

# **НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ**

**Інститут прикладної фізики НАН України**

**Наукова робота, представлена  
на здобуття щорічної премії Президента України для молодих учених**

## **ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ЗАСАДИ ОТРИМАННЯ КОМПОЗИТНИХ МАТЕРІАЛІВ НА ОСНОВІ ФОСФАТІВ КАЛЬЦІЮ І БІОЦИДНИХ ПОЛІМЕРІВ ДЛЯ МЕДИЦИНИ**

- 1. КУЗНЕЦОВ Володимир Миколайович** – кандидат фізико-математичних наук, науковий співробітник Інституту прикладної фізики НАН України
- 2. ТРОФИМЕНКО Яна Віталіївна** – молодший науковий співробітник Інституту прикладної фізики НАН України

**Реферат**

**2018**

**Мета** наукової роботи полягала у комплексному дослідженні впливу фізико-хімічних факторів (умови синтезу, температура відпалювання, додавання полімерної складової, наявність карбонатних заміщень у структурі апатиту, вплив магнітного поля різних конфігурацій без та з іонами магнію у вихідному розчині) на кристалічну структуру і мікроструктуру матеріалів на основі гідроксиapatиту та брушиту, що являють собою власне зазначені фосфати кальцію, композити на їх основі, а також покриття на титанових і магнієвих підкладках, отримані методом термодепозиції та хімічним осадженням; доступних фізичних методів деконтамінації біополімерів на основі хітозану та його похідних, зокрема автоклавування та радіаційна обробка, детально досліджено препарати хітозану в поєднанні з наночастинками металів.

**Основний зміст роботи.** У сучасних медицині та промисловості застосовують широкий спектр різноманітних кальцій-фосфатних матеріалів і композитів на їх основі, що висуває різні вимоги до характеристик кінцевого продукту. Проведені дослідження довели, що зміни кристалічної структури і мікроструктури фосфатів кальцію певним чином впливають на фізико-хімічні та механічні властивості отриманих препаратів. Вивчення та систематизація факторів, що приводять до таких змін, дозволять отримувати матеріали з необхідними характеристиками, що, безумовно, є на цей час актуальним питанням фізики твердого тіла.

Серед фосфатів кальцію найбільший інтерес становить гідроксиapatит (ГА), що є мінеральною складовою кісткової тканини скелета людини і тварин. Матеріал на основі ГА повинен мати підвищену біосумісність, яка може бути досягнута за допомогою відтворення в синтетичному апатиті структурних особливостей природного як за рахунок різного роду структурних заміщень, насамперед карбонатних, так і створенням композитів із додаванням полімерів, що відіграють роль еластичної матриці. Серед подібних матеріалів особливу увагу приділяють вивченню композитів хітозан/гідроксиapatит (Хт/ГА).

Хітозановий полімер має різноманітні біологічні властивості. Він

проявляє антибактеріальну та антигрибкову активність. Здатен стимулювати імунну систему через активацію макрофагів, фібробластів, системи комплементу, активацію міграції поліморфноядерних лейкоцитів. Хітозан використовується для виробництва гідрогелевих носіїв, пористих кісткових та хрящових імплантатів, імплантатів-носіїв остеоіндуктивних факторів. Перевагами даного полімеру є можливість формувати пори різного діаметра та виготовляти імплантати з різною консистенцією та формою. Разом з тим додавання апатитної складової дозволяє виготовляти імплантати з високими біомеханічними властивостями.

Крім того, для отримання ГА з оптимальними вихідними характеристиками, крім оцінювання цих впливів на його структуру, необхідно також визначити ступінь карбонатних заміщень та їх локалізацію. Для цього в даній роботі застосовано метод термопрограмованої екстракції газової проби з хроматографічною реєстрацією (ТЕХР) вуглекислого газу, що виділяється під час нагрівання зразка.

