

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова
Российской академии наук

На правах рукописи

Хайрутдинова Динара Рустамовна

**ФОРМИРОВАНИЕ СТРУКТУРЫ, ФАЗОВОГО СОСТАВА И
СВОЙСТВ БИОМАТЕРИАЛОВ В СИСТЕМЕ ТРИКАЛЬЦИЙФОСФАТ –
СУЛЬФАТ КАЛЬЦИЯ**

Специальность 05.17.11 – Технология силикатных и тугоплавких
неметаллических материалов

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель:

к.т.н. Смирнов Валерий Вячеславович

Москва 2020

Оглавление

Введение.....	6
1 Обзор литературы.....	13
1.1 Фосфаты кальция как основа цементных материалов для реконструкции костной ткани	13
1.2 Основные типы кальций – фосфатных цементных материалов	17
1.2.1 Апатитовые цементы	17
1.2.2 Брушитовые цементы	19
1.3 Кальций – сульфатные цементы.....	20
1.3.1 Химические и технологические свойства материалов на основе СК... 21	
1.3.2 Биологические исследования применения костных имплантатов на основе СК.....	24
1.4 Композиционные материалы, содержащие α - и β -трикальцийфосфат и сульфат кальция	29
1.5 Влияние сульфата кальция на свойства α - и β -трикальцийфосфатных материалов	31
1.6 Выводы на основании обзора литературы	38
2 Материалы исследования	39
2.1 Высокотемпературный α -ТКФ	39
2.2 Композиционные порошки системы АКФ – СКП и α -ТКФ – СКП, полученные механическим способом	40
2.3 Сульфат – замещенный β -трикальцийфосфат.....	43
2.4 Гранулы из сульфата кальция.....	44
2.4.1 Синтез гранул методом несмешивающихся жидкостей.....	44
2.4.2 Синтез гранул механическим методом.....	46
2.5 Цементная жидкость.....	46
2.6 Методы исследования.....	46

2.6.1 Рентгенографические исследования	46
2.6.2 Инфракрасная (ИК) спектроскопия образцов.....	47
2.6.3 Растровая электронная микроскопия	47
2.6.4 Механические испытания	48
2.6.5 Время схватывания	48
2.6.6 Исследование растворимости	49
2.6.7 Определение пористости.....	49
2.6.8 Испытания in vitro.....	50
2.6.9 Испытания in vivo	52
3 Композиционные цементные материалы на основе системы α - трикальцийфосфат – сульфат кальция, полученные с помощью прямого механического смешения	53
3.1 Исследование влияния состава цементной жидкости и температуры термообработки на свойства цементных материалов системы фосфат кальция – сульфат кальция	53
3.1.1 Цементные материалы системы АКФ – СК, содержащие дистиллированную воду (серия 1)	54
3.1.2 Цементные материалы системы АКФ – СКП, содержащие раствор соли фосфата магния (серия 2)	57
3.1.3 Цементные материалы системы α -ТКФ – СКП, содержащие раствор соли фосфата магния (серия 3)	60
3.2 Исследование влияния порообразующих добавок на свойства цементных материалов системы α -ТКФ – СКП.....	63
3.2.1 Исследования фазового состава, микроструктуры и механической прочности в зависимости от состава пористых цементных материалов	63

3.2.2	Зависимость биодegradации цементных материалов в изотоническом растворе от их состава	68
4	Замещенные β -трикальцийфосфатные материалы	71
4.1	Порошковые β -трикальцийфосфатные материалы, содержащие сульфат - анионы	72
4.1.1	Зависимость микроструктуры и фазового состава от температуры термообработки β -трикальцийфосфатных порошковых материалов, содержащие сульфат - анионы.....	72
4.1.2	Исследование ИК – спектроскопии в зависимости от температуры термообработки	77
4.2	β -Трикальцийфосфатные цементные материалы, содержащие сульфат – анионы	78
4.2.1	Влияние степени замещения на фазовый состав и время схватывания цементных материалов	79
4.2.2	Влияние фазового состава на механическую прочность и микроструктуру цементных материалов	80
5	α -Трикальцийфосфатные цементные материалы, содержащие гранулы из сульфата кальция.....	82
5.1	Исследование микроструктуры гранул СК	82
5.2	Исследование влияния размера гранул на время схватывания, механическую прочность и микроструктуру цементных материалов	83
5.3	Зависимость фазового состава от количества и размера гранул.....	87
5.4	Формирование микроструктуры при деградации цементных материалов	88
6.	Биологические испытания	92
6.1	Испытания <i>in vitro</i> цементных материалов, содержащих гранулы сульфата кальция	92
6.2	Испытания <i>in vitro</i> цементных материалов на основе β -ТКФ, содержащих сульфат - анионы.....	96
6.3	Испытания <i>in vitro</i> порошковых материалов на основе β -ТКФ, содержащих сульфат - анионы	97

6.5 Испытания <i>in vivo</i>	101
Выводы	107
Список сокращений	121

Введение

Современные концепции разработки материалов, предназначенных для замещения и восстановления поврежденных костных тканей, основаны, главным образом, на использовании фосфатов кальция (ФК), близких по составу к минеральной составляющей костной ткани. Материалы из ФК используют в виде керамических изделий, покрытий на металлических имплантатах или в виде цементных паст [1-8]. В этом спектре кальций – фосфатные цементы (КФЦ) обладают широким рядом преимуществ. С технологической точки зрения, КФЦ способны заполнять костные дефекты практически любой конфигурации с плотным прилеганием к костной ткани; обеспечивают возможность формирования имплантата при низких температурах, в том числе физиологических, т.е. *in situ* в месте дефекта, непосредственно в процессе хирургической операции; способствуют к переходу к малоинвазивным процедурам при возможности введения в инъекционной форме непосредственно в зону дефекта [5-7]. КФЦ получают смешением кальций – фосфатных порошков с цементной жидкостью, в результате чего получают пластичную массу (цементный раствор), постепенно загустевающую и превращающуюся в прочное камневидное тело в процессах схватывания и твердения.

Основными задачами разработки материалов цементных конструкций для применения в остеопластической хирургии являются получение резорбируемой кальций – фосфатной фазы с прочностью, позволяющей имплантату выдерживать физиологические нагрузки, а также наличие бимодальной пористой микроструктуры для обеспечения возможности неоваскуляризации и последующего образования новой костной ткани. В настоящее время на рынке присутствуют преимущественно КФЦ, у которых, в качестве основных биоактивных конечных фаз материала выступают: гидроксипатит (ГА), обладающий повышенной прочностью, и брушит, резорбируемый в организме [7–9]. В качестве материала цементной композиции весьма перспективен α -трикальцийфосфат (α -ТКФ), благодаря повышенным прочностным

характеристикам, по сравнению с брушитом и большей скоростью растворения, по сравнению с ГА [10].

Тенденции в решении указанных задач включают в себя создание композиционных цементных материалов с требуемыми для конкретных практических применений характеристиками, что является актуальной задачей. С одной стороны, введение армирующих волокон или частиц в состав резорбируемой непрочной цементной матрицы позволяет повысить прочность в 2 – 3 раза [11]. Эффект упрочнения зависит от состава и прочности армирующего компонента, его размера и количества при условии равномерного распределения в матрице [12 - 17]. С другой стороны, введение в менее резорбируемую фазу более растворимого соединения кальция, в виде плотных частиц или пористых гранул, позволит увеличить скорость резорбции имплантата [18]. Поиск такого компонента является актуальной проблемой в области создания цементных материалов с регулируемыми свойствами. В настоящей работе мы рассматриваем в качестве такого компонента биорезорбируемую фазу двухводного сульфата кальция ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Известно, что полуводный сульфат кальция ($\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$) схватывается при смешивании с водой, что изменяет кинетику схватывания и твердения всей системы, следовательно, и прочность цементного камня. Наличие гипса, как водорастворимой фазы, увеличит скорость резорбции имплантата. Варьирование формы резорбируемого компонента (порошок, плотные частицы или пористые гранулы) создаст различные условия образования пор, будет влиять на их форму и размеры. Такой подход формирования композиционных структур на основе цементов, содержащих частицы разной формы сульфата кальция (порошок или гранулы), обладающих повышенной скоростью биорезорбции, является новым, ранее не изученным.

Целью работы является разработка и исследование новых композиционных биоматериалов на основе системы α -ТКФ – сульфат кальция

(СК) с регулируемым составом, микроструктурой и свойствами, предназначенных для регенерации костной ткани.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. изучение формирования микроструктуры и свойств цементных композитов системы α -ТКФ – СКП, полученных прямым механическим смешением порошковых компонентов в широком диапазоне их соотношения;

2. создание и изучение цементных материалов, получаемых в результате анионного замещения в исходном порошке β -ТКФ фосфат – групп на сульфат – группы в широком диапазоне составов; исследование условий формирования цементных композиций на основе сульфат – замещенного β -ТКФ в широком диапазоне концентраций допанта;

3. получение и исследование композиционных цементов, содержащих гипсовые гранулы, обладающих селективной растворимостью фазовых составляющих и образующих поры *in vivo* в результате растворения гранул в жидкостях организма; установление эффекта введения гранул сульфата кальция на структурные характеристики α -ТКФ цементов и исследование процессов растворения композитов;

4. исследование биологических свойств полученных композиционных материалов *in vitro* и *in vivo*.

Научная новизна полученных результатов заключается в следующем:

1. выявлено влияние соотношения концентраций компонентов системы α -ТКФ – СКП на фазовый состав, микроструктуру, прочность при сжатии, растворимость и биологические (цитотоксичность, биосовместимость в экспериментах *in vivo*) свойства цементов, получаемых на их основе;
2. впервые установлены особенности формирования поровой микроструктуры цементных материалов и их свойств (фазовый состав, растворимость, время

схватывания, прочность) на основе системы α -ТКФ – СКП, содержащих добавки карбонатов калия и натрия;

3. впервые проведён смешанно – анионный синтез β -ТКФ, конечным продуктом которого являются соединения $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_{(2-0,02x)}(\text{SO}_4)_{0,03x}$ (при содержании сульфат – групп: $x=1, 5, 10, 20$), выявлено, что для β -ТКФ – замещенных материалов при температуре термообработки 900°C введение сульфат – групп в большом количестве (20 мол.% замещения) приводит к образованию апатитовой структуры. Такая же тенденция наблюдается при повышении температуры термической обработки до 1200°C , где для материалов с замещением 10 и 20 мол.% основной фазой является апатит, количество которого возрастает с увеличением содержания замещающего аниона;
4. исследовано влияние количества гипсовых гранул в количестве 25 – 50 масс.%, вводимых в цементы на основе α -ТКФ, на микроструктуру и свойства цементных материалов; впервые установлены особенности эволюции микроструктуры, фазового и химического состава композиционных цементов в процессе растворения.

Практическая значимость работы состоит в следующем:

1. внесён вклад в технологию цементных материалов системы α -ТКФ – СК. Изготовлена лабораторная опытная партия цементов, доклинические испытания которых в медицинском учреждении продемонстрировало высокую биологическую совместимость и перспективность применения в клинической практике, в частности, для восстановления костной ткани постоперационных онкологических пациентов;
2. разработаны костные биоцементы на основе α -ТКФ, армированные гранулами СК. Использование таких цементов непосредственно *in vivo* в организме вследствие растворения гранул СК позволит создать поры в заданном количестве и заданного размера, что является необходимым для восстановления костной ткани.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Результаты исследования формирования фазового состава, микроструктуры, механической прочности, времени схватывания, растворимости плотных и пористых композиционных материалов на основе системы α -ТКФ – СКП, полученных прямым механическим смешением в широком диапазоне составов.
2. Выявленные особенности формирования фазового состава сульфат–замещенного β -ТКФ, в зависимости от степени замещения фосфат – групп на сульфат – группы и температуры термической обработки.
3. Формирования фазового состава, микроструктуры, механической прочности, времени схватывания цементных материалов на основе сульфат – замещенного β -ТКФ в зависимости от степени замещения.
4. Взаимосвязь между физико – химическими свойствами (механическая прочность, время схватывания) цементов, содержащих гранулы СК, и количества вводимых гранул, а также эволюцию формирования микроструктуры в процессе деградации цементных материалов в жидкости, моделирующей внеклеточную жидкость организма.
5. Результаты исследования влияния составов и свойств полученных цементных материалов на их биологические свойства (цитотоксичность и биосовместимость).

Апробация результатов работы

Материалы диссертационной работы были представлены на следующих конференциях: Всероссийское совещание «Биоматериалы в медицине», Москва, 2015; XVII Международная научно – практическая конференция студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» имени профессора Л.П. Кулёва, Томск, 2016; Молодежный научный форум с международным участием «Новые материалы», Сочи, 2016; Российская ежегодная конференция молодых научных сотрудников и аспирантов «Физико –

химия и технология неорганических материалов», Москва, 2016, 2017, 2018, 2019; VI Всероссийская конференция по наноматериалам с элементами научной школы для молодежи «Нано 2016», Москва, 2016; Междисциплинарный молодежный научный форум с международным участием «Новые материалы», Москва, 2017, 2018; VI научной молодежной школы – конференции: Химия, физика, биология: пути интеграции, Москва, 2018; Юбилейные Ломоносовские чтения, Москва, 2019; IX конференция молодых ученых по общей и неорганической химии, Москва, 2019.

Работа выполнена в соответствии с планом НИР Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской академии наук.

Представленные в работе результаты являются частью исследований, проведенных при финансовой поддержке гранта РФФИ № 15 – 03 – 01729 «Создание новых костных цементов на основе фосфатов и сульфатов кальция с селективной резорбируемостью для инженерии костной ткани: влияние физиологически важных катионных замещений на формирование микроструктуры и свойств», гранта РФФИ 18 – 03 – 00429 «Создание кальцийфосфатных композиционных костных цементов, содержащих гранулы сульфата кальция: влияние состава, размера, пористости гранул на фазовый состав, микроструктуру, механические и биологические свойства цементов», гранта РФФИ № 16 – 13 – 00123 «Композиционные биокерамические конструкции на основе катионных и анионных замещенных форм фосфатов кальция с заданными свойствами для восстановления костных тканей» и Соглашения № 11655ГУ/2017 для финансирования НИР по теме «Разработка кальцийфосфатных костных цементов на основе системы дикальцийфосфат дигидрат – сульфат кальция» победителя конкурса «Участник молодежного научно– инновационного конкурса» («УМНИК»).

Личный вклад автора и научные публикации. Автор принимала непосредственное участие в разработке методик и проведении экспериментов, в

обработке полученных экспериментальных данных, обсуждении результатов и их оформлении в виде научных публикаций и отчетов.

Автор самостоятельно проводила синтезы исходных порошковых компонентов и цементных материалов.

Автор самостоятельно проводила исследования микроструктуры на растровом электронном микроскопе Tescan VEGA II (Чехия) и энергодисперсионный анализ на установке INCA Energy 300 (Великобритания), а также ИК– Фурье спектроскопию на установке Nikolet Avatar 330 (Великобритания).

По результатам проведенных научных исследований опубликовано 20 работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК, рецензируемых в базах РИНЦ, Web of Science и Scopus, 13 тезисов докладов и получен 1 патент РФ на изобретение.

Достоверность полученных результатов работы

Все результаты работы получены и исследованы с применением современных методов и приборов, проведено сопоставление с данными мировых исследований в области создания материалов для восстановления и регенерации костной ткани с применением статистических методов обработки результатов.

Автор выражает благодарность научному руководителю к.т.н. Смирнову Валерию Вячеславовичу за руководство и неоценимую помощь при постановке задач, проведении эксперимента и обсуждению результатов; чл.-корр., проф., заслуженному деятелю науки РФ Баринину Сергею Мироновичу; всем сотрудникам лаборатории №20, особенно к.т.н. Гольдберг М.А. и к.т.н. Петраковой Н.В.; за проведение рентгенофазового анализа Смирнову С.В.; за электронно – микроскопические исследования Антоновой О.С.; за постановку и проведение биологических испытаний *in vitro* и *in vivo* сотрудникам ФГУ Московского научно-исследовательского онкологического института им П.А.

Герцена проф. д.б.н. Сергеевой Н.С., к.б.н. Свиридовой И.К., к.б.н. Кирсановой В.А., Ахмедовой С.А.

1 Обзор литературы

1.1 Фосфаты кальция как основа цементных материалов для реконструкции костной ткани

Многие современные концепции разработки материалов, предназначенных для регенерации и восстановления поврежденных участков костных тканей, основаны на использовании ФК, как наиболее близких по составу к минеральной составляющей биологической костной ткани. Материалы из ФК создают в виде керамики, покрытий на металлических имплантатах или в форме цементных паст. По сравнению с керамическими материалами, КФЦ обладают рядом преимуществ: во-первых, способностью заполнять дефекты сложной конфигурации и объема, во-вторых, возможностью их введения непосредственно в зону дефекта с помощью инъекций, в-третьих, возможностью фиксации костной ткани. Но помимо проявленных цементными материалами полезных свойств, к ним еще предъявляется и ряд требований, необходимых для использования в регенеративно-восстановительной медицине:

1. Прочность цементов должна быть достаточной, чтобы конструкция выдерживала физиологические нагрузки при имплантации. Особенно это необходимо в первые сутки после имплантирования для поддержания формы и структуры имплантата. В дальнейшем после имплантации начинает происходить формирование костной ткани по периферии и внутри цементной конструкции, что приводит к ее упрочнению.

2. Наличие необходимого количества и размера пор для роста новой костной ткани (роста сосудов и проникновения остеобразующих клеток, жидкостей организма) по всему объёму имплантата или нанесённого на

покрытия [10].

3. Малый экзотермический эффект во время синтеза цементов, а также нейтральный pH. Особенно это важно при совместном использовании цемента с лекарственными средствами, т.к. во время введения препарата в цементную матрицу может произойти его деструкция.

4. Оптимальная скорость биорезорбции, необходимая для образования порового пространства *in vivo* в цементе, при этом не подвергающая несвоевременному разрушению цементной матрицы или отторжению имплантата.

5. Приемлемое время схватывания, позволяющее провести синтез цементного материала, его формование и помещение в зону дефекта.

Для решения поставленных задач в начале 1980 – х годов были проведены исследования КФЦ для регенеративно - восстановительной медицины [19-23], которые показали, что КФЦ могут найти применение для обновления костной ткани. Основные фосфаты кальция, используемые в качестве цементных порошковых материалов приведены в таблице 1 [24, 25].

Таблица 1 – Основные ортофосфаты кальция

Ca/P, молярное отношение	Соединения и их сокращения	Химическая формула	Растворимость в 25 °С, $-\log(K_s)$	Растворимость в 25 °С, г/литр	pH в водном растворе при 25°С
0.5	Монокальциевый фосфат одноводный (МКФМ)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1.14	~18	0.0–2.0
0.5	Моновальциевый фосфат (МКФ)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)$	1.14	~17	-
1.0	Дикальцийфосфат двухводный (ДКФД), брушит	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6.59	~0.088	2.0–6.0
1.0	Дикальцийфосфат (ДКФ), монетит	CaHPO_4	6.90	~0.048	-
1.33	Октокальцийфосфат (ОКФ)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	96.6	~0.0081	5.5–7.0
1.5	α -трикальцийфосфат (α -ТКФ)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	25.5	~0.0025	-
1.5	β -трикальцийфосфат (β -ТКФ), витлокит	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	28.9	~0.0005	-
1.5	Аморфный фосфат кальция (АКФ)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, $n = 3\text{т} - 4.5;$	-	-	~5–12

1.5– 1.67	«Осажденный» апатит (ОГА)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	~85	~0.0094	6.5–9.5
1.67	Гидроксиапатит (ГА), апатит	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	116.8	~0.0003	9.5–12
1.67	Фторапатит (ФА)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	120.0	~0.0002	7–12
1.67	Оксиапатит (ОА)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$	~69	~0.087	-
2.0	Тетракальцийфосфат (ТеКФ), хилген- стокит	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	38–44	~0.0007	-

Большинство ранних работ по цементам из фосфата кальция было сосредоточено на оптимизации и применении апатитобразующих материалов. Первый КФЦ состоял из смеси ТеКФ и ДКФ, которые смешивали с водой при соотношении порошок: жидкость 4:1. Паста затвердевала примерно через 20 минут и образовался ОГА [26]. Эти высоковязкие и плохо инжестируемые пасты можно формовать и использовать, например, при черепно-лицевой хирургии. Более поздние исследования выявили некоторые различия между препаратами ТеКФ + ДКФ и ТеКФ + ДКФД. А именно, из-за более высокой растворимости ДКФД (рисунок 1) смеси ТеКФ + ДКФД схватываются быстрее, чем ТеКФ + ДКФ. Кроме того, инжестируемость ТеКФ + ДКФД-препаратов лучше. К 1990-му году было выявлено около 15 различных бинарных комбинаций ортофосфатов кальция, позволяющих получить цементы КФЦ при смешивании с водой или водными растворами. Список этих составов представлен в литературе, из которых можно выделить две основные группы цементов – первая на основе ГА и вторая на основе ДКФД [27-29].

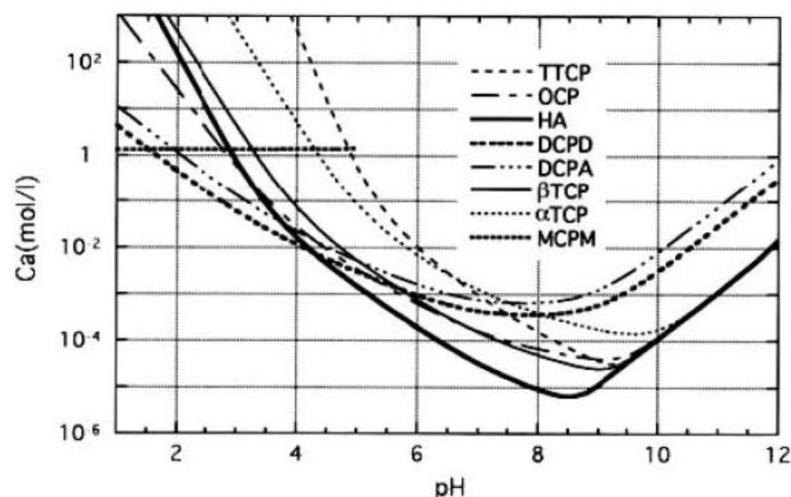
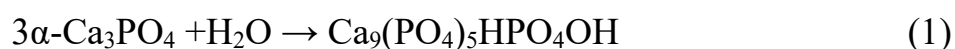


Рисунок 1 – Фазовые диаграммы растворимости ортофосфатов кальция, где ТТСП – тетракальцийфосфат, ОСП – октокальцийфосфат, НА – гидроксиапатит, DCPD – брушит, DCPA – монетит, βТСП – β-трикальцийфосфат, αТСП – α-трикальцийфосфат, МСРМ - монокальциевый фосфат одноводный [25]

1.2 Основные типы кальций – фосфатных цементных материалов

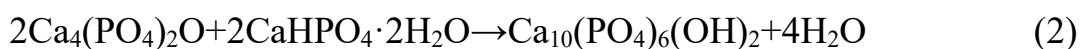
1.2.1 Апатитовые цементы

ГА является основой костной ткани, определяющей ее прочность. По этой причине учеными уделяется особое внимание способам его синтеза [30]. Синтетический ГА, в отличие от брушитовых цементов, не требует использования кислых значений pH. КФЦ на основе ГА можно получить в результате гидролиза α-ТКФ по следующей реакции [31]:



В результате образуется ОГА. Во время гидролиза происходит поглощение порошком α-ТКФ воды и затем схватывание цементной массы.

Поглощение воды в случае уравнения 1 может повысить прочность материалов по сравнению с тем, что демонстрируют негидравлические составы цемента, показанные в уравнении 2:



В составе цемента ТеКФ/ДКФД вода растворяла исходные компоненты до их перекристаллизации с образованием цементного камня. Таким образом, вода в составе цементного камня значительно влияет на пористость и, следовательно, серьезно ухудшает механические характеристики отверженного продукта [32]. Минимизация избыточной воды при образовании рабочей цементной пасты является одним из методов для повышения прочности этих материалов. Наибольшая прочность при сжатии была достигнута превышающая показатели, обычно демонстрируемые кортикальной костью (более 200 МПа) [33]. Это было достигнуто в результате уплотнения материалов при помощи добавки цитрата натрия.

Апатитовые КФЦ также получают путем кристаллизации аморфных кальций – фосфатов (АКФ). У этих материалов в процессе схватывания и твердения не наблюдается экзотермический эффект или локальные флуктуации рН. Это снижает вероятность отрицательно биологического ответа. Аморфные фосфаты кальция могут быть образованы методом химического осаждения, либо методом механоактивации солей фосфата кальция. Полученные АКФ имеют высокую скорость растворения/перекристаллизации при погружении в водную среду [34].

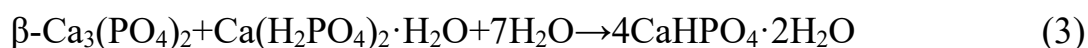
Также на основе ГА были созданы различные модифицированные цементы, например, катионом стронция, которые можно использовать для доставки лекарственных средств [35].

Основным недостатком апатитовых КФЦ является их низкая растворимость в физиологических условиях, что снижает скорость регенерации костной ткани. Длительная биодеградация материала может приводить к

отторжению имплантата. Поскольку одним из требований к материалам для регенеративной медицины является оптимальная скорость биорезорбции, то появилась необходимость поиска альтернативных КФЦ, например, брушитовых цементов.

1.2.2 Брушитовые цементы

Составы на основе брушита или монетита характеризуются большей скоростью растворения в организме по сравнению с другими ортофосфатами, такими как ГА или ФА. Такие материалы требуют более кислых условий проведения реакций получения цементной композиции. Большинство составов из кислых цементов затвердевает после взаимодействия солей фосфата кальция с кислой солью фосфата кальция (3) или с водой и фосфорной кислотой (4):



В результате процессов, описанных в уравнениях реакций (3) и (4), происходит схватывание и твердение цемента.

В последующих работах исследовали добавки цемента в виде солей: цитратов, сульфатов и на основе органических кислот. Эти исследования проводились для того, чтобы получить цементы с приемлемым временем схватывания [36]. В отсутствие таких ингибиторов, схватывание происходит слишком быстро, что препятствует их практическому использованию [37].

Как и в случае апатитовых цементов, брушитовые цементы модифицировались с целью повышения прочности, возможности доставки лекарств и повышения скорости резорбции. Известно, что несмотря на большую растворимость в физиологических условиях брушитовых КФЦ по сравнению с

апатитовыми, цементы на основе брушита проявляют непредсказуемую скорость резорбции от почти полной резорбции до долгосрочной стабильности. Снижение скорости резорбции напрямую связано с превращением брушита в апатит при физиологических условиях. Было показано, что на эту конверсию сильно влияет исходный состав цемента, состав среды, скорость обновления среды, объем среды и объем цемента [37, 38]. Введение магнийсодержащей добавки ингибировало эту реакцию и способствовало сохранению высокой скорости резорбции [39, 40]. В других работах было продемонстрировано, что, если брушит превращается в монетит, то переход в апатит происходит медленнее, что также препятствует долгосрочной стабильности *in vivo*.

Цементы также можно использовать в виде паст, применимых для 3D – печати [41]. Этот метод, хотя не применялся широко в клинической практике, позволил выявить новые методы для увеличения роста кровеносных сосудов в затвердевших блоках цемента (путем модификации ионами меди) [33].

Несмотря на высокие свойства растворимости брушитовых цементов, из-за их низкого уровня кислотности, в настоящее время много внимания уделяется биоматериалам на основе α -ТКФ [42]. Показано, что материалы на основе α -ТКФ имеют высокую начальную скорость растворения в течение первых суток, а затем процесс растворения замедляется и переходит в экспоненциальный режим, а далее — в стационарный ввиду достижения состояния насыщения раствора [43]. Для достижения оптимальной скорости биорезорбции α -ТКФ цементов можно вводить в материал дополнительный компонент, имеющий более высокую растворимость, например, сульфат кальция [44, 45].

1.3 Кальций – сульфатные цементы

СК давно используется в качестве ортопедического биоматериала. Впервые гипс был упомянут в 1961 году Л.Ф. Пельтье как материал,

используемый для лечения дефектов травматического происхождения или при заболевании туберкулезом [46].

Он считается безопасным для обработки и хранения, а также дешевым. Производится со степенью чистоты, необходимой для медицинского применения, и может быть использован в качестве компонентов цемента или в виде предварительно установленных гранул.

1.3.1 Химические и технологические свойства материалов на основе СК

Сульфат кальция представлен в различных формах, приведенных в таблице 2.

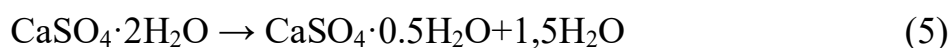
Таблица 2 – Формы сульфата кальция

Молекулярная формула	Молекулярная масса г/моль ⁻¹	Формы / этапы	Названия
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	172,17	Не определено	Дигидрат сульфата кальция Гипс Сырой гипс Затвердевший гипс
$\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$	145,14	α	Полугидрат сульфата кальция Гипс Альфа Альфа-форма Альфа-полугидрат
		β	Бета Бета-форма Бета-гипс Бета-полугидрат сульфата кальция

CaSO_4	136,14	Ангидрат III Этапы: Бета-ангидрит III Бета-ангидрит III' Альфа-ангидрит III Ангидрат II	Ангидрит сульфата кальция
-----------------	--------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------

Гипс имеет 3 основные формы: полностью гидратированный сульфат кальция $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (гипс), частично гидратированный сульфат кальция $\text{CaSO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ (полугидрат) и полностью безводный сульфат кальция CaSO_4 (ангидрат). При нагревании полностью гидратированного сульфата кальция он склонен легко терять присоединенные молекулы воды. Эта потеря воды может привести к образованию полугидрата или ангидрита в соответствии со следующими схемами:

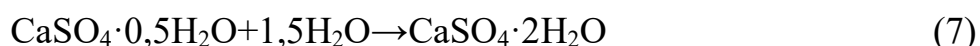
нагрев



нагрев



Добавление воды регидратирует безводный СК, чтобы получить полностью гидратированный СК по следующим реакциям:



Добавление воды в безводную форму СК быстро приводит к тому, что раствор становится перенасыщенным $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. При достижении точки насыщения происходит рост кристаллов с последующим их выпадением в осадок. Цикл растворения и осаждения повторяется многократно, в результате чего получается твердый материал, состоящий из гидратированного СК [47]. Время схватывания материала относительно мало. В работе [48] было достигнуто понимание механизма гидратации СК. Для получения цементной пасты с работоспособной консистенцией, добавляется больше воды, чем молярные эквиваленты, предложенные уравнениями гидратации [49]. Чем меньше отношение порошка к жидкости, тем больше вероятность получения непрочного цемента. Избыточный объем свободной воды приводит к повышению пористости схватившегося цемента. Пористость имеет отрицательное влияние на механические характеристики цемента [50]. Таким образом, увеличение соотношения порошка к жидкости может увеличить прочность цемента.

Две формы полугидрата, альфа- и бета-, редко дифференцируют в литературе СК исследований. Разницу между альфа- и бета – полугидратами нельзя недооценивать. Альфа – полугидратный кристалл описывается как структурно хорошо сформированный и более крупный, чем бета – полугидрат. Альфа - полугидрат также производит гораздо более прочный цемент по сравнению с кристаллами бета – полугидрата, которые являются чешуйчатыми и обычно менее структурированными [50, 51].

