Gineste, M. Gineste, X. Ranz, A. Ellefterion, A. Guilhem, N. Rouquet, P. Frayssinet // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 1999. – V. 48. – № 3. –

- P. 224–234.
152. Tõnsuaadu, K. A review on the thermal stability of calcium apatites / K. Tõnsuaadu, K.A. Gross, L. Pluduma, M. Veiderma // *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. – 2012. – V. 110. – № 2. – P. 647–659.
  153. Prener, J.S. The growth and crystallographic properties of calcium fluor- and chlorapatite crystals / J.S. Prener // *Journal of The Electrochemical Society*. – 1967. – V. 114. – № 1. – P. 77.
  154. Cho, J.S. Enhanced bioactivity and osteoconductivity of hydroxyapatite through chloride substitution / J.S. Cho, D.S. Yoo, Y.C. Chung, S.H. Rhee // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2014. – V. 102. – № 2. – P. 455–469.
  155. Schlesinger, P.H. Characterization of the osteoclast ruffled border chloride channel and its role in bone resorption / P.H. Schlesinger, H.C. Blair, S.L. Teitelbaum, J.C. Edwards // *Journal of Biological Chemistry*. – 1997. – V. 272. – № 30. – P. 18636–18643.
  156. LeGeros, R.Z. Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications / R.Z. LeGeros, S. Lin, S.R. Rohanizadeh, D. Mijares, J.P. LeGeros // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2003. – V. 14. – P. 201–209.
  157. Gibson, I.R. Preparation and characterization of magnesium/carbonate co-substituted hydroxyapatites / I.R. Gibson, W. Bonfield // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2002. – V. 13. – № 7. – P. 685–693.
  158. Lala, S. Magnesium substitution in carbonated hydroxyapatite: Structural and microstructural characterization by Rietveld's refinement / S. Lala, M. Ghosh, P.K. Das, D. Das, T. Kar, S.K. Pradhan // *Materials Chemistry and Physics*. – 2016. – V. 170. – P. 319–329.
  159. Huang, Y. Anticorrosive effects and in vitro cytocompatibility of calcium silicate/zinc-doped hydroxyapatite composite coatings on titanium / Y. Huang, H. Zhang, H. Qiao, X. Nian, X. Zhang, W. Wang, X. Zhang, X. Chang, S. Han, X. Pang // *Applied Surface Science*. – 2015. – V. 357. – P. 1776–1784.
  160. Song, Y. Zinc Silicate/Nano-Hydroxyapatite/Collagen Scaffolds Promote Angiogenesis and Bone Regeneration via the p38 MAPK Pathway in Activated Monocytes / Y. Song, H. Wu, Y. Gao, J. Li, K. Lin, B. Liu, X. Lei, P. Cheng, S. Zhang, Y. Wang, J. Sun, L. Bi, G. Pei // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2020. – V. 12. – № 14. – P. 16058–16075.
  161. Nakayama, S. Ionic conductivity of lanthanoid silicates,  $\text{Ln}_{10}(\text{SiO}_4)_6\text{O}_3$  (Ln = La, Nd, Sm, Gd, Dy, Y, Ho, Er and Yb) / S. Nakayama, T. Kageyama, H. Aono, Y. Sadaoka // *Journal of Materials Chemistry*. – 1995. – V. 5. – № 11. – P. 1801.
  162. Xia, Y. Crystal structure evolution and luminescence properties of color tunable solid solution phosphors  $\text{Ca}_{2+x}\text{La}_{8-x}(\text{SiO}_4)_{6-x}(\text{PO}_4)_x\text{O}_2:\text{Eu}^{2+}$  / Y. Xia, J. Chen, Y.G. Liu, M.S. Molokeev, M.

- Guan, Z. Huang, M. Fang // *Dalton Transactions*. – Royal Society of Chemistry, 2016. – V. 45. – № 3. – P. 1007–1015.
163. Sadat-Shojai, M., Nano-hydroxyapatite reinforced polyhydroxybutyrate composites: A comprehensive study on the structural and in vitro biological properties / M. Sadat-Shojai, M.-T. Khorasani, A. Jamshidi, S. Irani // *Materials Science and Engineering: C*. – 2013. – V. 33. – № 5. – P. 2776–2787.
