

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М.В.ЛОМОНОСОВА

КАФЕДРА МЕЖДИСЦИПЛИНАРНОГО МАТЕРИАЛОВЕДЕНИЯ
ФАКУЛЬТЕТА НАУК О МАТЕРИАЛАХ
КАФЕДРА НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ХИМИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА

На правах рукописи

ЕВДОКИМОВ ПАВЕЛ ВЛАДИМИРОВИЧ

**ДВОЙНЫЕ ФОСФАТЫ $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ (M=Na, K) КАК ОСНОВА
МАКРОПОРИСТОЙ БИОКЕРАМИКИ СО СПЕЦИАЛЬНОЙ
АРХИТЕКТУРОЙ**

Специальность 02.00.21 – химия твердого тела

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
доц., к.х.н. Путляев В.И.

Москва – 2014

Содержание

Список используемых сокращений	4
1. Введение	5
2. Обзор литературы	11
2.1. Материалы биомедицинского назначения	11
2.2. Строение и свойства костной ткани	12
2.3. Кристаллохимия апатита	15
2.4. Трикальциевый фосфат (ТКФ) $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	16
2.5. Пирофосфат кальция (ПФК)	17
2.5.1. Кристаллохимия	17
2.5.2. Методы получения ПФК	18
2.6. Смешанный фосфат кальция и натрия CaNaPO_4 (Ренанит)	19
2.6.1. Кристаллохимия	19
2.6.2. Методы получения CaNaPO_4	20
2.7. Смешанный фосфат кальция и калия CaKPO_4	20
2.7.1. Кристаллохимия	21
2.7.2. Методы получения CaKPO_4	21
2.8. Фазовые равновесия в системе $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-Na}_2\text{O}$	21
2.9. Получение макропористой керамики	25
2.9.1. Метод реплик	26
2.9.2. Метод удаляемых добавок (порообразующих добавок)	29
2.9.3. Получение пористой керамики путем вспенивания суспензий	31
2.10. Технологии быстрого прототипирования	33
2.10.1. Порошковая 3D печать (англ. Powder-based Three Dimensional Printing (3DP))	35
2.10.2. Термоэкструзионная печать	37
2.10.3. Стереолитография	38
2.11. Архитектура каркасов для создания остеокондуктивных материалов	43
2.12. Оценка биоактивности материалов	47
2.13. Выводы из литературного обзора	49
3. Экспериментальная часть	52
3.1. Подготовка образцов	52
3.1.1. Синтез трикальциевого фосфата (ТКФ)	52
3.1.2. Синтез пирофосфата кальция термическим разложением брусита	52
3.1.3. Синтез двойных смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов	53
3.1.4. Исследование поведения двойных смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов в водной среде	53
3.1.5. Получение керамики	53
3.1.6. Получение макропористых керамических материалов с помощью репликации формы ППУ губки	54
3.1.7. Получение макропористой керамики с использованием технологий трехмерной печати	54
3.2. Методы исследования образцов и обработка экспериментальных данных	59
3.2.1. Рентгенографические исследования. Качественный и количественный рентгенофазовый анализ (РФА)	59
3.2.2. Растровая электронная микроскопия	60
3.2.3. Инфракрасная спектроскопия (ИК)	61
3.2.4. Термогравиметрический и дифференциальный термический анализ	61
3.2.5. Рентгеноспектральный микроанализ (РСМА)	61
3.2.6. Дилатометрические измерения	61
3.2.7. Расчет геометрической плотности	62
3.2.8. Определение распределения частиц порошка по размерам	62

3.2.9. Определение критической энергии полимеризации и глубины полимеризации	62
3.2.10. Ионметрия растворов	62
3.2.11. Механические испытания	63
3.2.12. Биологические испытания <i>in vitro</i>	63
3.2.13. Биологические испытания <i>in vivo</i>	67
3.3. Термодинамические расчеты	67
4. Обсуждение результатов	69
4.1. Фазообразование в смесях солей $\text{Na}_2\text{CO}_3 - \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 - \text{CaCO}_3$, $\text{NaCl} - \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 - \text{CaCO}_3$, $\text{K}_2\text{CO}_3 - \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 - \text{CaCO}_3$, $\text{KCl} - \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 - \text{CaCO}_3$	69
4.1.1. Выбор условий синтеза $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($\text{M}=\text{Na, K}$ и $x=0 - 1$)	69
4.2. Фазовые диаграммы $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$ и $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaKPO}_4$	74
4.2.1. Полиморфизм $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	74
4.2.2. Система $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$	77
4.2.3. Система $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaKPO}_4$	86
4.2.4. Термодинамическая оценка растворимости основных кристаллических фаз в системах $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$ и $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaKPO}_4$	92
4.2.5. Керамика на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$	95
4.2.6. Микроструктура спеченных образцов $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$	96
4.2.7. Взаимодействие образцов $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ с водой	98
4.2.8. Керамика на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{K}_{2x}(\text{PO}_4)_2$	102
4.2.9. Взаимодействие $\text{Ca}_{(3-x)}\text{K}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ с водной средой	103
4.2.10. Механические характеристики $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$	106
4.2.11. Биологические испытания <i>in vitro</i>	109
4.3. Макропористая керамика на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$	113
4.3.1. Получение макропористой керамики	113
4.4. Растворимость образцов макропористой керамики на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$	128
4.5. Биологические испытания <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> образцов макропористой керамики на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$	132
5. Выводы	136
6. Список литературы	138
7. Приложения	146

Список используемых сокращений

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

ТКФ – трикальцийфосфат $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

ПФК – пирофосфат кальция $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$

АФК – аморфный (орто)фосфат кальция $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$

АПФК – аморфный пирофосфат кальция $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot x\text{H}_2\text{O}$

ДКФД – дикальциевый фосфат дигидрат (брушит) $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

МКФМ – монокальциевый фосфат моногидрат $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

нГА – нестехиометрический гидроксипатит $\text{Ca}_{(10-x)}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{(6-x)}(\text{OH})_{(2-x)}$

FFF – термоэкструзионная печать (от *англ.* Fused Filament Fabrication)

SLA – стереолитография

ППУ - пенополиуретан

ВПЯМ - высокопористый проницаемый ячеистый материал

ВКС- высококонцентрированная суспензия

РФА – рентгенофазовый анализ

ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия

РЭМ – растровая электронная микроскопия

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия

SBF – искусственная межтканевая жидкость (от *англ.* Simulated Body Fluid)

МТТ тест – исследование цитотоксичности материала (сокр. 3-[4,5-диметилтиазолил-2-ел]-2,5-дифенилтетразолиум бромид)

1. Введение

Биоматериалы призваны восстановить утраченные функции организма самостоятельно или в комбинации с другими материалами и конструкциями. Искусственная кожа, искусственные сосуды, костные имплантаты, эндопротезы тазобедренного сустава, зубные протезы и имплантаты – в основе этих достижений современной медицины лежат разработки материалов, пригодных для биомедицинского применения. Одним из важных направлений в этой области является разработка материалов для остеопластики (костных имплантатов), которые предназначены для замены или лечения поврежденной костной ткани. Успешная интеграция искусственного материала в функционирующую костную ткань требует соблюдения следующих условий: а) *химической совместимости*, б) *биологической совместимости* и в) *механическая совместимости*. Соединение указанных выше требований в рамках конкретного материала представляет собой сложную междисциплинарную задачу. Актуальность исследовательских усилий в этой области для нашей страны обусловлена, во-первых, социальными аспектами (качеством жизни и здоровьем населения, а также вытекающими отсюда вопросами демографии) и, во-вторых, экономическими реалиями, среди которых необходимо упомянуть проблему импортозамещения. Потребности отечественного здравоохранения в костных имплантатах достигают 200 тысяч единиц в год; при этом согласно общемировому прогнозу к 2020 г. не менее 70 млн.чел. ежегодно будут испытывать острую необходимость в подобных материалах.

Фосфатная керамика имеет определенные преимущества перед металлами и полимерами в качестве материала для костных имплантатов, соединяя в себе высокую *прочность* и существенную склонность к биодegradации (*резорбции*). Немаловажен и медицинский аспект применения керамических имплантатов: для их *стерилизации* перед хирургическим использованием могут быть применены простые и надежные термические методики. Попытки совместить необходимые механические характеристики и биологическую активность материала привели к внедрению в медицинскую практику **гидроксиапатита** $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (ГА) - основного неорганического компонента костной ткани. Свойства ГА чувствительны к Ca/P нестехиометрии, условиям синтеза и обработки в силу сложного состава и кристаллической структуры. Плотная ГА-керамика может выполнять опорную функцию (нести нагрузку), поскольку обладает достаточной прочностью. Вместе с тем процесс интеграции такого имплантата в костную ткань

ограничен областью контакта материал/кость. Таким образом, смысл применения плотной керамики сводится к долговременному замещению костного дефекта.

В настоящее время концепция применения биоматериалов заметно изменилась и находится в русле *регенеративной медицины*, где акцент делается на полную замену биоматериала нативной растущей костью, а материалу отводят роль источника необходимых для построения костной ткани элементов, лишь первоначально осуществляющего опорную и направляющую функции. Регенеративный подход требует от современных остеопластических материалов, прежде всего, ускорения процесса срастания и замены имплантата новой костной тканью, остеостимулирующего действия материала имплантата, в то время как высокий уровень механических нагрузок на время лечения можно исключить.