Скорость разложения гипса может различаться в зависимости от модификации используемого полугидрата [51]. Различные пути дегидратации гипса могут давать полугидраты [52]. Синтез бета – полугидрата достигается путем нагревания гипса до температуры от 45 до 200 °С в вакууме или на сухом воздухе.

Чтобы получить альфа – полугидрат, гипс должен быть нагрет до температуры выше 45°С в кислом или солевом растворе. Альтернативно,

процесс может быть достигнут в воде при 97,2 °С под давлением. Тщательный дальнейший нагрев полученных полугидратов при 50 °С в условиях вакуума приводит к образованию соответствующих альфа – и бета – ангидратов. Другой способ заключался в добавлении $\text{Ca}(\text{OH})_2$ в раствор CaCl_2 , обработанного серной и янтарной кислотами.

В работе [53] синтезировали СК – полугидраты с изменяемой морфологией кристаллов путем введения модификаторов: MgCl_2 , цитрата натрия и додецилбензолсульфоната натрия во время обезвоживания гипса.

1.3.2 Биологические исследования применения костных имплантатов на основе СК

С момента своего первого использования *in vivo* в 1892 году Дрессманом для лечения туберкулезного остеомиелита, СК был использован для заполнения дефектов костей [54]. В 1950-х годах Пельтье и др. [55] продемонстрировали использование СК для восстановления больших дефектов костей, в том числе голени собак. Эта работа показала, что СК частично или полностью резорбируется без реакции отторжения и хорошо переносится окружающими тканями *in vivo*. В работе [56] использовали СК для заполнения полостей, оставшихся от удаления костных кист. Сообщалось о полостях пациентов, заполненные гранулами СК, которые были резорбированы и заменены новой костью. При этом побочные эффекты были минимальны.

В работе [57] показано, что СК, применяемый в виде пасты или гранул, поддерживает новое образование кости. Однако полное заполнение дефектов кроличьей большеберцовой кости не наблюдалось, и остаточный СК оставался после 3 недель. Остаточный СК может либо продолжать поддерживать остеокондуктивный каркас, либо препятствовать дальнейшему формированию костей путем избыточного растворения [58]. Введение СК– пасты значительно улучшало свойства других материалов, содержащих остеокондуктивные

скеффолды, таких как ProOsteon 200R (гидроксиапатит и карбонат кальция). В то время как СК быстро рассасывается, ProOsteon 200R, как было показано, обеспечивает остеокондуктивный каркас в течение как минимум года [57].

Сульфат кальция представляет минимальный риск побочных эффектов *in vivo*, [59-61], хотя сообщалось, что у 20% пациентов наблюдается сильное воспаление при лечении гранулами OSTEASET [52, 58, 62, 63]. Относительно короткий период времени растворения СК может привести к воспалению из-за образования кальций-насыщенных жидкостей. Временная гиперкальциемия является ожидаемым побочным эффектом [64]. Дальнейшие исследования объясняют эти осложнения примесями. Подобные гранулы OSTEASET использовали в работе [57] с отсутствием воспаления. В работе [65] сообщили, что 50 пациентов получали гранулы OSTEASET, и никаких осложнений не возникало. В таблице 3 приведены некоторые другие примеры использования СК.

Таблица 3 – Исследования *in vivo* материалов из сульфата кальция для лечения костных дефектов

Название материала	Форма	Экспериментальная модель	Место дефекта	Замечания	Ссылка
СК (Surgiplaster, Classimplant)	Гранулированный	Человек	Кость	Новая костная ткань Отсутствие отторжения Резорбция через 4 месяца	[59]
СК (Surgiplaster, Classimplane)	Гранулированный	Человек	Челюсть	Полное растворение в течении 3 месяцев Образование новой трабекулярной кости	[66]
СК pellets (Osteoset, Wright Medical Corp.)	Гранулированный	Человек	Фаланги пальца	Полная резорбция за 6 недель Новое формирование костей было завершено на 10 недель	[67]

<p>СК pellets (Stimulan, Biocomposites Ltd) combined with bone marrow stromal cells</p>	<p>Гранули- рованный</p>	<p>Человек</p>	<p>Берцовая кость</p>	<p>Исцеление за 2 месяца</p>	<p>[68]</p>
<p>СК paste (Stimulan Kit, Biocomposites Ltd)</p>	<p>Паста</p>	<p>Человек</p>	<p>Дистальный радиус</p>	<p>Новое формирование кости после резорбции СК</p>	<p>[69]</p>
<p>Dehydrated СК (Merck), (Capset, Lifecore Medicals) and (Surgiplaster, Classimport)</p>	<p>Гранули- рованный</p>	<p>Кролик</p>	<p>Бедренная кость</p>	<p>Новое формирование кости наблюдается при использовании всех трех СК Резорбция в течение 30 дней</p>	<p>[70]</p>
<p>Particulate Bioglass covered by a СК (Calcigen Oral, Biomet 3i) barrier</p>	<p>Паста</p>	<p>Крыса</p>	<p>Череп</p>	<p>Хорошо сформированная кость на периферии поражения. Минимальная количество СК оставалась на 4 недели</p>	<p>[71]</p>

СК (Galveston Shriners Burne Hospital's orthotic laboratory)	Гранулированный	Овца	Поясничные позвонки	Наблюдается новое образование костей. Биомеханически превосходящая масса слияния по сравнению с контролем Ti	[72]
Biphasic calcium sulphate and beta-TCP putty (Genex Paste, Bio-composites, Ltd)	Паста	Овца	Поясничные позвонки	Почти полностью рассасывается и заменяется новой костью. Нет воспалительной реакции. Резорбция в течение 2 месяцев (осталось только 1% материала)	[73]

Сульфат кальция не может вызвать остеогенез, но потенциально стимулирует образование кости через его растворение [74].

Последствия растворения СК включают выделение рассасывающихся ионов Ca^{2+} и локализованную кислотность. Выделение ионов Ca^{2+} также могут стимулировать остеобласты, сдвигая баланс костной деградации/костной перестройки [75]. Считается, что кислотность помогает влиять на формирование кости, которая возникает вместо СК на участках имплантата, путем деминерализации локальной костной ткани, чтобы высвободить факторы роста, такие как белок кости BMP, которые могут усилить дифференциацию остеобластов из мезенхимных клеток, чтобы улучшить формирование костей [76].

В работе [77] исследовали как адгезию остеобластов, так и резорбцию остеокластов на СК. До этого исследования было мало известно о деятельности этих клеток на СК. Продемонстрированы результаты хорошего расплывания остеобластов и остеокластов. Из-за быстрого исчезновения СК *in vivo* (быстрое растворение), в отличие от клеточной опосредованной деградации и последующего образования костей, может быть основной причиной исчезновения СК с участков дефектов [64].

1.4 Композиционные материалы, содержащие α - и β -трикальцийфосфат и сульфат кальция

По сравнению с кальций – фосфатными материалами, такими как, ГА и ТКФ, СК значительно быстрее деградирует *in vitro* и *in vivo*. Быстрая скорость резорбции означает, что СК не может применяться самостоятельно для лечения костных дефектов, поскольку скорость формирования новой костной ткани не соответствует скорости растворения сульфата кальция. Необходима согласованность процессов растворения материала имплантата и образования ткани *de novo*. Таким образом, создание композиционных материалов на основе быстро растворяющейся фазы СК и кальций – фосфатной фазы с более увеличенным временем резорбции в организме является одной из актуальных задач области разработки материалов для восстановления дефектов костной ткани.

С этой целью в работе [78] изучали *in vivo* поведение цементной композиции, состоящей из СК/ β -ТКФ в сравнении с β -ТКФ в дефектах подвздошной кости собак. При использовании СК/ β -ТКФ образование новой костной ткани началось уже через 4 месяца, по сравнению с β -ТКФ. В работе [63] было показано, что биорезорбция СК происходит в большей степени по сравнению с β -ТКФ. К 12 неделям при использовании СК дефект не смог полностью заполниться новой костной тканью, но размер новообразования был выше, чем при использовании β -ТКФ.

В работе [79] сообщили о разработке поли-(пропиленфумарат) (PPF)/СК/β-ТКФ материала для замены поврежденной костной ткани. Был продемонстрирован потенциал в качестве компенсирующего заменителя костей с точки зрения механических свойств. Эта же группа продемонстрировала, что композиты являются биосовместимыми и действуют как подходящие каркасы из твердой ткани в дефектах кроличьей большеберцовой кости.

Авторы сообщили о новом композиционном биоматериале СК, содержащем тромбоциты (PRP), для регенерации костной ткани [80]. Идея состояла в том, что введение высоких уровней Ca^{2+} из СК в сочетании с факторами роста из активированных тромбоцитов может инициировать биологические процессы для нового роста кости. Также изучалась композиция СК/PRP в качестве материала для фиксации гнезда при удалении зубов в сравнении с коллагеновыми рассасывающимися материалами в качестве контроля [81]. Исследования показали, что использование композита привело к образованию жизненно важной новой кости через 3 месяца в 66 % случаев в сравнении с контрольным материалом (с 38-39 % случаев). Показано, что материалы СК демонстрируют остеокондуктивные и остеоиндуктивные свойства

Для пероральной и челюстно-лицевой хирургии часто требуются материалы для заполнения костных пустот. Показано, что СК является подходящим челюстно-лицевым дополняющим материалом для трансплантации по сравнению с аутологичной костью, синтетическим гидроксиапатитом и другими [82]. Проведенный гистологический анализ демонстрирует 100 % рост новой костной ткани и клеточной активности по всему имплантату на основе СК. В работе [83] был исследован композит - комбинация СК и бычьей костной ткани при соотношении 4:1 для увеличения верхнечелюстного сустава. Автор предположил, что добавление быстро резорбирующего СК действует как порог, что дает возможность для костного роста. Сульфат кальция обеспечивал матрицу

для частиц бычьей кости, которая удерживала их на месте во время процесса заживления.

Кроме упомянутого, СК применяется в качестве агента доставки лекарственных средств. Его эффективность в качестве костной трансплантации может быть улучшена присутствием дополнительных агентов, таких как промоторы роста костей. При насыщении однородной матрицы из СК лекарственным средством или факторами роста происходит высвобождение препарата в процессах деградации имплантата [84-87]. С другой стороны, возможно диспергировать в матрице СК вторую фазу, насыщенную препаратом, высвобождение которого будет регулироваться высвобождением этой дополнительной фазы из основного СК-компонента.

Было показано, что высвобождение лекарственного средства из композиций гидрогеля СК/поли-β-аминоэфира обеспечивает лучший контроль над кинетикой высвобождения лекарственного средства, а также дает возможность адаптировать полученные композиционные материалы под механические нагрузки за счет различного содержания гидрогеля и размера гидрогелевых носителей [86].

1.5 Влияние сульфата кальция на свойства α- и β-трикальцийфосфатных материалов

В ряде работ проведены исследования влияния СК на свойства α-трикальцийфосфатных биоматериалов. В работе [88] были получены цементные материалы, состоящие из механической смеси порошков α-ТКФ и СК с шагом 20 масс. % и водного раствора, содержащего 2,5 масс. % Na₂HPO₄ (Merck, Ref 1-06586). Как показано на рисунке 2, СК положительно влияет на механическую прочность цементов α-ТКФ, выступая в качестве дисперсноупрочняющей

добавки. Максимальная механическая прочность составляла 34 ± 2 МПа по сравнению с контролем (20МПа).

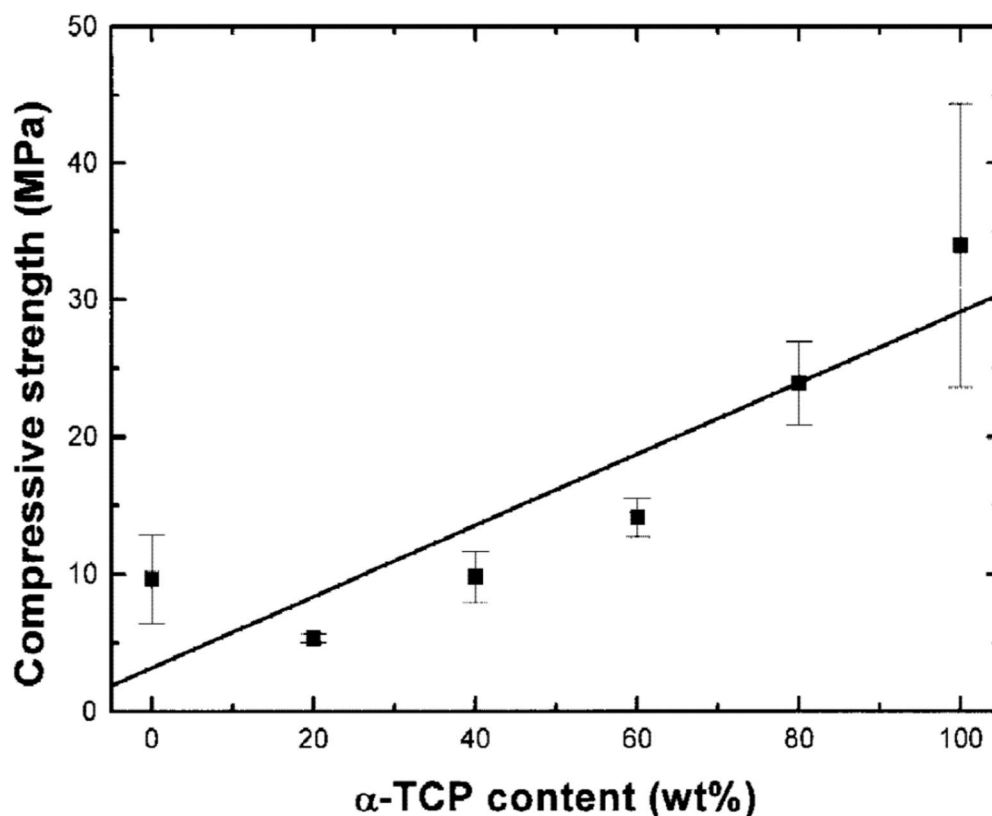


Рисунок 2 – Изменение механической прочности цемента в зависимости от концентрации α -ТКФ [88]

Авторы работы [89] получали композиционные цементные материалы α -ТКФ - СК методом литья. Порошки СК и α -ТКФ смешивали всухую между собой, затем добавляли полученную композиционную смесь в раствор SBF, перемешивали до образования пасты, выливали в форму и сушили до полного удаления жидкой фазы. Затем готовые образцы вынимали из формы и исследовали их растворимость в физиологическом растворе по массовым потерям (DWL – ежедневная потеря веса, AWL – накопленная процентная потеря веса (рисунок 3).

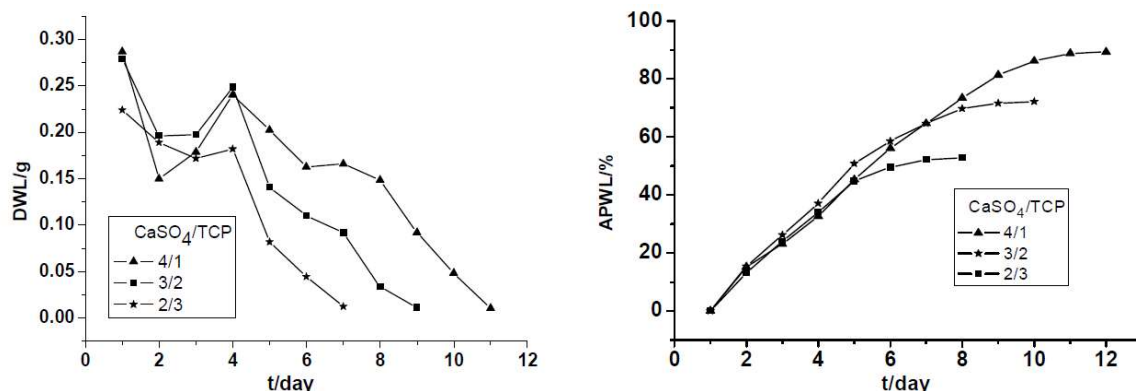
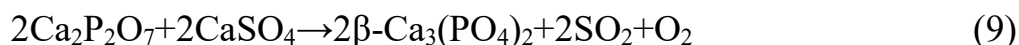


Рисунок 3 – Изменение растворимости цементов в зависимости от соотношения компонентов, где DWL – ежедневная потеря веса, APWL – накопленная процентная потеря веса

Из рисунка 3 очевидно, что растворимость с увеличением содержания СК повышается. Сульфат кальция на ранней стадии деградации практически полностью исчезает, поэтому накопленный процент веса приобретает практически линейную зависимость. Резкое увеличение растворимости фосфатных цементов начинается уже при 20 масс. % содержания СК [90].

Нанодисперсный композиционный порошок на основе системы β -ТКФ – СК получали с помощью химического синтеза [91]. Полученный гомогенизированный порошок смешивали с разбавленными растворами сульфата аммония (2 и 3 %) и оставляли стариться на 24 часа без перемешивания. По данным РФА показано, что основными фазами является β -ТКФ, при этом для чистого β -ТКФ и β -ТКФ, содержащего 2 масс. % сульфат – иона, обнаружено небольшое количество пирофосфата кальция, а с увеличением содержания сульфат – иона пирофосфат кальция исчезает (рисунок 4). Этот эффект можно объяснить ниже приведенной химической реакцией, в результате которой происходит стабилизация β -ТКФ [92]:



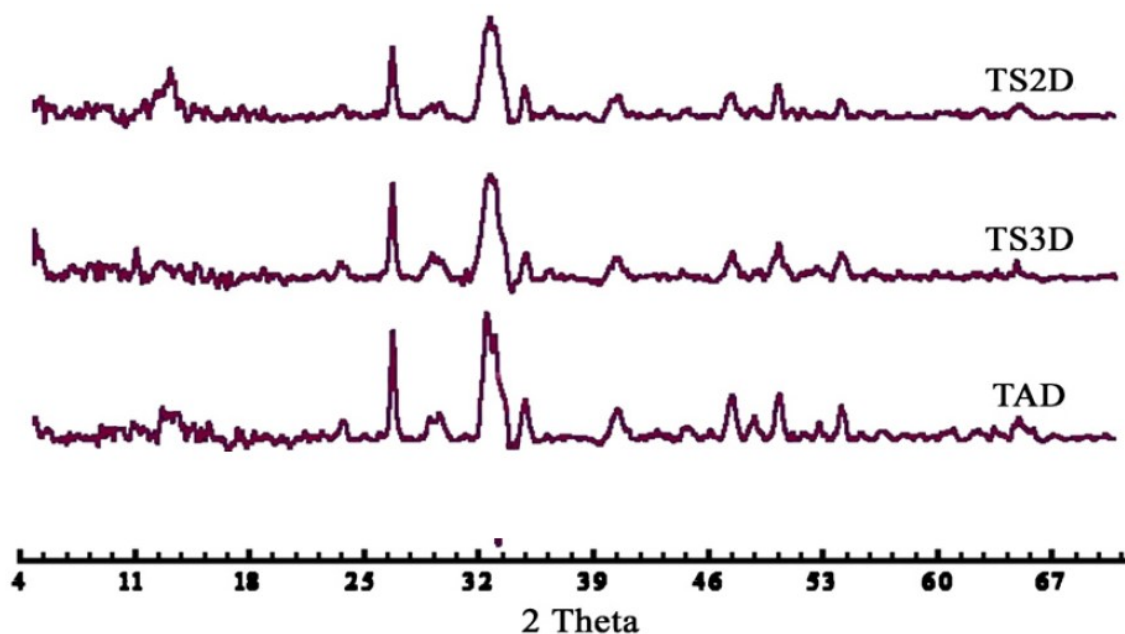


Рисунок 4 – Дифрактограммы композиционных порошков, где TAD – ТКФ, TS2D – 2 масс. % сульфат-иона, TS3D – 3 масс. % сульфат-иона [91]

Необычный эффект был обнаружен учеными в работе [93]. При высокотемпературном (1300 °С) взаимодействии смеси порошков β -ТКФ и гипса в диапазоне от 7 до 10 масс. % происходило образование фазы ГА (таблица 4).

Таблица 4 – Фазовый состав композиционных материалов после термообработки при 1300 °С в зависимости от соотношения компонентов

Смесь СК+ β -ТКФ (масс. %)	Фазовый состав
0 СК	α -ТКФ
1 СК	α -ТКФ
2 СК	α -ТКФ
4 СК	α -ТКФ \gg β -ТКФ, ГА
5 СК	α -ТКФ $>$ ГА $>$ β -ТКФ
6 СК	α -ТКФ, ГА, β -ТКФ
10 СК	β -ТКФ $>$ ГА

Помимо этого, данные дифференциально – термического анализа показали, что присутствие сульфата кальция способствует уменьшению интервала температурного перехода низкотемпературного β -ТКФ и высокотемпературный α -ТКФ (рисунок 5).

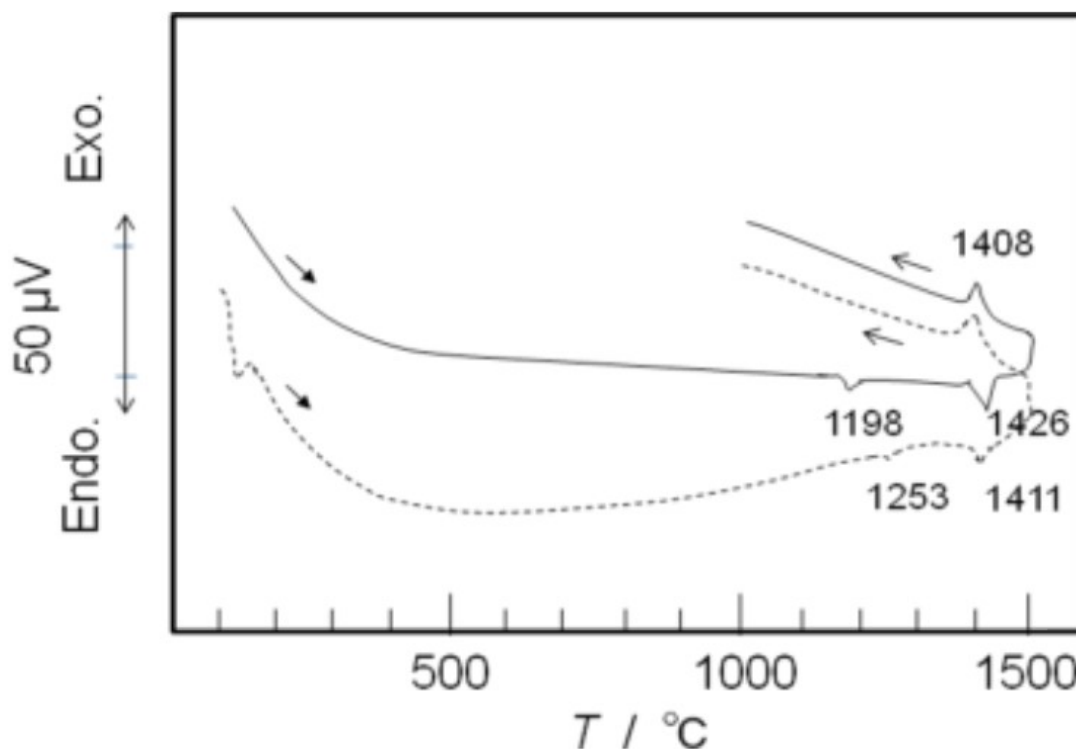


Рисунок 5 – Кривые ДТА β -ТКФ (сплошная линия) и β -ТКФ с добавлением 10 масс. % СК (пунктирная линия)

В работе [94] получали пористые цементные материалы системы β -ТКФ – СК. Цементы синтезировали из механической смеси порошка Biocement-N[®] и сульфата кальция Sigma-C3771 в количестве 5, 10, 20 и 25 масс. %. В качестве цементной жидкости использовали 2,5 % раствор Na_2HPO_4 . Полученные образцы помещали в раствор Рингера на 35 дней старения (раствор ежедневно обновляли). По прошествии времени исследовали механическую прочность данных образцов. Показано, что прочность таких цементов в среднем составляла 10 МПа, что является оптимальным пределом прочности трабекулярных аппликаций костей. Это связано с тем, что сульфат кальция растворялся, образуя поры в структуре материалов (рисунок 6).

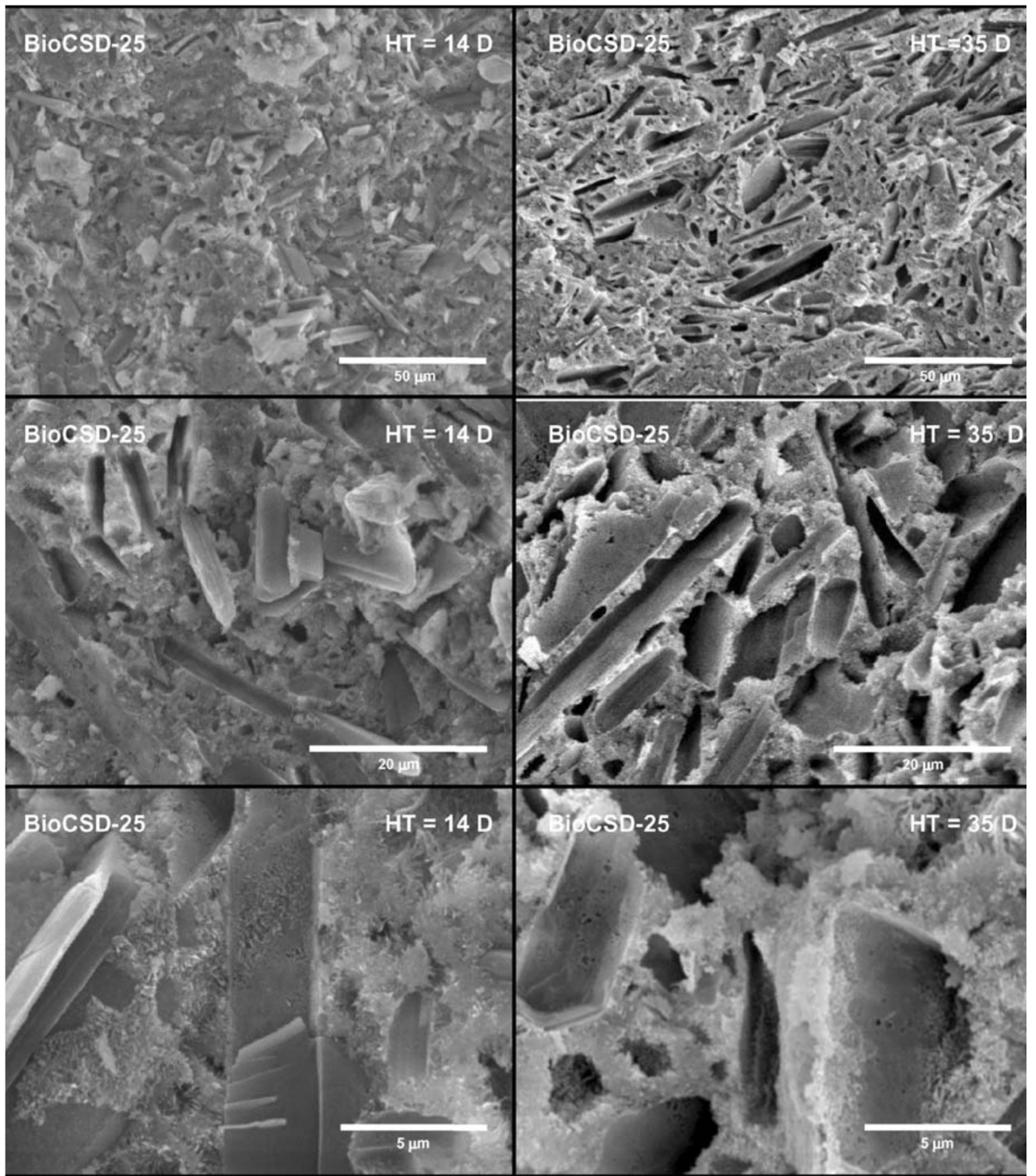


Рисунок 6 – Микрофотографии цементов после выдержки в растворе Рингера на 14 сутки (слева) и 35 сутки (справа)

1.6 Выводы на основании обзора литературы

Разработка технологии получения и исследование свойств новых композиционных кальций - фосфатных цементов для восстановления и регенерации костной ткани является актуальной и практически – значимой задачей. Применение таких цементных материалов позволит найти индивидуальный подход к пациенту в зависимости от его возраста и состояния здоровья.

В отличие от традиционных кальций - фосфатных цементов, композиционные материалы, содержащие в качестве второго компонента СК, обладают более высокими механическими характеристиками, что позволит сохранить каркас цемента во время регенерации костной ткани.

Второй особенностью таких цементов является высокая скорость биорезорбции, по сравнению с традиционными бруситовыми или апатитовыми цементами. Создание КФЦ, содержащих гипс позволит получить материал с селективной биорезорбцией и, как следствие, возможность формирования пор *in vivo*.

Для создания микроструктуры, которая необходима для жизнедеятельности остеобразующих клеток, представляет интерес введение в матрицу КФЦ гранул, состоящих из СК. Так, во время деградации гранул гипса, будет формироваться заданная поровая структура с необходимым размером пор и их распределением по объему образца.

Еще одним преимуществом таких композиционных цементов является использование сульфата кальция в качестве носителя лекарственных средств. Благодаря нейтральному рН и отсутствию малому и экзотермическому эффекту, во время синтеза СК цементов не происходит деструкция состава лекарственных средств. При имплантировании цемента в костную ткань гранулы СК, пропитанные лекарственным средством, во время своего растворения будут

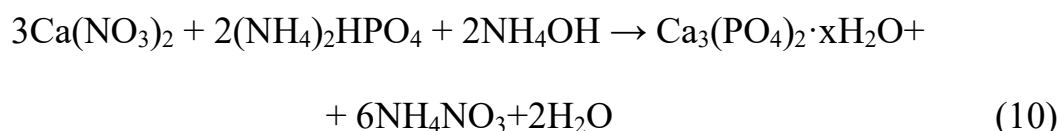
постепенно высвобождать лекарство в организм, причем это будет происходить локально, в месте дефекта.

Благодаря проведенному анализу значительного количества публикаций и патентов по данной теме, удалось выявить ряд задач, которые требуют решения и сформулировать цель и задачи диссертационной работы.

2 Материалы исследования

2.1 Высокотемпературный α -ТКФ

Синтез проводили химическим методом в соответствии с реакцией [24]:



Для этого исходные реагенты в виде водных растворов $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ марки «хч» смешивали с $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ марки «хч». Смешение проводили при помощи верхнеприводной мешалки ЕКА, при этом уровень рН поддерживали на уровне $\sim 6,9 - 7,4$. Полученный осадок фильтровали, сушили при температуре 60°C в течении трех дней и затем прокаливали при 400°C в течение 1 часа. В результате получали порошок амфорного кальций – фосфата (АКФ).

После прокалки производили помол порошка с использованием помольных тел в специальном барабане на планетарной мельнице в среде диметилкетона. Затем полученную массу фильтровали, сушили и просеивали через капроновое сито размером $200 - 300$ мкм.

Окончательный обжиг порошка с целью получения α -ТКФ проводили при температуре 1380°C в течении 2 часов.