164. Lin, K. Advances in synthesis of calcium phosphate crystals with controlled size and shape / K. Lin, C. Wu, J. Chang // *Acta Biomaterialia*. – 2014. – V. 10. – № 10. – P. 4071–4102.
165. Zhuang, Z. Synthesis of plate-shaped hydroxyapatite via an enzyme reaction of urea with urease and its characterization / Z. Zhuang, H. Yamamoto, M. Aizawa // *Powder Technology*. – 2012. – V. 222. – P. 193–200.
166. Zhang, C. Hydroxyapatite nano- and microcrystals with multiform morphologies: controllable synthesis and luminescence properties / C. Zhang, J. Yang, Z. Quan, P. Yang, C. Li, Z. Hou, J. Lin // *Crystal Growth & Design*. – 2009. – V. 9. – № 6. – P. 2725–2733.
167. Wang, P. Effects of synthesis conditions on the morphology of hydroxyapatite nanoparticles produced by wet chemical process / P. Wang, C. Li, H. Gong, X. Jiang, H. Wang, K. Li // *Powder Technology*. – 2010. – V. 203. – № 2. – P. 315–321.
168. Feng, W. A simple sol–gel technique for preparing hydroxyapatite nanopowders / W. Feng, L. Mu-sen, L. Yu-peng, Q. Yong-xin // *Materials Letters*. – 2005. – V. 59. – № 8–9. – P. 916–919.
169. Wei, W. Interaction between low molecular weight organic acids and hydroxyapatite with different degrees of crystallinity / W. Wei, X. Zhang, J. Cui, Z. Wei // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2011. – V. 392. – № 1. – P. 67–75.
170. Fathi, M.H. Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder / M.H. Fathi, A. Hanifi, V. Mortazavi // *Journal of Materials Processing Technology*. – 2008. – V. 202. – № 1–3. – P. 536–542.
171. Lin, K. Synthesis of element-substituted hydroxyapatite with controllable morphology and chemical composition using calcium silicate as precursor / K. Lin, J. Chang, X. Liu, L. Chen, Y. Zhou // *CrystEngComm*. – 2011. – V. 13. – № 15. – P. 4850.
172. Manafi, S. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite nanorods via hydrothermal conditions / S. Manafi, M.R. Rahimpour // *Chemical Engineering & Technology*. – 2011. – V. 34. – № 6. – P. 972–976.
173. Nakahira, A. Novel synthesis method of hydroxyapatite whiskers by hydrolysis of alpha-tricalcium phosphate in mixtures of water and organic solvent / A. Nakahira, K. Sakamoto, S. Yamaguchi, M. Kaneno, S. Takeda, M. Okazaki // *Journal of the American Ceramic Society*. – 2004. – V. 82. – № 8. – P. 2029–2032.

174. Kong, X.D. Mineralization of calcium phosphate in reverse microemulsion / X.D. Kong, X.D. Sun, J.B. Lu, F.Z. Cui // *Current Applied Physics*. – 2005. – V. 5. – № 5. – P. 519–521.
175. Guo, G. Preparation of hydroxyapatite nanoparticles by reverse microemulsion / G. Guo, Y. Sun, Z. Wang, H. Guo // *Ceramics International*. – 2005. – V. 31. – № 6. – P. 869–872.
176. Liang, T. Synthesis of mesoporous hydroxyapatite nanoparticles using a template-free sonochemistry-assisted microwave method / T. Liang, J. Qian, Y. Yuan, C. Liu // *Journal of Materials Science*. – 2013. – V. 48. – № 15. – P. 5334–5341.
177. Cao, L. Synthesis of hydroxyapatite nanoparticles in ultrasonic precipitation / L. Cao, C. Zhang, J. Huang // *Ceramics International*. – 2005. – V. 31. – № 8. – P. 1041–1044.
178. Nasiri-Tabrizi, B. Synthesis of nanosize single-crystal hydroxyapatite via mechanochemical method / B. Nasiri-Tabrizi, P. Honarmandi, R. Ebrahimi-Kahrizsangi, P. Honarmandi // *Materials Letters*. – 2009. – V. 63. – № 5. – P. 543–546.
179. Chaikina, M.V. Possibilities of mechanochemical synthesis of apatites with different Ca/P ratios / M.V. Chaikina, N.V. Bulina, O.B. Vinokurova, K.B. Gerasimov, I.Y. Prosanov, N.B. Kompankov, O.B. Lapina, E.S. Papulovskiy, A.V. Ishchenko, S.V. Makarova // *Ceramics*. – 2022. – V. 5. – № 3. – P. 404–422.