Важнейшими характеристиками такого рода материалов, помимо естественного требования биосовместимости, являются 1) способность к *резорбции*, которая коррелирует с растворимостью материалов в слабокислых и нейтральных средах, 2) *остеокондуктивность* (или остеопроводимость) – способность материала обеспечивать проходимость биологических потоков, прорастание в имплантат кровеносных сосудов (васкуляризация), адгезию и связывание остеогенных клеток; эта характеристика коррелирует с физической проницаемостью пористого тела-

Материаловедческий аспект разработки подобных материалов диктует вполне определенные требования к химическому составу. Традиционно применяемая керамика из гидроксиапатита –практически не подвергается деградации в организме. Вместе с тем процесс интеграции (прорастания) костной ткани в такой имплантат затруднён. Связано это как с крайне низкой растворимостью (биорезорбируемостью) ГА в растворных средах организма, так и с отсутствием единой системы пор (каналов), необходимой для прохождения кровеносных сосудов и нервных волокон. Пористая керамика отчасти решает эти проблемы, однако низкий уровень растворимости материала ($PP_{ГА} = 10^{-118} M^{18}$) остаётся серьёзным препятствием на пути внедрения подобных материалов в медицинскую практику. В идеальном случае имплантат должен постепенно раствориться в среде организма (при этом выполнять свои опорные функции), а на его месте образоваться новая костная ткань. Улучшение резорбционных свойств наблюдают у керамики, приготовленной из трикальцийфосфата $\beta-Ca_3(PO_4)_2$ (β -ТКФ) или композитов ГА/ТКФ. Повышение предела и скорости резорбируемости связано с уменьшением отношения Ca/P в материале имплантата или с переходом к кальцийфосфатным соединениям, кристаллическая решетка которых менее устойчива, чем у ГА. Такими соединениями могут быть, например, смешанные фосфаты типа $Ca_{3-x}M_{2x}(PO_4)_2$ (M=Na, K)

с ренанитоподобной структурой, априори менее прочной, чем у ГА. Дополнительным инструментом варьирования резорбционных свойств является изменение состава: при увеличении x , падает отношение Ca/P.

Остеокондуктивные свойства определяются наличием связанной системы макропор с размером не менее 100 мкм. При этом керамический каркас, обрамляющий макропоры должен обладать определенной архитектурой, позволяющей при заданной доле пор а) максимизировать проницаемость, б) максимизировать механические характеристики, такие как прочность, жесткость, в) формировать поверхность, к которой могли бы прикрепляться, делиться и дифференцироваться клетки остеогенного типа. Проектирование архитектуры каркаса и ее реализация в виде пористого керамического материала с заданной микроструктурой и фазовым составом составляют *инженерный аспект* настоящей работы.

Целью настоящей работы является разработка методов получения остеокондуктивных материалов, предназначенных для замены костных тканей, обладающих повышенным уровнем резорбции по сравнению с ГА и ТКФ. В качестве таковых предложено использовать двойные фосфаты кальция и натрия общей формулой $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($x=0\div 1$, $\text{M}=\text{Na}, \text{K}$) со структурой β -ТКФ ($x<0.15$) и β -CaNaPO₄ ($x=1$) в качестве компонентов керамики или многофазных композитов. Стратегия повышения резорбируемости (а точнее одного из существенных компонентов этой функции – растворимости в водных растворах), принятая в работе, основана на уменьшении энергии решетки вследствие замены катиона Ca^{2+} на крупный однозарядный катион щелочного металла; при этом по мере замещения происходит смена структурного типа α/β -ТКФ → α/β -CaMPO₄(ренанит).

В работе были поставлены и решены следующие задачи:

1. Исследовать процессы фазообразования и установить фазовые отношения в субсолидусной области квазибинарных разрезов $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ – CaMPO₄ систем CaO – M₂O – P₂O₅ (где $\text{M}=\text{Na}, \text{K}$).
2. Определить условия синтеза (исходные реагенты, температура, время) двойных фосфатов кальция и натрия с общей формулой $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($x=0\div 1$, $\text{M}=\text{Na}, \text{K}$), исходя из полученных данных о фазообразовании и кинетики твердофазных реакций в указанных системах.
3. Получить керамические материалы на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($x=0\div 1$, $\text{M}=\text{Na}, \text{K}$). Оценить влияние полиморфного превращения на возможность получения прочной керамики и на ее резорбируемость.

4. Разработать способы получения макропористой остеокондуктивной керамики со специальной архитектурой методами трехмерной (3D-) печати, в том числе:

- сформулировать состав и условия подготовки высококонцентрированных суспензий (ВКС), используемых для различных вариантов прототипирования;
- апробировать два варианта прототипирования - инвертированной и прямой 3D-печати; выбрать лучший вариант с точки зрения разрешения и прочности конечной керамики;
- определить условия термообработки моделей после печати для получения прочного керамического имплантата.

5. Оценить резорбируемость избранных составов керамики $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ в растворяющей среде при различных значениях pH.

6. Провести прочностные испытания макропористых имплантатов и выборочные медико-биологические испытания.

Научная новизна данной работы состоит в следующих положениях:

1. Впервые показано, что основные отличия системы $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - CaKPO_4 от $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - CaNaPO_4 заключаются в смещении невариантных равновесий в область более высоких температур, в замедлении фазовых превращений, а также в отличной от натриевого аналога структуре низкотемпературной β - CaKPO_4 .

2. Замедление фазового превращения α/β -ренанит в материалах на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ с $\text{Ca}/\text{M} > 1$ позволяет стабилизировать высокотемпературную фазу α -ренанита и снизить растрескивание керамики.

3. Методами 3D-печати впервые получены образцы макропористой керамики на основе двойных фосфатов кальция и щелочных металлов с архитектурой Кельвина, обеспечивающей остеокондуктивность.

4. Керамика, содержащая фазы на основе α - CaMPO_4 , обладает высокой растворимостью, что подтверждает принятую в работе стратегию повышения резорбируемости вследствие снижения энергии кристаллической решетки (увеличения мольного объема).

Практическая ценность результатов работы заключается в следующем:

1. Предложены методики твердофазного синтеза двойных фосфатов кальция и щелочных металлов с указанием исходных веществ, температуры и времени синтеза.

2. Определены основные параметры процесса стереолитографии кальцийфосфатных суспензий, который позволил создать керамические имплантаты с заданным размером макропор (от 50 мкм), общей пористостью 70-80% и достаточной механической прочностью (до 10 МПа).

3. Разработанные материалы состава $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($x=0\div 1$, для $\text{M}=\text{Na}$ и $x=0\div 0.7$ для $\text{M}=\text{K}$) являются биосовместимыми с культурой клеток фибробластов человека и могут быть использованы в работах по тканевой инженерии в качестве керамических матриц.

Личный вклад автора в представляемую работу состоит в:

1. Критическом обзоре литературных данных.
2. Синтезе всех использованных в работе составов и приготовлении образцов для исследований; усовершенствовании использованных в работе 3D-принтеров и отработке параметров технологии трехмерной печати макропористой керамики.
3. Самостоятельном проведении всех термоаналитических, дифракционных и электронномикроскопических исследований, ионометрии растворов и, частично, высокотемпературного рентгенографического эксперимента.
4. Анализе и обработке экспериментальных данных, обобщении и систематизации результатов.

Представленная работа - часть плановых исследований биоматериалов, проводимых на кафедре междисциплинарного материаловедения Факультета наук о материалах МГУ и кафедре неорганической химии Химического факультета МГУ в рамках приоритетной научной темы “Создание новых типов функциональных материалов”. Работа выполнена в лаборатории неорганического материаловедения кафедры неорганической химии Химического факультета МГУ. Представленные в работе результаты являются частью исследований, проведенных в рамках ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 годы” (мероприятие 1.2.2, государственный контракт No. 14.740.11.0277) и при поддержке грантов РФФИ 10-03-00866, 11-08-01015а, 11-03-12179-офи-м-2011, 12-03-01025, 12-08-00681-а, 12-08-33125, 14-08-31699 и РНФ 14-19-00752. При выполнении работы было использовано оборудование, приобретенное за счет средств программы развития Московского университета.

Автор считает своим приятным долгом выразить благодарность своему научному руководителю Путляеву В.И. за грамотное руководство в процессе выполнения работы, сотрудникам и преподавателям Факультета наук о материалах. Также за помощь в проведении исследований автор выражает благодарность сотрудникам кафедры неорганической химии Химического факультета МГУ Елисеву А.А., Иткису Д.М., Ковалевой Е.С., Колесник И.В., Петухову Д.И., Семененко Д.А., Филиппову Я.Ю. и в особенности Гаршеву А.В., Напольскому К.С., Сафроновой Т.В., Филипповой Т.В., Шаталовой Т.Б., и отдельно Вересову А.Г. Автор искренне признателен за помощь

студентам и аспирантам факультета наук о материалах в особенности Капитановой О.О., Зыкину М.А., Лебедеву В.А., Мерзлову Д.А., Напольскому Ф.С., Орлову Н.К., Рослякову И.В. За проведение биологических испытаний автор выражает благодарность с.н.с., к.ф.м.н. Селезневой И.И. (ИТЭБ РАН) и проф., д.б.н. Сергеевой Н.С. и с.н.с., к.б.н. Свиридовой И.К. (ФГБУ МНИОИ им.П.А.Герцена), за проведение механических испытаний Просвирнину Д.В. (ИМЕТ РАН).

2. Обзор литературы

2.1. Материалы биомедицинского назначения

Исходя из структуры, состава и свойств костной ткани биоматериалы, претендующие на роль имплантатов для замены крупных участков кости, должны удовлетворять ряду требований:

а) Биосовместимость.

Материал имплантата должен вызывать адекватный отклик со стороны окружающих тканей, т.е. не должен быть токсичным, не должен вызывать отрицательных иммунных и других реакций со стороны организма, не отторгаться организмом как инородное тело. Биосовместимость в большей степени определяется химическим составом материала имплантата.

б) Биоактивность.

Биоактивные материалы - это материалы, срастающиеся с костью с образованием прочного переходного слоя новообразованной костной ткани. Биоактивные материалы непосредственно участвуют в биохимических процессах в зоне контакта с живой тканью и стимулируют ее рост. Под биоактивностью понимают комплексную характеристику, в которую обычно включают остеокондуктивность и остеоиндуктивность.

в) Остеокондуктивность.

Остеокондуктивностью называют способность материала к адгезии и связыванию остеогенных клеток, к обеспечению биологических потоков, неоваскуляризации (росту сосудов) и к поддержанию процессов пролиферации (рост ткани путем новообразования и размножения клеток) и дифференцировки клеток из окружающей живой ткани, с образованием непосредственной связи с костной тканью или быть постепенно замещаемым новообразующейся тканью [1].

г) Остеоиндуктивность.

Остеоиндуктивность – это способность материала индуцировать дифференцировку клеток в остеообразующие клетки (хондроциты, остеобласты) из окружающих некостных тканей на его поверхности.

д) Прочность.

Материал имплантата должен обладать достаточными прочностными характеристиками для проведения механической доработки в ходе операции имплантации материала в костный дефект. Слишком низкие механические характеристики также не позволяют использовать материал как замену костной ткани, а, например, слишком

высокие значения модуля Юнга для материала могут привести к утере имплантата вследствие резорбции находящегося с ним в контакте костного вещества.