По данным РФА (рисунок 7) в результате высокотемпературного обжига была получена α -ТКФ модификация.

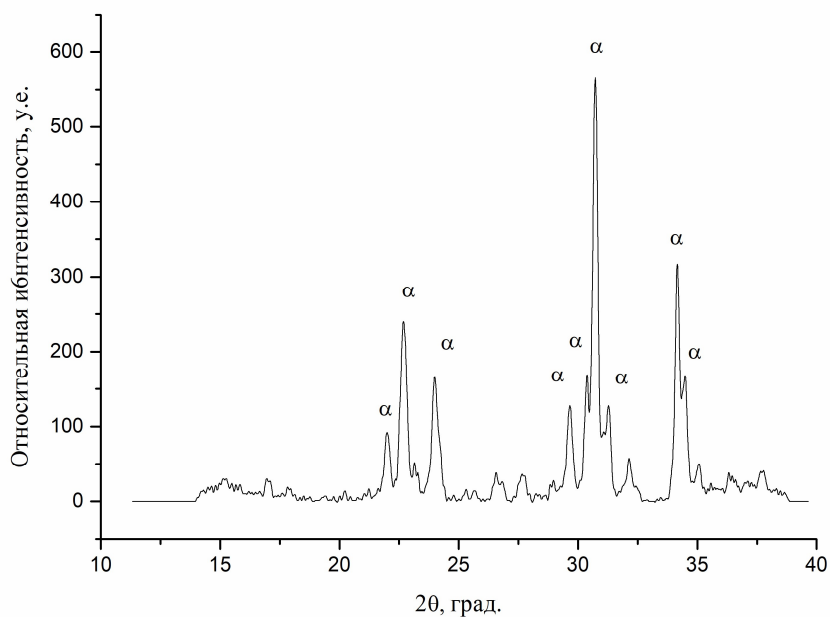


Рисунок 7 – Дифрактограмма высокотемпературного α -ТКФ, где α – α -ТКФ

2.2 Композиционные порошки системы АКФ – СКП и α -ТКФ – СКП, полученные механическим способом

В качестве исходных порошков использовали АКФ, α -ТКФ и коммерческий полуводный сульфат кальция (СКП) Elite Rock (рисунок 8)

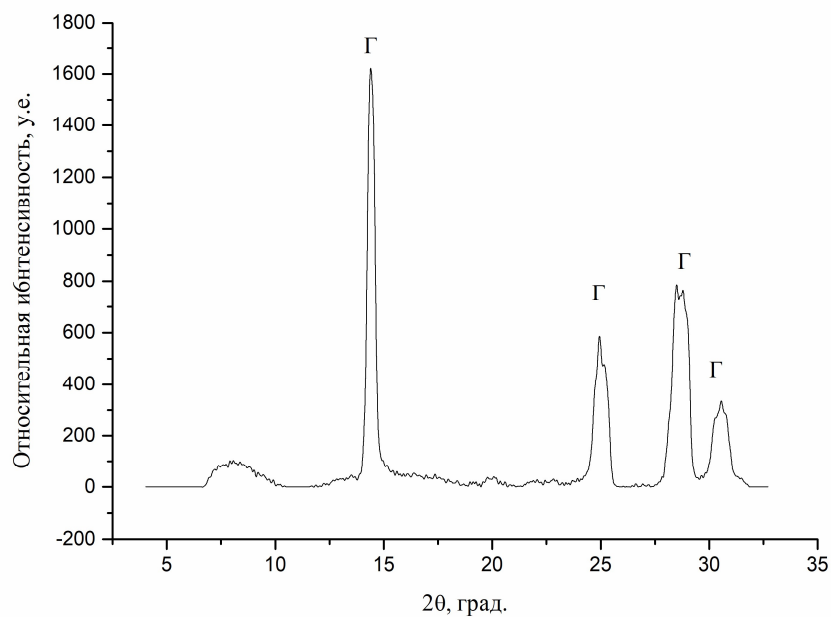


Рисунок 8 – Дифрактограмма сульфата кальция марки Elite Rock, где
γ – сульфат кальция полуводный

Синтез проводили в стеклянном реакторе с помощью магнитной мешалки ЕКА в среде диметилкетона для предотвращения взаимодействия между компонентами в течение 20 минут при 300 об/мин. После смешения полученные композиционные порошки выпаривали на электрической плитке до полного удаления жидкой фазы. Соотношение исходных компонентов приведено в таблице 5, 6.

Таблица 5 – Составы композиционных цементных порошков системы

АКФ – СКП

Масс. % СКП	Масс. % АКФ
0	100
20	80
40	60
60	40
80	20
100	0

Таблица 6 – Составы композиционных цементных порошков системы

α -ТКФ – СКП

Масс. % СКП	Масс. % α -ТКФ
0	100
20	80
40	60
60	40
80	20
100	0

По данным РФА для материалов системы α -ТКФ – СКП основными фазами являются α -ТКФ и СК полуводный. С увеличением содержания гипса, содержание фазы СКП увеличивалось (рисунок 9).

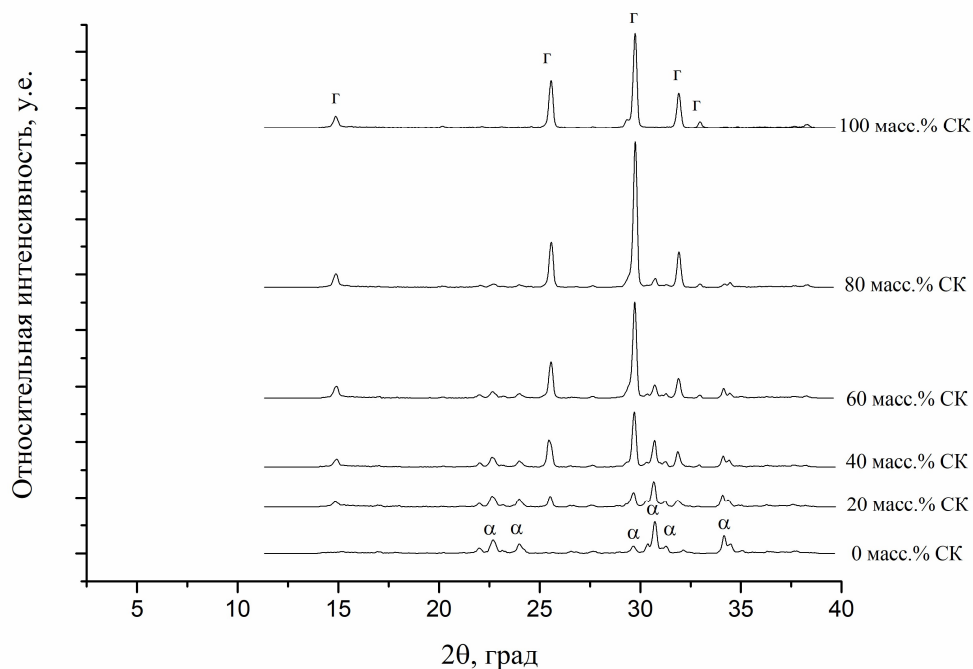
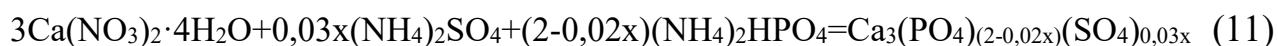


Рисунок 9 – Дифрактограммы исходных порошковых материалов, синтезированных механическим методом, где γ – полуводный сульфат кальция, α – α -ТКФ

2.3 Сульфат – замещенный β -трикальцийфосфат

Для введения сульфат – групп в β -ТКФ использовали метод химического осаждения растворов солей нитрата кальция, фосфата и сульфата аммония марки «хч». Расчёты компонентов проводили в соответствии с приведенной реакцией:



Расчетные составы приведены в таблице 7.

Таблица 7 – Расчетные составы синтезируемых сульфат – замещенных материалов β -ТКФ

Номер	Замещение, мол. %	Формула соединения сульфат – анион – β -ТКФ
1	0	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
2	1	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_{1,98}(\text{SO}_4)_{0,03}$
3	5	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_{1,9}(\text{SO}_4)_{0,15}$
4	10	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_{1,8}(\text{SO}_4)_{0,3}$
5	20	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_{1,6}(\text{SO}_4)_{0,6}$

После синтеза полученные порошки фильтровали и проводили термообработку при температуре 200, 900 и 1200°C в течение 3 часов.

2.4 Гранулы из сульфата кальция

Синтез гранул из сульфата кальция проводили двумя методами: методом несмешивающихся жидкостей и механическим методом.

2.4.1 Синтез гранул методом несмешивающихся жидкостей

В качестве исходного порошка брали коммерческий полуводный сульфат кальция (СКП) марки Elite Model (рисунок 10).

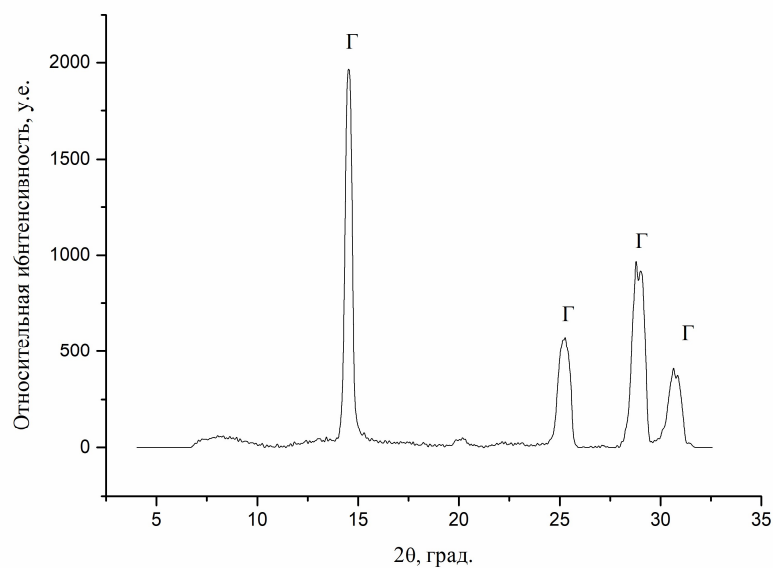


Рисунок 10 – Дифрактограмма сульфата кальция марки Elite Model, где
 Г – сульфат кальция полуводный

Порошок СКП смешивали с дистиллированной водой в соотношении порошок/жидкость=5/2. Взаимодействие между СКП и водой происходило в соответствии с химической реакцией (7). Полученный цементный раствор покапельно вводили в непрерывно перемешиваемое вазелиновое масло, в результате чего происходила последующая грануляция (рисунок 11).

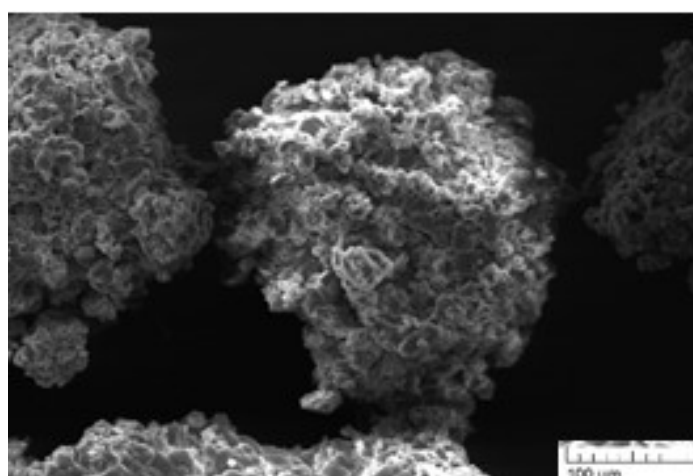


Рисунок 11 – Микрофотография гранулы из сульфата кальция

После синтеза гранулы отмывали в среде диметилкетона от масла, сушили и рассеивали по фракциям 100 – 200 и 300 – 470 мкм через капроновые сита.

Данный метод оказался трудоемким, выход пригодного для использования продукта получался недостаточным, поэтому была разработана технология получения гранул механическим методом.

2.4.2 Синтез гранул механическим методом

Цементный раствор, полученный после смешения порошка и дистиллированной воды (см. пункт 2.2), оставляли до полного затвердевания на 3 суток. Полученный цементный камень измельчали в яшмовой ступке и рассеивали на фракции с помощью капронового сита размером 100 – 200 и 300 – 470 мкм.

2.5 Цементная жидкость

В качестве цементной жидкости использовали кислый 67% раствор фосфата магния с уровнем pH ~ 2 – 3, дистиллированную воду.

2.6 Методы исследования

2.6.1 Рентгенографические исследования

Рентгенографические исследования проводили на дифрактометрах “SHIMADZU-6000” (Япония) и “Дифрей” в режиме отражение (геометрия Брегга-Брентано) с использованием Cu K_α (“SHIMADZU – 6000”) длина волны излучения $\lambda=1.54183 \text{ \AA}$ или Cr K_α (“Дифрей”) длина волны излучения $\lambda=2,2897 \text{ \AA}$. Съёмку проводили в кюветах из оргстекла. Регистрация велась в непрерывном режиме на интервале углов $2\theta=10 - 50^\circ$ с шагом по $2\theta 0.02^\circ$.

Для качественного фазового анализа использовали данные картотеки JSPDS.

Для расчета параметров элементарной кристаллической ячейки использовался метод Ритвельда с привлечением программы FullProf Suite с применением приложений WinPlotr, WinPlotr-2006, DicVol06.

2.6.2 Инфракрасная (ИК) спектроскопия образцов

Исследования проводили на спектрометре Nicolet Avatar 330 FT – IR с разрешающей способностью 4см^{-1} в режиме диффузного отражения с использованием порошка KBr. Для регистрации ИК спектра образца готовили смесь исследуемого образца с бромидом калия, которую помещали в приборную ячейку. Диапазон длин волн, использованный для получения ИК спектра, составил от 4000 см^{-1} до 500 см^{-1} . Анализ спектров проводили на основании литературных и справочных данных.

2.6.3 Растровая электронная микроскопия

Электронно – микроскопические исследования материалов проводили при помощи растрового электронного микроскопа Tescan VEGA II с энерго – дисперсионным анализом. Исследования растровой электронной микроскопии (РЭМ) проводили в режиме как вторичных, так и отраженных электронов, разрешающая способность приборов от 1 до 3,2 нм, максимальное увеличение до 500000, ускоряющее напряжение 1 – 30 кВ. Для уменьшения электрического заряда, образующегося на образце при его сканировании пучком электронов с высокой энергией, на поверхность керамики наносили токопроводящее покрытие. Метод нанесения - катодное распыление; материал покрытия - золото; установка “Quorum Technologies”. Энерго – дисперсионный анализ проводили на установке INCA Energy 300.

Для качественного анализа распределения гранул в цементном образце использовали метод случайных секущих. Для этого на цилиндрическом цементном образце делали шлиф, затем с помощью электронного микроскопа снимали его поверхность. На полученной микрофотографии проводили секущие в хаотичном порядке и подсчитывали количество гранул, пересекаемых ими.

2.6.4 Механические испытания

Механические испытания образцов проводили на универсальной испытательной машине для одноосных опытов в диапазоне нагрузок до 5 тонн с электрическим приводом и следящей системой Instron 5581 (Великобритания). Для этого цилиндрические образцы подвергали одноосному (вдоль оси цилиндра) сжатию со скоростью нагружения 100 Н/с. Высота образцов определялась в каждом конкретном случае следящей системой по появлению нагрузки в момент «касания» столбика рабочей поверхностью установки.

Влияние скорости проведения эксперимента на механические характеристики выявляли в опытах, когда скорость нагружения составляла 5 Н/с и 20 Н/с. Для оценки воспроизводимости значений прочности испытывали от 3 до 5 образцов. Пересчитанные в координаты «напряжение – деформация» кривые нагружения образцов регистрировались в оцифрованном виде на ЭВМ.

2.6.5 Время схватывания

Время схватывания КФЦ определяли сопротивлением проникновению в КФЦ иглы диаметром 1 мм прибора Вика под воздействием нагрузки 400 г (стандарт ISO 1566).

2.6.6 Исследование растворимости

Исследование кинетики деградации проводили в изотоническом растворе (0,9% физиологический раствор хлорида натрия) по изменению массы образцов (точность взвешивания 0,0001 г.).

Для этого готовили цементные образцы размером 4 (длина)х4 (диаметр) мм и оставляли до полного затвердевания на 3 суток. Затем измеряли массу образцов и помещали в 0,9% физиологический раствор хлорида натрия на 0, 3, 7, 14 и 30 суток для цементов с гранулами и 0, 7, 14, 28 и 56 суток для пористых цементов. После этого образцы вынимали из жидкости и сушили при 60°C до полного удаления жидкой фазы – пока масса образцов не переставала изменяться при взвешивании до 4 – го знака на аналитических весах.

По формуле высчитывали процент массовых потерь:

$$\text{Потери, \%} = (m_n - m_k) / m_n * 100 \quad (12)$$

где m_n – начальная масса образца, m_k – масса образца после выдержки в физ. растворе.

2.6.7 Определение пористости

Пористость цементных материалов измеряли по геометрическим размерам по приведенной схеме:

1. Проводили смешение компонентов (порошка и жидкости) в течение 1 минуты до получения цементной пасты однородной консистенции;
2. Полученную пасту помещали в металлическую форму диаметром 8 мм;
3. С помощью механического пресса при давлении 200 МПа верхним и нижним пуансоном придавали цилиндрическую форму образцу;

4. После схватывания образец вынимали из формы. Полученный плотный цементный образец принимали за эталон.

Плотность эталона и цементных образцов рассчитывали по формуле:

$$\rho = 4m/\pi d^2 h, \quad (13)$$

где m – масса образца, d – диаметр, h – высота.

Пористость рассчитывали по формуле:

$$\Pi = (\rho_э - \rho_о) / \rho_э * 100, \quad (14)$$

где $\rho_э$ – плотность эталона, $\rho_о$ – плотность цементного образца.

2.6.8 Испытания *in vitro*

Эксперименты *in vitro* были выполнены в ФГУ Московский научно-исследовательский онкологический институт им П.А. Герцена.

В качестве тест – культуры для оценки цитосовместимости использовали перевивную клеточную линию остеосаркомы человека MG-63 (Российская коллекция клеточных культур позвоночных, Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург), плотность посева клеток – $7,0 \times 10^3$ на лунку (96 луночные платы Corning, США) в объеме 200 мкл полной ростовой среды (ПРС) следующего состава: среда ДМЕМ (ПанЭко, Москва, Россия), 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, Ну Clone, США), 4мМ глутамина и 1М раствора Хепеса (ПанЭко, Москва, Россия).

Острую цитотоксичность образцов изучали экстракционным методом (ГОСТ 10993.5-99) путем прямого контакта вытяжки с тест – культурой. В качестве экстрагирующего раствора использовали ПРС.

Жизнеспособность культуры MG – 63 определяли с помощью МТТ – теста через 24 часа после внесения в лунки с клетками вытяжек. Данный метод основан на способности дегидрогеназ живых клеток восстанавливать 3-(-4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенилтетразолий бромистый (МТТ, «Sigma», США) в формазан. Количество образовавшегося формазана, определяемое спектрофотометрически, характеризует пролиферативную активность (жизнеспособность/количество) различных клеток человека и животных.

Для каждого образца вытяжки, согласно ГОСТ Р ИСО 10993.5-99, рассчитывали индекс токсичности (ИТ) по формуле:

$$100\% = \text{ОДоп/ОДконтр} (\%), \quad (15)$$

где ОД – значение оптической плотности раствора формазана в опыте и в контроле, соответственно. Образец КФ материала считали нетоксичным при значении индекса токсичности $\leq 30\%$.

Для исследования матричных свойств поверхности нетоксичные образцы раскладывали по лункам 96 – луночного планшета в триплетах, вносили по 200 мкл ПРС и помещали в CO₂ инкубатор. На следующий день из лунок декантировали ПРС, вносили суспензию клеток MG – 63 и культивировали 1, 3 и 7 суток. Жизнеспособность клеток на этапах культивирования также определяли с помощью МТТ – теста.

На этапах культивирования рассчитывали величину пула жизнеспособных клеток (ПЖК) как отношение величины оптической плотности раствора формазана в опыте по отношению к этому показателю в контроле.

Материал считали цитосовместимым при отсутствии токсичности и наличии матричных свойств поверхности: способности опытного образца материала поддерживать клеточную пролиферацию на уровне контрольных значений (умеренные свойства) или статистически достоверно выше контроля (выраженные матричные свойства).

2.6.9 Испытания *in vivo*

Эксперименты *in vivo* выполнены в ФГУ Московский научно – исследовательский онкологический институт им П.А. Герцена.

В работе использовали половозрелых крыс – самцов линии Wistar (филиал «Андреевка» ФГБУН "Научный центр биомедицинских технологий" ФМБА России) с соблюдением международных принципов и норм гуманного обращения с животными. На протяжении всех экспериментов животные содержались в виварии, оснащенной операционными и манипуляционными, в условиях стандартного пищевого и водного рационов, режимов освещения и влажности.

Крысам-самцам линии Wistar весом 180 – 200 гр. под общим наркозом производили кожной надрез в области проекции большеберцовой кости справа. Тупым концом скальпеля кожу осторожно отделяли от прилегающего слоя подкожной клетчатки и мышц и в образованный «карман» закладывали образец стерильного (γ – стерилизация в дозе 15 кГр) материала. Образцы были представлены в виде гранул белого цвета размером 200 – 600 мкм. На область раны накладывали швы, после чего животных оставляли под наблюдением.

Операцию (краевая резекция большеберцовой кости) осуществляли на левой конечности крыс после завершения этапа подкожной имплантации материала. В положении животного на спине, по внутренней медиальной поверхности голени, отступив от коленного сустава приблизительно на 8 мм, производили кожный разрез протяженностью 2 – 2,5 см и обнажали тело

большеберцовой кости. Кость очищали от надкостницы (для исключения физиологической регенерации костной ткани). Затем на границе верхней и средней трети кости посредством бора формировали плоскостной «окончатый» дефект (длина 6 – 8 мм, ширина 1,5 – 2,0 мм, глубина 1,5 – 2,0 мм), проникающий в костный канал, который очищали от костного мозга. В область дефекта, в соответствии с протоколом исследования, закладывали стерильные образцы материалов. На заключительном этапе операции накладывали послойно швы на мышцы и кожу в области операционной раны.

Через 1, 3 и 5 месяцев после операции крыс выводили из эксперимента под эфирным наркозом (по два животных на каждый срок), место имплантации вместе с образцом материала иссекали и проводили визуальную оценку. После фиксации образцов в 10% растворе формалина осуществляли декальцинацию материалов в 0,3 М растворе ЭДТА (37°C, ~ 30 дней), затем материалы обезвоживали в спиртовой батарее (с восходящей концентрацией) и ксилоле, изготавливали из них парафиновые блоки и далее – гистологические препараты. Препараты окрашивали гематоксилин – эозином. При описании препаратов подкожной имплантации материалов обращали внимание на наличие/отсутствие признаков воспаления в зоне имплантации, толщину соединительнотканной капсулы вокруг имплантированных образцов, клеточный состав и степень васкуляризации, наличие клеток инородных тел, другие косвенные признаки биодеградации материала.

3 Композиционные цементные материалы на основе системы α -трикальцийфосфат – сульфат кальция, полученные с помощью прямого механического смешения

3.1 Исследование влияния состава цементной жидкости и температуры термообработки на свойства цементных материалов системы фосфат кальция – сульфат кальция

На данном этапе работы был использован синтезированный исходный порошок аморфного кальций – фосфата (АКФ), который получали в результате химического осаждения солей с поддержанием уровня рН в заданном интервале (6,9 – 7,4).

В качестве второго компонента использовали коммерческий полуводный сульфат кальция (СКП) Elite Rock.

3.1.1 Цементные материалы системы АКФ – СК, содержащие дистиллированную воду (серия 1)

Композиционные цементные порошки серии 1 были получены путем механического смешения АКФ, термообработанного на 400°C и СКП. Цементы синтезировали по схеме: композиционный порошок + цементная жидкость (вода) в соотношении 5/2. Синтез проводили на предметном стекле. Порошок и воду смешивали с помощью медицинского шпателя в течение 1 минуты до получения вязкого раствора. Далее полученную цементную пасту оставляли до полного твердения.

Исследования РФА цементов серии 1 показали, что полученные материалы соответствовали смеси $\text{ТКФ} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ и $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, в которых соотношение фаз пропорционально изменялось в соответствии исходному составу (рисунок 12).

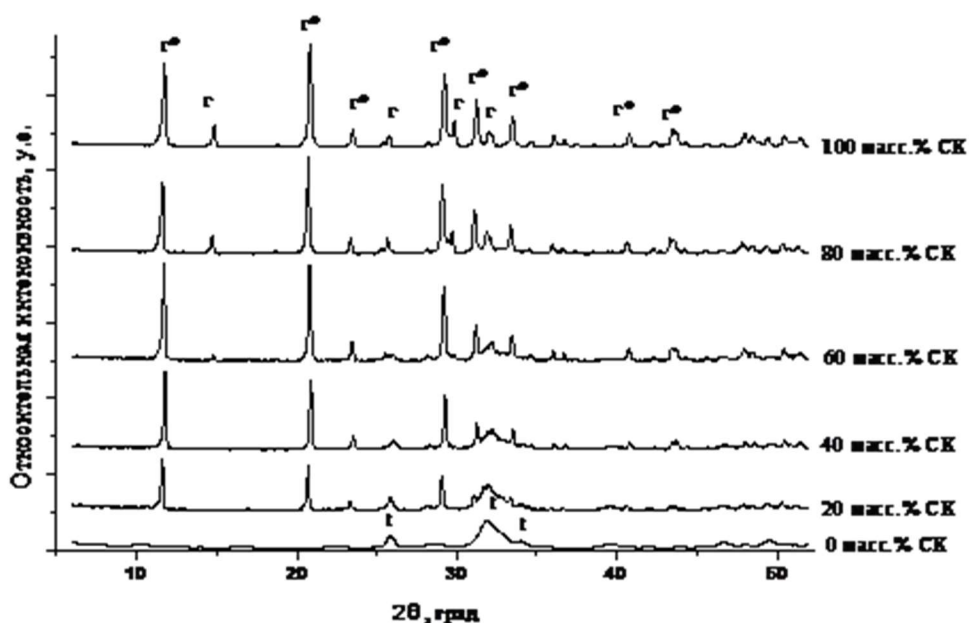


Рисунок 12 – Дифрактограмма цементов серии 1 системы АКФ – СК, t-ТКФ·nH₂O, Г* – СК двухводный (CaSO₄·2H₂O), Г – СК полуводный (CaSO₄·0,5H₂O).

Как показали исследования, вяжущими свойствами обладали цементы, имеющие в своем составе СК. Время схватывания варьировалось в диапазоне от 5 до 8 минут (таблица 8). Взаимодействие чистого АКФ с дистиллированной водой не наблюдалось. При использовании воды с нейтральным рН, в жидкости растворялся в основном СКП (растворимость 0,2 г \ 100 г воды) [96]. АКФ при этом фактически не растворялся – растворимость – 0,02%. Поэтому, формирование цементного камня происходило только за счет перехода полуводного СК в двухводный с постепенным загустеванием цементного раствора (схватыванием). АКФ в данном случае выступал как инертный наполнитель, косвенно влиявший на микроструктуру, механические свойства и фазообразование.

Таблица 8 – Время схватывания цементных материалов в зависимости от состава

№ образца	Содержание СК, масс.%	Время схватывания, мин.
1	20	5 – 6
2	40	7 – 8
3	60	7 – 8
4	80	7 – 8
5	100	7 – 8

Как и следовало ожидать, прочность при сжатии цементных материалов возрастала с увеличением содержания СК (рисунок 13).

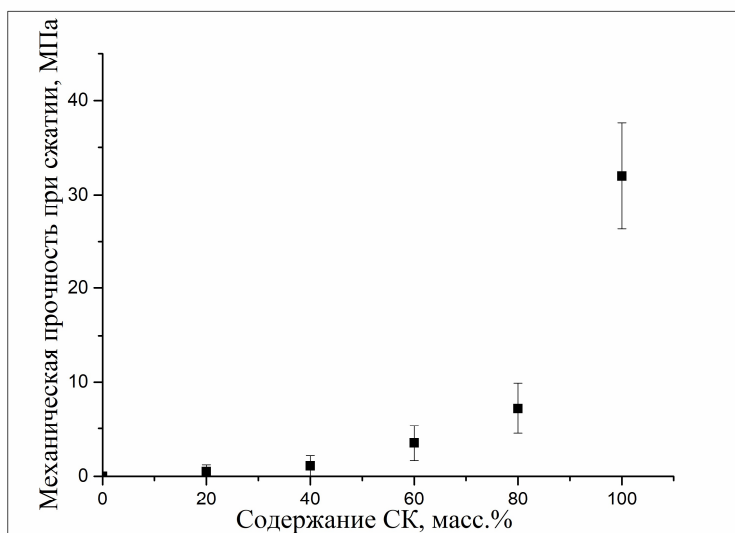


Рисунок 13 – Влияние состава цементных материалов серии 1 на механическую прочность

Низкая прочность материалов с превалированием АКФ была связана, в том числе, с рыхлой структурой (рисунок 14 а,б). Для материала со 100% содержанием СК, наоборот, структура характеризовалась формированием каркаса с плотным срастанием частиц между собой (рисунок 14 в).

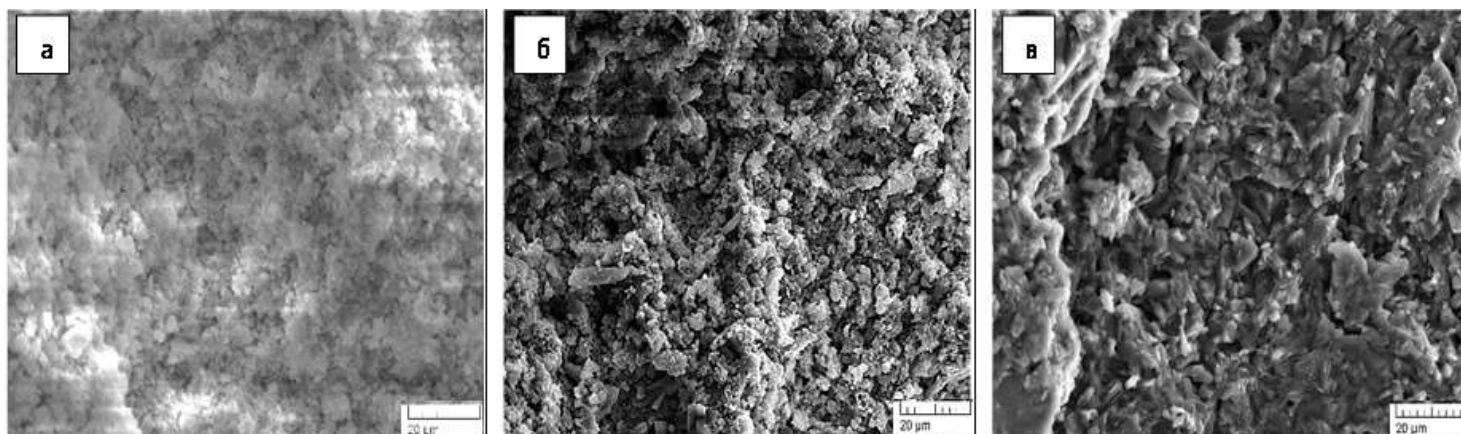


Рисунок 14 – Микроструктура цементов серии 1 в зависимости от состава, где а - 80АКФ/20СК, б - 60АКФ/20СК, в - 0АКФ/100СК.