180. Tseng, Y.H. Polymer-assisted synthesis of hydroxyapatite nanoparticle / Y.H. Tseng, C.S. Kuo, Y.Y. Li, C.P. Huang // *Materials Science and Engineering: C*. – 2009. – V. 29. – № 3. – P. 819–822.
181. Pramanik, S. Development of high strength hydroxyapatite by solid-state-sintering process / S. Pramanik, A.K. Agarwal, K.N. Rai, A. Garg // *Ceramics International*. – 2007. – V. 33. – № 3. – P. 419–426.
182. Lin, K. Study the adsorption of phenol from aqueous solution on hydroxyapatite nanopowders / K. Lin, J. Pan, Y. Chen, R. Cheng, X. Xu // *Journal of Hazardous Materials*. – 2009. – V. 161. – № 1. – P. 231–240.
183. Lee, D.K. Facile hydrothermal fabrication of hollow hexagonal hydroxyapatite prisms / D.K. Lee, J.Y. Park, M.R. Kim, D.J. Jang // *CrystEngComm*. – 2011. – V. 13. – № 17. – P. 5455.
184. Catros, S. Physico-chemical and biological properties of a nano-hydroxyapatite powder synthesized at room temperature / S. Catros, F. Guillemot, E. Lebraud, C. Chanseau, S. Perez, R. Bareille, J. Amédée, J.C. Fricain // *IRBM*. – 2010. – V. 31. – № 4. – P. 226–233.
185. Huang, Y.T. Block-copolymer-assisted synthesis of hydroxyapatite nanoparticles with high surface area and uniform size / Y.T. Huang, M. Imura, Y. Nemoto, C.H. Cheng, Y. Yamauchi // *Science and Technology of Advanced Materials*. – 2011. – V. 12. – № 4. – P. 045005.
186. Ebrahimpour, A. The characterization of hydroxyapatite preparations / A. Ebrahimpour, M. Johnsson, C.F. Richardson, G.H. Nancollas // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 1993.

- V. 159. – № 1. – P. 158–163.
187. Swain, S.K. A comparative study: Hydroxyapatite spherical nanopowders and elongated nanorods / S.K. Swain, D. Sarkar // *Ceramics International*. – 2011. – V. 37. – № 7. – P. 2927–2930.
188. Fomin, A.S. Nanocrystalline hydroxyapatite ceramics / A.S. Fomin, S.M. Barinov, V.M. Ievlev, V.V. Smirnov, B.P. Mikhailov, S.V. Kutsev, E.K. Belonogov, N.A. Drozdova // *Inorganic Materials*. – 2009. – V. 45. – № 10. – P. 1193–1196.
189. Kim, D.W. Simple large-scale synthesis of hydroxyapatite nanoparticles: In situ observation of crystallization process / D.W. Kim, I.S. Cho, J.Y. Kim, H.L. Jang, G.S. Han, H.S. Ryu, H. Shin, H.S. Jung, H. Kim, K.S. Hong // *Langmuir*. – 2010. – V. 26. – № 1. – P. 384–388.
190. Afshar, A. Some important factors in the wet precipitation process of hydroxyapatite / A. Afshar, M. Ghorbani, N. Ehsani, M. Saeri, C. Sorrell // *Materials & Design*. – 2003. – V. 24. – № 3. – P. 197–202.
191. Gómez-Morales, J. Precipitation of stoichiometric hydroxyapatite by a continuous method / J. Gómez-Morales, J. Torrent-Burgués, T. Boix, J. Fraile, R. Rodríguez-Clemente // *Crystal Research and Technology*. – 2001. – V. 36. – № 1. – P. 15–26.
192. Gibson, I.R. Novel synthesis and characterization of an AB-type carbonate-substituted hydroxyapatite / I.R. Gibson, W. Bonfield // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 2002. – V. 59. – № 4. – P. 697–708.
193. Zhang, H.G. Surfactant-assisted preparation of fluoride-substituted hydroxyapatite nanorods / H.G. Zhang, Q. Zhu // *Materials Letters*. – 2005. – V. 59. – № 24–25. – P. 3054–3058.