е) Биорезорбируемость/биорезистивность.

В идеальном случае имплантат должен постепенно растворяться в организме человека, замещаясь новой, естественной костной тканью, и должен способствовать ее росту, будучи источником необходимых для этого элементов.

Все многообразие биоматериалов классифицируют по нескольким признакам. С точки зрения действия биоматериалов на ткани организма, биосовместимые материалы разделяют на биотолерантные, биоинертные и биоактивные[2]:

- *Биотолерантные материалы* в имплантированном состоянии из-за малого сродства с костной тканью отделены от нее сравнительно толстыми промежуточными слоями (металлические сплавы, полимеры).
- *Биоинертные материалы* характеризуются слабым взаимодействием с костной тканью, после пересадки и вживления отделены от последней тонкими промежуточными слоями и слабо фиксированы в тканях организма (материалы на основе оксида алюминия и циркония).
- *Биоактивными материалами* являются материалы на основе фосфатов кальция, например ГА, ТКФ и др.

С точки зрения действия тканей организма на имплантат можно выделить материалы *биodeградируемые* (металлические сплавы, полимеры), *биорезистивные* (ГА) и *биорезорбируемые* (ТКФ, фосфатные биостекла). Биodeградируемость предполагает постепенную деградацию структуры и свойств материала, его растворение под действием среды организма. Биорезистивность – свойство материала, характеризующее его химическую и структурную устойчивость к воздействию тканей и среды организма. Биорезорбируемость характерна для некоторых кальцийфосфатных материалов, которые, деградируя, являются источником компонентов для формирования фосфатов кальция в организме.

2.2. Строение и свойства костной ткани

Кость - сложный материал с многоуровневой организацией, содержащий костный мозг, нервы, кровеносные и лимфатические сосуды. Кость выполняет множество функций, в том числе опорную, запасную и т.д.

Остеоны, являющиеся основной «строительной» единицей кости, имеют вид цилиндров диаметром 100-500 мкм и длиной до нескольких сантиметров. Каждый остеон

состоит из 3-25 костных пластинок, расположенных концентрически вокруг общей сердцевины - гаверсова канала (рис. 2.1) [3].

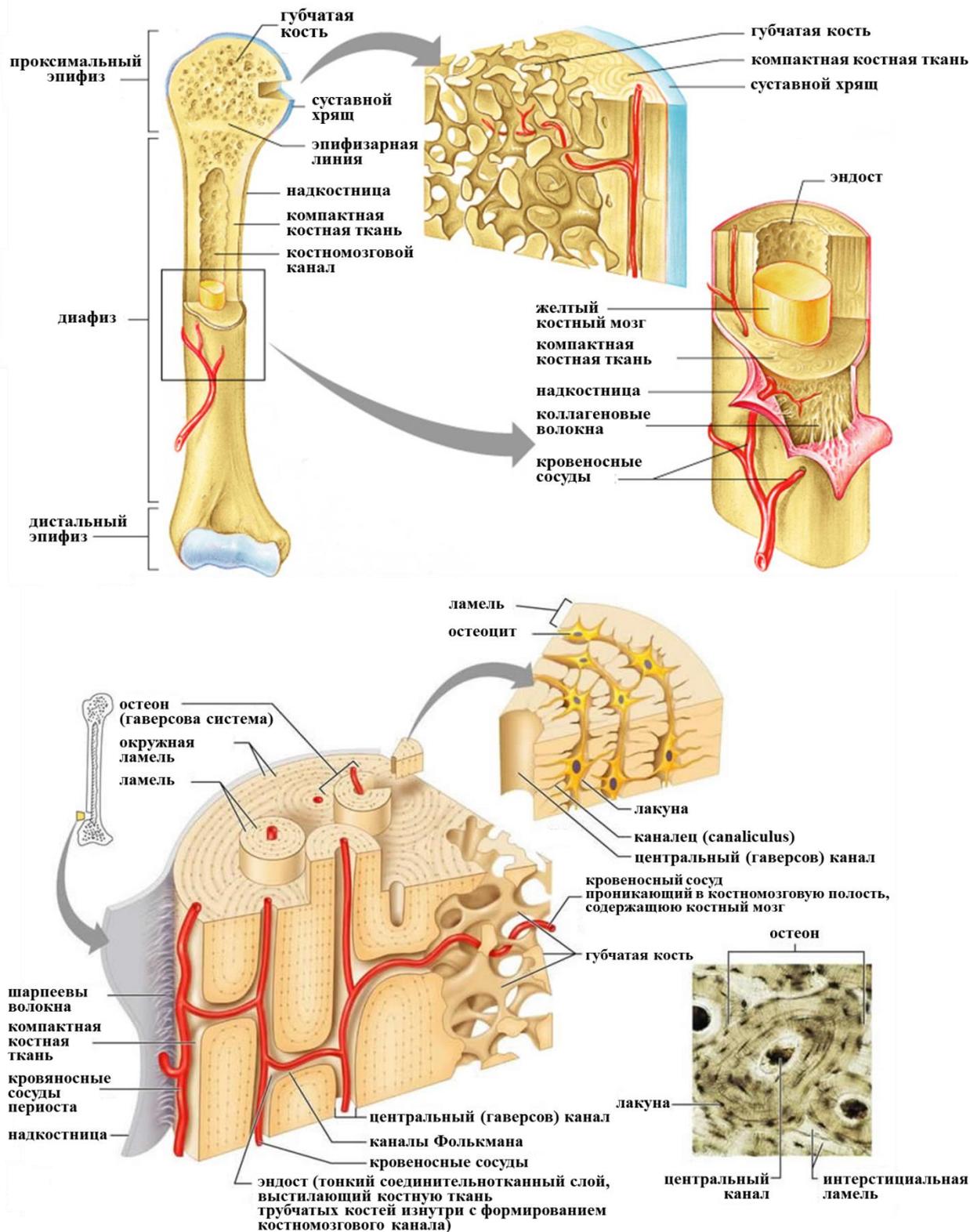


Рис. 2.1. Уровни организации костной ткани.

Коллагеновые волокна крепко прикрепляют надкостницу к внешней поверхности кости. Объемные коллагеновые пучки плотно переплетены с наружным слоем кости, тем

самым придавая механическую прочность при растяжении. Спирально скрученные три полипептидные нити образуют молекулы коллагена, которые организуются в фибриллы, диаметром от 100 до 2000 нм. Костный матрикс кальцифицируется в межфибрилярном пространстве [4].

Кость является сложным композиционным материалом состоящей как из минеральной - неорганической части, так и из органической – биополимер. Кость обладает высокой устойчивостью к образованию трещин и имеет высокую прочность, несмотря на свою низкую плотность (~ 2 г/см³). С возрастом у человека в зависимости от типа кости и характера нагрузок на нее происходит изменение функциональных характеристик костной ткани [5].

Неорганический состав костной ткани можно выразить следующей брутто-формулой $(Ca,Na)_{10-x-y}(HPO_4)_x(CO_3)_y(PO_4)_{6-x-y}(OH)_{2-x-y-z}(Cl,F)_z$, где в молодом организме $x+y \sim 1.7$, с возрастом x уменьшается, а y увеличивается [6].

Таблица 2.1. Химический состав костной ткани [3, 4].

<i>Состав костной ткани</i>	<i>вес %</i>
Ca ²⁺	24.5
P (в форме фосфатов)	11.5
Ca/P	1.65
Na ⁺	0.7
Mg ²⁺	0.55
K ⁺	0.03
CO ₃ ²⁻	5.8
F ⁻	0.02
Cl ⁻	0.10
P ₂ O ₇ ⁴⁻	0.07
<i>Всего неорг.</i>	65.0
<i>Всего органич.</i>	25.0
<i>Вода</i>	10.0
Размер кристаллов, нм	50 x 20 x 5

Механические свойства кости проявляют анизотропию при перпендикулярных и параллельных нагрузках (табл.2.2) [1, 4].

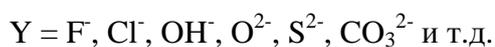
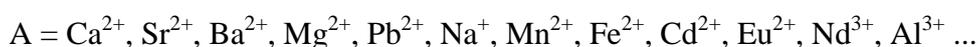
Таблица 2.2. Механические свойства компактной кости и зубного дентина [4].

<i>Характеристики</i>	<i>Направление испытаний по отношению к оси кости</i>		<i>Дентин зубов</i>
	" "	" ⊥ "	
Прочность при растяжении, МПа	124 - 174	49	250 - 350
Прочность при сжатии, МПа	170 - 193	133	11 - 17
Прочность при изгибе, МПа	160 ^a	-	21 - 53
Модуль Юнга, ГПа	17 - 27	11.5	11 - 19
Трещиностойкость, K _{IC} , МПа*м ^{1/2}	2 - 12 ^a	-	12

Создание точной копии сложной архитектуры и морфологии костной ткани (как следствие, достижение таких значений механических характеристик) на данный момент не возможно.

2.3. Кристаллохимия апатита

Гидроксиапатит (ГА) является биосовместимым материалом, что объясняется подобием кристаллохимического строения с материалом костного вещества позвоночных. ГА имеет структурный тип апатита $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$. Соединения со структурным типом апатита можно записать следующим образом $\text{A}_{10}\text{X}_6\text{Y}_2$ [7] и $\text{M}_{10}(\text{XO}_4)_6(\square)_2$, где \square - вакантное место аниона Y:



Структура ГА описывается пространственной группой $\text{P6}_3/\text{m}$ гексагональной системы ($a = b = 9.432 \text{ \AA}$ и $c = 6.881 \text{ \AA}$). ГА представляет собой слоистый кристалл. Кальций в структуре занимает две позиции в зависимости от координации (рис. 2.2). Ca (I) - девятивершинники CaO_9 (расстояние Ca-O равно 2.55 \AA) - объем полиэдра равен 30.2 \AA^3 . Позиция Ca (II) - CaO_7 (CaO_6F) с объемом 22.0 \AA^3 и со средним расстоянием Ca-O 2.45 \AA . Треугольники, образованные тремя винтовыми осями из Ca (II), на зеркальной плоскости формируют каналы вдоль оси c , в которых находятся ионы OH на расстоянии $\sim 0.34 \text{ \AA}$ вне плоскости Ca^{2+} треугольника. Группы OH могут изоморфно замещаться на ионы Cl^- и F^- . Тетраэдры PO_4^{3-} имеют небольшое искажение, где среднее P-O равно 1.53 \AA .