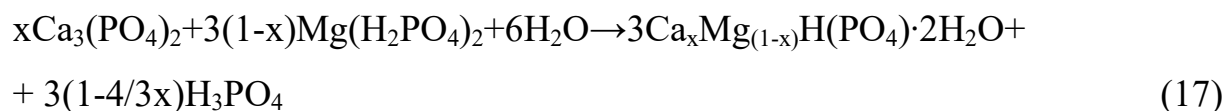
3.1.2 Цементные материалы системы АКФ – СКП, содержащие раствор соли фосфата магния (серия 2)

При увеличении кислотности жидкости (рН кислой магний – фосфатной жидкости составляет $\sim 2 - 3$) характерные зависимости существенно изменялись. Это связано с изменением механизма реакционного схватывания цементов. При использовании кислой жидкости в цементах происходило растворение АКФ (известно, что в кислой среде растворимость всех фосфатов кальция резко возрастает – это подтверждают известные изотермы растворимости) [24].

Цементы синтезировали по схеме: композиционный порошок + цементная жидкость в соотношении 2/1. Схватывание проходило при взаимодействии фосфата кальция и цементной жидкости, содержащей фосфорную кислоту:



Поскольку на дифрактограммах не удаётся обнаружить фазу, обогащённую магнием, можно предположить, что в результате взаимодействия АКФ и фосфата магния в условиях рассматриваемой цементной системы (рН ~ 5 – 6) формируется аморфизированная фаза, схему образования которой можно обобщённо представить уравнением:



Таким образом, по данным РФА, основными фазами являлись брушит, полуводный СК и наблюдалось присутствие фазы ТКФ•nH₂O (рисунок 15).

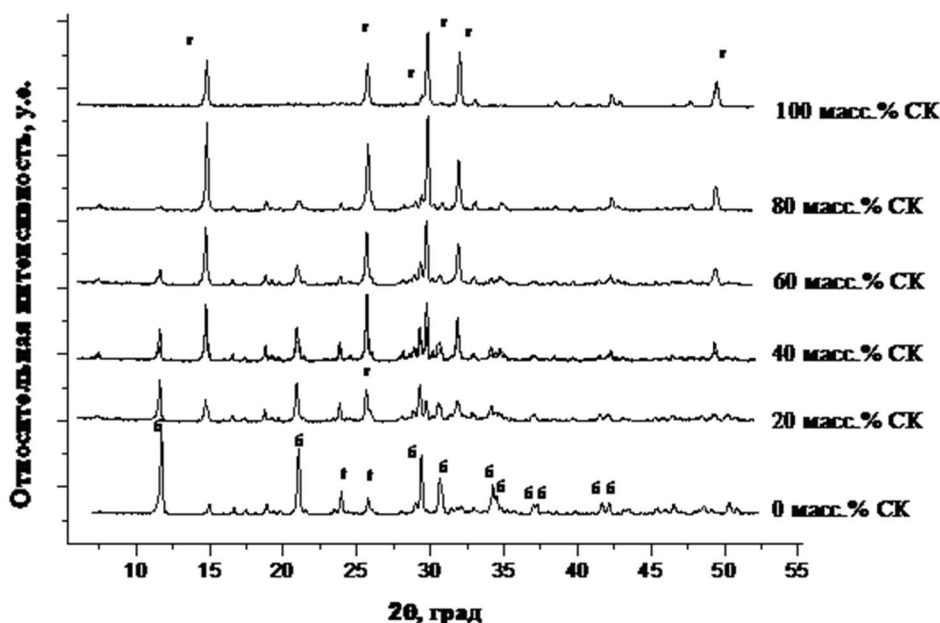


Рисунок 15 – Дифрактограмма цементов серии 2 системы АКФ – СКП, где t - ТКФ•nH₂O, Г – СК полуводный (CaSO₄•0,5H₂O), б – брушит.

С увеличением содержания в цементе СКП, время схватывания увеличивалось. Для цементов с преобладанием АКФ время схватывания составляло 6 – 7 минут, а с преобладанием СКП достигало 10 – 14 минут.

Зависимость прочности от содержания СКП немонотонная, с максимумом при 20 масс. % СКП (рисунок 16). Упрочнение цемента с введением сульфата кальция в количестве 20 масс. % можно объяснить тем, что СКП в таком количестве выступал в качестве упрочняющей добавки [97]. При большем содержании СКП, происходило образование непрерывного каркаса из аморфной фазы, по которому происходило разрушение.

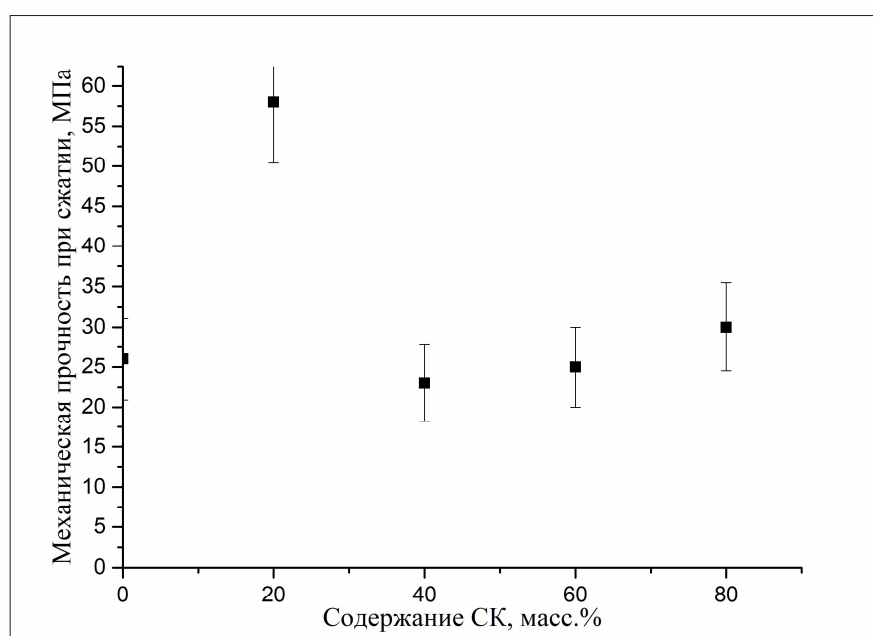


Рисунок 16 – Влияние состава цементных материалов серии 2 на механическую прочность

Анализ микроструктуры показал, что введение магния позволило сформировать более прочные цементы благодаря синтезу новой более прочной аморфной фазы исходя из уравнения (17). Аморфная фаза распределялась равномерно по поверхности частиц материала, цементируя их между собой (рисунок 17а). Наиболее прочным материалом являлся цемент, имеющий состав

80АКФ/20СКП, его прочность составляла 58 ± 3 МПа. С увеличением содержания СКП микроструктура становилась рыхлой, частицы были плохо связаны между собой, механическая прочность снижалась (рисунок 17в).

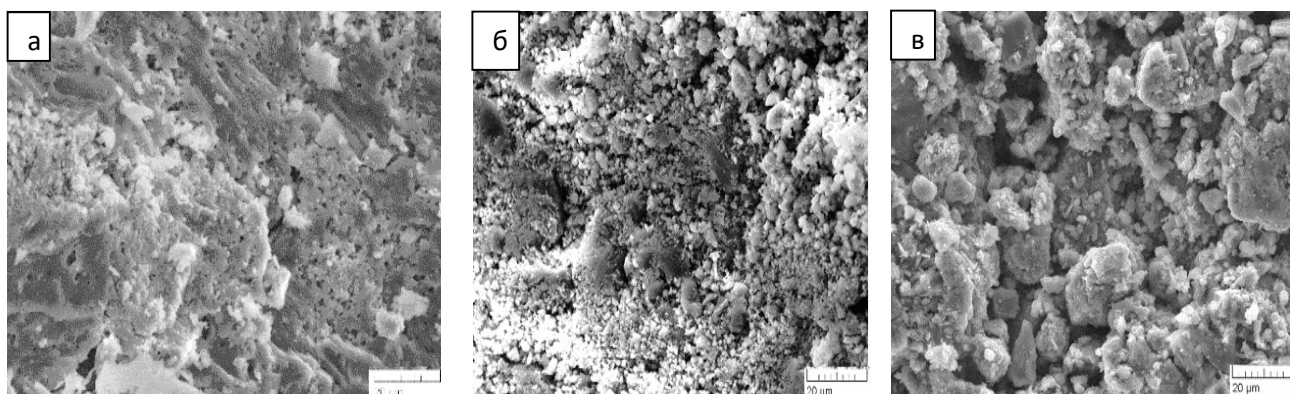


Рисунок 17 – Микроструктура цементов серии 2 в зависимости от состава, где
а – 80АКФ/20СКП, б – 60АКФ/20СКП, в – 80АКФ/20СКП

3.1.3 Цементные материалы системы α -ТКФ – СКП, содержащие раствор соли фосфата магния (серия 3)

В отличие от цементов серии 2, в цементах серии 3 использовали порошок α -ТКФ (температура термообработки 1380°C).

Время схватывания варьировалось в интервале 5 – 9 минут, с увеличением содержания СКП оно незначительно увеличивалось (таблица 9). Видимо, это связано с увеличением содержания СКП, который выступал как аморфный наполнитель.

Таблица 9 – Зависимость времени схватывания от состава цементов

№ образца	Содержание СКП, масс.%	Время схватывания, мин.
1	0	5–6
2	20	6–7
3	40	7–8
4	60	7–9
5	80	8–9

По фазовому составу цементы незначительно отличались от цементов серии 2. В цементных материалах с незначительным содержанием СКП – до 40 масс. % наблюдалось присутствие α -ТКФ, СКП, а также брусит (рисунок 18). С увеличением степени содержания сульфата кальция увеличивались пики, соответствующие полуводному СК.

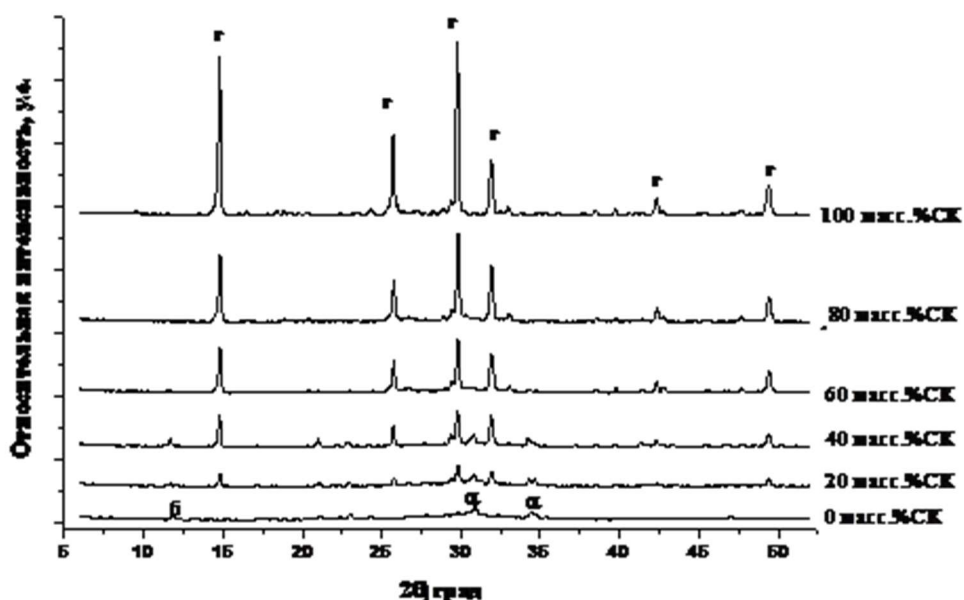


Рисунок 18 – Дифрактограмма цементов серии 3 системы α -ТКФ – СКП, α – α -ТКФ, Γ – СК полуводный ($\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$).

По своим механическим характеристикам цементные материалы также были близки с цементами серии 2. Наибольшую прочность имели материалы с 20 % содержанием СКП – 43 ± 2 МПа при сжатии (рисунок 19). Как и для цементов серии 2, содержание СКП в количестве 20 масс. % выступало в качестве дисперсного упрочнителя.

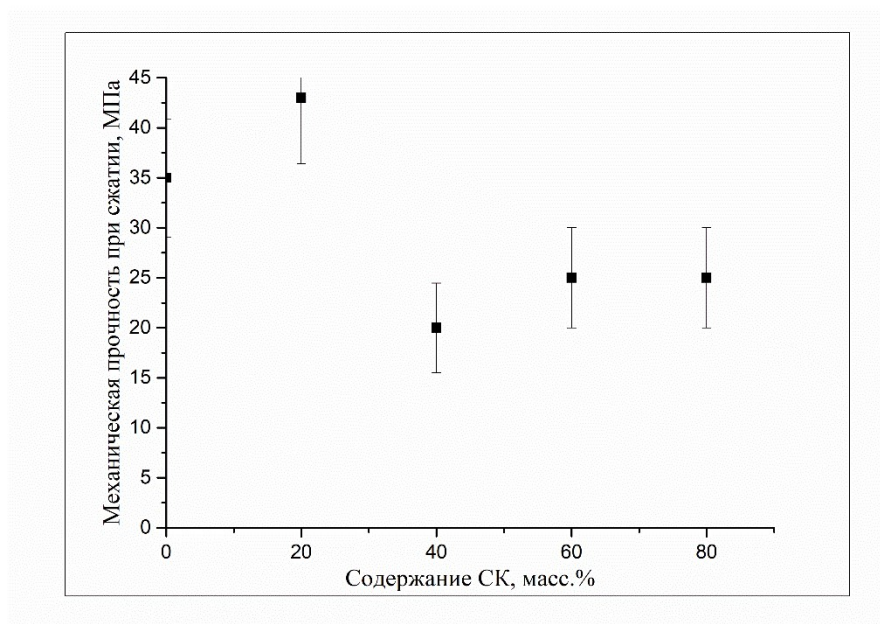


Рисунок 19 – Влияние состава цементных материалов серии 3 на механическую прочность

Подобие фазового состава и микроструктуры определяли близость механических свойств в зависимости от соотношения исходных компонентов. Некоторое снижение прочности можно объяснить большей дисперсностью АКФ по сравнению с α -ТКФ. Это позволяло распределять более равномерно порошок АКФ по объему цемента и тем самым получить образцы с более однородной структурой.

Анализ микроструктуры показал, что образец составом 80 α -ТКФ\20СКП имел плотную структуру (рисунок 20 а). Это подтверждало его высокую механическую прочность – 43 ± 2 МПа. При увеличении содержания

СКП, механическая прочность снижалась. Так для материала составом 40α -ТКФ\60СКП механическая прочность составляла 20 ± 2 МПа. На микрофотографии показано, что структура цемента рыхлая (рисунок 20 б).

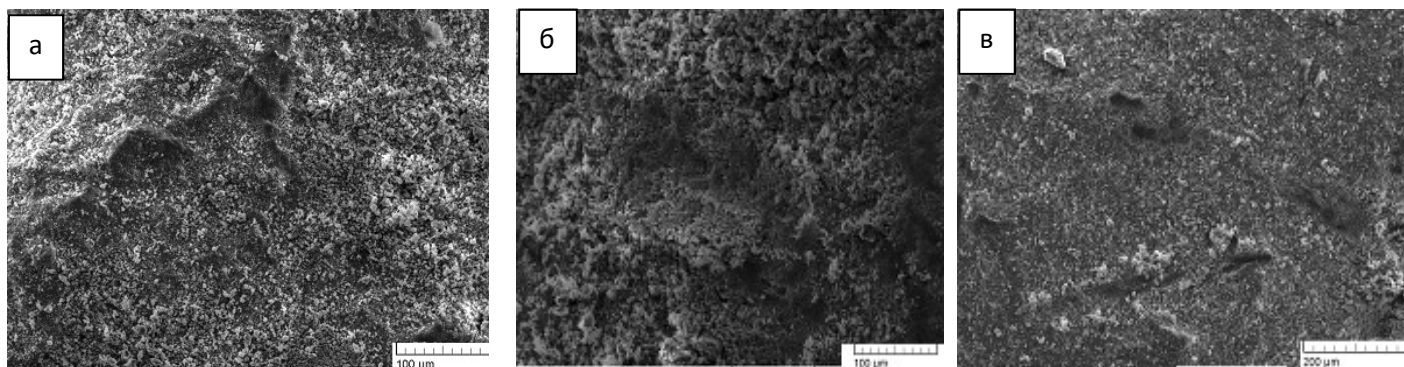


Рисунок 20 – Микроструктура цементов серии 3 в зависимости от состава, где а – 80α -ТКФ/20СКП, б - 40α -ТКФ/60СКП, в - 80α -ТКФ/20СКП

Таким образом, были получены прочные композиционные цементные материалы с широким диапазоном составов. Наибольший интерес представляли материалы, состоящие из 80α -ТКФ\20СКП и 80α -ТКФ\20СКП серии 2 и серии 3. Их механическая прочность достигала 58 ± 3 и 43 ± 2 МПа соответственно, основными фазами являлись α -ТКФ и СКП, а также брушит.

3.2 Исследование влияния порообразующих добавок на свойства цементных материалов системы α -ТКФ – СКП

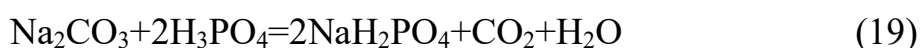
3.2.1 Исследования фазового состава, микроструктуры и механической прочности в зависимости от состава пористых цементных материалов

На данном этапе работы использовали композиционные порошковые материалы системы α -ТКФ – СКП. В качестве цементной жидкости использовали 67% раствор соли фосфата магния. Выбор α -ТКФ в качестве

одного из компонентов был обусловлен его широким применением в медицине [42].

В процессе синтеза образцов к цементному раствору добавляли щелочные соли – карбонат калия и карбонат натрия (КК, НК) до 5 масс.%. Это проводилось с целью увеличения пористости затвердевших цементов, а также снижения кислотности готовых материалов (достижения нейтральной рН среды). Пористость цементных материалов достигалась за счет выделения углекислого газа в процессе схватывания цементного раствора с последующим твердением и образованием цементного камня.

Выделение газа проходило в соответствие с реакциями:



Составы цементов указаны в таблице 10.

Таблица 10 – Составы и свойства пористых цементных материалов

№ образца	Содержание СКП, масс.%	Добавка	Время схватывания, мин	Плотность, г/см ³	Пористость, %	Механическая прочность, МПа
1д	20	КК	13 - 14	1,8	11	24,5±3
2д	80	КК	12 - 13	1,78	12	15,6±2
3д	20	КН	3 - 4	1,4	31	3,5±1
4д	80	КН	2 - 3	1,3	38	1,3±1

Данное соотношение компонентов было выбрано исходя из полученных выше результатов (рисунок 21), где для материалов с соотношением

20СКП/80α-ТКФ была достигнута наибольшая прочность, при этом материалы с соотношением компонентов 80СКП/20α-ТКФ были взяты для исследования динамики изменения свойств.

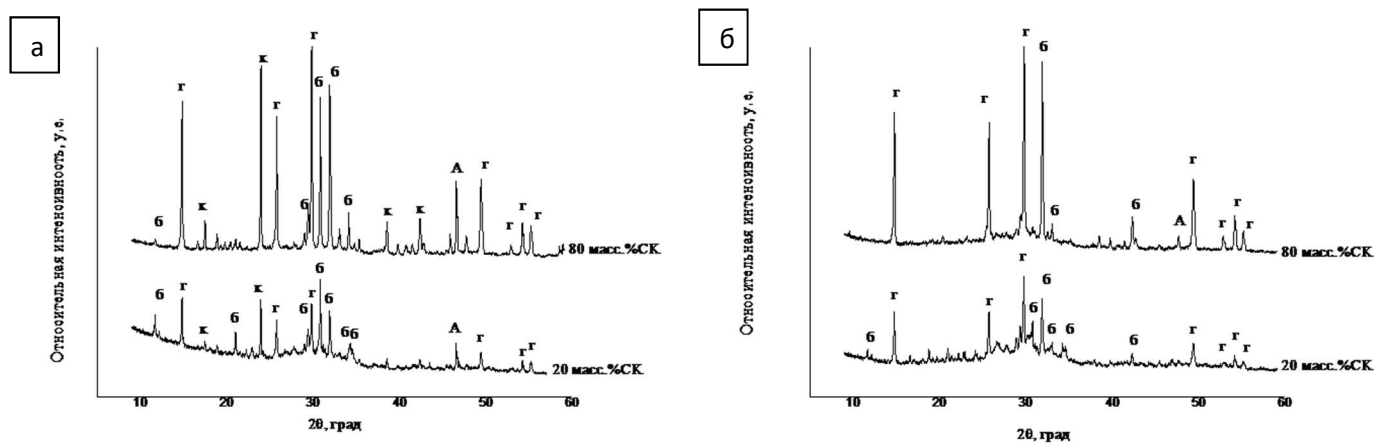


Рисунок 21 – Дифрактограмма пористых цементов, содержащих КК (а) и НК (б) добавку, где γ – полуводный сульфат кальция, А – аморфный фосфат кальция, б – брушит

Как видно из таблицы 10 пористость и время схватывания цементов напрямую зависела от состава порообразующей добавки. Так для материалов 1д и 2д, в состав которых входил карбонат калия, время схватывания составляло 12 – 14 минут, в отличие от цементов 3д и 4д, где время схватывания составляло всего 2 – 4 минуты. Как известно из литературных данных, соли натрия ускоряют протекание химических реакций [98]. Таким образом, за счет быстрого времени схватывания, углекислый газ не успевал полностью выделиться во время протекания химической реакции и оставался «замурованным» в цементном камне. За счет этого внутри цемента образовалась поровая структура (пористость 31 – 38%). В случае с добавкой карбоната калия, химическая реакция между компонентами проходила умеренно, все компоненты успевали взаимодействовать между собой. Пористость таких материалов составляла 11 – 12%.

Исследование РФА пористых цементных материалов показало содержания основных фаз, таких как брушит, полуводный СК и АКФ. С увеличением содержания исходного α -ТКФ, пики, относящиеся к фосфатам кальция, становились интенсивнее, такая же тенденция наблюдалась в случае увеличения фазы СКП (рисунок 21). Т.е. интенсивность пиков фосфатов кальция и СКП менялась пропорционально содержанию исходных компонентов.

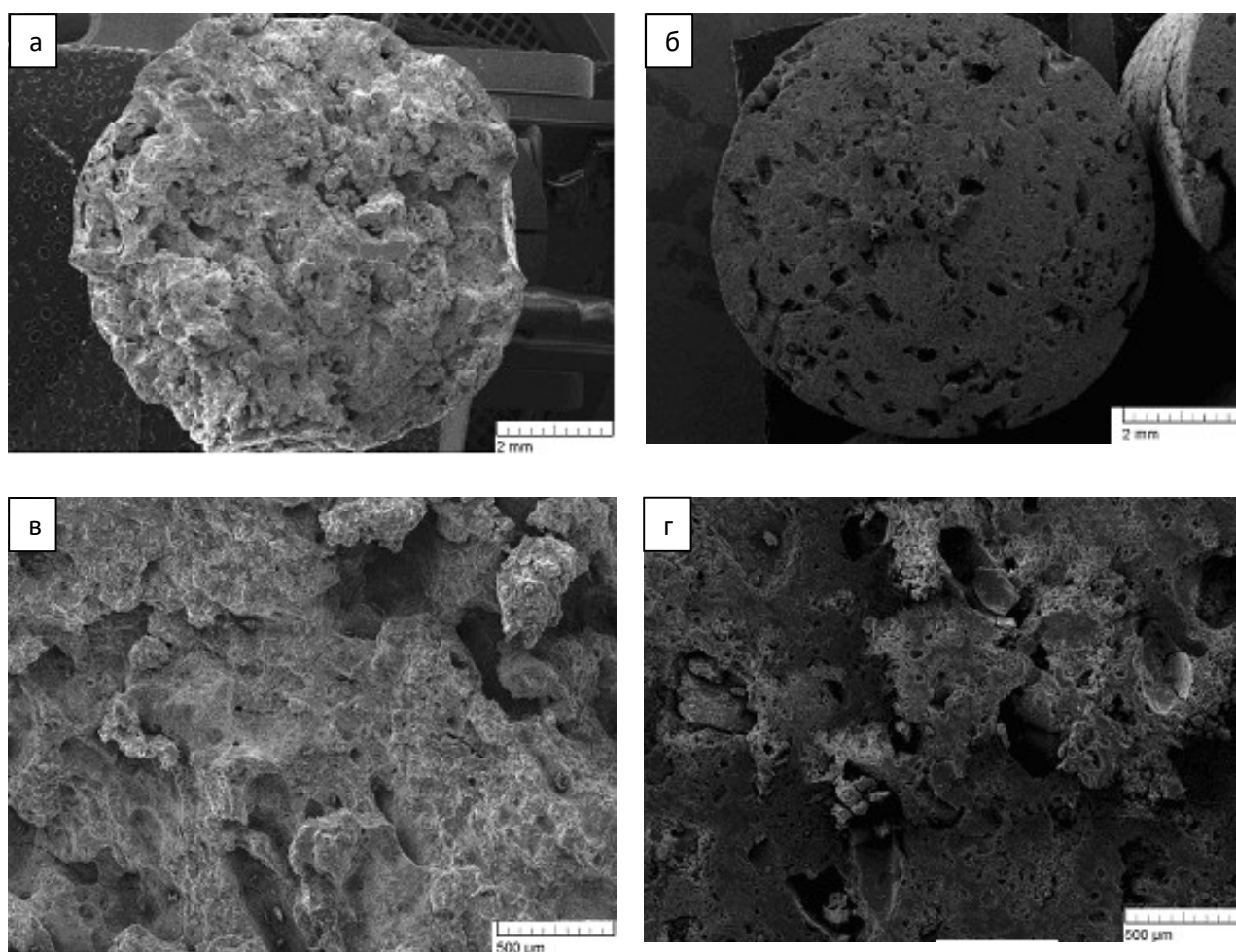


Рисунок 22 – Микроструктура цементов 1д (а, в) и 2д (б, г) состава

Микрофотографии цементов, содержащих добавку карбоната калия, демонстрировали более плотную структуру для материалов 1д (рисунок 22 а,в) по сравнению с 2д (рисунок 22 б,г). Размер пор для цемента 1д – 70 – 100 мкм, для 2д – 100 – 170 мкм. Это связано с большим содержанием СКП в цементе 2д.

Для цементов, содержащих добавку карбонат натрия, структура при преобладании СКП содержала более крупные поры, чем у материалов с преобладанием α -ТКФ. Размер пор у цемента 3д около 200 – 250 мкм, а у 4д – более 700 – 900 мкм (рисунок 23 в, г).

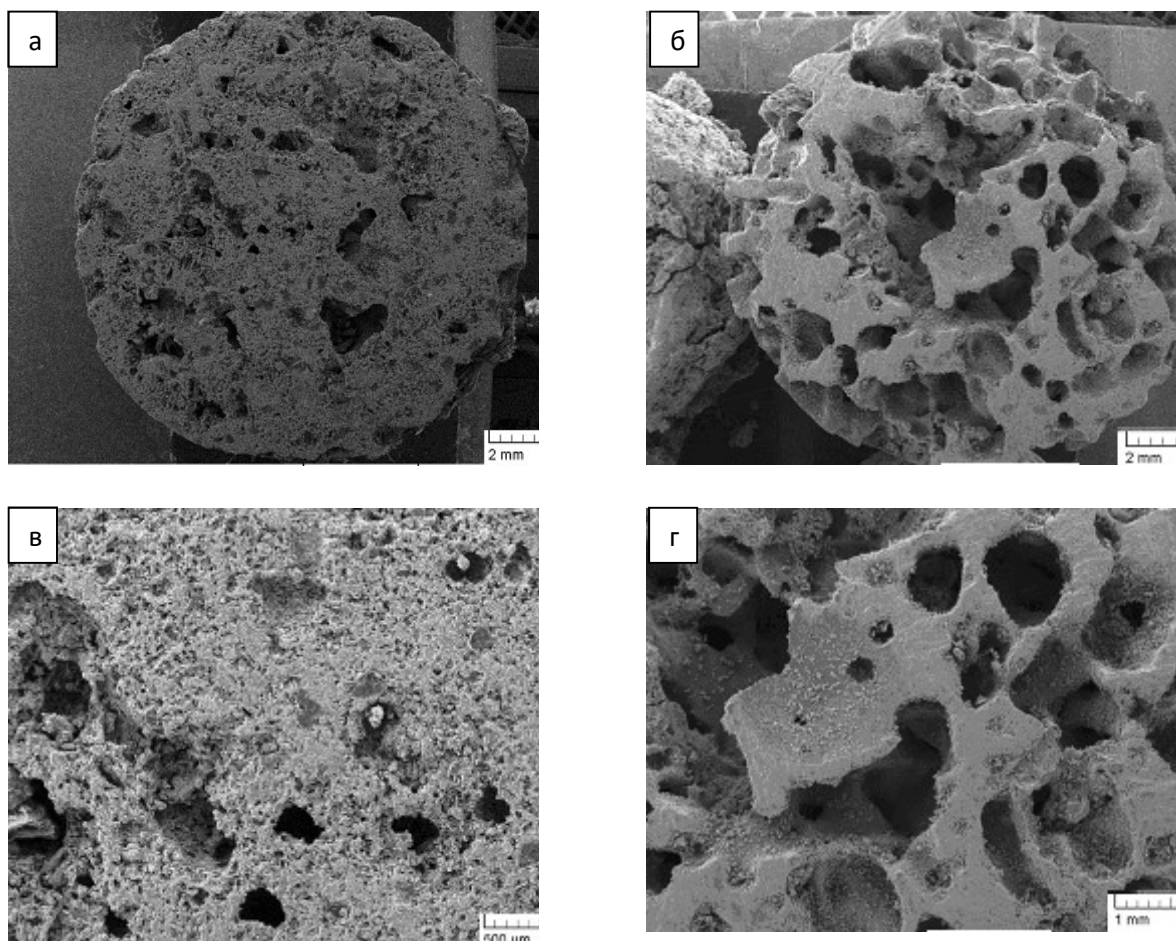


Рисунок 23 – Микроструктура цементов 3д (а, в) и 4д (б, г)

Были проведены испытания механической прочности полученных образцов при сжатии. Как видно из таблицы 10, с увеличением пористости, прочность уменьшалась. Это доказал анализ микроструктуры образцов, где материалы, содержащие добавку карбоната натрия, характеризовались размером пор до 900 мкм по сравнению с цементами, содержащими добавку КК и размером пор до 250 мкм (рисунок 23 а,б).

3.2.2 Зависимость биодegradации цементных материалов в изотоническом растворе от их состава

Растворимость пористых материалов на основе α -ТКФ – СКП исследовали в 0,9% физиологическом растворе NaCl. Для этого была изготовлена партия образцов для длительных испытаний (0, 7, 14, 28 и 56 суток). На контрольные сутки образцы вынимали из физиологического раствора и исследовали изменения массы образцов, микроструктуру и поэлементный анализ компонентов. В таблице 11 приведены потери массы образцов в результате их выдержки в физ. растворе.