194. Liou, S.C. Structural characterization of nano-sized calcium deficient apatite powders / S.C. Liou, S.Y. Chen, H.Y. Lee, J.S. Bow // *Biomaterials*. – 2004. – V. 25. – № 2. – P. 189–196.
195. Iafisco, M. Formation of calcium phosphates by vapour diffusion in highly concentrated ionic micro-droplets / M. Iafisco, J.M. Delgado-López, J. Gómez-Morales, M.A. Hernández-Hernández, I. Rodríguez-Ruiz, N. Roveri // *Crystal Research and Technology*. – 2011. – V. 46. – № 8. – P. 841–846.
196. Liu, C. Kinetics of hydroxyapatite precipitation at pH 10 to 11 / C. Liu, Y. Huang, W. Shen, J. Cui // *Biomaterials*. – 2001. – V. 22. – № 4. – P. 301–306.
197. Wu, H.C. A novel biomagnetic nanoparticle based on hydroxyapatite / H.C. Wu, T.W. Wang, J.S. Sun, W.H. Wang, F.H. Lin // *Nanotechnology*. – 2007. – V. 18. – № 16. – P. 165601.
198. Bianco, A. Si-substituted hydroxyapatite nanopowders: Synthesis, thermal stability and sinterability / A. Bianco, I. Cacciotti, M. Lombardi, L. Montanaro // *Materials Research Bulletin*. – 2009. – V. 44. – № 2. – P. 345–354.
199. Zhang, G. Preparation of amino-acid-regulated hydroxyapatite particles by hydrothermal

- method / G. Zhang, J. Chen, S. Yang, Q. Yu, Z. Wang, Q. Zhang // *Materials Letters*. – 2011. – V. 65. – № 3. – P. 572–574.
200. Lin, K. Facile synthesis of hydroxyapatite nanoparticles, nanowires and hollow nano-structured microspheres using similar structured hard-precursors / K. Lin, X. Liu, J. Chang, Y. Zhu // *Nanoscale*. – 2011. – V. 3. – № 8. – P. 3052.
201. Kandori, K. Preparation and characterization of calcium hydroxyapatite and balloon-like calcium phosphate particles from forced hydrolysis of  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -triphosphate solution / K. Kandori, K. Takeguchi, M. Fukusumi, Y. Morisada // *Polyhedron*. – 2009. – V. 28. – № 14. – P. 3036–3042.
202. Li, M. Structural characterization of zinc-substituted hydroxyapatite prepared by hydrothermal method / M. Li, X. Xiao, R. Liu, C. Chen, L. Huang // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 2008. – V. 19. – № 2. – P. 797–803.
203. Aminian, A. Synthesis of silicon-substituted hydroxyapatite by a hydrothermal method with two different phosphorous sources / A. Aminian, M. Solati-Hashjin, A. Samadikuchaksaraei, F. Bakhshi, F. Gorjipour, A. Farzadi, F. Moztarzadeh, M. Schmücker // *Ceramics International*. – 2011. – V. 37. – № 4. – P. 1219–1229.
204. Zhang, H. Morphology and structural characteristics of hydroxyapatite whiskers: Effect of the initial Ca concentration, Ca/P ratio and pH / H. Zhang, B.W. Darvell // *Acta Biomaterialia*. – 2011. – V. 7. – № 7. – P. 2960–2968.
205. Earl, J.S. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite / J.S. Earl, D.J. Wood, S.J. Milne // *Journal of Physics: Conference Series*. – 2006. – V. 26. – P. 268–271.
206. Zhang, H. Formation of hydroxyapatite whiskers by hydrothermal homogeneous precipitation using acetamide / H. Zhang, B.W. Darvell // *Journal of the American Ceramic Society*. – 2011. – V. 94. – № 7. – P. 2007–2013.
207. Yoshimura, M. Hydrothermal conversion of calcite crystals to hydroxyapatite / M. Yoshimura, P. Sujaridworakun, F. Koh, T. Fujiwara, D. Pongkao, A. Ahniyaz // *Materials Science and Engineering: C*. – 2004. – V. 24. – № 4. – P. 521–525.
208. Guo, X. Fabrication of nanostructured hydroxyapatite via hydrothermal synthesis and spark plasma sintering / X. Guo, P. Xiao, J. Liu, Z. Shen // *Journal of the American Ceramic Society*. – 2005. – V. 88. – № 4. – P. 1026–1029.