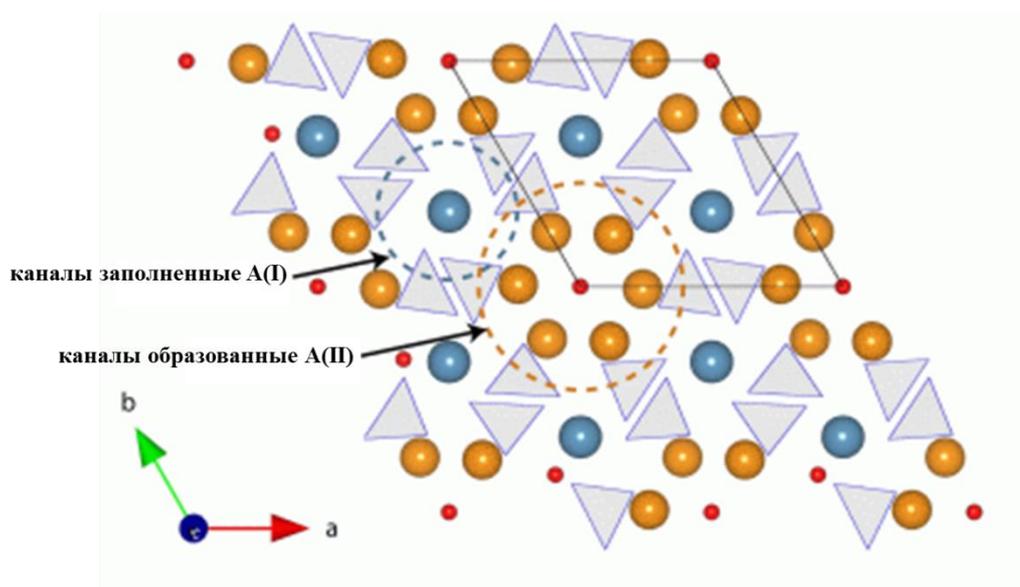


Рис. 2.2. Проекция структуры ГА вдоль оси c [8]

Апатиты, идентифицированные как $M_{10}(XO_4)_6\Box_2$, стабильны только тогда, когда гексагональные каналы образованы катионами Tl^+ , Pb^{2+} , Bi^{3+} , которые несут неподеленные электронные пары ns^2 , располагающиеся в пустом канале (рис. 2.3) [9].

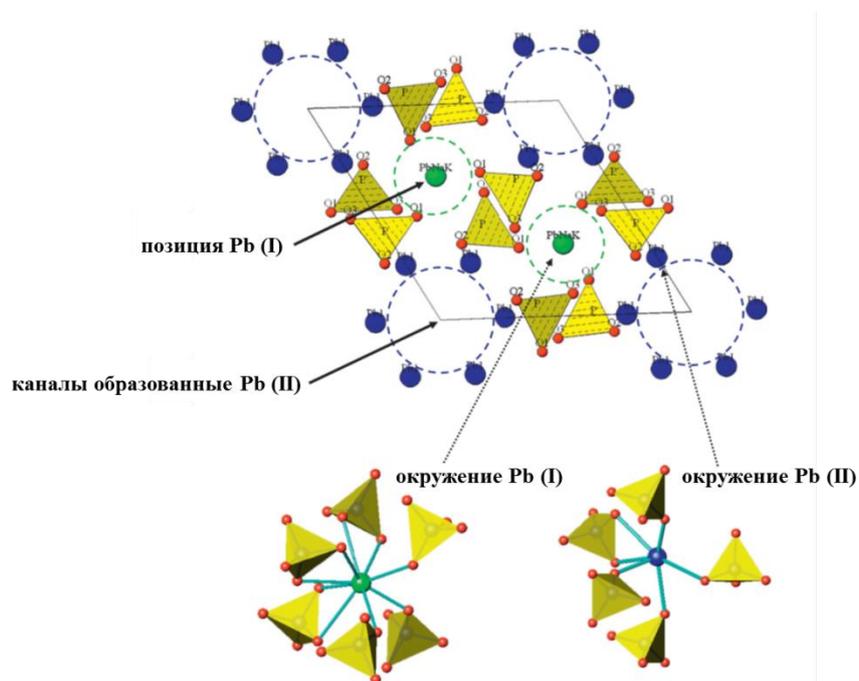


Рис. 2.3. Проекция структуры $Na_{0.5}K_{0.5}Pb_4(PO_4)_3\Box_2$ вдоль оси c [9]

2.4. Трикальцевый фосфат (ТКФ) $Ca_3(PO_4)_2$

ТКФ обладает четырьмя полиморфными модификациями β -, α -, α' - и фаза высокого давления γ -ТКФ [10]. Получение ТКФ возможно только под воздействием высоких температур, например, разложением аморфного фосфата кальция (АФК) [11] или нестехиометричного гидроксипатита (нГА). Твердофазную реакцию получения ТКФ можно проводить одновременно с процессом спекания.

Для получения β - $Ca_3(PO_4)_2$ в ходе твердофазного синтеза может быть использованы, следующие реакции (2.1-2.2) [3, 10, 12, 13]:



Температура фазового перехода в высокотемпературную α - $Ca_3(PO_4)_2$ модификацию ~ 1170 $^\circ\text{C}$. Растворимость α - $Ca_3(PO_4)_2$ в воде выше по сравнению с β - $Ca_3(PO_4)_2$ [10, 14]. α -ТКФ кристаллизуется в моноклинной сингонии (рис. 2.5), пространственная группа $P2_1/a$ ($a=12.887$ Å , $b=27.280$ Å , $c=15.219$ Å , $\beta=126.20^\circ$, $Z=24$) плотность 2.863 г/см^3 . β -ТКФ имеет структуру, сходную со структурой витлокита $Ca_{18}(Mg,Fe)_2H_2(PO_4)_{14}$ и имеет пространственную группу $R3c$, параметры элементарной ячейки: $a=b=10.439$ Å , $c=37.375$ Å , $Z=21$, плотность $3,067$ г/см^3 .

Материалы на основе ТКФ обладает большей резорбции по сравнению с материалами на основе ГА ($\rho_{\text{ПРГА}}=116.8$, $\rho_{\text{ПР}\alpha\text{-ТКФ}}=25.5$, $\rho_{\text{ПР}\beta\text{-ТКФ}}=28.9$, [3, 4, 10, 15]), причем в литературе описаны случаи, когда скорость растворения материала на основе α -ТКФ превосходит скорость роста нативной костной ткани, что приводит к преждевременной потере имплантата [6], в результате чего предлагается использовать керамические материалы (как плотные, так и пористые) на основе β -ТКФ, обладающих меньшей растворимостью по сравнению с α -ТКФ [16]. ТКФ также используют в двухфазных материалах на основе ГА/ТКФ, что позволяет контролировать скорость резорбции материала [17].

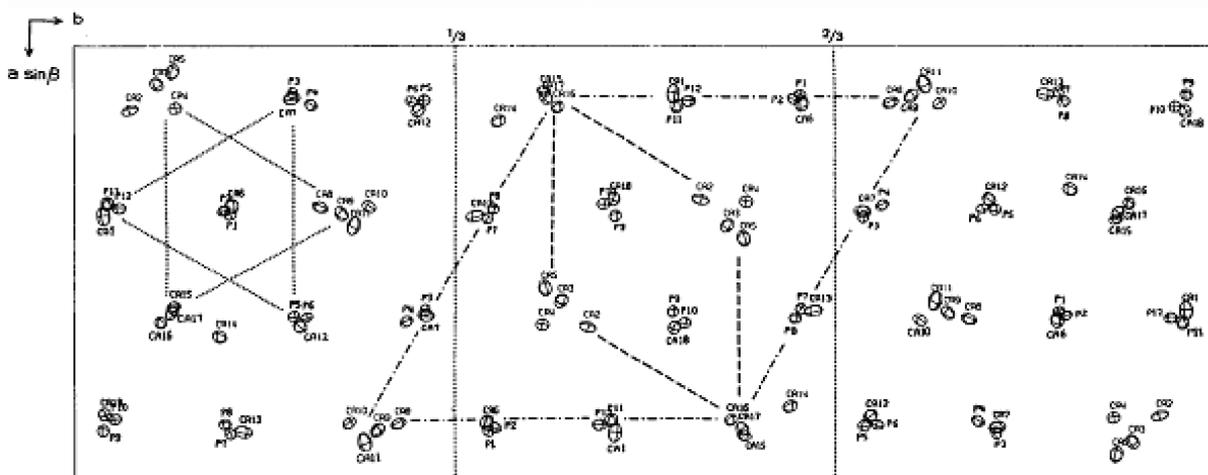


Рис. 2.4. Проекция структуры α -ТКФ вдоль оси с. Тире выделяют область ячейки, относящуюся к глазериту, а точки-тире – ГА[18].

2.5. Пирофосфат кальция (ПФК)

2.5.1. Кристаллохимия

ПФК имеет три полиморфные модификации: α -, β - и γ - форму. β - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ и α - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ являются термодинамически стабильными фазами. γ -форма ПФК является метастабильной фазой, данные о кристаллической структуре данной фазы отсутствуют. Параметры элементарных ячеек β - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ и α - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (тетрагональная и моноклинная модификация соответственно) представлены в табл. 2.3 [19].

Таблица 2.3. Кристаллографические данные для β-ПФК и α-ПФК [19].