Одним з ефективних способів отримання матеріалів із заданими характеристиками є кристалізація фосфатів кальцію під впливом магнітного поля. Вплив магнітного поля певної напруженості та конфігурації приводить до змін у кристалічній структурі, субструктурі та мікроструктурі фосфатів кальцію, серед яких значний інтерес становить мінерал брушит (дикальцію фосфат дигідрат, ДКФД), який є менш стабільним і більш розчинним порівняно з ГА. Це обумовлює істотно меншу напруженість магнітного поля, що прикладається.

Магній є досить поширеним у кісткових тканинах скелета ссавців, а отже, біосумісним та розчинним за фізіологічних умов. Додавання іонів магнію при синтезі фосфатів кальцію негативно впливає на їх кристалічність. Одночасно з цим магній може застосовуватися для стабілізації деяких кальцій-фосфатних фаз, зокрема метастабільних (наприклад, брушиту). Однак такі дослідження проводилися без прикладених зовнішніх факторів, що можуть істотно впливати на кристалізацію матеріалів.

**Наукові результати.** Серед нових наукових результатів, що одержані в рамках роботи «Фізико-хімічні засади отримання композитних матеріалів на основі фосфатів кальцію і біоцидних полімерів для медицини», можна виділити наступні:

1. Уперше встановлено залежність ступеня кристалічності та мікроструктури апатитних покриттів, отриманих методом термодепозиції на титанових підкладках, від температури підкладки та часу осадження. Одержано залежності атомарного співвідношення кальцію до фосфору та маси покриття від температури, а також приросту маси покриття від часу синтезу. На основі зазначених залежностей встановлено оптимальні параметри отримання таких.

2. Установлено, що збільшення частки хітозану в композитах на основі апатиту приводить до збільшення кількості  $\beta$ -трикальційфосфату ( $\beta$ -ТКФ), що виділився після відпалювання. Це підтверджує наявність хімічної взаємодії між хітозаном і фосфатом кальцію в процесі кристалізації.

3. Вперше запропонована та апробована методика оцінки кількості карбонату та його локалізації в структурі апатиту за допомогою термопрограмованої екстракції газової проби з хроматографічною реєстрацією, що дозволило встановити види синтезу, які приводять до вміщення найбільшої кількості карбонату до структури гідроксиapatиту.

4. Установлено, що комплексні препарати із хітозану та наночастинок міді проявляють сильнішу протимікробну дію, ніж чисті гелі хітозану та іони міді. Використання в якості розчинника для хітозану молочної кислоти або оксалату дозволяє знизити МІК хітозану та наночастинок міді у два рази. Стафілококи є більш чутливими до дії комплексних препаратів із хітозану та наночастинок міді, порівняно із *E.coli* і *P.aeruginosae*.

5. Вперше для порошкових зразків було застосовано методику оцінки текстури методом Харріса для опису ефекту, подібного до наявності переважної орієнтації, що може бути викликаний нерівновісністю кристалітів брушиту. Застосування цієї методики показало, що на цей ефект істотно

впливає магнітне поле.

6. Установлені залежності параметрів кристалічної структури, субструктури і мікроструктури брушиту (середніх розмірів кристалітів, оцінки нерівності кристалітів, рівня мікрореформацій і розподілу відносної кількості частинок брушиту за розміром на одиницю площі) під час кристалізації в магнітному полі малої напруженості без та з іонами магнію у вихідному розчині, а також на магнієвих підкладках від тривалості дії магнітного поля та його конфігурації.

7. Вперше запропоновано якісну модель впливу зовнішнього магнітного поля на структуру та субструктуру брушиту під час його кристалізації у вигляді осаду, яка полягає у дії двох механізмів, пов'язаних із протонним трансфером та наявністю магнітної анізотропії по гранях кристалів.

Роботи виконані з акцентом як на емпіричні дослідження, так і на використання в клінічній практиці на рівні закордонних аналогічних досліджень.