209. Zhu, R. Morphology control of hydroxyapatite through hydrothermal process / R. Zhu, R. Yu, J. Yao, D. Wang, J. Ke // *Journal of Alloys and Compounds*. – 2008. – V. 457. – № 1–2. – P. 555–559.
210. Kalita, S.J. Nanocrystalline hydroxyapatite doped with magnesium and zinc: Synthesis and characterization / S.J. Kalita, H.A. Bhatt // *Materials Science and Engineering: C*. – 2007. – V.



27. – № 4. – P. 837–848.
211. Balamurugan, A. Suitability evaluation of sol–gel derived Si-substituted hydroxyapatite for dental and maxillofacial applications through in vitro osteoblasts response / A. Balamurugan, A.H.S. Rebelo, A.F. Lemos, J.H.G. Rocha, J.M.G. Ventura, J.M.F. Ferreira // *Dental Materials*. – 2008. – V. 24. – № 10. – P. 1374–1380.
212. Padmanabhan, S.K. Sol–gel synthesis and characterization of hydroxyapatite nanorods / S.K. Padmanabhan, A. Balakrishnan, M.C. Chu, Y.J. Lee, T.N. Kim, S.J. Cho // *Particuology*. – 2009. – V. 7. – № 6. – P. 466–470.
213. Bose, S. Synthesis of hydroxyapatite nanopowders via sucrose-templated sol-gel method / S. Bose, S.K. Saha // *Journal of the American Ceramic Society*. – 2003. – V. 86. – № 6. – P. 1055–1057.
214. Kumar, A.R. Sol–gel synthesis of nanostructured hydroxyapatite powder in presence of polyethylene glycol / A.R. Kumar, S. Kalainathan // *Physica B: Condensed Matter*. – 2010. – V. 405. – № 13. – P. 2799–2802.
215. Bezzi, G. A novel sol–gel technique for hydroxyapatite preparation / G. Bezzi, G. Celotti, E. Landi, T.M.. La Torretta, I. Sopyan, A. Tampieri // *Materials Chemistry and Physics*. – 2003. – V. 78. – № 3. – P. 816–824.
216. Bigi, A. Hydroxyapatite gels and nanocrystals prepared through a sol–gel process / A. Bigi, E. Boanini, K. Rubini // *Journal of Solid State Chemistry*. – 2004. – V. 177. – № 9. – P. 3092–3098.
217. Eshtiagh-Hosseini, H. Effects of parameters of sol–gel process on the phase evolution of sol–gel-derived hydroxyapatite / H. Eshtiagh-Hosseini, M.R. Housaindokht, M. Chahkandi // *Materials Chemistry and Physics*. – 2007. – V. 106. – № 2–3. – P. 310–316.
218. Milev, A. Morphological stability of hydroxyapatite precursor / A. Milev, G.S.. Kannangara, B. Ben-Nissan // *Materials Letters*. – 2003. – V. 57. – № 13–14. – P. 1960–1965.
219. Chen, J. A simple sol-gel technique for synthesis of nanostructured hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic powders / J. Chen, Y. Wang, X. Chen, L. Ren, C. Lai, W. He, Q. Zhang // *Materials Letters*. – 2011. – V. 65. – № 12. – P. 1923–1926.
220. Ioîtescu, A. Synthesis and characterization of hydroxyapatite obtained from different organic precursors by sol–gel method / A. Ioîtescu, G. Vlase, T. Vlase, G. Ilia, N. Doca // *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. – 2009. – V. 96. – № 3. – P. 937–942.
221. Hsieh, M.F. Phase purity of sol–gel-derived hydroxyapatite ceramic / M.F. Hsieh, L.H. Perng, T.S. Chin, H.G. Perng // *Biomaterials*. – 2001. – V. 22. – № 19. – P. 2601–2607.
222. Hahn, B.D. Aerosol deposition of silicon-substituted hydroxyapatite coatings for biomedical applications / B.D. Hahn, J.M. Lee, D.S. Park, J.J. Choi, J. Ryu, W.H. Yoon, B.K. Lee, D.S.

- Shin, H.E. Kim // *Thin Solid Films*. – 2010. – V. 518. – № 8. – P. 2194–2199.
223. Teshima, K. Well-formed one-dimensional hydroxyapatite crystals grown by an environmentally friendly flux method / K. Teshima, S. Lee, M. Sakurai, Y. Kameno, K. Yubuta, T. Suzuki, T. Shishido, M. Endo, S. Oishi // *Crystal Growth & Design*. – 2009. – V. 9. – № 6. – P. 2937–2940.