Ca ₂ P ₂ O ₇	Пространственная группа	Z	Плотность, г/см ³	Параметры элементарной ячейки			
				a(Å)	b(Å)	c(Å)	β(°)
β	P4 ₁	8	3,128	6.684	6.684	24.144	90
α	P2 ₁ /n	4	2,936	12.66	8.542	5.315	90.3

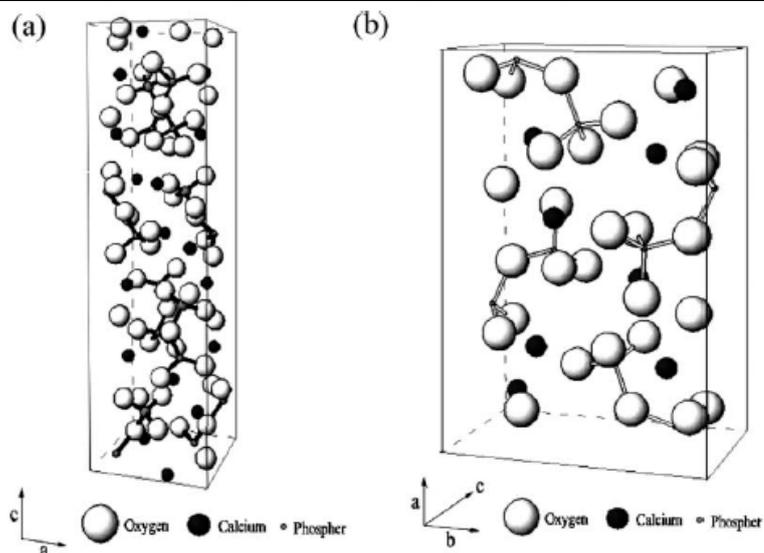


Рис. 2.5. Кристаллическая структура β-Ca₂P₂O₇ (a) и α-Ca₂P₂O₇ (b) [19]

2.5.2. Методы получения ПФК

Для получения ПФК чаще всего используют следующие методы синтеза: растворный, твердофазный, пиролиз аэрозолей, разложение дикальциевого фосфата дигидрата (CaHPO₄·2H₂O, брушит) или дикальциевого фосфата (CaHPO₄, монетит). Растворным методом ПФК получают осаждением из растворов Ca(NO₃)₂ и Na₄P₂O₇, со средним размером частиц около 20 мкм [20]. Проведение твердофазной реакции между CaCO₃ и (NH₄)₂HPO₄ позволяет синтезировать ПФК [19].

Термическое разложение брушита или монетита считается одним из наиболее простых способов получения ПФК (2.3) и (2.4).



Полиморфная модификация конечного продукта зависит от конечной температуры реакции. Термообработка при 450 °С позволяет получить аморфный ПФК, 530 °С - γ-Ca₂P₂O₇, 750 °С - β-Ca₂P₂O₇; 1170 °С - α-Ca₂P₂O₇ [10].

Брушит получают в ходе взаимодействия CaO и H₃PO₄ [21], либо соосаждением из растворов при pH ~ 3÷5:



где X = NH₄, Na, K, Y = Cl, NO₃, CH₃COO и т.д. [22]

Повышение температуры реакции выше 80 °С способствует образованию монетита.

2.6. Смешанный фосфат кальция и натрия CaNaPO_4 (Ренанит)

2.6.1. Кристаллохимия

Ренанит относится к классу веществ со структурой подобной структуре $\beta\text{-K}_2\text{SO}_4$ или глазерита ($\text{K}_3\text{Na}(\text{SO}_4)_2$) с общей формулой $\text{A}_x\text{B}_y(\text{XO}_4)_{(x+y)/2}$. Натриевый ренанит кристаллизуется в пространственной группе $Pn2_1a$ орторомбической системы ($a=20.397(10)$, $b=5.412(4)$, $c=9.161(5)$ Å) [23, 24]. Структуру CaNaPO_4 (рис. 2.6) можно легко описать с помощью структуры $\beta\text{-K}_2\text{SO}_4$. Она выстроена с помощью двух типов атомных колонок вдоль оси a . Колонка А выстроена с помощью меняющихся тетраэдров фосфат-ионов и атомов Na. Колонка В состоит только из атомов Ca. Главное различие между CaNaPO_4 и $\beta\text{-K}_2\text{SO}_4$ это три различных ориентации независимых тетраэдров фосфат-ионов.

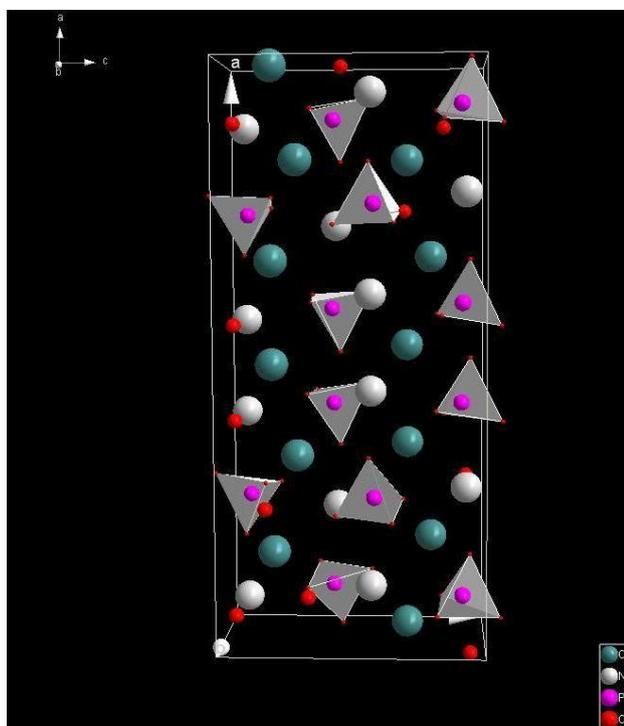


Рис. 2.6. Кристаллическая структура $\beta\text{-NaCaPO}_4$ [23]

В результате чего увеличивается количество разнокоординированных полиэдров трех атомов Ca и Na, что приводит к утроению параметра $a_{\beta\text{-K}_2\text{SO}_4}$. В структуре ренанита позиции кальция представляют собой восьмивершинники CaO_8 , где среднее межатомное расстояние Ca-O составляет 2.48 Å. Позиции Na представляют собой шестивершинники, если считать, что расстояния меньше, чем 2.8 Å или десятивершинники, если рассматривать расстояния больше, чем 3.3 Å. Среднее межатомное расстояние P-O в тетраэдрах $[\text{PO}_4]$ лежит между 1.533 и 1.545 Å, что хорошо соответствует с результатами, которые были получены при расчете структур $\text{NaCd}_4(\text{PO}_4)_3$ [25], $\text{NaMg}_4(\text{PO}_4)_3$ [26],

NaBaPO_4 [27] в интервале от 1.522 до 1.549 Å. Средний угол в тетраэдрах лежит в диапазоне от 109.4 до 109.5°.

2.6.2. Методы получения CaNaPO_4

Преимущественным методом получения ренанита является твердофазный подход. Причем, выбор исходных реагентов достаточно разнообразен. В качестве прекурсоров для получения ренанита можно выбрать карбонат кальция, карбонат натрия и фосфат [26] или гидрофосфат [28] аммония, тогда процесс получения пройдет согласно следующим реакциям (2.6) и (2.7):



Также CaNaPO_4 получают с помощью прокаливания смеси до 1100 °С оксида кальция, фосфорной кислоты и карбоната натрия [29]:



Однако, довольно хорошо известен «Ренания-процесс», который широко применяется в производстве удобрений для получения более растворимых фосфатных материалов [29]. В этом процессе используют природный минерал гидроксиапатита, который смешивают с карбонатом натрия и оксидом кремния, получая соотношение $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{P}_2\text{O}_5$ фиксированное 1,0. SiO_2 добавляют для предотвращения появления чистого оксида кальция в конечном продукте. Затем всю смесь помещают в барабанную печь на несколько часов с температурой равной 1000-1200°С. В результате реакции (2.9):



в качестве основной фазы образуется более растворимый материал ренанит.

2.7. Смешанный фосфат кальция и калия CaKPO_4

Несмотря на то, что смешанные фосфаты кальция и натрия описаны, в том числе и в плане возможности их применения в качестве биоматериалов, данных относительно CaKPO_4 в литературе мало и они достаточно противоречивы.

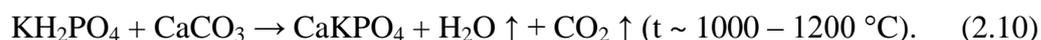
2.7.1. Кристаллохимия

Известно, что смешанный фосфат кальция и калия существует в двух различных кристаллических модификациях, которые из-за своего сходства рентгенологической картины с основным компонентом ренани-фосфата (Rhenania-phosphate, немецкого коммерческого удобрения), были названы “ α - и β - калиевые ренаниты” [30].

Однако в некоторых статьях, например, [31, 32] было указано, что различия между α - и β - формой нет. Но вскоре было показано, что α - и β - формы имеют очень схожую структуру [24]. Было предположено, что α - калиевый ренанит с гексагональной структурой и параметрами $a=9.67$, $b=5.58$ и $c=7.60$ Å, после его образования переходит в β - калиевый ренанит, образуя ромбическую ячейку с $a=9.67$, $b=5.48$ и $c=7.61$ Å. Но так как на практике можно поменять местами кристаллографические оси таким образом, что меньший размер расположен вдоль оси a , а больший вдоль b , то получаются следующие параметры: $a'=5.48$, $b'=9.74$ и $c'=7.61$ Å.

2.7.2. Методы получения СаКРО₄

Вследствие существенной разницы в растворимости фосфатов кальция и калия, СаКРО₄ нельзя получить соосаждением из растворов, поэтому единственным способом получения может быть метод твердофазных реакций [33, 34]. В работах [35, 36] была предложена следующая реакция:



В то же время в литературе есть сведения [37] о возможности реакции (2.11) с участием гидроксипатита:



Тем не менее, вряд ли следует доверять подобным результатам. Энтальпийный фактор данной реакции $\Delta_r H^\circ$ больше нуля (поскольку вследствие высокой прочности кристаллической решетки, ГА имеет отрицательную и значительную по модулю энтальпию образования), энтропийный фактор скорее всего не вносит значительного вклада, следовательно, свободная энергия реакции (2.11) должна быть больше нуля.

2.8. Фазовые равновесия в системе СаО-Р₂О₅-Na₂О

Известно большое число ортофосфатов кальция, отличных от ГА, которые находят свое применение в медицинской практике [3, 15, 38-40]. Их определяющими параметрами являются отношение Са/Р и растворимость. В общем случае, при уменьшении отношения Са/Р, фосфат является более «кислым» и потому более растворимым [15].

При температуре человеческого тела в контакте с водной средой устойчивы только четыре фосфата кальция: нерастворимые CaHPO_4 (дикальциевый фосфат – монетит), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (гидроксиапатит, ГА); растворимые $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ (монокальциевый фосфат) и $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (монокальциевый фосфат моногидрат) [3, 41, 42]. При высоких температурах в системе могут быть получены фазы состава $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (α -, β -ТКФ, C_3P), $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$ (тетракальциевый фосфат, C_4P) (рис. 2.7)[3, 4, 15, 43, 44].