Таблица 11 – Массовые потери цементных образцов в зависимости от времени выдержки в физиологическом растворе

Время выдержки, сутки	Массовые потери, масс. %				
	Образец	1д	2д	3д	4д
7		19	17	26,1	31
14		20,4	23	26,3	35
28		22	27	31, 2	40
56		48	50	40	45

Как показано в таблице 11 с увеличением времени выдержки в физиологическом растворе, массовые потери цементных материалов увеличивались. Для материалов с большим содержанием СКП процесс растворения шел более интенсивно.

Данные таблицы подтверждали микрофотографии деградации цементов (рисунок 24). Для материала 3д с содержанием 80 α -ТКФ\20СКП и добавкой

карбоната натрия, на 7 сутки размер пор составлял 250 – 500 мкм, массовые потери – 26%. Такая же тенденция наблюдалась и для образца 4д. К концу эксперимента материалы теряли до 40 – 45% своего веса и начинали разрушаться.

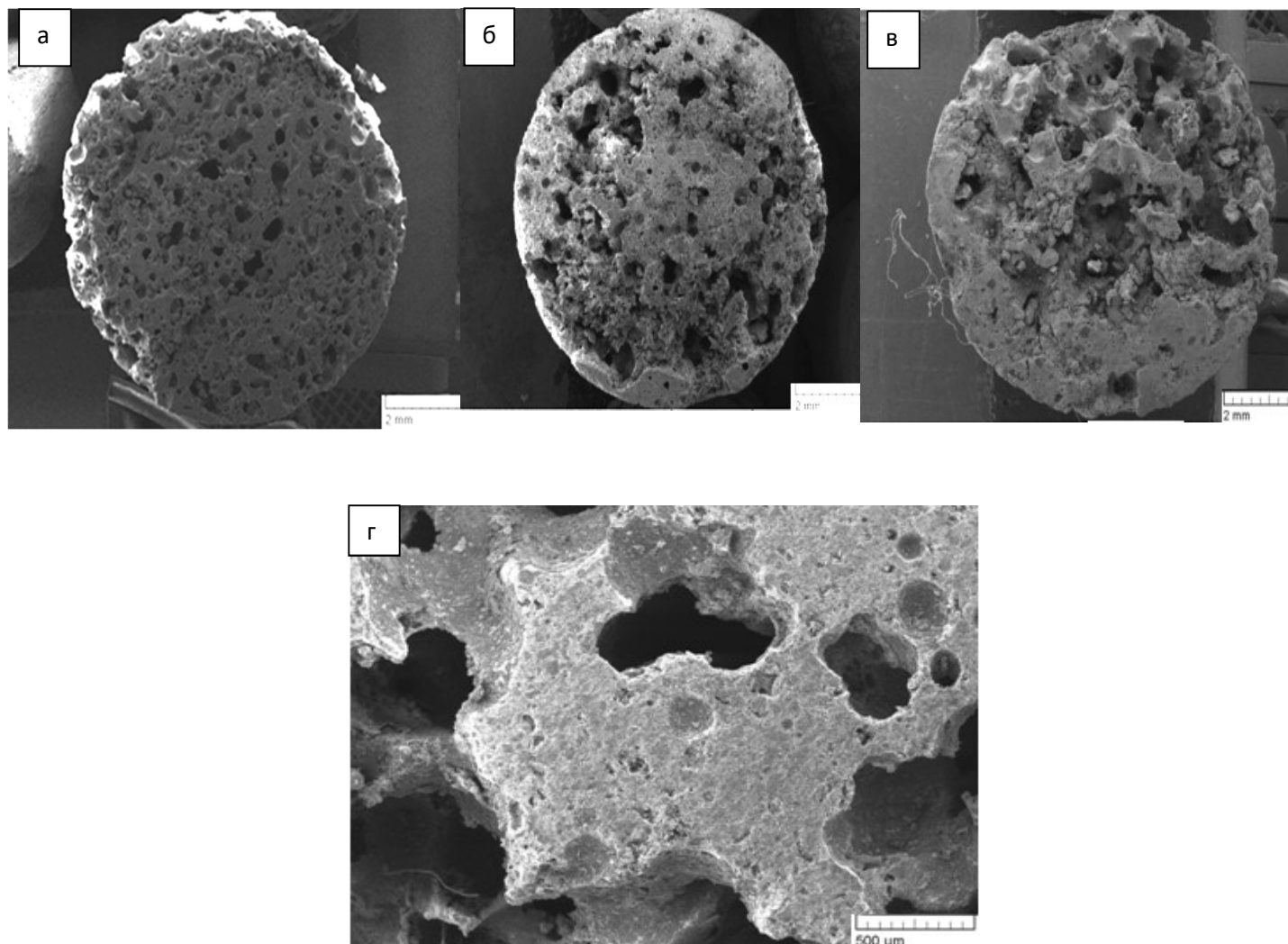
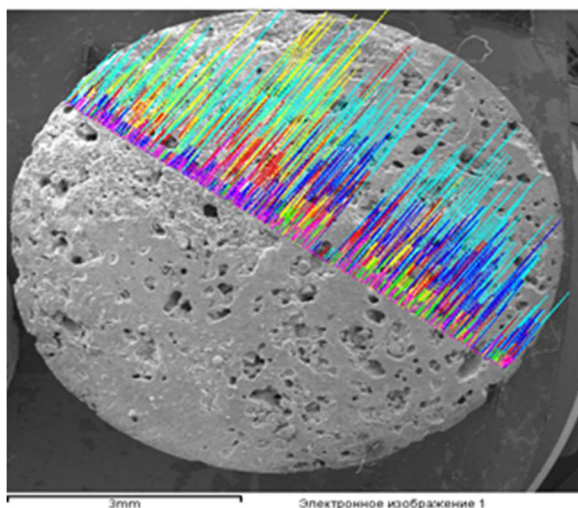
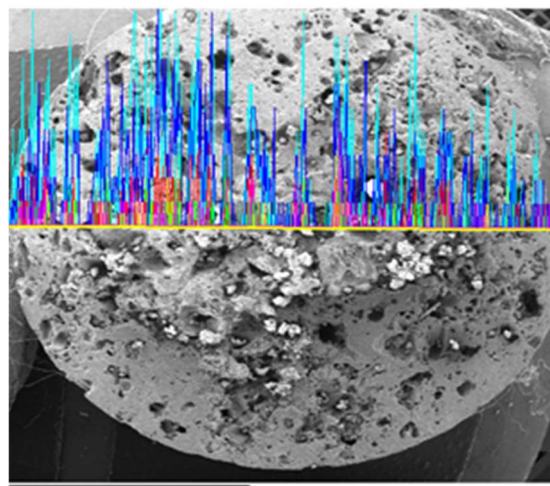


Рисунок 24 – Микроструктура деградации пористых образца 3д, составом 80α-ТКФ\20СКП, где а, г – 7 сутки после выдержки в физиологическом растворе, б – 14 сутки, в – 56 сутки.

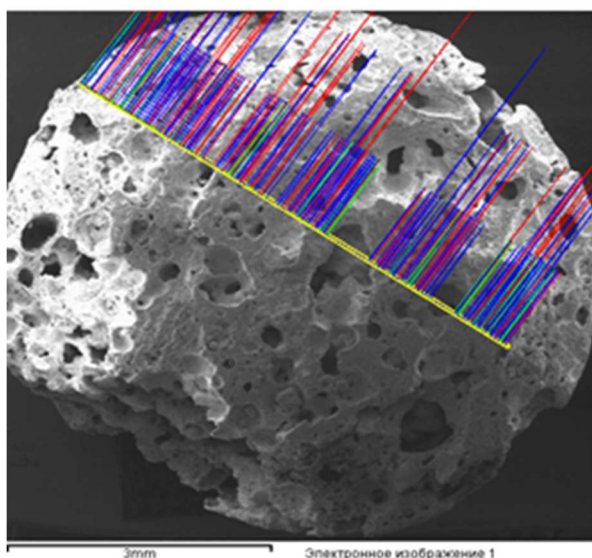
Исследования энергодисперсионного анализа показали, что для образца 1д, состава 80α-ТКФ\20СКП с добавкой карбонат калия, в начале эксперимента на 0 сутки регистрировался элемент серы (сиреневый спектр). Распределение его по всей площади образца было равномерное (рисунок 25).



а



б



в

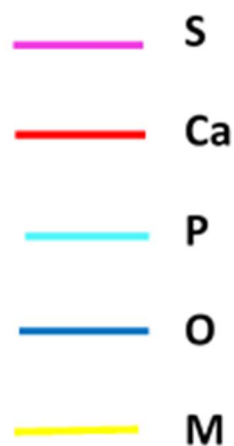


Рисунок 25 – Распределение элементов по площади шлифа образца 1д на:
 а – 0 сутки, б – 28 сутки, в – 56 сутки эксперимента, где
 сиреневый спектр – сера, красный – кальций, зеленый – кислород,
 бирюзовый – фосфор, желтый - магний

К 28 суткам спектры для элемента серы были уже менее интенсивны. Это подтверждалось данными по растворимости (таблица 11). Так на 7 сутки массовые потери составляли 19%, а на 28 сутки – 22%, а уже к 56 суткам элемент

серы не регистрировался, массовые потери составляли 48%, что подтверждало полное растворение СКП.

Таким образом, можно отметить, что цементы, содержащие добавку карбоната калия, получались наиболее прочные, их время схватывания составляло 12 – 14 минут, что вполне приемлемо для цементных материалов. Образцы 1д имели высокую прочность – до $24,5 \pm 3$ МПа, массовые потери составляли 48%, при этом их пористость была всего 11 – 12%, размер пор до 100 мкм. Видимо, такая потеря в весе свидетельствовала о наличии нано пор, которые равномерно распределены по всему объему образца.

Наибольшую пористость имели материалы 4д – 38%, содержащие добавку карбоната натрия. Массовые потери к концу эксперимента составляли 45%. Это вполне объяснимо микроструктурой, где показано, что размер составлял до 900 мкм.

4 Замещенные β -трикальцийфосфатные материалы

После проведения исследований материалов, полученных методом прямого механического смешения, было принято решение получить материалы на основе системы β -ТКФ – СК методом химического соосаждения солей. Синтез материалов приведен в главе 2. После синтеза были исследованы физико – химические и механические свойства полученных порошковых материалов.

4.1 Порошковые β -трикальцийфосфатные материалы, содержащие сульфат - анионы

4.1.1 Зависимость микроструктуры и фазового состава от температуры термообработки β -трикальцийфосфатных порошковых материалов, содержащие сульфат - анионы

По данным РФА для материалов, термообработанных на 900°C основной фазой являлся β -ТКФ. Для чистого β -ТКФ наблюдалось присутствие фазы пирофосфата кальция – $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$. При увеличении содержания сульфат – групп фаза $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ исчезала и уже при 5 мол. % содержанием сульфат – групп не регистрировалась [92, 93, 95]. Для состава с 20 мол. % содержанием сульфат – групп наблюдалось образование 2-й фазы – гидроксиапатита (рисунок 26). Такое фазообразование нетипично для β -ТКФ, по – видимому, сульфат – группы способствовали образованию β -ТКФ с апатитовой структурой.

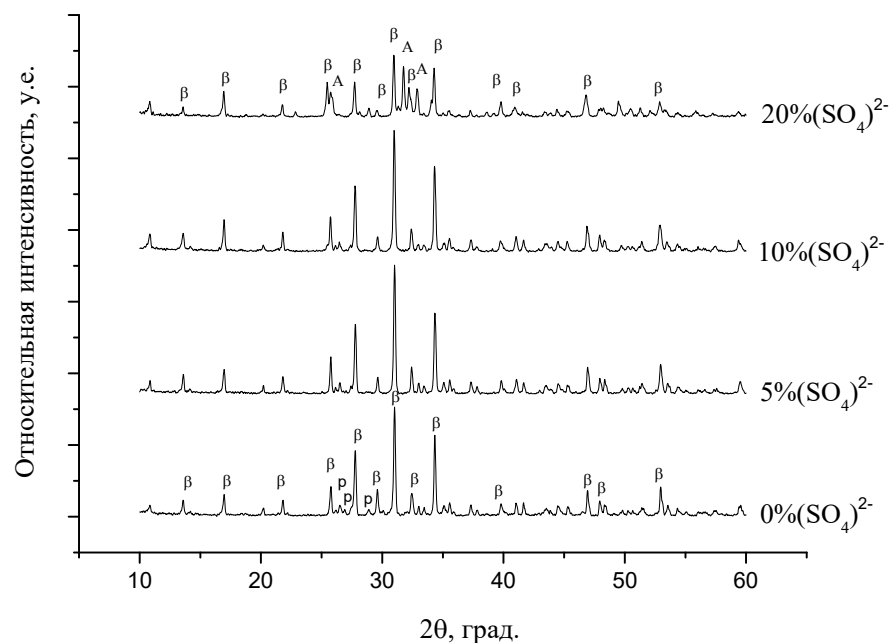


Рисунок 26 – Дифрактограмма β -ТКФ порошков, содержащих сульфат – анионы, прокаленных на 900°C , β – β -ТКФ, А – гидроксиапатит, р – пирофосфат кальция.

По данным РФА, β -ТКФ формируется в структуре витлокита, тригональная сингония, при этом расчеты параметров кристаллической решетки близки к справочным данным (базы данных JCPDS PCPDFWIN, карта №70 – 2065). Расчеты параметров кристаллической решетки показали, что при увеличении содержания сульфат – анионов в β -ТКФ наблюдается увеличение параметра $a - c$ 10,43 до 10,45 Å, параметра $c - c$ 37,349 до 37,409 Å и объема ячейки с 3521 Å³ до 3538 Å³, что можно объяснить усилением искажения кристаллической решетки по мере увеличения количества сульфат – групп (таблица 12). Это предполагает образование твердого раствора замещения за счет близости ионных радиусов сульфат – групп (2,95 Å) и фосфат – групп (3 Å) [100].

Таблица 12 – Параметры кристаллической решетки β -ТКФ порошков, содержащих сульфат – анионы

Количество сульфат – аниона	a, Å	c, Å	V, Å ³
Теоретический	10,439	37,375	3527
0	10,434	37,349	3521
1	10,431	37,353	3519
5	10,424	37,32	3511
10	10,433	37,39	3524
20	10,451	37,409	3538

Анализ микроструктуры после термообработки на температуру 900°C показал, что порошки в основном состояли из агрегатов различного размера и формы. Частицы изменяли свой размер и форму с увеличением степени замещения. Так для β -ТКФ частицы были округлые, размером от 500 нм до 1 мкм, а для материала с 20 мол. % содержанием сульфат – групп частицы представляли собой пластинки размером от 1 до 7 мкм (рисунок 27).

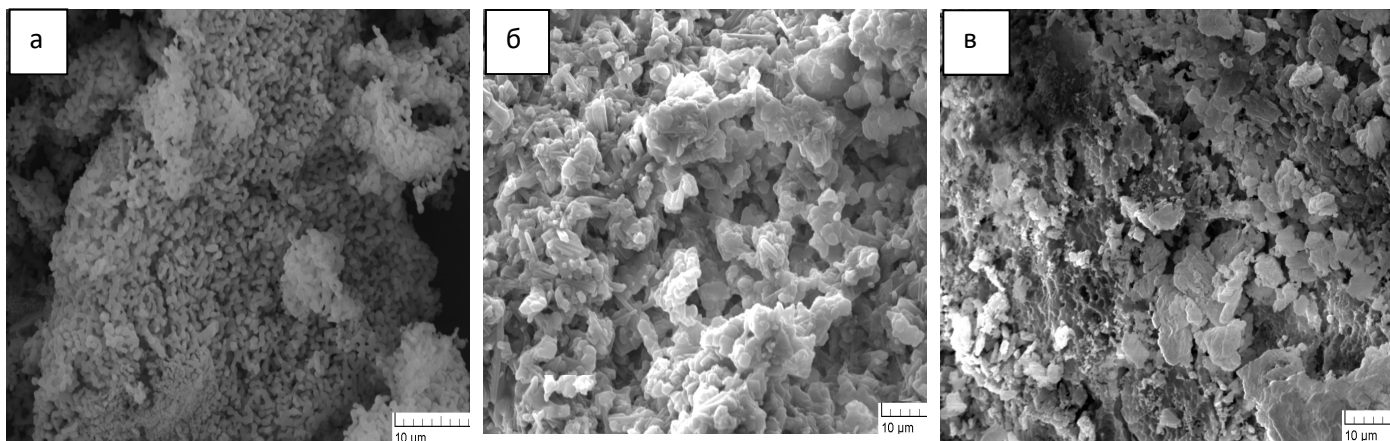


Рисунок 27 – Микроструктура термообработанных на 900°C β -ТКФ порошков, содержащих сульфат – анионы, где а – β -ТКФ, б – 10 мол. % замещения, в – 20 мол. % сульфат – групп

При повышении температуры термообработки до 1200°C, начиная с небольших концентраций (0 мол. %, 5 мол. %) наблюдалось образование α -ТКФ [24] (рисунок 28).

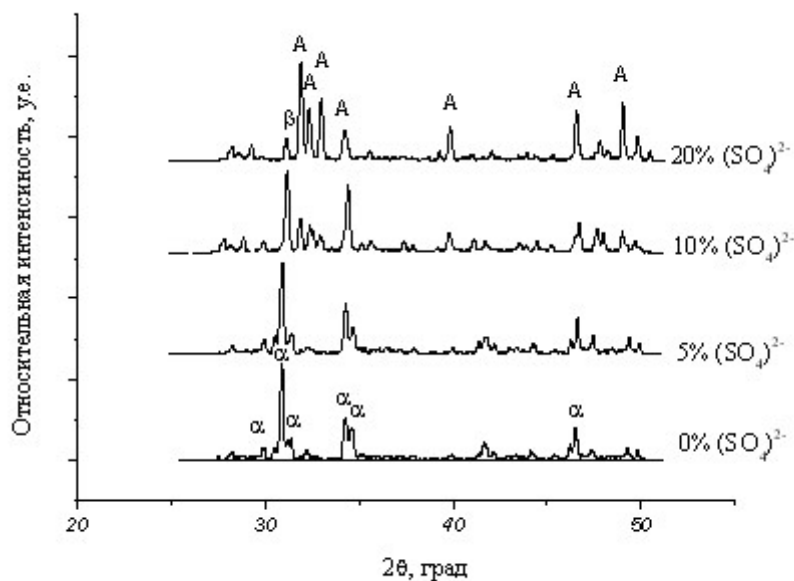


Рисунок 28 – Дифрактограмма β -ТКФ порошков, содержащих сульфат – анионы, прокаленных на 1200°C , β – β -ТКФ, А – гидроксиапатит, α – α -ТКФ.

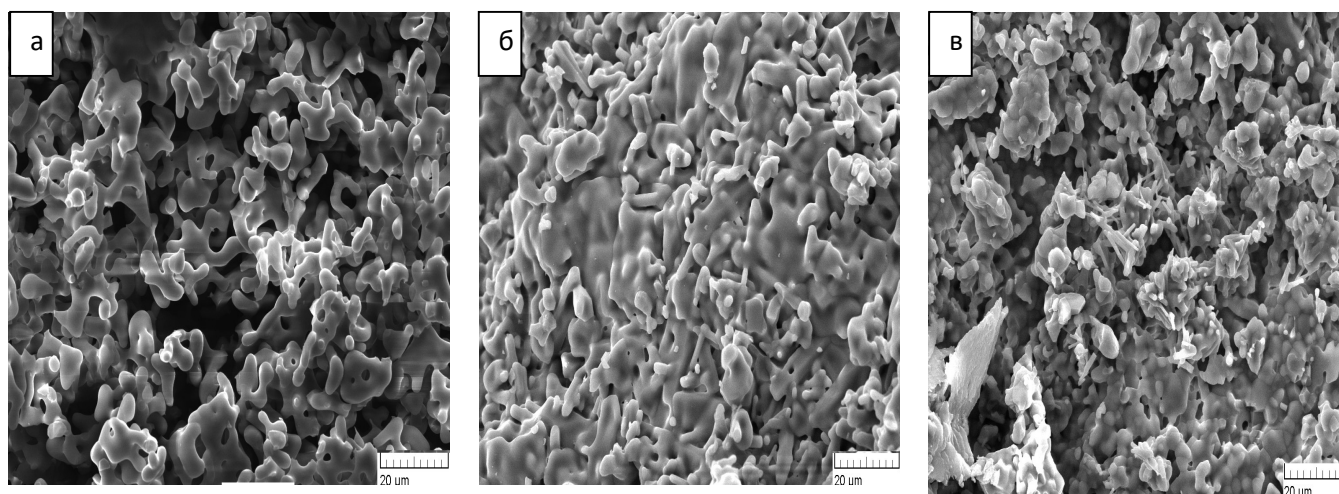


Рисунок 29 – Микроструктура термообработанных на 1200°C β -ТКФ порошков, содержащих сульфат – анионы, где а – β -ТКФ, б – 10 мол. % замещения, в – 20 мол. % сульфат – групп

Для материалов с 10 и 20 мол. % содержанием сульфат – групп перехода фазы β -ТКФ в α -ТКФ не происходило, но появлялась вторая фаза –

гидроксиапатит, количество которой возрастало с увеличением замещающего аниона [91]. Об это говорило усиление интенсивности пиков, принадлежащих фазе апатита.

На микрофотографиях показано, что с увеличением содержания сульфат – групп на округлых частицах β -ТКФ начинали расти небольшие призматические кристаллы размером 5 до 10 мкм. (рисунок 29 б, в). При 20 мол. % содержании сульфат – групп частицы вытягивались в тонкие иголки размером 3 до 9 мкм.

4.1.2 Исследование ИК – спектроскопии в зависимости от температуры термообработки

На рисунке 30 представлены ИК – спектры порошковых материалов, содержащих сульфат – анионы, термообработанных при температурах 900 и 1200°C.

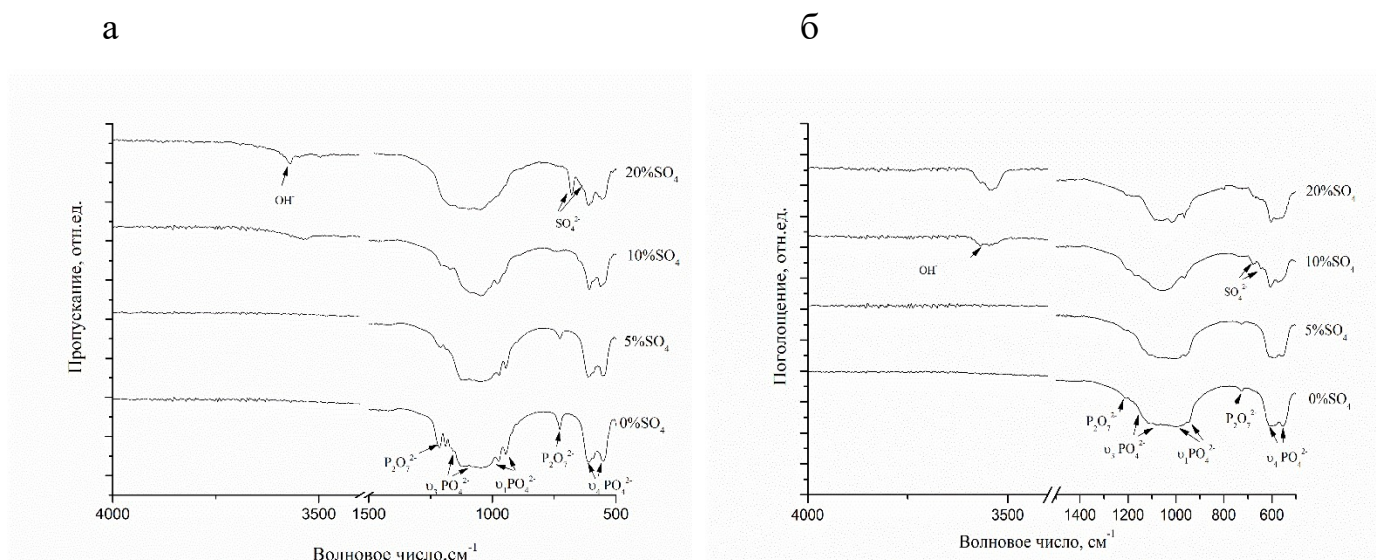


Рисунок 30 – ИК – спектры порошков β -ТКФ, содержащих сульфат – группы, термообработанных при температурах 900°C (а) и 1200°C (б).

После синтеза и термообработки наблюдались полосы поглощения $(\text{PO}_4)^{3-}$ групп соответствующие модам ν_4 при $550 - 610 \text{ см}^{-1}$, ν_1 при $946 - 974 \text{ см}^{-1}$ и ν_3 при $1100 - 1169 \text{ см}^{-1}$. Для чистого β -ТКФ наблюдалась полоса поглощения, принадлежащая пирофосфату кальция при 722 и 1212 см^{-1} . Как показано на рисунке 30, с увеличением содержанием сульфат – групп, $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ исчезал, подобный эффект описан в работах [91, 92]. Также с увеличением содержания сульфат – анионов появлялись полосы поглощения, принадлежащие сульфат – группам – 640 и 688 см^{-1} .

Так при термообработке на 900°C полосы поглощения сульфат – групп появлялись при 20 мол. %, а при термообработке на 1200°C уже при 10 мол. % содержания сульфат – аниона. Особый интерес представляло собой образование полос поглощения, соответствующих OH^- – группам – 3573 см^{-1} . Так для материалов, термообработанных на 900°C , OH^- – группы появлялись при 20 мол. %, а для материалов, прокаленных на 1200°C при 10 мол. % содержания сульфат – анионов. Похожий эффект описан в работе [91], что дало основание полагать присутствие гидроксиапатита. Это явление связано с дестабилизацией структуры сульфат – содержащего β -ТКФ с увеличением температуры термообработки и его частичным переходом в апатитовую фазу.

4.2 β -Трикальцийфосфатные цементные материалы, содержащие сульфат – анионы

Из сульфат – содержащих β -ТКФ порошковых материалов синтезировали цементы путем смешения порошков, прокаленных после синтеза на 200°C , с 0, 1, 5, 10 и 20 мол. % содержанием сульфат – групп и кислым 67% раствором фосфата магния в соотношении 1/1. Для получения цементов со значениями рН близкими к нейтральному, в их состав вводили гидроксид калия до 5 масс. %.

4.2.1 Влияние степени замещения на фазовый состав и время схватывания цементных материалов

В соответствии с дифрактограммами, составы до 10 мол. % содержания сульфат – анионов, состояли из брушита и АКФ (рисунок 31). Все фазы имели низкую степень закристаллизованности, по количественному соотношению и характеру пиков отличались друг от друга незначительно. В цементах, содержащих 20 мол. % сульфат – аниона, появлялась фаза сульфата кальция полуводного. Во всех цементах также наблюдался рефлекс, принадлежащий кислой соли фосфата калия. Формирование брушита и полуводного гипса в результате взаимодействия исходных компонентов может происходить в результате следующей реакции:

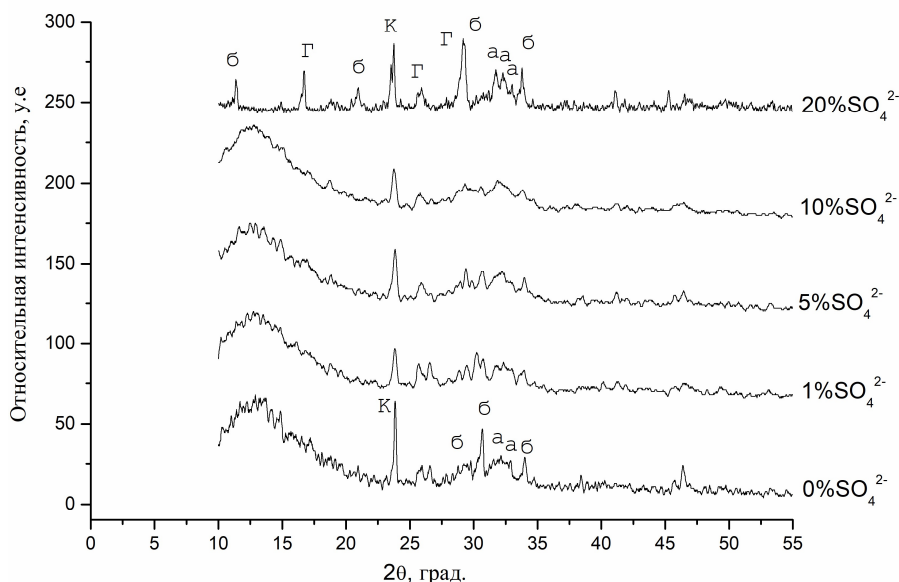
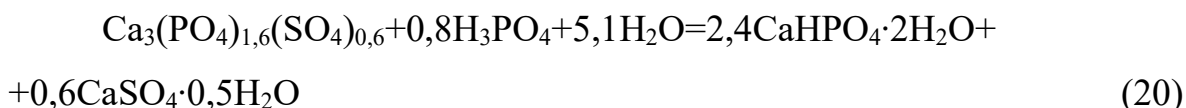


Рисунок 31 - Дифрактограммы цементных материалов на основе β-ТКФ, содержащие сульфат – анионы, где α-аморфный фосфат кальция, β – брушит, γ- полуводный сульфат кальция

Для данных цементов характерно увеличение времени схватывания с 4 минут для β -ТКФ цементов до 11 минут для цементов с 10 мол. % содержанием сульфат - аниона. При переходе к материалам с 20 мол. % содержанием сульфат – аниона, время схватывания резко сокращалось (рисунок 32). Это связано с образованием СКП. При этом часть свободной воды (жидкой фазы) переходило в химически связанную воду кристаллогидрата с соответствующим повышением вязкости раствора и последующим твердением.

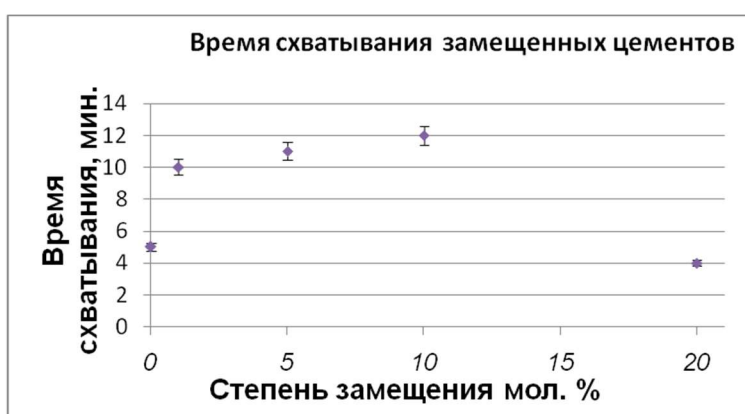


Рисунок 32 – Зависимость времени схватывания от степени замещения материалов

4.2.2 Влияние фазового состава на механическую прочность и микроструктуру цементных материалов

Для исследования механической прочности готовили цементные образцы цилиндрической формы размером 4 (диаметр) x 8 (длина) мм. Готовую цементную пасту помещали в тефлоновые формы до полного затвердевания. Измерение механической прочности проводили на 3 – 5 образцах.