**Практична значимість.** Одержані результати дозволяють оцінити вплив фізико-хімічних факторів на кристалічну структуру і мікроструктуру біоматеріалів на основі апатиту та брушиту: покриттів на титанових і магнієвих підкладках; осаду у водних розчинах; композитів із полімерною складовою. Зміни параметрів кристалічної структури та мікроструктури біоматеріалів приводять до зміни їх біомедичних і механічних властивостей. Систематизація якості та ступеня змін властивостей кристалічної структури фосфатів кальцію під впливом фізико-хімічних факторів сприяє створенню біопрепаратів із заданими параметрами: ступенем розчинності, механічною міцністю, додатковими властивостями та ступенем біоміметичності.

Детальне дослідження препаратів хітозану в поєднанні з наночастинками металів, вивчення їхніх фізико-хімічних властивостей та механізмів дії на бактеріальні клітини та вірусні частинки, дає можливість запропонувати найбільш прийнятні з точки зору безпечності та антибактеріальної дії полімерні покриття з антисептичними властивостями.

Керований вплив магнітного поля малої напруженості (тривалість дії, конфігурація магнітів) на кристалізацію брушиту дозволяє проводити контрольовані зміни кристалічної структури ДКФД простим та ефективним методом без використання дорогих надпровідних магнітів. Дуже важливим із точки зору практичного застосування є вивчення змін структури біоматеріалів на основі брушиту, отриманих з іонами магнію у вихідних розчинах та на магнієвих підкладках, оскільки магній наявний у кісткових тканинах скелета ссавців та широко використовується як матеріал для імплантатів. Наявність іонів магнію призводить до погіршення кристалічної структури фосфатів кальцію, а також може виявляти вплив, що стабілізує, на метастабільні фази.

Зазначені результати дозволять отримувати новітні біосумісні медичні препарати з широким спектром заданих властивостей, що можуть бути використані в хірургії, ортопедії та стоматології для лікування різного роду кісткових дефектів.

**Публікації.** В наукову працю «Фізико-хімічні засади отримання композитних матеріалів на основі фосфатів кальцію і біоцидних полімерів для медицини» входять 61 публікація, зокрема 28 статей у періодичних наукових журналах, з яких 19 – у фахових виданнях України, 9 – у зарубіжних профільних журналах, зокрема 22 – у виданнях, що індексуються наукометричною базою даних Scopus, та 33 тез доповідей. Загальна кількість цитувань публікацій складає 175 (згідно баз даних Scopus), *h* індекси: Кузнецова В.М. – 7, Трофименко Я.В. – 1, загальний *h*-індекс: 8.

Представлений цикл робіт являється **єдиним завершеним дослідженням.**

У науковій роботі були проведені комплексні дослідження впливу різних фізико-хімічних факторів на кристалічну структуру, субструктуру і мікроструктуру кальцій-фосфатних біоматеріалів у вигляді осаду, покриттів та композитів.

1. Для апатитних покриттів, отриманих методом термодепозиції на

титанових підкладках, одержані залежності атомарного співвідношення кальцію до фосфору і маси покриття від температури підкладки та приросту маси отриманого покриття від часу осадження.

2. Результати дослідження впливу способу додавання і кількості полімерної складової, а саме хітозану та альгінату, на кристалічну структуру і мікроструктуру біоматеріалів на основі апатиту дозволили встановити таке:

- додавання полімерної складової під час синтезу приводить до зменшення кристалічності апатиту незалежно від методів отримання таких композитів, що виражається у зменшенні інтенсивності та роздільності рентгенодифракційних піків;

- одержано залежність площі суперпозиції основних рентгенодифракційних піків гідроксиapatиту від концентрації хітозану в композитах Хт/ГА, отриманих хімічним осадженням, що має обернено пропорційний характер;

- збільшення частки хітозану в композитах приводить до збільшення кількості  $\beta$ -ТКФ, який виділився після відпалювання, що свідчить про наявність хімічної взаємодії між хітозаном та апатитом.

3. Для оцінки ступеня та локалізації карбонатних заміщень у структурі апатиту різних варіантів синтезу була вперше запропонована та апробована методика термопрограмованої екстракції газової проби з хроматографічною реєстрацією, яка дозволяє реєструвати кількість вуглекислого газу, що виділяється під час нагрівання проби. Було показано, що здебільшого дані ТЕРХ добре корелюють з результатами ІЧ-спектроскопії та РД.