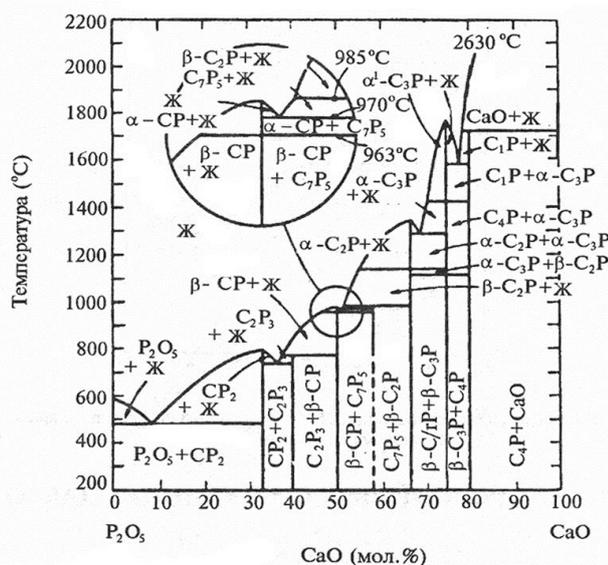
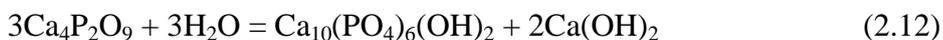
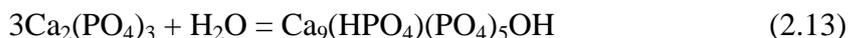


Рис. 2.7. Диаграмма системы CaO-P₂O₅ (Обозначения: С – CaO, Р – P₂O₅, Ж – жидкость).

Однако не все фосфаты могут найти свое применение в медицинской практике. К примеру, применение тетракальциевого фосфата связано с некоторыми трудностями, т.к. при взаимодействии последнего с водой происходит реакция гидролиза (2.12), продуктом которой является гидроксид кальция. Образование $\text{Ca}(\text{OH})_2$ приведет не только к разрушению имплантата вследствие объемного эффекта реакции, но и к гибели окружающих тканей.



В случае ТКФ возможно полное протекание реакции гидролиза с образованием нестехиометричного гидроксиапатита как единственного продукта [45, 46], и pH реакционной среды не отличается сильно от нейтральной.



К настоящему времени предложено множество композиций, основанных на смесях различных фосфатов кальция: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$, CaHPO_4 , $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,

$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, α -, β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, АФК [4, 38, 40]. Несмотря на большое число всевозможных исходных составов, все их можно свести к двум конечным продуктам –ГА и ДКФД (рис. 2.7).

Для выбора условий синтеза необходимо знать фазовые соотношения в системе $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5$ и ее частных подсистемах и сечениях. Рассмотрим систему $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$. Трикальциевый фосфат претерпевает два полиморфных превращения: 1) переход из β - в α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ при $T=1180^\circ\text{C}$ и, возможно, 2) из α - в α' - фазу при $T=1280^\circ\text{C}$. CaNaPO_4 имеет структуру β - ренанита.

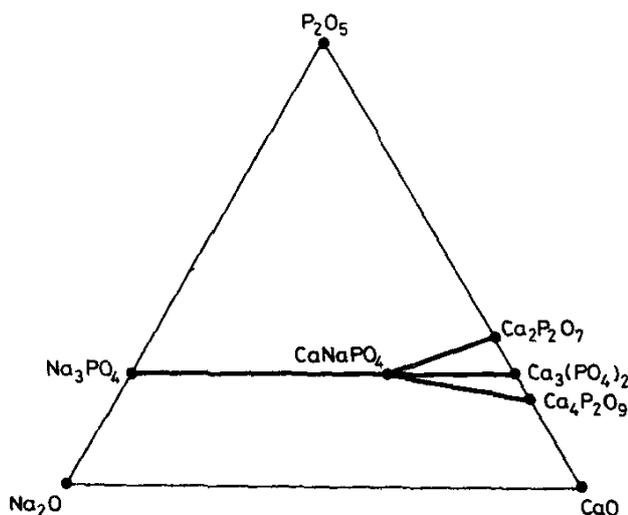


Рис. 2.8. Фазовая диаграмма тройной системы $\text{Na}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{CaO}$

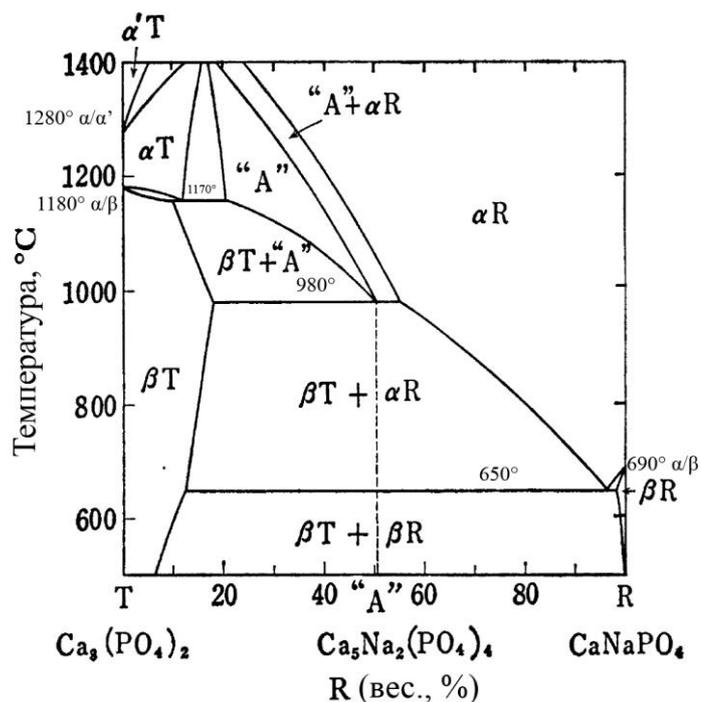


Рис. 2.9. Фазовая диаграмма системы $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$ [49].

Переход из низкотемпературной β -формы в α -форму (высокотемпературную модификацию) происходит настолько быстро при $T=690^\circ\text{C}$, что ее стабильную форму невозможно получить при комнатной температуре даже при закалке [24]. Однако данную (α -) фазу можно легко стабилизировать путем замещения около 50% Na_2O на CaO [47], кроме того, согласно данным Бредига [24] при синтезе составов ренанитового ряда из карбонатного прекурсора получают смешанные фосфато-карбонаты натрия-кальция (например, $\text{Ca}_4\text{Na}_6(\text{PO}_4)_4\text{CO}_3$), имеющие структуру α -ренанита. При закалке образцов выше 1400°C содержащих от 35 до 50.5 весовых % ренанита можно получить смесь твердых растворов состава “А” = $\text{Ca}_5\text{Na}_2(\text{PO}_4)_4$.

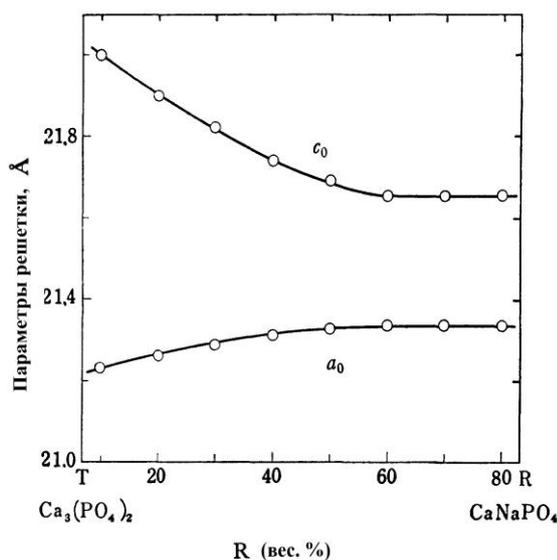


Рис. 2.10. Зависимость между содержанием ренанита и параметров решетки фазы «А» и твердых растворов полученных при закалке» [47].

Зависимость изменения параметров кристаллической решетки фазы “А” закаленной с 1400°C , в зависимости от содержания CaNaPO_4 , изображена на рис. 2.10 [47]. Видно, что параметр a меняется незначительно, а параметр c претерпевает значительные изменения при изменении содержания ренанита от 10 до 50 %. Подобные результаты указывают на то, что различные высокотемпературные фазы, найденные в системе $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$ ($\text{Ca}_5\text{Na}_2(\text{PO}_4)_4$ [47], $\text{Ca}_3\text{Na}_6(\text{PO}_4)_5$ [46], последняя фаза представлена в базе рентгенометрических данных ICDD PDF-2, файл #11-236, являются скорее всего сверхструктурами над твердым раствором типа α -ренанита. Вопрос о том, насколько упорядочению в данных твердых растворах должен соответствовать свой элемент на фазовой диаграмме (сечении), как, например, это показано на рис. 2.9, остается открытым. Вполне возможно, что данный элемент не является равновесным, и уж во всяком случае, нет никаких оснований рассматривать подобные «соединения» в качестве фаз с уникальной кристаллической структурой.

2.9. Получение макропористой керамики

Пористые материалы, согласно номенклатуре IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry - рус. “международный союз теоретической и прикладной химии”), разделены на три категории в зависимости от диаметра пор (d): макропористые ($d > 50$ нм), мезопористые ($50 \text{ нм} > d > 2 \text{ нм}$) и микропористые ($d < 2 \text{ нм}$). На рис. 2.11 представлены области применения пористых материалов согласно размеру пор материала [48].