224. Wu, S.C. Synthesis of hydroxyapatite from eggshell powders through ball milling and heat treatment / S.C. Wu, H.C. Hsu, S.K. Hsu, Y.C. Chang, W.F. Ho // *Journal of Asian Ceramic Societies*. – 2016. – V. 4. – № 1. – P. 85–90.
225. Krajewski, A. Spectrometric study of the thermal evolution of mechanochemically prepared hydroxyapatite-based powders / A. Krajewski, G. Celotti, A. Ravaglioli, M. Toriyama // *Crystal Research and Technology*. – 1996. – V. 31. – № 5. – P. 637–646.
226. Silva, C.C. Properties and *in vivo* investigation of nanocrystalline hydroxyapatite obtained by mechanical alloying / C.C. Silva, A.G. Pinheiro, R.S. de Oliveira, J.C. Góes, N. Aranha, L.R. de Oliveira, A.S.B. Sombra // *Materials Science and Engineering: C*. – 2004. – V. 24. – № 4. – P. 549–554.
227. Yeong, B. Mechanochemical synthesis of hydroxyapatite from calcium oxide and brushite / B. Yeong, X. Junmin, J. Wang // *Journal of the American Ceramic Society*. – 2001. – V. 84. – № 2. – P. 465–467.
228. Fahami, A. Mechanochemical synthesis of hydroxyapatite/titanium nanocomposite / A. Fahami, R. Ebrahimi-Kahrizangi, B. Nasiri-Tabrizi // *Solid State Sciences*. – 2011. – V. 13. – № 1. – P. 135–141.
229. Eremina, N.V. Soft mechanochemical synthesis and thermal stability of hydroxyapatites with different types of substitution / N.V. Eremina, S.V. Makarova, D.D. Isaev, N.V. Bulina // *Chimica Techno Acta*. – 2022. – V. 9. – № 3. – P. 3–9.
230. Bulina, N.V. Low-temperature mechanochemical synthesis of zinc-substituted hydroxyapatite / N.V. Bulina, M.V. Chaikina, O.B. Vinokurova, I.Y. Prosanov, N.Z. Lyakhov // *Chemistry for Sustainable Development*. – 2019. – № 3. – P. 281–286.
231. Cheary, R.W. A fundamental parameters approach to X-ray line-profile fitting / R.W. Cheary, A. Coelho // *Journal of Applied Crystallography*. – 1992. – V. 25. – № 2. – P. 109–121.
232. Eremina, J.A. Synthesis and crystal structures of cytotoxic mixed-ligand copper(II) complexes with alkyl tetrazole and polypyridine derivatives / J.A. Eremina, E. V. Lider, N. V. Kuratieva, D.G. Samsonenko, L.S. Klyushova, D.G. Sheven', R.E. Trifonov, V.A. Ostrovskii // *Inorganica Chimica Acta*. – 2021. – V. 516. – № November 2020. – P. 120169.
233. Лурье, Ю. Справочник по аналитической химии / Ю. Лурье - Москва: Rugram, 2012. – 440 с.

234. Makarova, S.V. Mechanochemical synthesis of apatite with the simultaneous substitutions of calcium by lanthanum and phosphate by silicate / S.V. Makarova, N.V. Bulina, I.Y. Prosanov, A.V. Ishchenko, M.V. Chaikina // *Russian Journal of Inorganic Chemistry*. – 2020. – V. 65. – № 12. – P. 1831–1837.
235. Makarova, S.V. Crystal structure of lanthanum-silicate co-substituted apatite obtained by the mechanochemical synthesis / S.V. Makarova, N.V. Bulina, M.V. Chaikina, L.A. Solovyov // *Materials Today: Proceedings*. – 2019. – V. 12. – P. 61–65.
236. Makarova, S.V. Hydroxyapatite double substituted with zinc and silicate ions: possibility of mechanochemical synthesis and in vitro properties / S.V. Makarova, N.V. Bulina, Y.A. Golubeva, L.S. Klyushova, N.B. Dumchenko, S.S. Shatskaya, A.V. Ishchenko, M.V. Khvostov, D.V. Dudina // *Materials*. – 2023. – V. 16. – № 4. – P. 1385.