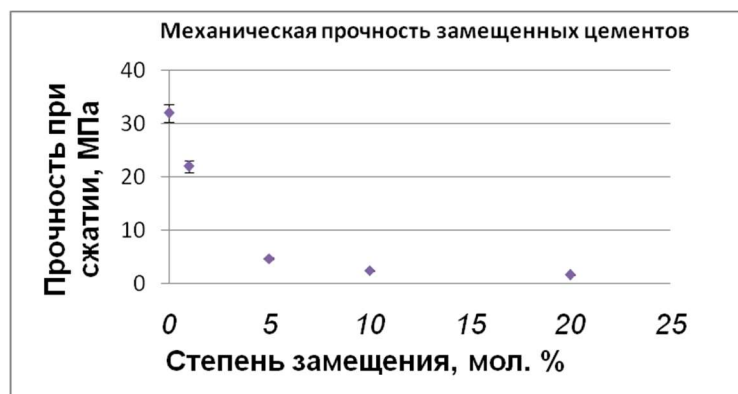


Рисунок 33 – Механическая прочность цементов в зависимости от содержания сульфат - аниона

С увеличением содержания сульфат – аниона прочность цементов снижалась (рисунок 33). Это связано с увеличением размера частиц материалов (рисунок 34).

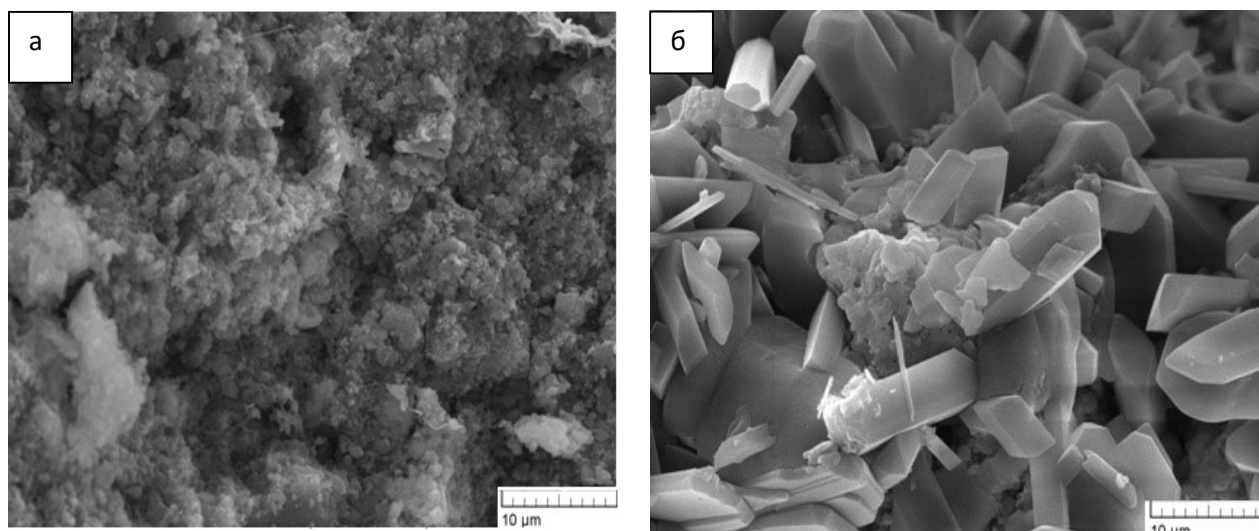


Рисунок 34 – Микроструктура замещенных β -ТКФ цементных материалов, где а – 5 мол.% , б - 20 мол.% сульфат - аниона

Так для 5 мол. % структура мелкозернистая, с плотным срастанием частиц между собой. Размер частиц составлял 1 – 5 мкм. Цементы с 20 мол. %

характеризовались плотным каркасом. Частицы имели пластинчатую форму размером 4 – 10 мкм.

Из полученных данных выявлено влияние сульфат – групп на структуру β -ТКФ. При высоких содержания сульфат – аниона (10 и 20 мол. %) при термообработке 900 – 1200°C происходил частичный переход сульфат – замещенного β -ТКФ в гидроксиапатит.

Из порошковых материалов с 20 мол. % степенью замещения фосфат – групп на сульфат – группы получали цементные материалы, состоящие из смеси фаз СКП, брушита и АКФ.

5 α -Трикальцийфосфатные цементные материалы, содержащие гранулы из сульфата кальция

Для синтеза цементных материалов, содержащих гранулы, использовали высокотемпературный α -трикальцийфосфат и 67% раствор фосфата магния, а также гранулы из сульфата кальция. Цементную матрицу получали по уравнениям (16) и (17). Гранулы были получены механическим методом, описанным в главе 2.

5.1 Исследование микроструктуры гранул СК

Размер гранул варьировался в диапазоне 100 – 200 мкм, а также 300 – 470 мкм. Микроструктура представляла собой агломераты, состоящие из частиц игольчатой и пластинчатой формы размером от 2 до 10 мкм (рисунок 35). Как показано на рисунке 35 б частицы имели плотный контакт между собой.

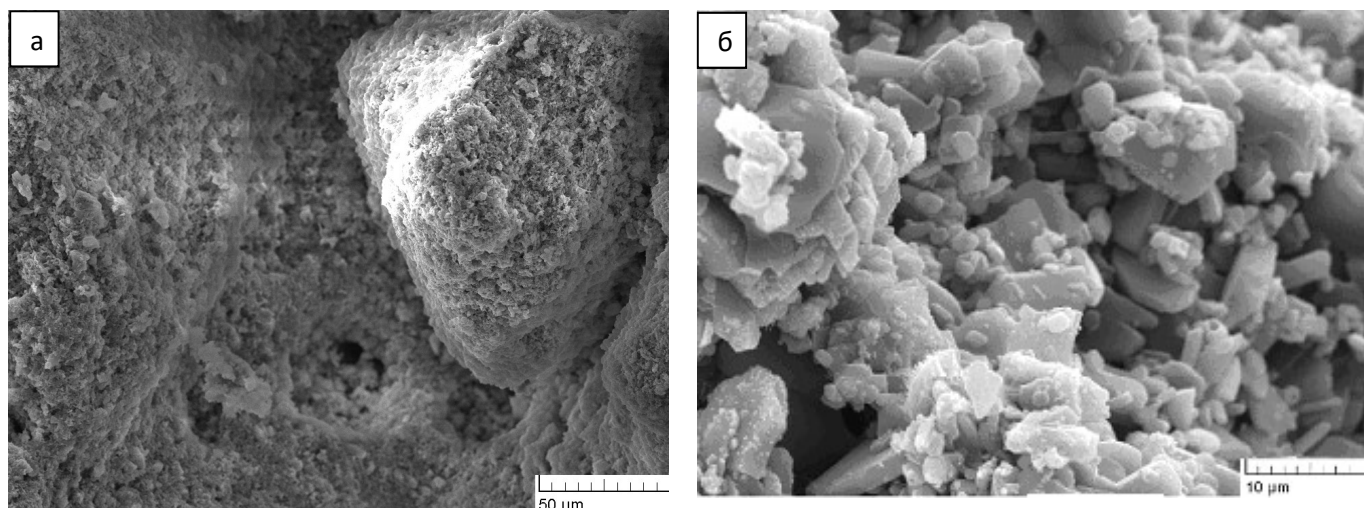


Рисунок 35 – Микрофотография гипсовой гранулы размером 100 – 200 мкм, где
а – общий вид гранулы, б – структура гранулы

5.2 Исследование влияния размера гранул на время схватывания, механическую прочность и микроструктуру цементных материалов

Композиционные цементные материалы получали по следующей схеме:

1. Смешение α -ТКФ с цементной жидкостью основе 67 % раствора соли фосфата магния на предметном стекле до образования цементной пасты исходя их уравнений (16, 17).
2. Добавление в полученную цементную пасту гранул СК заданной фракции (100 – 200 или 300 – 470 мкм). Для получения цементов с рН близким к нейтральному добавляли гидроксид калия в количестве до 5 масс. %.

Составы синтезированных цементных материалов приведены в таблице 13. Выбор такого количества гранул обоснован тем, что при введении гранул размером 100 – 200 мкм более 50 масс. % взаимодействия между компонентами не происходило и цементы рассыпались. Это связано с увеличением площади контакта между гранулами. Такая же тенденция наблюдалась при введении

гранул с размером 300 – 470 мкм. Площадь контакта между матрицей α -ТКФ и гранулами СК уменьшалась.

Таблица 13 – Составы и время схватывания и механическая прочность цементных материалов, содержащих гранулы

Обозначение образца	Размер гранул, мкм	Количество гранул, масс. %	Время схватывания, мин	Механическая прочность, МПа
α -ТКФ	0	0	7 – 8	35±2
1а	300 – 470	25	17 – 18	15±1
2а	300 – 470	50	6 – 7	22±1
3а	100 – 200	25	18 – 19	30±2
4а	100 – 200	50	7 – 8	28±2

Исследования времени схватывания показали, что с увеличением количества гранул (до 50 масс. %) время схватывания сокращалось. Это связано с тем, что гранулы имели поры размером менее 5 мкм, за счет чего часть жидкости из цементной пасты попадала в поры и ее количество становилось меньше (рисунок 36). Соответственно, у материалов с содержанием 50 масс. % гранул время схватывания составляло 6 – 8 минут, а для материалов с 25 масс. % гранул – 17 – 19 минут.

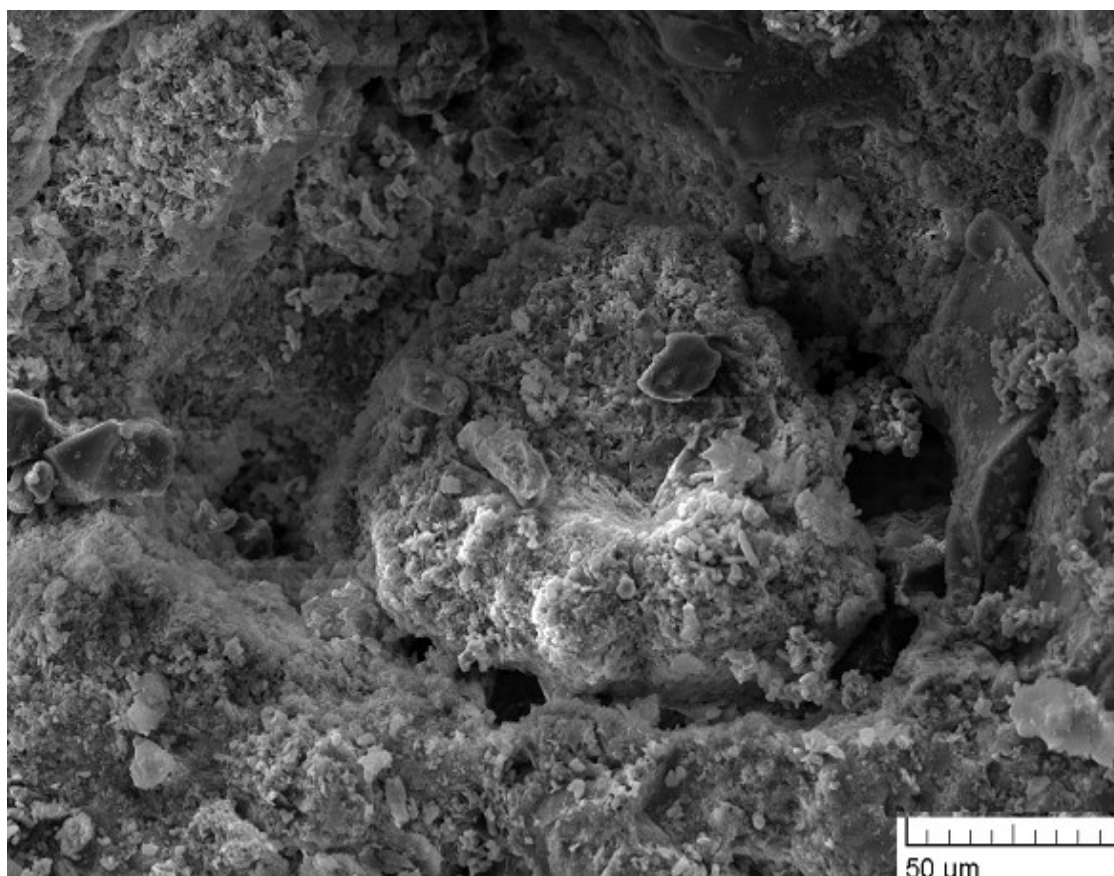


Рисунок 36 – Микрофотография гранулы СК, размером около 100 мкм.

Размер гранул на время схватывания влиял незначительно, так, например, для цементов 1а и 3а время схватывания составляло 17 – 18 и 18 – 19 минут соответственно, а для 2а и 4а – 6 – 7 и 7 – 8 минут.

Для исследования механической прочности при сжатии готовили образцы размером 8 (длинна) x 4 (диаметр) мм. Полученную цементную пасту помещали в тефлоновую форму до полного твердения. Измерения прочности проводили на 3 сутки на образцах в количестве 3 – 5 штук.

Наиболее высокую прочность показали цементы, содержащие гранулы размером 100 – 200 мкм (28 ± 2 – 30 ± 2 МПа). При этом не было выраженной зависимости от количества содержания гранул по массе. При введении крупных гранул размером 300 – 470 мкм значение прочности было ниже. Из-за большого размера гранул возрастала площадь контактов между ними, а взаимодействие

между цементной матрицей и гранулами уменьшалось (матрица полностью не обволакивала гранулы), что подтверждалось снижением механической прочности (таблица 13). Наиболее близкими характеристиками к цементу α -ТКФ имел материал, содержащий гранулы до 50 масс. % размером 300 – 470 мкм (4а). Так, для α -ТКФ цементов прочность составляла 35 ± 2 МПа, а для материала 4а – 28 ± 2 МПа, время схватывания 7 – 8 минут. Для материалов, содержащих гранулы размером 300 – 470 мкм, наиболее прочным являлся образец 2а – 22 ± 1 МПа, время схватывания – 6 и 7 минут. Такой состав позволял получать композиционные цементные материалы, содержащие гранулы, соответствующие требованиям медицинских цементных материалов [99].

Для исследования микроструктуры готовили шлиф. Готовый цементный образец размером 4(диаметр)х4(длина) мм подвергали механической обработке, а затем промывали в среде ацетона с помощью ультразвукового пальца.

Анализ микроструктуры показал, что цементы содержат гранулы, соответствующие размерам 100 – 200 или 300 – 470 мкм. На рисунке 37 представлена микрофотография образца, содержащего гранулы до 25 масс. % и размером 300 – 470 мкм – 1а. Как видно из рисунка, гранулы были равномерно распределены по всей площади образца.

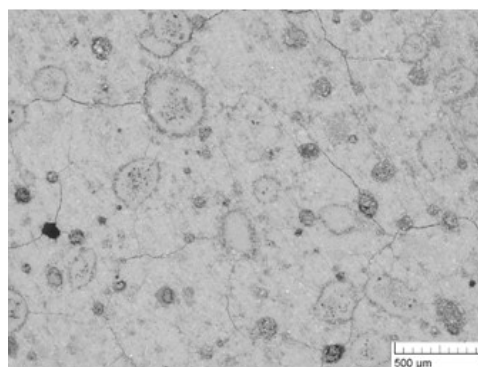


Рисунок 37 – Микрофотография цементного материала 1а, с содержанием гранул до 25 масс.%.

5.3 Зависимость фазового состава от количества и размера гранул

Исследование фазового состава представлено на рисунке 38.

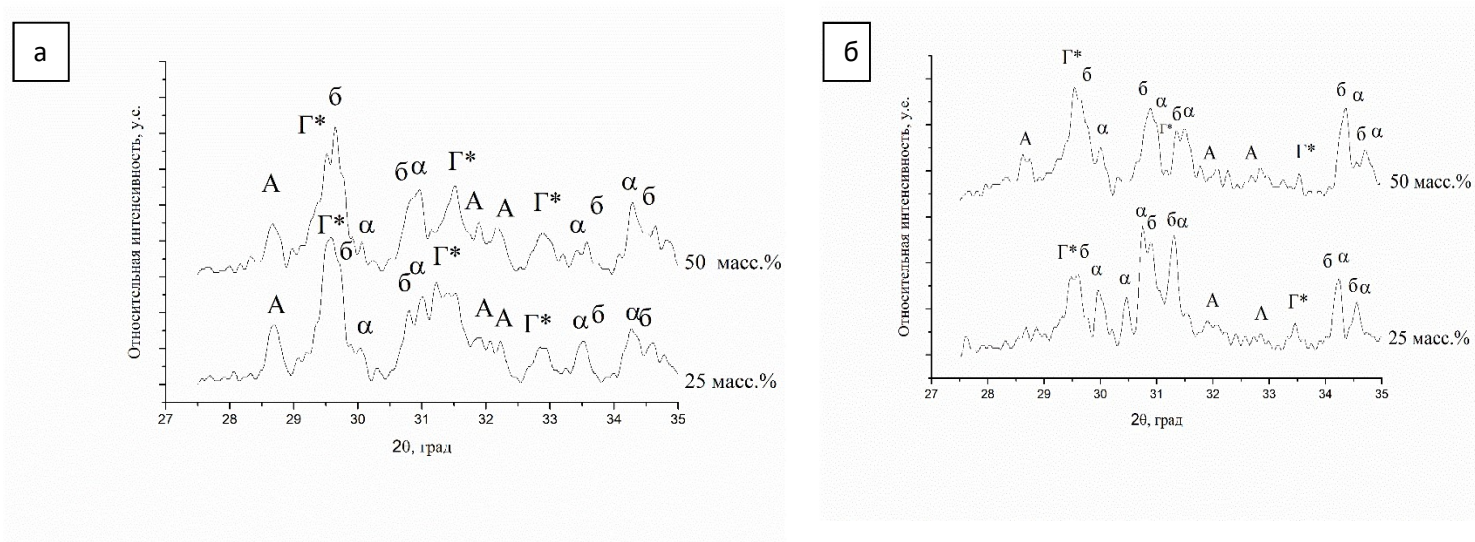


Рисунок 38 – Дифрактограммы композиционных цементов, где а – размер гранул 100 – 200 мкм (3а, 4а), б – размер гранул 300 – 470 мкм (1а, 2а), А – аморфный фосфат кальция, б – брушит, α – α-ТКФ, Γ* – двухводный сульфат кальция.

Основными фазами для материалов 1а – 4а являлись АКФ, брушит, α-ТКФ и двухводный СК. Особых различий по фазовому составу в материалах 1а – 4а не наблюдалось. Брушит являлся результатом реакции между α-ТКФ и кислой цементной жидкостью на основе 67% раствора соли фосфата магния, содержащую фосфорную кислоту (16).

При увеличении содержания α-ТКФ в цементном материале увеличивалось количество фазы α-трикальцийфосфата.

Все синтезированные цементы являлись многофазными, в которых четко различимы фазы СК и ФК. Таким образом это позволило сделать вывод, что были получены композиционные цементы в системе α-ТКФ – СК.

5.4 Формирование микроструктуры при деградации цементных материалов

Исследование растворимости проводили в физиологическом растворе – 0,9% раствор хлорида натрия. Цементные материалы помещали в физиологический раствор на 0, 3, 7, 14 и 30 суток. Деградацию материалов определяли по массовым потерям. Для этого измеряли массу образцов в начале эксперимента, затем в заданные сроки образцы вынимали из физиологического раствора, сушили до полного удаления жидкой фазы при температуре 60°C, измеряли массу и рассчитывали массовые потери по формуле (12) (таблица 14):

Таблица 14 - Массовые потери цементов в зависимости от времени выдержки в физиологическом растворе.

№ образца	Размер гранул, мкм	Количество гранул, масс. %	Массовые потери, (%)			
			3 суток	7 суток	14 суток	30 суток
1а	300 – 470	25	21	29	35	44
2а	300 – 470	50	23	30	32	41
3а	100 – 200	25	17	21	44	42
4а	100 – 200	50	20	20	26	32

В таблице показано, что с увеличением времени выдержки в физиологическом растворе, массовые потери увеличивались. В цементах с большим количеством гранул (50 масс. %) основные массовые потери происходили уже в первые сутки, особенно это характерно для состава 4а (рисунок 39).

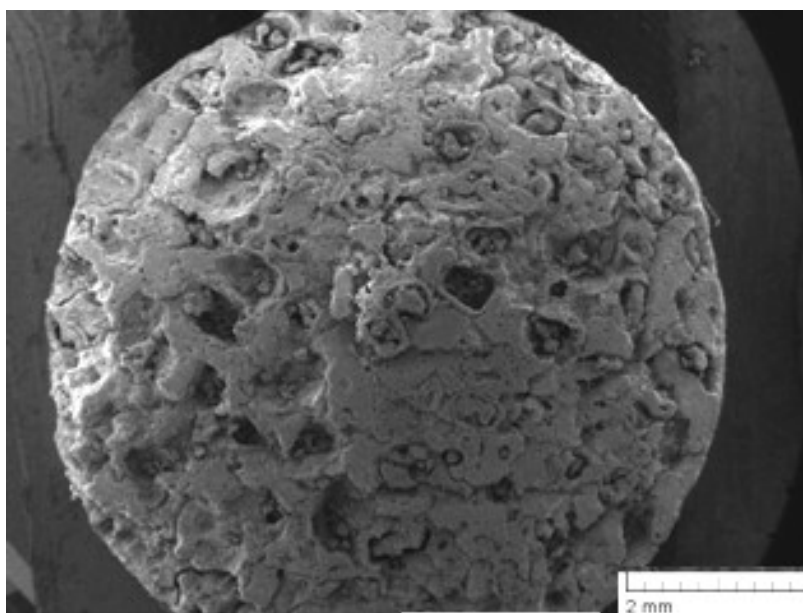


Рисунок 39 – Цементный образец 4а на 3 сутки выдержки в физиологическом растворе.

По-видимому, происходило быстрое растворение части материала (гранул) из доступных и связанных порами участков с поверхностью образца. Поры были равномерно распределены по всей площади шлифа. Размер их составлял 200 – 300 мкм. Аналогичный материал с крупными гранулами (2а) растворялся более умеренно (таблица 14). Но основные массовые потери в материале происходили уже на первые 7 суток эксперимента (идет растворение СК), т.к. в таблице показано, что максимальные потери в конце эксперимента составляли 44% (образец 1а), а на третьи сутки образцы уже теряли до 29% своего веса. Дальше изменение массы происходило в меньшей степени, это говорит о том, что процесс растворения гранул практически прекратился и начался процесс растворения матрицы. Постепенное увеличение растворимости также подтвердили микрофотографии, на которых на примере образца 2а был представлен процесс деградации гранул в цементах (рисунок 40).

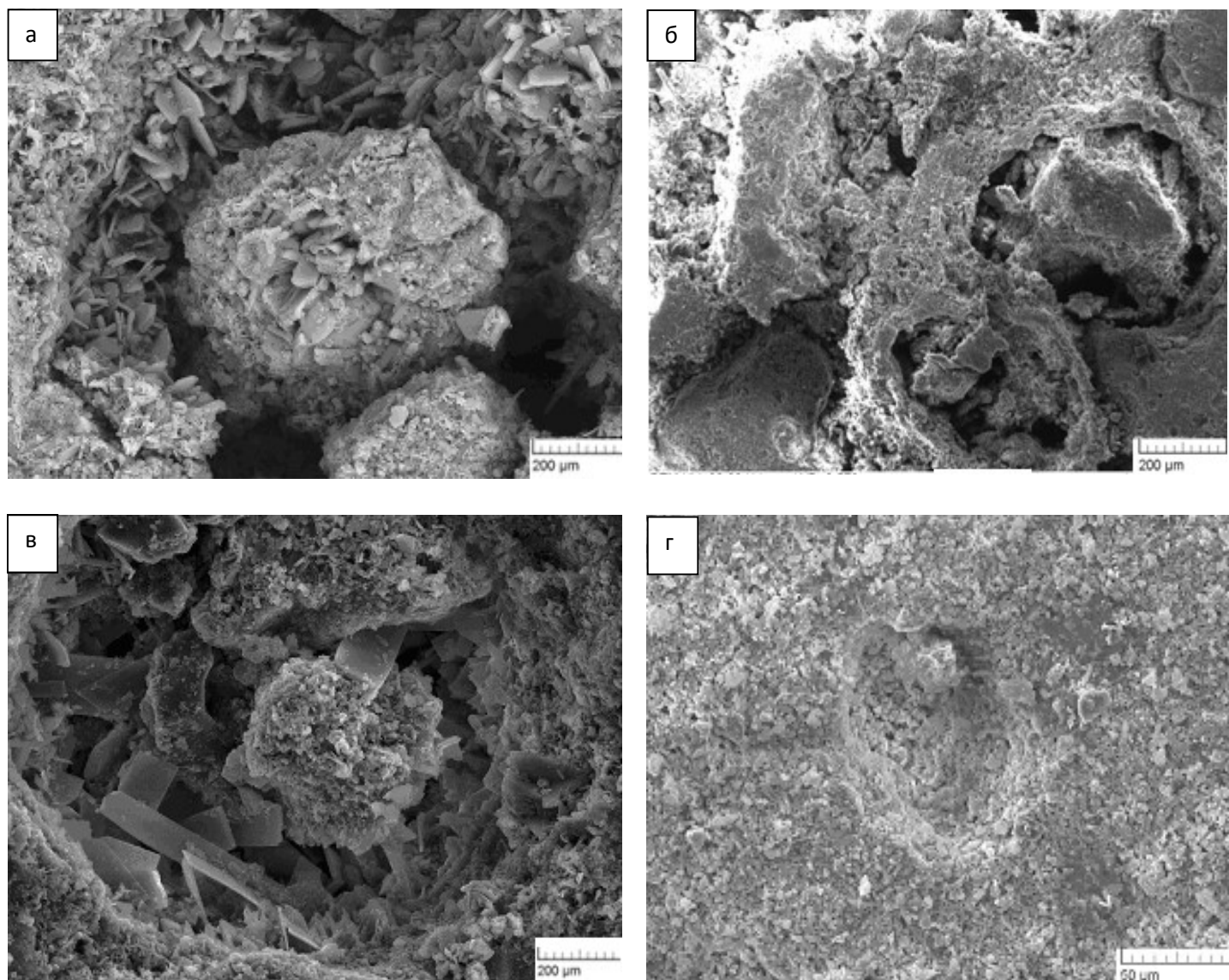


Рисунок 40 – Процесс растворения гранул СК образца 2а в физиологическом растворе, где а – 3 сутки выдержки, б – 7 сутки, в – 14 сутки, г – 30 сутки.

Для данного материала происходило поэтапное растворение гранул, вызванное частичным отсутствием контакта между ними. Размер гранул на 3 сутки составлял 250 – 300 мкм, на 7 сутки около 200 мкм, а на 14 сутки менее 100 мкм. Процесс деградации гранул начинался с периферии. На рисунке 35б видно, что между гипсовой гранулой и основной α -ТКФ матрицей присутствовало полое пространство. На рисунке 40в показано, что оставшаяся гранула находилась посередине полого пространства. Видимо процесс деградации шел постепенно от периферии гранулы к ее центру. К концу

эксперимента гранул обнаружить не удалось, остались только частицы размером менее 10 мкм, которые, скорее всего, являются осколками матрицы.

Энерго – дисперсионный анализ показал, что элемент серы равномерно распределен по площади всего шлифа образца (рисунок 41).

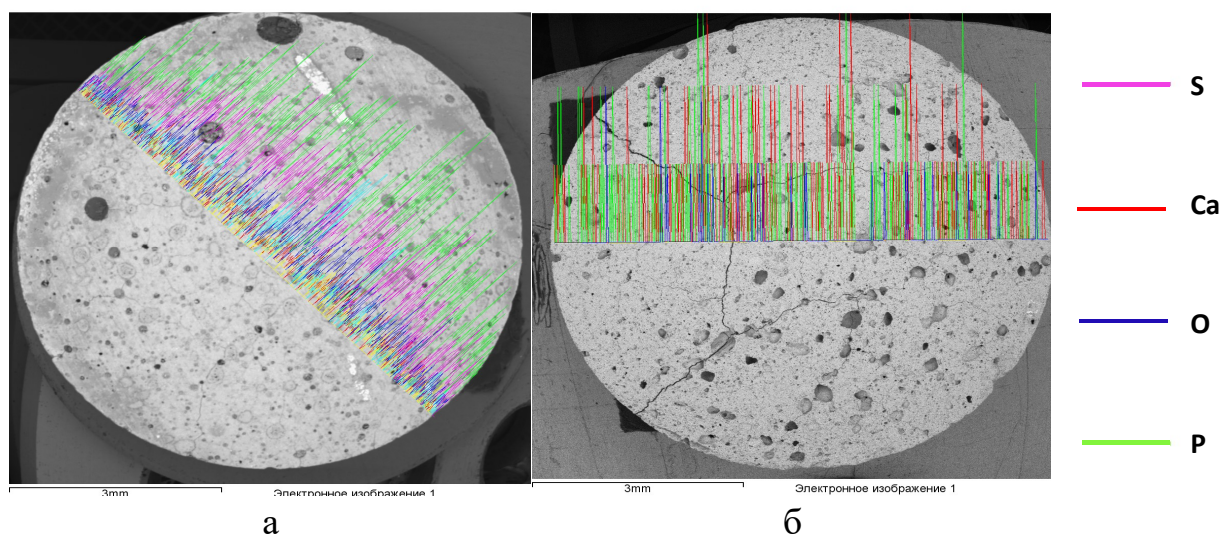


Рисунок 41 – Распределение элементов по площади шлифа образца, содержащего 25 масс. % гранул размером 100 – 200 мкм на а – 0 сутки, б – 30 сутки эксперимента, где сиреневый спектр – сера, красный – кальций, зеленый – фосфор, синий – кислород.

Так, на шлифе образца 3а в начале эксперимента можно было наблюдать равномерное распределение серы по всей площади поверхности (сиреневый спектр). К концу эксперимента на 30 сутки элемент серы не регистрировался, что говорило о его отсутствии в цементе. По приведенным данным сделан вывод, что происходило полное растворение гранул по всему объему образца.

Среди полученных композиционных цементных материалов наибольший интерес представляли собой материалы 2а и 3а. Они обладали наибольшей механической прочностью среди материалов своей группы, а именно для материалов с размером гранул 100 – 200 мкм 3а прочность составляла 30 ± 2 МПа,

для материалов 2а, содержащих гранулы 300 – 470 мкм – 22 ± 1 МПа. Процесс деградации у них происходил равномерно, к концу эксперимента они теряли до 41– 42% своего веса.

6. Биологические испытания

Биологические испытания проводили на цементных материалах, содержащих гранулы из сульфата кальция, замещенных цементах со степенью замещения 0, 10 и 20 мол. %, а также на замеченных порошковых материалах со степенью замещения 0, 5 и 20 мол.%. Из представленных материалов готовили гранулы размером 200 – 600 мкм.

Для исследования цементов проводили синтез материалов, затем оставляли на воздухе до полного твердения, измельчали в агатовой ступке и просеивали через капроновые сита. Порошковые замещенные материалы обжигали при температуре 1200°C в течение 3 часов, полученные припеки также измельчали в ступке и просеивали через сита. В завершение проводили γ – стерилизацию полученных гранул в дозе 15 кГр в течение суток.