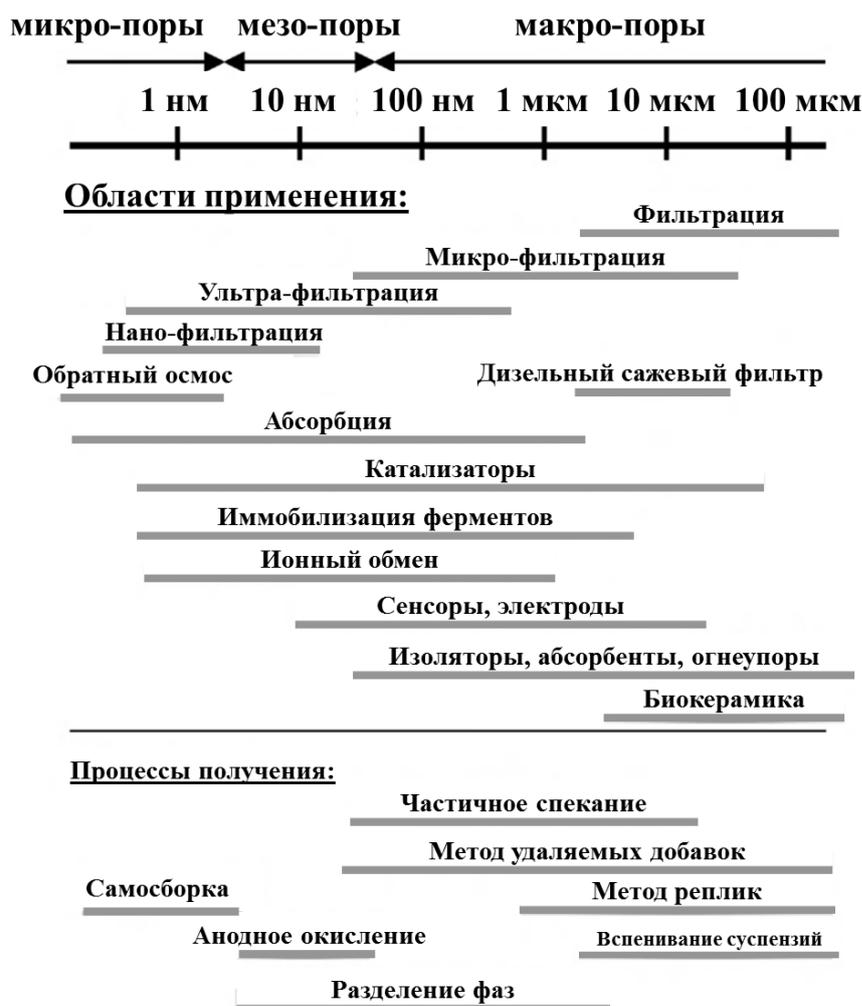


Рис. 2.11 Области применения пористых материалов в зависимости от размера пор.[48]

Материалы для биомедицинского применения располагаются в области “макропористых” изделий. В настоящее время существуют несколько подходов получения макропористых керамических материалов: метод “выгорающих добавок”; метод “вспенивания суспензий”; метод реплик.

2.9.1. Метод реплик

Метод реплики - один из наиболее распространенных методов получения макропористой керамики. Данный метод основан на воспроизведении формы полимерной ячеистой губки. Для этого на поверхность полимерного материала наносят раствор прекурсоров или керамическую суспензию, высушивают, аккуратно выжигают полимер и спекают оставшийся порошок, в результате чего керамический материал полностью повторяет форму полимерной матрицы. Схема получения макропористых керамических материалов методом реплики представлена на рис. 2.12.



Рис. 2.12. Схема получения керамики методом реплики [49]

В качестве каркаса могут выступать как природные, так и синтетические структуры. Впервые (1960) макропористые керамические материалы были получены с использованием полимерных ячеистых структур - “губок” [50]. В качестве каркасной структуры, чаще всего, используют вспененный ячеистый пенополиуретан (ППУ), который может быть легко получен с различной пористостью и размером пор. Для получения макропористой керамики каркас из ППУ погружают в керамическую суспензию до полного заполнения пор суспензией. Пропитанную ППУ губку пропускают через прокатные валки для удаления избытков суспензии, в результате чего на поверхности полимерного каркаса образуется тонкое покрытие из частиц прекурсора. На этом этапе вязкость суспензии должна быть достаточно низкой для того, чтобы избыток суспензии мог быть удален во время проката через валки, и в тоже время вязкость не должна быть слишком низкой для предотвращения “стекания” нанесенного слоя с поверхности полимерной матрицы. Было показано, что вязкость суспензии должна уменьшаться от 10-30 Па*с при скорости сдвига 5 с^{-1} до 1-6 Па*с при скорости сдвига 100 с^{-1} . Тиксотропное поведение суспензии связано с большой загрузкой порошка по объему, которое достигается использованием соответствующих диспергирующих добавок.

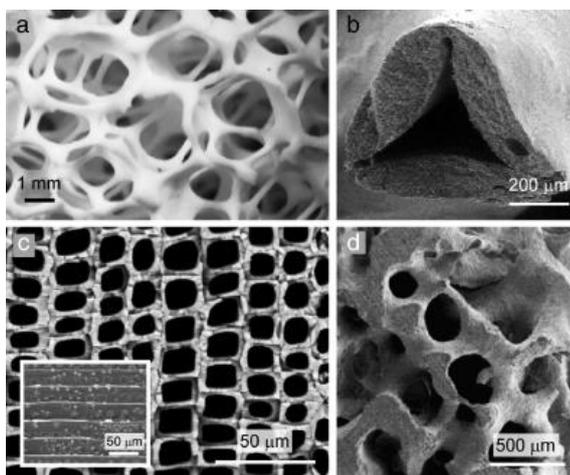


Рис. 2.13. Примеры макропористой керамики полученной методом реплики (a,b- репликация ППУ губки, c- репликация структуры дерева, d- репликация структуры природного коралла)

Полимерный каркас с нанесенной керамической суспензией осторожно высушивают и подвергают температурной обработке при медленном нагреве в диапазоне от 300° до 800°С [51]. Скорость нагрева обычно не превышает 1°С/мин, такие медленные скорости нагрева необходимы для плавного удаления органической составляющей полимерной матрицы, в результате резкого нагрева может возникнуть избыточное давление, которое приведет к разрушению нанесенного слоя частиц материала. После удаления полимерной матрицы изделие подвергают спеканию при необходимых условиях (температура, атмосфера, давление и т.д.).

Данный метод позволяет получить керамические материалы с открытой пористостью от 40% до 95%. В ретикулированных (пены без перегородок между порами) структурах поры хорошо взаимосвязаны между собой и их размер варьируется от 200 мкм до 3 мм (рис. 2.13). Высокая взаимосвязность пор увеличивает проницаемость жидкостей и газов через такие пористые структуры. По этой причине материалы такого типа обычно именуют высокопористыми проницаемыми ячеистыми материалами (ВПЯМ).

Минимальный размер пор, который позволяет получить метод реплики, составляет ~ 200 мкм (рис. 2.13). Данное ограничение связано с низкой проницаемостью полимерных ячеистых структур для керамических суспензий. Однако, варьируя вязкость суспензии можно контролировать соотношение открытой и закрытой пористости.

Недостатком метода реплики является получение полых структур. Тонкие полые перегородки (рис. 2.13), несмотря на использование медленной температурной обработки, растрескиваются в ходе удаления органической составляющей полимерной матрицы, значительно понижая механическую прочность керамики [52]. Хрупкость перегородок

понижает механическую прочность ниже теоретически рассчитанной для структур с открытой пористостью (рис. 2.13) [53]. Были предложены различные подходы для попытки решения этой проблемы: добавление вспомогательных добавок [51, 54]; повторное нанесение керамической суспензии на керамический каркас для заполнения трещин и полостей перегородок [55-58] и т.д. Однако использование этих модификаций не позволяет повысить механические характеристики данных пористых керамических материалов на качественно новый уровень (рис. 2.14).

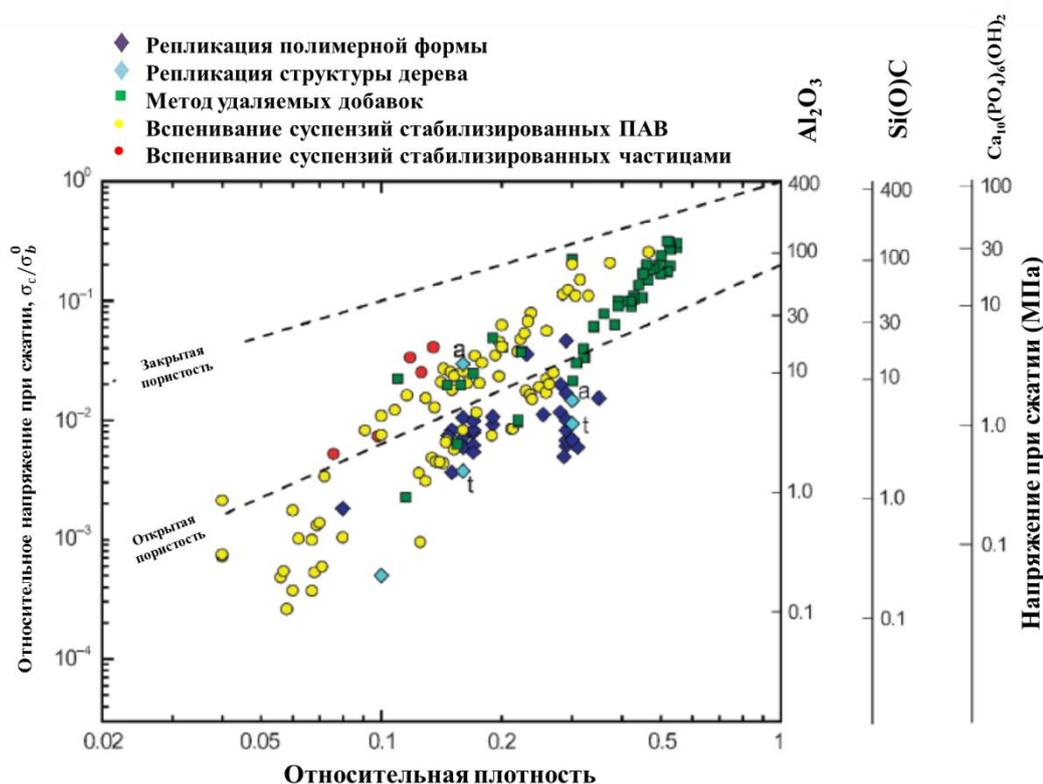


Рис. 2.14. Зависимость механической прочности на сжатие от относительной плотности (пористости) макропористой керамики

Интерес к использованию природных ячеистых структур в качестве реплики обуславливается сложной архитектурой используемых каркасов, которую очень сложно задать в технологическом процессе.