4. Незважаючи на наявність великої кількості матеріалів для остеопластики, більшість з них не відповідають характеристикам «ідеального» імплантата через низку фізичних, хімічних чи фармакоекономічних показників. Композитні матеріали на основі хітозану та нанорозмірного апатиту кальцію є перспективними кандидатами для використання в клінічній практиці.

- для використання в медицині полімери повинні бути стерильними. Автоклавування досить економічно вигідний, масштабний і надійний метод

стерилізації біоматеріалів на основі хітозану та його сполук. Але обробка паром під тиском змінює фізико-хімічні характеристики досліджуваного матеріалу, що унеможлиблює прояв біополімером антибактеріальних властивостей, винятком є режим – тидалізація;

– найбільш ефективними виявились комплексні препарати хітозану, отриманого із використанням молочної кислоти, та оксалату хітозану у поєднанні із наночастинками міді. Відомо, що позитивно заряджені групи хітозану, приєднуючись до негативно зарядженої поверхні мікробної клітини, порушують її метаболізм, а іони міді викликають порушення бар'єрної функції клітинної мембрани. Можна припустити, що поєднання цих двох ефектів призводить до взаємного підсилення антибактеріальної дії цих речовин та дозволяє знижувати їх МІК.

5. Проведене комплексне дослідження впливу постійного магнітного поля малої напруженості різних конфігурацій на кристалічну структуру, субструктуру і мікроструктуру брушиту під час кристалізації, отриманого як у вигляді осаду з водного розчину без та з іонами магнію, так і на магнієвих підкладах. Установлено такі закономірності:

– в усіх зразках брушиту, навіть синтезованих без магнітного поля, наявний ефект, подібний до переважної орієнтації, що може бути спричинений нерівновісністю кристалітів, що утворилися, на який істотно впливає магнітне поле (у випадку зразків, отриманих під впливом магнітного поля, зміна індексу текстури становить  $\pm 100\%$  стосовно зразків, отриманих без магнітного поля);

– у випадку зразків, отриманих без іонів магнію у вихідному розчині, прикладене магнітне поле незалежно від конфігурації або тривалості дії приводить до зменшення середніх розмірів кристалітів у напрямках, перпендикулярних до переважної більшості кристалографічних площин, що реєструються, у середньому на 20 %;

– для зразків, отриманих з іонами магнію у вихідному розчині, вплив магнітного поля приводить для поздовжньої конфігурації до збільшення



у середньому на 4 %, для поперечної – до зменшення у середньому на 11 % середніх розмірів кристалітів порівняно зі зразками, отриманими без магнітного поля;

– додавання іонів магнію до вихідного розчину під час кристалізації сприяє стабілізації структури брушиту, про що свідчить середнє збільшення середніх розмірів кристалітів на 11 % для зразків, синтезованих з іонами магнію, порівняно зі зразками, отриманими без магнію;

– збільшення тривалості впливу іонів магнію призводить до середнього зменшення середніх розмірів кристалітів ДКФД на 17 %, що обумовлено більш сильним негативним ефектом на кристалічну структуру брушиту порівняно з позитивним від стабілізації метастабільної фази іонами магнію та процесу старіння;

– під впливом магнітного поля відбувається зміна розподілу відносної кількості частинок брушиту за розміром на одиницю площі. Додавання іонів магнію призводить до зменшення розміру частинок під дією магнітного поля;

– для покриттів, отриманих на магнієвих підкладках, дія магнітного поля приводить до середнього збільшення середніх розмірів кристалітів залежно від виду синтезу з 22 до 88 %, а також до середнього зменшення рівня мікродеформацій на 66 % порівняно із зразками, отриманими за відсутності магнітного поля.

Претенденти:

н.с. ІПФ НАН України

В.М. Кузнецов

м.н.с. ІПФ НАН України

Я.В. Трофименко

Учений секретар ІПФ НАН України

к.ф.-м.н.

О.І. Ворошило