6.1 Испытания *in vitro* цементных материалов, содержащих гранулы сульфата кальция

Для проведения эксперимента готовили гранулы из цементов 3а и 4а (размер СК гранул 100 – 200 мкм, 25 и 50 масс. % соответственно).

Показано, что в вытяжке от образца №2 (матрица α -ТКФ, упрочненная гранулами из гипса, соотношение 75/25, величина рН 6,5) выжило 40% клеток линии MG – 63 (таблица 15).

Таблица 15 – Результаты определения токсичности вытяжки из образцов
КФЦ

П/н	Образцы материалов	Величина рН вытяжки	Показатели оптической плотности раствора формазана (усл. ед., МТТ-тест) и индекс токсичности (ИТ, %)	
			ОД, М±m	ИТ, (%)
	Положительный контроль	-	0,062±0,022	100,0
	Отрицательный контроль	-	0,524±0,014	0,0
1	α-ТКФ/гипс (50/50)	5,8	0,227±0,016	57,8
2	α-ТКФ/гипс (75/25)	5,7	0,229±0,016	57,4

Для исследования матричных свойств образцы выдерживали дополнительно в ПРС в лунках для культивирования с ежедневной сменой среды до достижения физиологических значений рН и далее вносили тест – культуру. Показано, что на всех образцах клетки начали достаточно активно заселять поверхность цементных материалов, при этом скорость клеточной экспансии на опытных образцах не отличалась от контроля (рисунок 42).

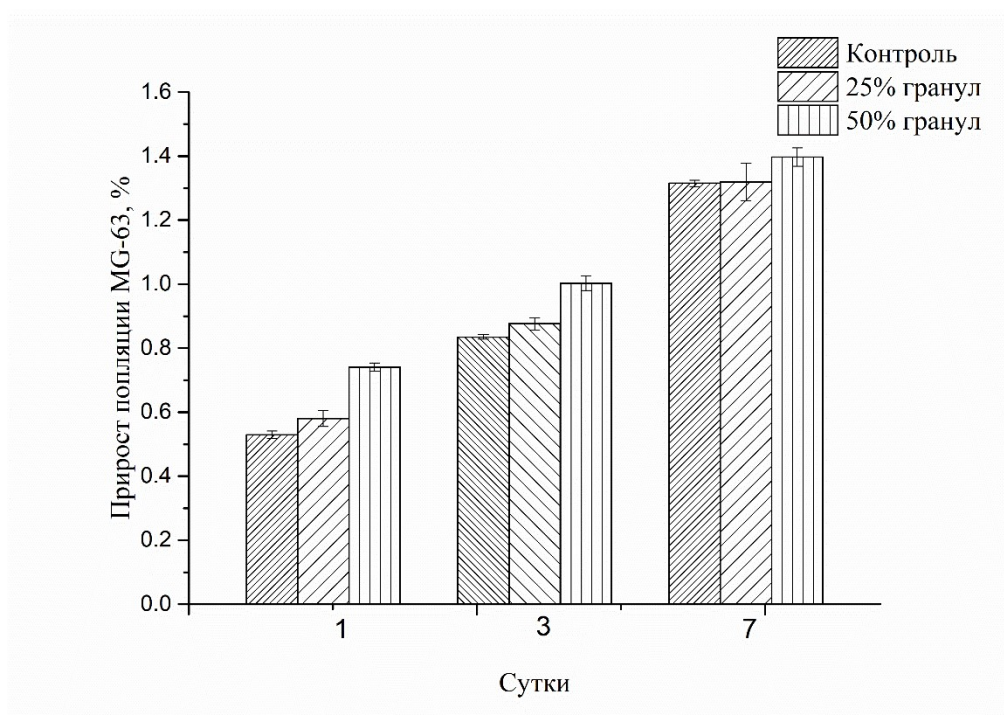


Рисунок 42 – Величина оптической плотности раствора формазана (МТТ – тест, усл.ед.) и ПЖК (в %, относительно контроля) при культивировании клеток остеосаркомы человека MG – 63

Полученные результаты свидетельствовали о цитосовместимости цементных материалов. Все образцы КФЦ оказались не токсичными в отношении тест - культуры клеточной линии остеосаркомы MG – 63 с умеренно выраженными свойствами поверхности (рисунок 43).

А

Б

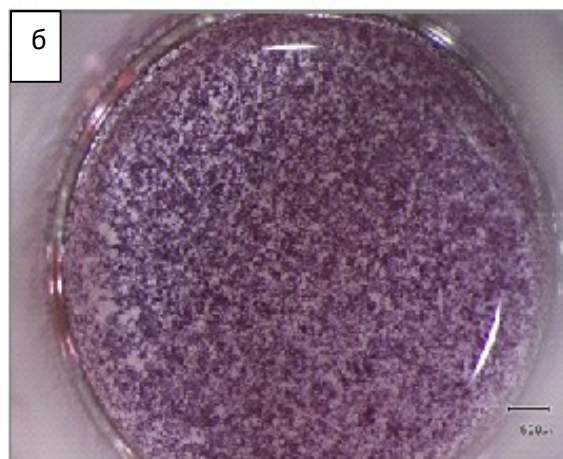


Рисунок 43 – Культура остеосаркомы человека MG – 63 на контроле – а, б, образце № 2 состава 25 масс.% СК гранул – в, г. Сроки культивирования:

А – 1 сут., Б– 7 сут.

6.2 Испытания *in vitro* цементных материалов на основе β -ТКФ, содержащих сульфат - анионы

Для приготовления гранул использовали цементные материалы с 0, 5 и 20 мол. % замещением фосфат – групп на сульфат – группы в β -ТКФ. Процесс приготовления и метод исследования образцов описан в пункте 6.1.

В таблице 16 приведены значения рН вытяжки из образцов с разной степенью через 24 часа экстракции. Из таблицы видно они имели значения рН, ниже нейтральных (6,4 – 6,6).

Таблица 16 – Значения рН вытяжки опытных образцов, величина оптической плотности раствора формазана (ОД, усл.ед., МТТ-тест) и индекс токсичности (%) в отношении тест – культуры MG – 63 (24 часа инкубации).

П/н	Концентрация замещающего аниона (мол.%)	рН вытяжки	ОД р-ра. формазана (усл. ед) $M \pm \sigma$	Индекс токсичности (%)
Положительный контроль	-	7,4	0,062 \pm 0,02	89,3
Отрицательный контроль	-	7,4	0,578 \pm 0,01	0,0
1	-	7,8	0,457 \pm 0,01	20,9
2	10	6,6	0,449 \pm 0,02	27,0
3	20	6,4	0,386 \pm 0,02	37,2

При оценке токсичности вытяжек материалов в отношении остеосаркомы человека MG – 63 показано, сульфат – замещенные цементы проявили умеренную токсичность: индекс токсичности в зависимости от степени замещения β -ТКФ составлял 27 и 37%.

Культивирование MG – 63 на опытных образцах материалов производили в течение 1, 3 и 7 суток (рисунок 44), показало, что как в контроле, так и в опыте популяция клеток в динамике наблюдения равномерно нарастала. При увеличении сульфат – аниона с 10 до 20 мол. % популяция клеток остеосаркомы достоверно снижалась, что демонстрирует умеренную токсичность.

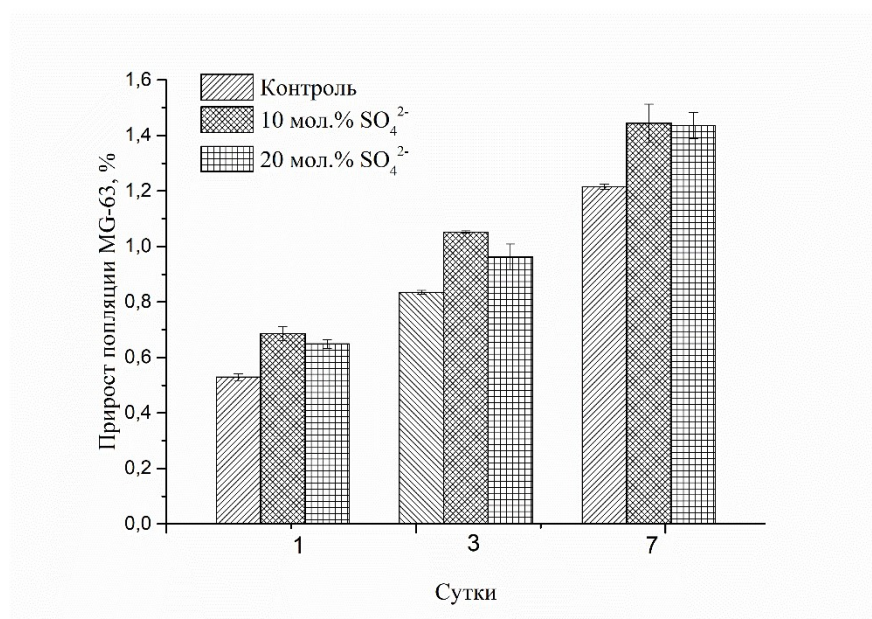


Рисунок 44 – Величина оптической плотности раствора формазана (МТТ – тест, усл.ед.) и прирост популяции клеток (в %, относительно контроля) при культивировании клеток остеосаркомы человека MG – 63

6.3 Испытания *in vitro* порошковых материалов на основе β -ТКФ, содержащих сульфат - анионы

Для проведения эксперимента готовили гранулы из замещенных порошковых материалов со степенью замещения 0, 5 и 20 мол. % фосфат – групп на сульфат – группы в β -ТКФ. Для этого порошки проходили термообработку в течение 3 часов при температуре 1200°C. Затем полученные припеки измельчали и готовили гранулы путем просеивания материала через капроновые сита. В

таблице 17 приведены значения pH вытяжки из образцов с разной степенью через 24 часа экстракции. Из таблицы видно, что они имели нейтральные значения pH.

Таблица 17 – Значения pH вытяжки опытных образцов, величина оптической плотности раствора формазана (ОД, усл.ед., МТТ – тест) и индекс токсичности (%) в отношении тест – культуры MG м 63 (24 часа инкубации).

П/н	Концентрация замещающего аниона (мол.%)	pH вытяжки	ОД р-ра. формазана (усл. ед.) M±σ	Индекс токсичности (%)
Положительный контроль	-	7,4	0,062±0,02	89,3
Отрицательный контроль	-	7,4	0,578±0,01	0,0
1	-	7,8	0,457±0,01	20,9
2	5	7,5	0,528±0,02	14,1
3	20	7,5	0,485±0,03	21,0

Таким образом, можно было заключить, что замещенные порошковые материалы не токсичны для тест – культуры MG – 63. На рисунке 45 представлено культивирование MG – 63 на опытных образцах материалов, где при увеличении сульфат – аниона с 5 до 20 мол. % популяция клеток остеосаркомы достоверно снижалась, что демонстрирует выраженные матриксные свойства для 5 мол. % замещения и умеренные для 20 мол. % замещения.

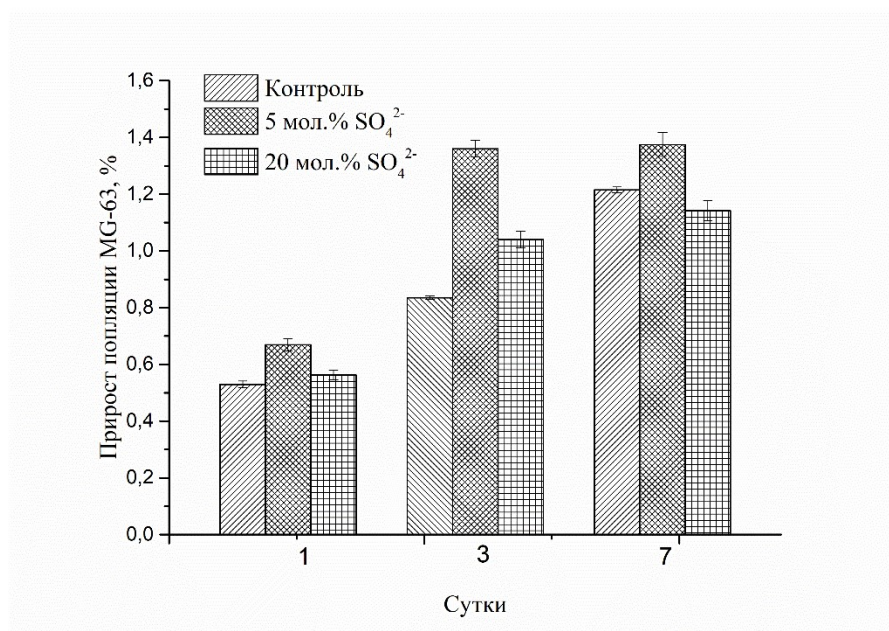


Рисунок 45 – Величина оптической плотности раствора формазана (МТТ – тест, усл.ед.) и ПЖК (в %, относительно контроля) при культивировании клеток остеосаркомы человека MG – 63

Разработанные составы продемонстрировали цитосовместимость, т.е. отсутствие токсичности и наличие умеренных и выраженных матричных свойств поверхности (рисунок 46).

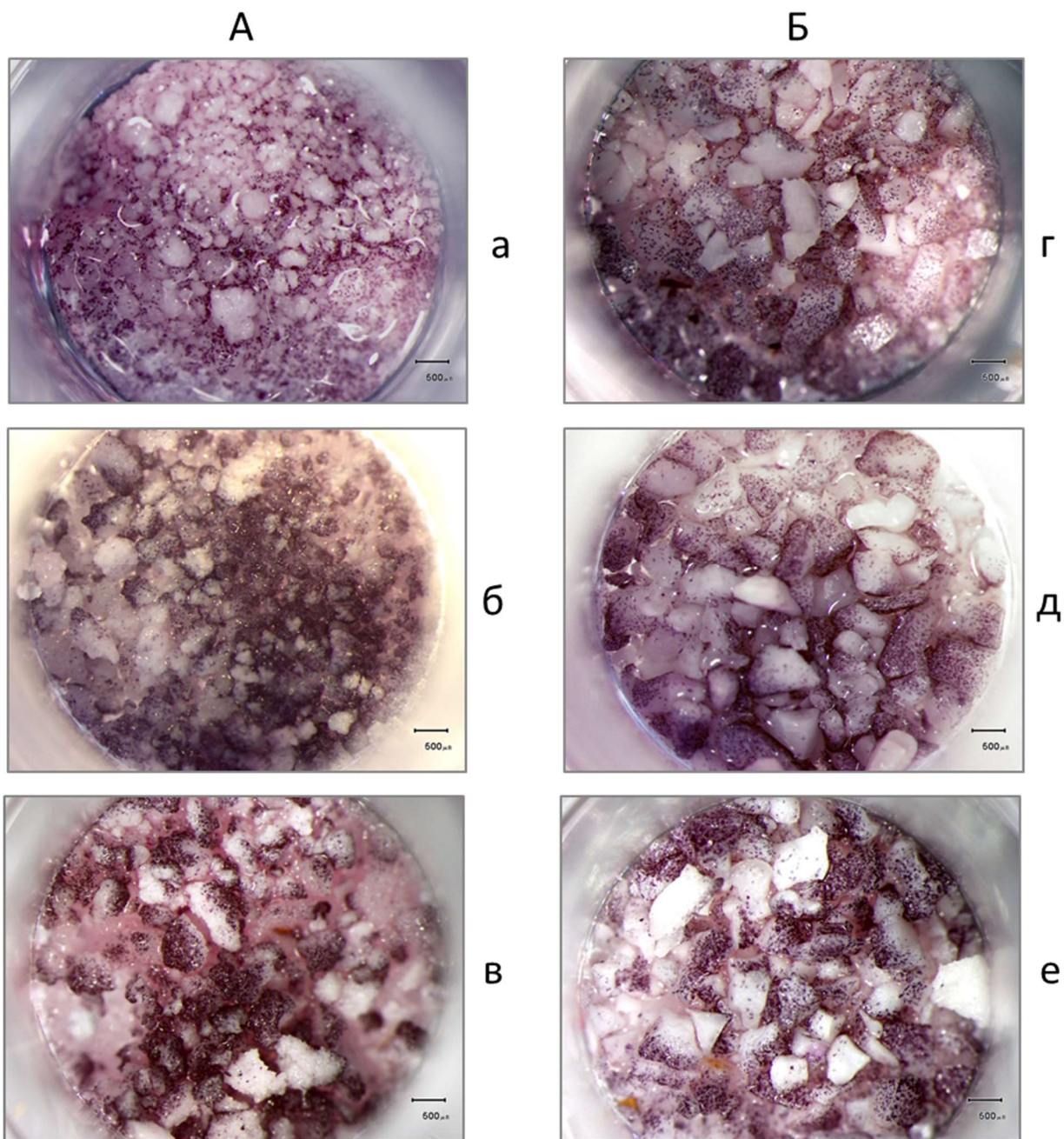


Рисунок 46 – Популяция клеток остеосаркомы человека при культивировании на образце сульфат - замещенного порошка β -ТКФ с разной степенью замещения:

А – 5 мол.%, Б – 20 мол.%. Сроки культивирования: а, г – 1 сут.,
б, д – 3 сут., в, е – 7 сут. (МТТ – тест)

Приведенные составы были отобраны для исследования биосовместимости и остеокондуктивности.

6.5 Испытания *in vivo*

В ходе эксперимента использовали крыс – самцов линии Wistar весом 180 – 200 гр. Животным проводили оперативное вмешательство, вследствие которого стерильные гранулы помещали подкожно в область большой берцовой кости.

Через 1, 3 и 5 месяцев после операции крыс выводили из эксперимента под эфирным наркозом (по два животных на каждый срок), место имплантации вместе с образцом материала иссекали и проводили оценку биосовместимости и остеокондуктивности.

При исследовании образцов обращали внимание на наличие/отсутствие признаков воспаления в зоне имплантации, прослеживали эволюцию остеопластического материала в зоне дефекта: отмечали морфологические признаки его биодеградации и вид сформированной *de novo* ткани в области дефекта, а также клеточный состав регенерата, степень его васкуляризации, сроки формирования органической зрелой костной ткани.

В месте имплантации гранул β -ТКФ элементы воспаления отсутствовали. На всех сроках после операции вокруг гранул визуализировалась рыхлая соединительнотканная капсула. Отдельно лежащие гранулы биоматериала были разделены правильно организованной умеренно васкуляризованной соединительнотканной прослойкой. С периферии отдельных гранул шел процесс заполнения фибробластами, наличие клеток инородных тел указывало на активную биодеградацию материала. Биорезорбция гранул β -ТКФ была наиболее выражена через 5 месяцев после операции, о чем свидетельствовали многочисленные клетки инородных тел и активное замещение зоны гранул клетками соединительной ткани (рисунок 47 а – е). Полученные результаты свидетельствовали о биосовместимости керамических гранул на основе β -ТКФ и умеренной скорости их биодеградации.

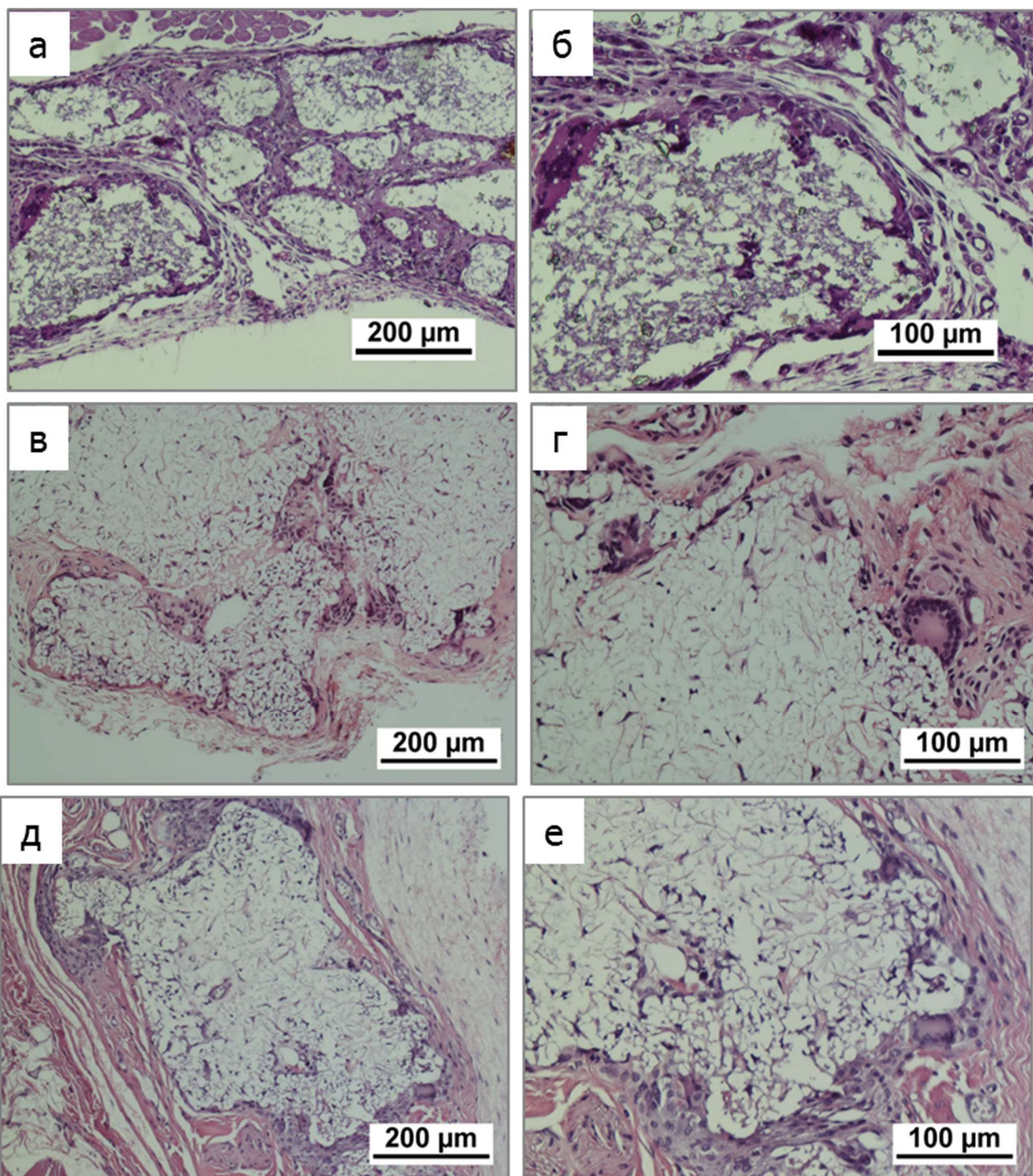


Рисунок 47 – Исследование биосовместимости образца гранул исходного β -ТКФ при имплантации крысам. Сроки: а, б – 1 месяц; в, г – 3 месяца; д, е – 5 месяцев

Оценка *in vivo* остеопластических свойств показало, что через 1 месяц после операции область костного дефекта заполнена гранулами β -ТКФ, плотно

прилегающими по всему периметру к кости. При этом наблюдается закрытие дефекта надкостницей, представленной многослойной васкуляризированной соединительной тканью. Признаки биодеградации гранул β -ТКФ слабые. Через 3 месяца наблюдения в области дефекта наблюдаются остатки надкостницы, на фоне неполной биорезорбции гранул β -ТКФ, а также визуализируются единичные новообразования костной ткани, между которыми – очаги костномозгового кроветворения и желтого костного мозга. Через 5 месяцев после операции отдельные нерезорбированные гранулы β -ТКФ «замурованы» во вновь сформированную костную ткань. Замещение костного дефекта новообразованной костной тканью за 5 месяцев наблюдения неполное, вследствие неполной резорбции β -ТКФ и осуществляется преимущественно путем прямого остеогенеза.

Для образцов с 5 мол. % замещения фосфат – групп на сульфат – группы элементов воспаления в зоне подкожной имплантации обнаружено не было. Вокруг всего имплантационного материала и вокруг каждой отдельно лежащей гранулы сформировалась рыхлая соединительнотканная капсула с клетками инородных тел по периферии гранул. На всех сроках после операции была отмечена активная биодеградация гранул, приводящая к разрыхлению и фрагментации материала, прорастанию его соединительнотканными элементами с формированием на месте каждой гранулы мелкоячеистой структуры. Тем не менее, полного замещения вещества гранул соединительной тканью ни на одном из исследованных сроков обнаружено не было. Через 3 месяца после операции была отмечена активная васкуляризация гранул по всему объему и в межгранулярной соединительнотканной прослойке (рисунок 48 а – е).

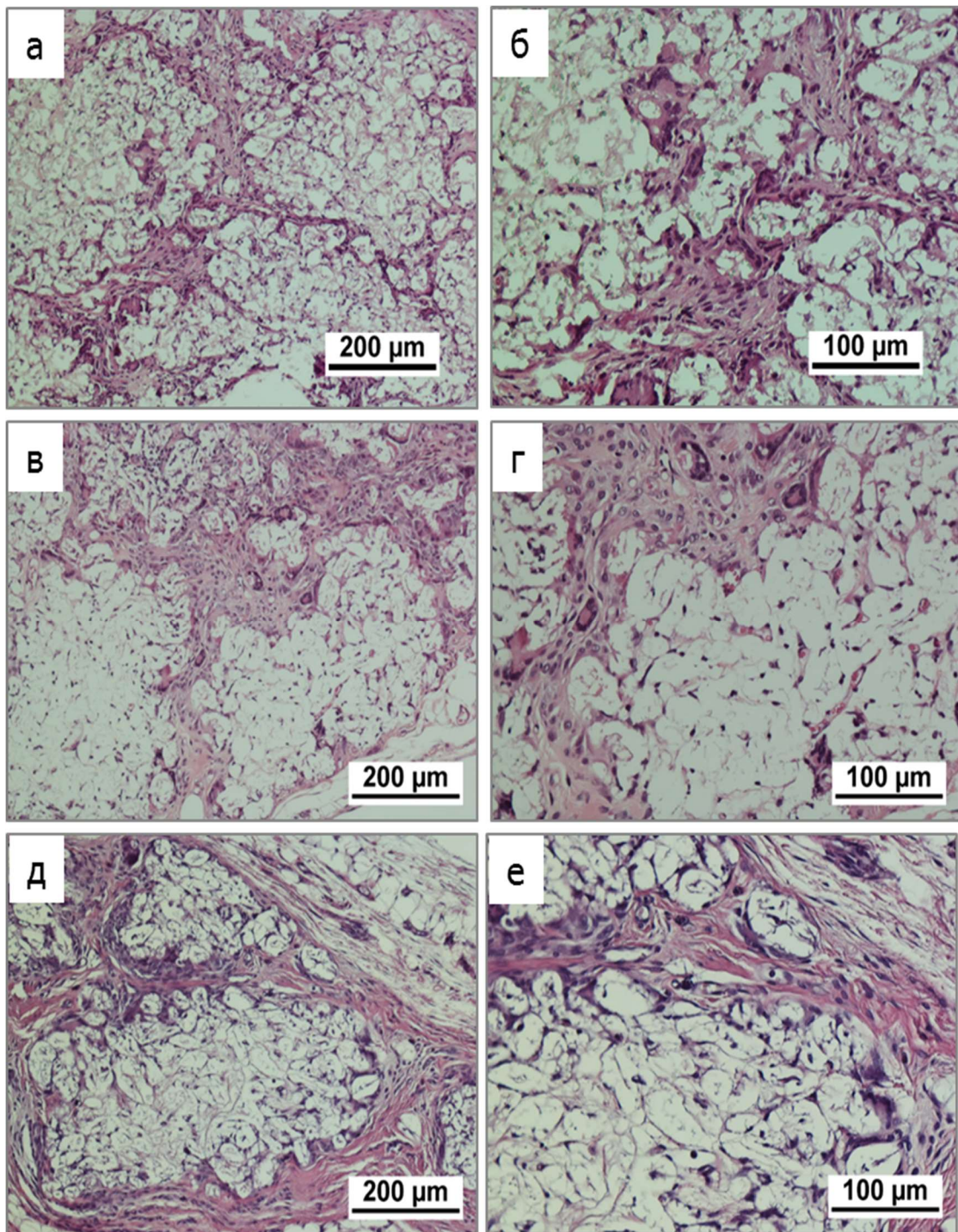


Рисунок 48 – Исследование биосовместимости образца гранул 5 мол. % сульфат – замещенного β -ТКФ при подкожной имплантации крысам. Сроки: а, б – 1 месяц; в, г – 3 месяца; д, е – 5 месяцев

Оценка *in vivo* остеопластических свойств показало, что в сроки 1 – 5 месяцев после замещения дефекта гранулами 5 мол. % сульфат – замещённого β -ТКФ отмечается плотное прилегание гранул материала к кости по всему

наблюдаемому периметру зоны операции. О выраженной биодеградации данного биоматериала и наличии остеокондуктивных свойств свидетельствуют на ранних сроках наблюдения (1 – 3 месяца) многочисленных зон формирования костной ткани и зачатков костномозгового кровообращения. Через 5 месяцев наблюдения площадь новообразованной костной ткани нарастает, однако полного замещения материала костной тканью не отмечается.

Увеличение доли сульфат – аниона до 10 масс. % при подкожной имплантации материала не изменило реакции окружающих тканей на имплантат: на всех сроках эксперимента наблюдается отсутствие реакции воспаления, формирование многослойной, рыхлой соединительнотканной капсулы, плотно прилегающей к материалу, межгранулярное пространство также заполнено соединительной тканью с кровеносными сосудами разного диаметра. По периферии гранул визуализировались многочисленные клетки инородных тел. Пространство гранул было заполнено сетью фибробластов и васкуляризировано. Наиболее многочисленны сосуды через 3 месяца после подкожной имплантации материала (рисунок 49 а – е).