237. Wilson, R.M. Rietveld structure refinement of precipitated carbonate apatite using neutron diffraction data / R.M. Wilson, J.C. Elliott, S.E.P. Dowker, R.I. Smith // *Biomaterials*. – 2004. – V. 25. – № 11. – P. 2205–2213.
238. Predoi, D. Textural, structural and biological evaluation of hydroxyapatite doped with zinc at low concentrations / D. Predoi, S.L. Iconaru, A. Deniaud, M. Chevallet, I. Michaud-Soret, N. Buton, A.M. Prodan // *Materials*. – 2017. – V. 10. – № 3. – P. 229.
239. Khvostov, M.V. The influence of zinc and silicate ions on biological properties of hydroxyapatite synthesized by a mechanochemical method / M.V. Khvostov, M.S. Borisova, N.V. Bulina, S.V. Makarova, N.B. Dumchenko, T.G. Tolstikova, N.Z. Lyakhov // *Ceramics International*. – 2021. – V. 47. – № 7. – P. 9495–9503.
240. Isaev, D.D. Substitution in the structure of hydroxyapatite doped with iron cations upon mechanochemical synthesis / D.D. Isaev, V.V. Kriventsov, S.A. Petrov, V.S. Bystrov, N.V. Bulina // *Journal of Surface Investigation: X-ray, Synchrotron and Neutron Techniques*. – 2023. – V. 17. – № 3. – P. 687–693.
241. Makarova, S.V. Thermal stability of iron- and silicon-substituted hydroxyapatite prepared by mechanochemical method / S.V. Makarova, N.V. Bulina, O.B. Vinokurova, A.V. Ishchenko // *Powders*. – 2023. – V. 2. – № 2. – P. 372–386.
242. Kaygili, O. Dielectric properties of Fe doped hydroxyapatite prepared by sol-gel method / O. Kaygili, S.V. Dorozhkin, T. Ates, A.A. Al-Ghamdi, F. Yakuphanoglu // *Ceramics International*. – 2014. – V. 40. – № 7A. – P. 9395–9402.
243. Sarath Chandra, V. Blood compatibility of iron-doped nanosize hydroxyapatite and its drug release / V. Sarath Chandra, G. Baskar, R.V. Suganthi, K. Elayaraja, M.I. Ahymah Joshy, W. Sofi Beaula, R. Mythili, G. Venkatraman, S. Narayana Kalkura // *ACS Applied Materials and Interfaces*. – 2012. – V. 4. – № 3. – P. 1200–1210.

244. Marchat, D. Accurate characterization of pure silicon-substituted hydroxyapatite powders synthesized by a new precipitation route / D. Marchat, M. Zymelka, C. Coelho, L. Gremillard, L. Joly-Pottuz, F. Babonneau, C. Esnouf, J. Chevalier, D. Bernache-Assollant // *Acta Biomaterialia*. – 2013. – V. 9. – № 6. – P. 6992–7004.
245. Singh, R.K. Iron doped  $\beta$ -Tricalcium phosphate: Synthesis, characterization, hyperthermia effect, biocompatibility and mechanical evaluation / R.K. Singh, M. Srivastava, N.K. Prasad, S. Awasthi, A. Dhayalan, S. Kannan // *Materials Science and Engineering: C*. – 2017. – V. 78. – P. 715–726.

### **БЛАГОДАРНОСТИ**

Выражаю благодарность моему научному руководителю к.ф.-м.н. Булиной Н.В. (ИХТТМ СО РАН), моим коллегам и соавторам за помощь в работе: д.х.н. Чайкиной М.В. (ИХТТМ СО РАН), к.х.н. Ухиной А.В. (ИХТТМ СО РАН), Винокуровой О.Б. (ИХТТМ СО РАН), Науменко Л.П. (ИХТТМ СО РАН), д.б.н. Хвостову М.В. (НИОХ СО РАН), к.х.н. А.В. Ищенко (ИК СО РАН), к.х.н. Голубевой Ю.А. (ИНХ СО РАН), к.м.н. Ключовой Л.С. (ФИЦ ФТМ), к.х.н. Шацкой С.С. (ИХТТМ СО РАН), Думченко Н.Б. (ГНЦВБ «Вектор»), к.х.н. Герасимову К.Б. (ИХТТМ СО РАН), д.ф.-м.н. Просанову И.Ю. (ИХТТМ СО РАН).