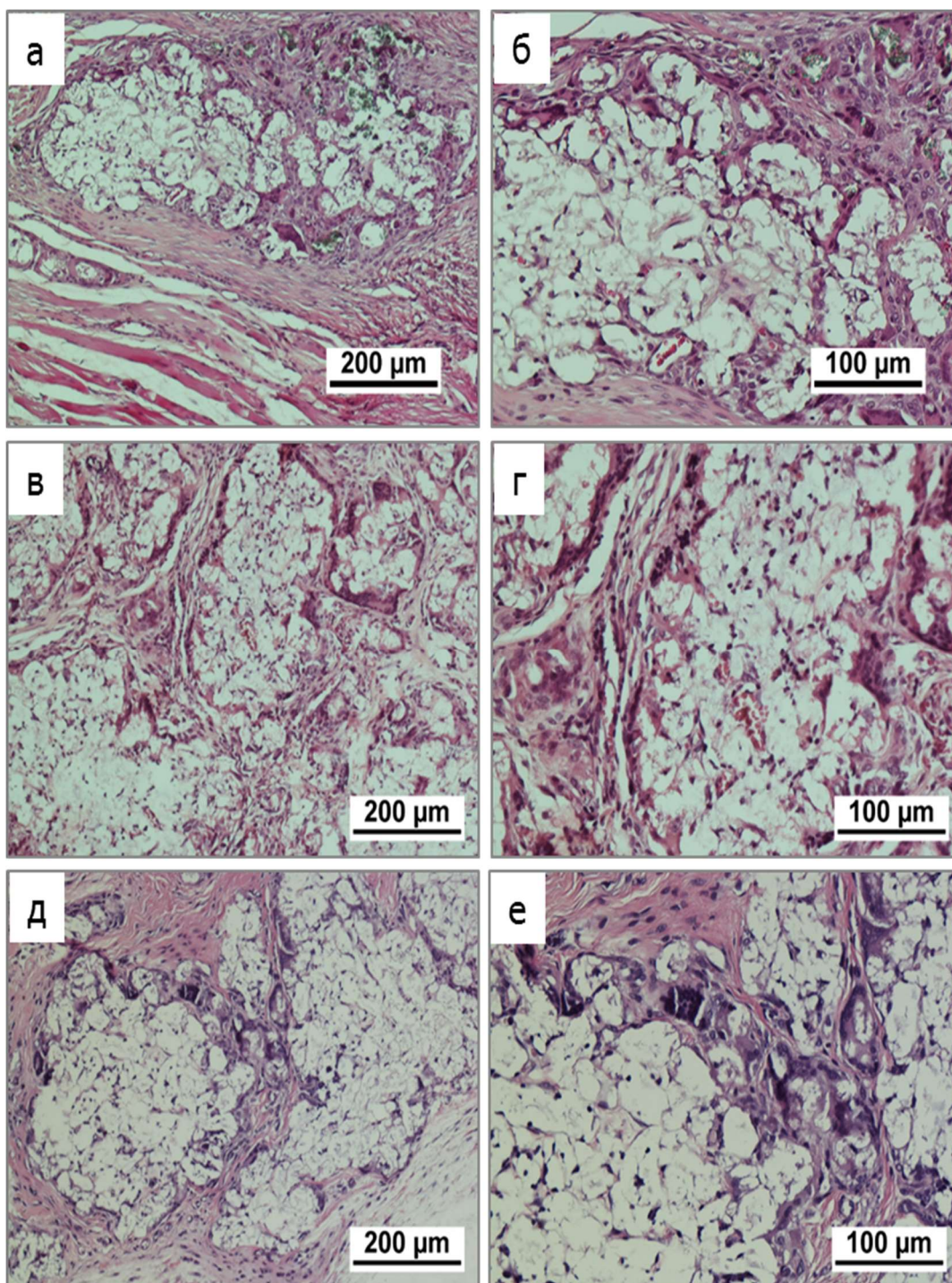


Рисунок 49 – Исследование биосовместимости образца гранул 10 мол. % сульфат – замещенного β -ТКФ при подкожной имплантации крысам. Сроки:

а, б – 1 месяц; в, г – 3 месяца; д, е – 5 месяцев.

Оценка *in vivo* остеопластических свойств показало, что результаты были близкие к материалам с 5 мол.% замещения фосфат – групп на сульфат – группы в β -ТКФ по динамике закрытия костного дефекта. Как и для предыдущих материалов зона операции через 1 месяц наблюдения представлена

биоматериалом, заполняющим полностью объем костного дефекта с плотным прилеганием гранул к кости. Благодаря интенсивной биорезорбции материала этого состава, гранулы на всех сроках наблюдения замещаются новообразованной костной тканью разной степени зрелости, не только с периферии, но и по всему объему. Также, как и в предыдущей группе, полное закрытие костного дефекта в сроки до 5 месяцев не достигнуто.

Таким образом, результаты подкожной и в месте костного дефекта имплантации образцов сульфат – замещенного β -ТКФ со степенью замещения анионом 5 и 10% мол. % свидетельствовали о биосовместимости материалов данных составов, умеренной скорости их биорезорбции и постепенном формировании остеокондуктивных потенциалов.

Выводы

1. Установлено влияние соотношения порошковых компонентов в смесях АКФ – СК, АКФ - СКП и α -ТКФ – СКП, получаемых прямым смешением порошков, и состава цементной жидкости (раствор фосфата магния или вода) на кинетику схватывания, фазовый состав, пористость, прочность и растворимость в модельной жидкости цементов, установлено замедление схватывания и эффект упрочнения при введении СКП. Созданы цементы с прочностью до 58 ± 3 МПа в системе АКФ – СКП и 43 ± 2 МПа в системе α -ТКФ – СКП, причем цементная жидкость на основе раствора фосфата магния более эффективна для повышения прочности по сравнению с водой.

2. Изучена возможность формирования системы взаимосвязанных пор в цементах системы α -ТКФ – СКП посредством введения порообразующих добавок: КК или КН. Выявлено, что введение 5 масс.% КН приводит к повышению пористости до 38 %. Установлено, что введение обеих порообразующих добавок приводит к образованию бимодальной поровой

структуры цементов (присутствуют мелкие 1 – 20 мкм и крупные поры 200 – 500 мкм).

3. Потеря массы образцов пористых цементов при выдержке в модельном растворе возрастала во времени, достигая 48 – 50 % на 56 – е сутки выдержки. Растворение происходит селективно, ЭДА установлено преимущественное растворение сульфатной фазы.

4. Выявлено влияния введения сульфат – групп и последующей термообработки при синтезе β -ТКФ методом осаждения из растворов солей на фазовый состав и свойства цементов. Выявлено, что для материалов с 10 и 20 мол.% расчетного замещения фосфат – групп на сульфат – группы наблюдается переход β -ТКФ в соединение со структурой апатита при термообработке в диапазоне 900 – 1200 °С. Получены новые композиционные цементы, содержащие в качестве основных фаз брушит, АКФ и СКП.

5. Получены новые материалы в системе α -ТКФ – СК (гранулы) с равномерным распределением гранул по объему. Введение гранул в цементы с матрицей α -ТКФ приводит к незначительному снижению прочности образцов, при этом наиболее прочные материалы получали при использовании гранул 100 – 200 мкм – $28 - 30 \pm 2$ МПа. Растворение гранул приводит к образованию пор в структуре цемента после выдержки в физиологическом растворе. Основной процесс растворения гранул заканчивается к 7 суткам (массовые потери до 29 %).

6. Биологические испытания *in vitro* показали прирост популяции MG – 63 на всех исследуемых образцах. Биоиспытания *in vivo* продемонстрировали биосовместимость при подкожной имплантации и остеокондуктивные потенции при имплантации разработанных материалов в костный дефект. Отмечена активная биодеградация гранул, приводящая к разрыхлению и фрагментации материала, прорастанию его соединительнотканными элементами с формированием на месте каждой гранулы мелкоячеистой структуры. Через 3

месяца после операции была отмечена активная васкуляризация гранул по всему объему и в межгранулярной соединительнотканной прослойке.

7. Полученные результаты выполненных исследований продемонстрировали перспективность применения композиционных, армированных гранулами СК биоматериалов в клинической практике для регенерации и восстановления костной ткани у пациентов в постоперационный период.

Список литературы

1. Баринов С.М., Комлев В.С. Биокерамика на основе фосфатов кальция. – М.: Наука, 2014 – 204с.
2. Dorozhkin S. V. Calcium orthophosphates: applications in nature, biology, and medicine. – CRC Press, 2012.
3. Sedelnikova, M. B., Komarova, E. G., Sharkeev, Y. P., Ugodchikova, A. V., Tolkacheva, T. V., Rau, J. V., Sheikin, V. V. Modification of titanium surface via Ag-, Sr-and Si-containing micro-arc calcium phosphate coating //Bioactive Materials. – 2019. – V. 4. – P. 224-235.
4. Sedelnikova, M. B., Komarova, E. G., Sharkeev, Y. P., Ugodchikova, A. V., Mushtovatova, L. S., Karpova, M. R., Khlusov, I. A. Zn-, Cu-or Ag-incorporated micro-arc coatings on titanium alloys: Properties and behavior in synthetic biological media //Surface and Coatings Technology. – 2019. – V. 369. – P. 52-68.
5. Safronova, T. V., Sadilov, I. S., Chaikun, K. V., Shatalova, T. B., Filippov, Y. Y. Synthesis of Monetite from Calcium Hydroxyapatite and Monocalcium Phosphate Monohydrate under Mechanical Activation Conditions //Russian Journal of Inorganic Chemistry. – 2019. – V. 64. – №. 9. – P. 1088-1094.
6. Safronova T. V., Putlyaev V. I. Powder systems for calcium phosphate ceramics //Inorganic Materials. – 2017. – V. 53. – №. 1. – P. 17-26.

7. Zhang, J., Liu, W., Schnitzler, V., Tancret, F., Bouler, J. M. Calcium phosphate cements for bone substitution: chemistry, handling and mechanical properties//Acta biomaterialia. – 2014. – V. 10. – №. 3. – P. 1035-1049.
8. Bohner M. Design of ceramic-based cements and putties for bone graft substitution //Eur Cell Mater. – 2010. – V. 20. – №. 1. – P. 3-10.
9. O'Neill, R., McCarthy, H. O., Montufar, E. B., Ginebra, M. P., Wilson, D. I., Lennon, A., Dunne, N. Critical review: Injectability of calcium phosphate pastes and cements //Acta biomaterialia. – 2017. – V. 50. – P. 1-19.
10. Dorozhkin S. V. Self-setting calcium orthophosphate (CaPO_4) formulations and their biomedical applications //Adv. Nano-Bio. Mater. Dev. – 2019. – V. 3. – P. 321-421.
11. Gbureck U., Spatz K., Thull R. Improvement of mechanical properties of self-setting calcium phosphate bone cements mixed with different metal oxides // Mat.-Wiss. u. Werkstofftech. 2003. V. 34. P. 1036-1040.
12. Buchanan F., Gallagher L., Jack V., Dunne N. Short-fibre reinforcement of calcium phosphate bone cement // Proc. Inst. Mech. Eng. H: J. Eng. Med. - 2007. - V. 221. - P. 203-212.
13. Motisuke, M., Santos, V. R., Bazanini, N. C., Bertran, C. A. Apatite bone cement reinforced with calcium silicate fibers//Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2014. – V 25. – №. 10. – P. 2357-2363.
14. K. Takahashi, Y. Fujishiro, S. Yin, T. Sato Preparation and compressive strength of α -tricalcium phosphate based cement dispersed with ceramic particles //Ceramics international. – 2004. – V. 30. – №. 2. – P. 199-203.
15. Смирнов В.В., Комлев В.С., Баринов С.М., Егоров А.А., Петракова Н.В. Композиционные биоцементы, дисперсно-упрочненные частицами гидроксиапатита // Материаловедение. - 2012. - №. 12. - С. 31-33.

16. Смирнов В.В., Егоров А.А., Баринов С.М., Шворнева Л.И. Композиционные кальций-фосфатные костные цементы, упрочненные дисперсными частицами титана // ДАН. - 2007. - Т. 413. - № 4. - С. 489-492.
17. Егоров А. А., Смирнов В. В., Баринов С. М. Влияние размера частиц титана на механические свойства костных кальций-фосфатных цементов// Материаловедение. - 2011. - №. 1. - С. 11-14.
18. Krut'ko, V. K., Kulak, A. I., Musskaya, O. N., Safronova, T. V., Putlyayev, V. I. Calcium Phosphate Foam Ceramic Based on Hydroxyapatite–Brushite Powder Mixture //Glass and Ceramics. – 2019. – V. 76. – №. 3-4. – P. 113-118.
19. Хайрутдинова Д.Р., Антонова О.С., Гольдберг М.А., Смирнов С.В. Цементы на основе трикальцийфосфата, содержащие модифицированные гранулы гипса // РАН Труды Кольского научного центра: Химия и материаловедение: тезисы доклада, - 2019. - №1. - С. 389.
20. Le Geros, R.Z., Chohayeb, A., Shulman, A. Apatitic calcium phosphates: Possible dental restorative materials. J. Dent. Res. – 1982. - №. 61. – P.343.
21. Brown, W.E.; Chow, L.C. A new calcium phosphate setting cement. J. Dent. Res. - 1983. - №. 62. – P.672.
22. Brown W. E. A new calcium phosphate, water-setting cement //Cements research progress. – 1987. – P. 351-379.
23. Dental Restorative Cement Pastes\\U.S. Patent No. 4518430, 21.05.1985 \Brown, W.E.; Chow, L.C.
24. Gruniger S. E. Evaluation of the biocompatibility of a new calcium phosphate setting cement (abstract no. 270) //J Dent Res. – 1984. – V. 63. – P. 200.
25. Баринов С.М., Комлев В.С. Кальцийфосфатные костные цементы (обзор). Часть 1. Вяжущие системы. // Материаловедение. - 2014. - № 1. - С. 33-39.
26. Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphate cements and concretes // Materials. - 2009. - V. 2. - P. 221-291.

27. Dekker R.J., de Bruijn J.D., Stigter M., Barrere F., Layrolle P., van Blitterswijk C.A. Bone tissue engineering on amorphous carbonated apatite and crystalline octacalcium phosphate coated titanium discs // *Biomaterials*. - 2005. - V. 26. - P. 5231-5239.
28. Driessens, F. C. M., Boltong, M. G., Bermudez, O., Planell, J. A. Formulation and setting times of some calcium orthophosphate cements: a pilot study // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 1993. – V. 4. – №. 5. – P. 503-508.
29. Chow, L. C., Markovic, M., Takagi, S., Struble, L. J. Calcium Phosphate Cements in Cements Research Progress. – 1998. - №. 7. - P. 215–238.
30. Driessens, F.C.M.; Boltong, M.G.; Bermudez, O.; Planell, J.A.; Ginebra, M.P.; Fernández, E. Effective formulations for the preparation of calcium phosphate bone cements // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. – 1994. – V. 5. – №. 3. – P 164-170.
31. Сафронова, Т. В., Путляев, В. И., Сергеева, А. И., Куненков, Э. В., Третьяков, Ю. Д. Синтез нанокристаллического гидроксиапатита кальция из сахаратов кальция и гидрофосфата аммония // *Доклады академии наук*. – Федеральное государственное унитарное предприятие Академический научно-издательский, производственно-полиграфический и книгораспространительский центр Наука, 2009. – Т. 426. – №. 4. – С. 491-496.
32. Monma H. Kanazawa T. The hydration of α -tricalcium phosphate. *Yogyo-Kyoki Shi*. – 1976. – V. 84. – P. 209.
33. Gbureck U., Grolms O., Barralet J. E., Grover L. M., Thull R. Mechanical activation and cement formation of β -tricalcium phosphate // *Biomaterials*. – 2003. – V. 24. – №. 23. – P. 4123-4131.
34. Gbureck U., Barralet J. E., Spatz K., Grover L. M., Thull R. Ionic modification of calcium phosphate cement viscosity. Part I: hypodermic injection and strength improvement of apatite cement // *Biomaterials*. – 2004. – V. 25. – №. 11. – P. 2187-2195.

35. Tofighi M., Mounic S., Chakravarthy P., C. Setting reactions involved in injectable cements based on amorphous calcium phosphate //Key Engineering Materials. – 2001. – P. 769-772.
36. Liu, W. C., Wong, C. T., Fong, M. K., Cheung, W. S., Kao, R. Y. T., Luk, K. D. K., Lu, W. W. Gentamicin-loaded strontium-containing hydroxyapatite bioactive bone cement—An efficient bioactive antibiotic drug delivery system //Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials. – 2010. – V. 95. – №. 2. – P. 397-406.
37. Bohner M., Lemaitre J., Ring T. A. Effects of sulphate, pyrophosphate, and citrate ions on the physiochemical properties of cements made from b-tricalcium phosphate-phosphoric acidwater mixtures.// J. Am. Ceram. Soc. - 1996. - №.79. – P.1427–1434.
38. Bohner M., Merkle H. P., Van Landuyt P., Trophardy G., Lemaitre J. Effect of several additives and their admixtures on the physico-chemical properties of a calcium phosphate cement //Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2000. – V. 11. – №. 2. – P. 111-116.
39. Grover L. M., Knowles J. C., Fleming G. J., Barralet J. E. In vitro ageing of brushite calcium phosphate cement //Biomaterials. – 2003. – V. 24. – №. 23. – P. 4133-4141.
40. Grover L. M., Gbureck U., Wright A. J., Tremayne M., Barralet J. E. Biologically mediated resorption of brushite cement in vitro //Biomaterials. – 2006. – V. 27. – №. 10. – P. 2178-2185.
41. Lilley K. J., Gbureck U., Knowles J. C., Farrar D. F., Barralet J. E. Cement from magnesium substituted hydroxyapatite //Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2005. – T. 16. – №. 5. – C. 455-460.
42. Habibovic P., Gbureck U., Doillon C. J., Bassett D. C., Van Blitterswijk C. A., Barralet J. E. Osteoconduction and osteoinduction of low-temperature 3D printed bioceramic implants //Biomaterials. – 2008. – V. 29. – №. 7. – P. 944-953.

43. Gurin, A. N., Komlev, V. S., Fadeeva, I. V., Petrakiva, N. V., Varda, N. S. A comparative study of bone regeneration potency of alfa and beta-tricalcium phosphate bone substitute materials //Stomatologia. – 2012. – V. 91. – №. 6. – P. 16-21.
44. Komlev, V., Mastrogiacomo, M., Pereira, R. C., Peyrin, F., Rustichelli, F., Cancedda, R. Biodegradation of porous calcium phosphate scaffolds in an ectopic bone formation model studied by X-ray computed microtomograph. – 2010.
45. Баринов С.М., Смирнов В.В., Хайрутдинова Д.Р., Смирнов С.В., Антонова О.С. Композиционные цементные материалы системы дикальцийфосфат – гипс//Перспективные материалы. - 2016. - № 11. - С.33 – 38.
46. Smirnov V. V., Goldberg M. A., Khairutdinova D. R., Antonova O. S., V. Smirnov S., Konovalov A. A, Barinov S. M. Synthesis and Properties of Bone Cement Materials in the Calcium Phosphate–Calcium Sulfate System//Inorganic Materials. - 2017. - V. 53. - №. 10. - P.1075–1079.
47. Peltier L. F. The use of plaster of Paris to fill defects in bone //Clinical Orthopaedics and Related Research®. – 1961. – V. 21. – P. 1-31.
48. Lewry A. J., Williamson J. The setting of gypsum plaster //Journal of materials science. – 1994. – V. 29. – №. 23. – C. 6085-6090.
49. De Korte A. C. J., Brouwers H. J. H. Hydration modeling of calcium sulphates //Proceedings of international conference on construction and building technology. Malaysia: Kuala Lumpur. – 2008. – P. 433-44.
50. Ridge M. J., Surkevicius H. Variations in the kinetics of setting of calcined gypsum. I. Effects of retarders and accelerators //Journal of Applied Chemistry. – 1961. – V. 11. – №. 11. – P. 420-427.
51. Barralet J. E., Gaunt T., Wright A. J., Gibson I. R., Knowles J. C. Effect of porosity reduction by compaction on compressive strength and microstructure of calcium phosphate cement //Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The

- Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials. – 2002. – V. 63. – №. 1. – P. 1-9.
52. Wirsching F. Calcium sulfate//Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. – 2000.
53. Dewi H., Ana I. D., Wolke J., Jansen J. Behavior of plaster of Paris-calcium carbonate composite as bone substitute. A study in rats //Journal of biomedical materials research Part A. – 2013. – V. 101. – №. 8. – P. 2143-2150.
54. Chen J., Gao J., Yin H., Liu F, Wang A., Zhu Y., Wu Z., Jiang T., Qin D., Chen B., Ji Y., Sun M. Size-controlled preparation of α -calcium sulphate hemihydrate starting from calcium sulphate dihydrate in the presence of modifiers and the dissolution rate in simulated body fluid //Materials Science and Engineering: C. – 2013. – V. 33. – №. 6. – P. 3256-3262.
55. Dreesmann H. Ueber Knochenplombirung1 //DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift. – 1893. – V. 19. – №. 19. – P. 445-446.
56. Peltier, L. F., Bickel, E. Y., Lillo, R., Thein, M. S. The use of plaster of Paris to fill defects in bone //Annals of surgery. – 1957. – V. 146. – №. 1. – P. 61.
57. Peltier L. F., Jones R. H. Treatment of unicameral bone cysts by curettage and packing with plaster-of-Paris pellets //The Journal of bone and joint surgery. American volume. – 1978. – V. 60. – №. 6. – P. 820-822.
58. Stubbs D., Deakin M., Chapman-Sheath P., Bruce W., Debes J., Gillies R. M., Walsh W. R. Stubbs D. et al. In vivo evaluation of resorbable bone graft substitutes in a rabbit tibial defect model //Biomaterials. – 2004. – V. 25. – №. 20. – P. 5037-5044.
59. Turner T. M., Urban R. M., Gitelis S., Haggard W. O., Richelsoph K. Resorption evaluation of a large bolus of calcium sulfate in a canine medullary defect //Orthopedics. – 2003. – V. 26. – №. 5. – P. S577-S579.
60. Scarano A., Orsini G., Pecora G., Iezzi G., Perrotti V. Piattelli A. Peri-implant bone regeneration with calcium sulfate: a light and transmission electron microscopy case report //Implant dentistry. – 2007. – V. 16. – №. 2. – P. 195-203.

61. Kima S. G., Yeo H. H., Kimb Y. K. Grafting of large defects of the jaws with a particulate dentin–plaster of Paris combination //Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. – 1999. – V. 88. – №. 1. – P. 22-25.
62. Lei D., Zhanzhong M., Huaikuo Y., Lei X., Gongbo Y. Treatment of distal radius bone defects with injectable calcium sulphate cement //Bone grafting'(eds. Zorzi and Miranda). – 2012. – P. 125-134.
63. Robinson D., Alk D., Sandbank J., Farber R., Halperin N. Inflammatory reactions associated with a calcium sulfate bone substitute //Annals of transplantation. – 1999. – V. 4. – №. 3-4. – P. 91-97.
64. Hing K. A., Wilson L. F., Buckland T. Comparative performance of three ceramic bone graft substitutes //The Spine Journal. – 2007. – V. 7. – №. 4. – P. 475-490.
65. Osteoseth Bone Graft Products// USA № 130764-4/ Wright Medical Technology.
66. Wilkins R. M., Kelly C. M., Giusti D. E. Bioassayed demineralized bone matrix and calcium sulfate: use in bone-grafting procedures //Annales chirurgiae et gynaecologiae. – 1999. – V. 88. – №. 3. – P. 180-185.
67. Guarnieri R., Aldini N. N., Pecora G., Fini M., Giardino R. Medical-Grade Calcium Sulfate Hemihydrate (Surgi plaster) in Healing of a Human Extraction Socket--Histologic Observation at 3 Months: A Case Report //International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. – 2005. – T. 20. – №. 4. – P. 636–641.
68. Choy W. S., Kim K. J., Lee S. K., Yang D. S., Park H. J. Treatment for hand enchondroma with curettage and calcium sulfate pellet (OsteoSet®) grafting //European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology. – 2012. – V. 22. – №. 4. – P. 295-299.
69. Bajada S., Harrison P. E., Ashton B. A., Cassar-Pullicino V. N., Ashammakhi N., Richardson J. B. Successful treatment of refractory tibial nonunion using calcium sulphate and bone marrow stromal cell implantation //The Journal of bone and joint surgery. British volume. – 2007. – V. 89. – №. 10. – P. 1382-1386.

70. Lei D., Zhanzhong M., Huaikuo Y., Lei X., Gongbo Y. Treatment of distal radius bone defects with injectable calcium sulphate cement //Bone grafting'(eds. Zorzi and Miranda). – 2012. – P. 125-134.
71. Maeda S. T., Bramane C. M., Taga R., Garcia R. B., De Moraes I. G., Bernadineli N. Evaluation of surgical cavities filled with three types of calcium sulfate //Journal of Applied Oral Science. – 2007. – V. 15. – №. 5. – P. 416-419.
72. Furlaneto F. A. C., Nagata M. J. H., Fucini S. E., Deliberador T. M., Okamoto T., Messori M. R. Bone healing in critical-size defects treated with new bioactive glass/calcium sulfate: A histologic and histometric study in rat calvaria //Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials. – 2010. – V. 95. – №. 2. – P. 269-275.
73. Hadjipavlou J., Simmons J. W., Tzermiadianos M. N., . Katonis P. G, Simmons J. D. Plaster of Paris as bone substitute in spinal surgery //European Spine Journal. – 2001. – V. 10. – №. 2. – P. S189-S196.
74. Yang H. L., Zhu X. S., Chen L., Chen C. M., Mangham D. C., Coulton L. A. and Aiken S. S. Bone healing response to a synthetic calcium sulfate/ β -tricalcium phosphate graft material in a sheep vertebral body defect model //Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials. – 2012. – V. 100. – №. 7. – P. 1911-1921.
75. Coetzee A. S. Regeneration of bone in the presence of calcium sulfate //Archives of Otolaryngology. – 1980. – V. 106. – №. 7. – P. 405-409.
76. Kameda T., Mano H., Yamada Y., Takai H., Amizuka H., Kobori M., Izumi N., Kawashima H., Ozawa H., Ikeda K., Kameda A., Hakeda Y., Kumegawa M. Calcium-sensing receptor in mature osteoclasts, which are bone resorbing cells //Biochemical and biophysical research communications. – 1998. – V. 245. – №. 2. – P. 419-422.
77. Walsh W. R., Morberg P., Yu Y., Yang J. L., Haggard W., Sheath P. C., Svehla M., W. Bruce J. Response of a calcium sulfate bone graft substitute in a confined cancellous

- defect //Clinical Orthopaedics and Related Research®. – 2003. – V. 406. – №. 1. – P. 228-236.
78. Sidqui M., Collin P., Vitte C., Forest N. Osteoblast adherence and resorption activity of isolated osteoclasts on calcium sulphate hemihydrate //Biomaterials. – 1995. – V. 16. – №. 17. – P. 1327-1332.
79. Podaropoulos L., Veis A. A., Papadimitriou S., Alexandridis C., Kalyvas D. Bone regeneration using b-tricalcium phosphate in a calcium sulfate matrix //Journal of Oral Implantology. – 2009. – V. 35. – №. 1. – P. 28-36.
80. Cai Z. Y., Yang D. A., Zhang N., Ji C. G., Zhu L., Zhang T. Poly (propylene fumarate)/(calcium sulphate/ β -tricalcium phosphate) composites: preparation, characterization and in vitro degradation //Acta biomaterialia. – 2009. – V. 5. – №. 2. – P. 628-635.
81. Intini G., Andreana S., Intini F. E., Buhite R. J., Bobek L. A. Calcium sulfate and platelet-rich plasma make a novel osteoinductive biomaterial for bone regeneration //Journal of translational medicine. – 2007. – V. 5. – №. 1. – P. 13.
82. Kutkut A., Andreana S., Kim H. L., Monaco Jr E. Extraction socket preservation graft before implant placement with calcium sulfate hemihydrate and platelet-rich plasma: A clinical and histomorphometric study in humans //Journal of periodontology. – 2012. – V. 83. – №. 4. – P. 401-409.
83. De Leonardis D., Pecora G. E. Prospective study on the augmentation of the maxillary sinus with calcium sulfate: histological results //Journal of periodontology. – 2000. – V. 71. – №. 6. – P. 940-947.
84. Al Ghamdi A. S. T. Osteotome maxillary sinus lift using bovine bone and calcium sulfate: a case series //Clinical implant dentistry and related research. – 2013. – V. 15. – №. 2. – P. 153-159.

85. Vorndran E., Geffers M., Ewald A., Lemm M., Nies B., Gbureck U. Ready-to-use injectable calcium phosphate bone cement paste as drug carrier //Acta biomaterialia. – 2013. – V. 9. – №. 12. – P. 9558-9567.
86. Rosenblum S. F., Frenkel S., Ricci J. R., Alexander H. Diffusion of fibroblast growth factor from a plaster of Paris carrier //Journal of Applied Biomaterials. – 1993. – V. 4. – №. 1. – P. 67-72.
87. Orellana B. R., Thomas M. V., Dziubla T. D., Shah N. M., Hilt J. Z., Puleo D. A. Bioerodible calcium sulfate/poly (β -amino ester) hydrogel composites //Journal of the mechanical behavior of biomedical materials. – 2013. – V. 26. – P. 43-53.
88. Parker C., Smith J. K., Courtney H. S., Haggard W. O. Evaluation of two sources of calcium sulfate for a local drug delivery system: a pilot study //Clinical Orthopaedics and Related Research®. – 2011. – V. 469. – №. 11. – P. 3008-3015.
89. Nilsson, M., Fernandez, E., Sarda, S., Lidgren, L., Planell, J. A. Characterization of a novel calcium phosphate/sulphate bone cement //Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials. – 2002. – V. 61. – №. 4. – P. 600-607.
90. Sun, H., Wu, T., He, Y. Q., Gong, Q. J., Yao, C. Z., Gao, J. P. Fabrication of Calcium Sulfate/Tri-calcium Phosphate Composite Bone Fillers through Molding Method //Advanced Materials Research. – Trans Tech Publications Ltd, 2013. – V. 815. – P. 325-328.
91. Guo H., Wei J., Liu C. S. Development of a degradable cement of calcium phosphate and calcium sulfate composite for bone reconstruction //Biomedical Materials. – 2006. – V. 1. – №. 4. – P. 193.
92. Abdel-Fattah W. I., Reicha F. M., Elkhoory T. A. Nano-beta-tricalcium phosphates synthesis and biodegradation: 1. Effect of microwave and SO_4^{2-} ions on β -TCP synthesis and its characterization //Biomedical Materials. – 2008. – V. 3. – №. 3. – P. 034121.

93. Manuilova A., Tõnsuaadu K., Veiderma M. Kinetic studies of the SO₂ interaction with apatite //phosphorus Research bulletin. – 2002. – V. 13. – P.171-176.
94. Monma, H., Moriyoshi, Y., Ogata, H., Okura, T. Characterization and hydration reactivity of α -tricalcium phosphate prepared by heating with gypsum //Phosphorus Research Bulletin. – 2012. – V. 27. – P. 1-5.
95. Fernández, E., Vlad, M. D., Gel, M. M., López, J., Torres, R., Cauich, J. V., Bohner, M. Modulation of porosity in apatitic cements by the use of α -tricalcium phosphate—calcium sulphate dihydrate mixtures //Biomaterials. – 2005. – V. 26. – №. 17. – P. 3395-3404.
96. Лидин Р. А., Молочко В. А., Андреева Л. Л. Справочник по неорганической химии. Константы неорганических веществ. М.: Химия, - 1987. – С.320.
97. Баринов С.М., Шевченко В.Я. Прочность технической керамики. М: Наука, 1996. – С.184.
98. Байков А.А. Собрание трудов. М.: Издательство академии наук, 1948. – Т.5. – С.292.
99. ГОСТ 31578-2012. Цементы стоматологические на водной основе. Технические требования. Методы испытаний. – Введ. 01.01.2015. – М.: Стандартинформ, 2013 – 27с.
100. Бетехтин А.Г. Минералогия – М.: Государственное издательство геологической литературы, 1950. – 956 с.

Список сокращений

α -ТКФ – α -трикальцийфосфат

β -ТКФ – β -трикальцийфосфат

СК – двуводный сульфат кальция

СКП – полуводный сульфат кальция

ТеКФ – тетракальциевый фосфат

АКФ – аморфный кальций – фосфат

РФА – рентгенофазовый анализ

ИК – инфракрасная спектроскопия

ДКФД – дикальцийфосфат дигидрат (брушит)

ФК – фосфат кальция

КФЦ – кальций – фосфатные цементы

ГА – гидроксиапатит

SBF – solution body fluid

ДКФ – дикальцийфосфат

ОГА – «осажденный» апатит