Кораллы широко применяются в качестве природных каркасов для создания макропористой керамики для тканевой инженерии и замены костных дефектов [59, 60]. В 1970 году [59] Вайт применил метод “негативной” реплики (“replamineform”) для повторения структуры кораллов. Согласно данной методике, коралл помещается в жидкий воск с использованием вакуума для удаления пузырьков воздуха. После затвердевания воска каркас коралла, состоящий в основном из карбоната кальция, удаляют концентрированным раствором кислоты. Полученную негативную восковую реплику

заполняют керамической суспензией с большой загрузкой порошка по объему, затем органическую часть удаляют термической обработкой.

Ячеистую структуру коралла также напрямую гидротермально переводят в макропористую керамику на основе гидроксиапатита (рис. 2.13, d) [60]. При воздействии в фосфатном растворе карбонатные ионы из структуры коралла частично или полностью замещаются на фосфатные переводя карбонат кальция в гидроксиапатит [60, 61]. Сообщается, что золь-гель технология позволяет получить макропористую керамику на основе гидроксиапатита с улучшенными механическими характеристиками по сравнению с материалами, полученными с использованием коралловых каркасов. В качестве природных структур для получения ячеистый материалов используют дерево из-за его разнообразия в морфологии и строения пор (рис. 2.13, c) [62].

2.9.2. Метод удаляемых добавок (порообразующих добавок)

В данном методе используется бифазная смесь состоящая из хорошо гомогенизированных керамических частиц (или прекурсоров для получения керамики) и добавки, которая полностью удаляется, создавая поры на своем месте (рис. 2.15). Существует несколько подходов для приготовления таких бифазных смесей: прессование двухкомпонентной смеси порошков [63]; получение двухфазных суспензий для применения в жидком состоянии, например, заполнение форм или нанесение тонких пленок [64]; пропитка керамической суспензией предварительно сформированных из удаляемого материала форм [65].

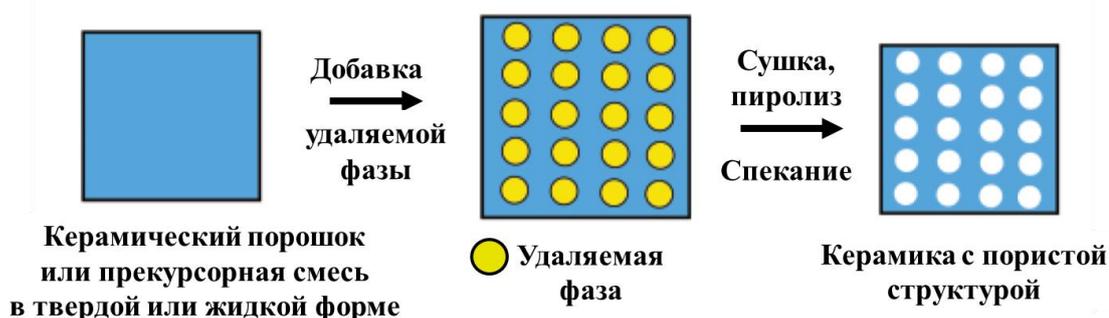


Рис. 2.15. Схема получения керамики методом удаляемых добавок [49]

Способ удаления зависит от природы порообразующей добавки. В качестве таких добавок используют как органические компоненты, соли, жидкости, металлы и керамику. Органические добавки чаще всего удаляют путем термической обработки в диапазоне температур от 200° до 600°С [63, 66, 67]. Длительный процесс термического удаления органической составляющей является основным недостатком данной методики, как и

большое количество газообразных продуктов, которые образуются в результате пиролиза органического компонента. На рис. 2.16 представлен типичный вид температурной программы удаления органических порообразующих добавок. В [88] было показано, что скорость нагрева не может превышать 20 мг/мин, в противном случае выделяемые газы приводят к образованию трещин в относительно тонких керамиках (3-4 см). С такой скоростью нагрева для получения керамического кирпича из оксида алюминия с пористостью и размером 5 см x 10 см x 23 см понадобится 3 недели термической обработки. Несоответствие коэффициентов термического расширения органической и неорганической фазы может также привести к образованию трещин в ходе пиролиза.

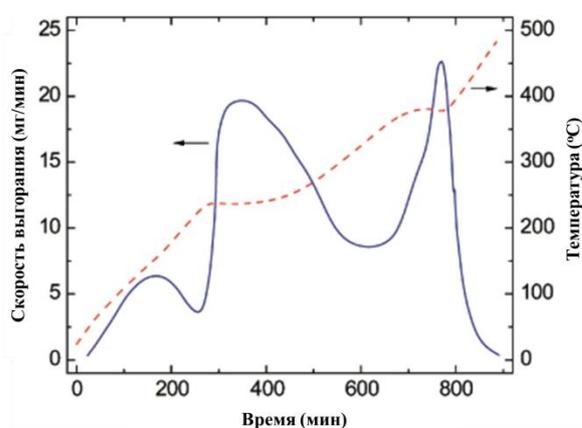


Рис. 2.16. Температурная программа удаления порообразующей добавки

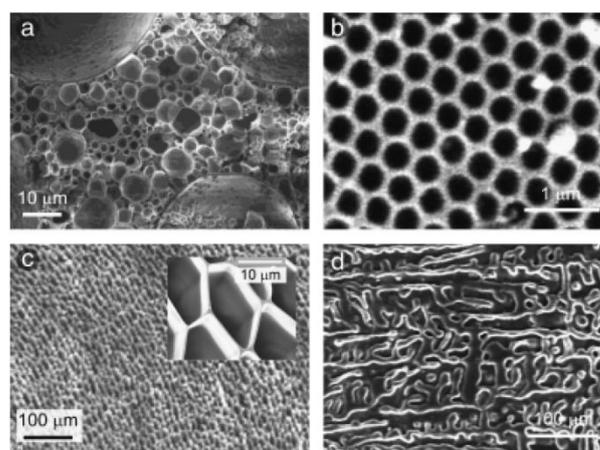


Рис. 2.17. Примеры микроструктуры керамик полученных с помощью метода порообразующих добавок

Большую часть проблем, которые возникают при использовании органических добавок, можно решить выбрав жидкий порообразователь, например, воду или масло. В качестве добавки может быть выбрана твердая фаза, которая может быть легко удалена путем возгонки (например, нафталин).

При выборе солей, керамики или металлических частиц в качестве порообразователей для их удаления используют чаще химические подходы, а не температурные. Солевые порообразователи могут быть легко удалены путем многократной промывки бинарного композита водой [65, 68]. Для удаления керамических и металлических частиц, также как и для удаления волокон необходимо использовать более агрессивные среды, поэтому чаще всего применяют кислотное выщелачивание [69-71].

При использовании данного метода необходимо учитывать, что матрица получаемого материала должна быть частично консолидирована до момента удаления

порообразующих добавок, для того чтобы получаемая структура не разрушилась во время процесса порообразования.

Главным преимуществом данной технологии является варьирование пористости, распределения пор по размерам и геометрии поры независимо друг от друга путем выбора правильных порообразующих агентов (рис. 2.17).

2.9.3. Получение пористой керамики путем вспенивания суспензий

В данном методе пористые материалы получают путем внедрения газа в суспензию или жидкость, которые подготовлены таким образом, чтобы сохранить структуру газовых пузырей (рис. 2.18). В большинстве случаев полученные пены подвергают высокотемпературной обработке для получения пористых керамических материалов с высокими прочностными характеристиками.

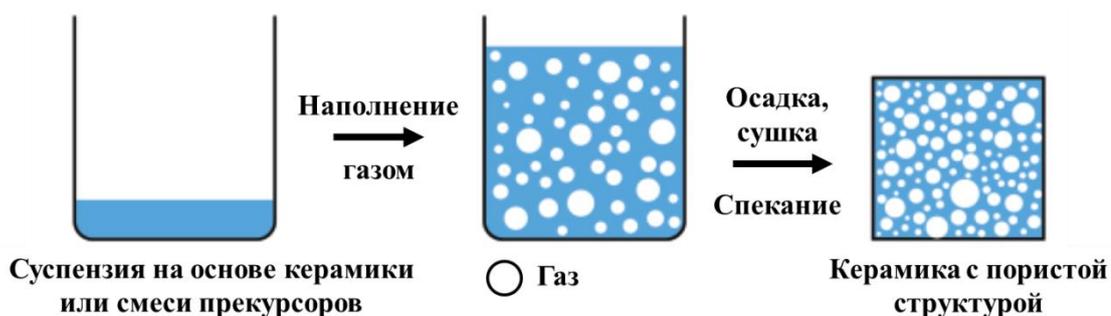


Рис. 2.18. Схема получения керамики путем вспенивания суспензий [49]

Пористость таких материалов пропорционально зависит от количества внедряемого в суспензию газа во время пенообразования. С другой стороны размер пор зависит от стабильности пены. “Мокрая” пена - термодинамически нестабильная система, которая постоянно пытается уменьшить общую свободную энергию системы за счет Оствальдовского созревания (переконденсации) и коалесценции [49]. В результате этих процессов происходит значительный рост интеркалированных пузырьков, что приводит к большим порам в конечной ячеистой структуре (рис. 2.19).

Стабилизация газовых пузырьков в суспензиях и жидких средах - главная проблема данного метода. Существует два главных подхода решения этой проблемы: стабилизация с помощью ПАВ [51, 52, 72-75] и стабилизация пузырьков с использованием частиц [49, 76-79]. На рис. 2.20 показано, что стабилизация пены частицами позволяет сохранять форму пор в течение длительного времени по сравнению с пеной стабилизированной ПАВ.

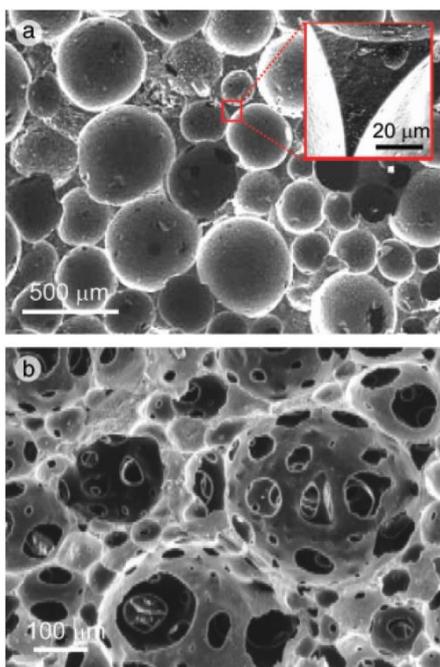


Рис. 2.19. Пример микроструктуры керамики полученной методом вспенивания [49]

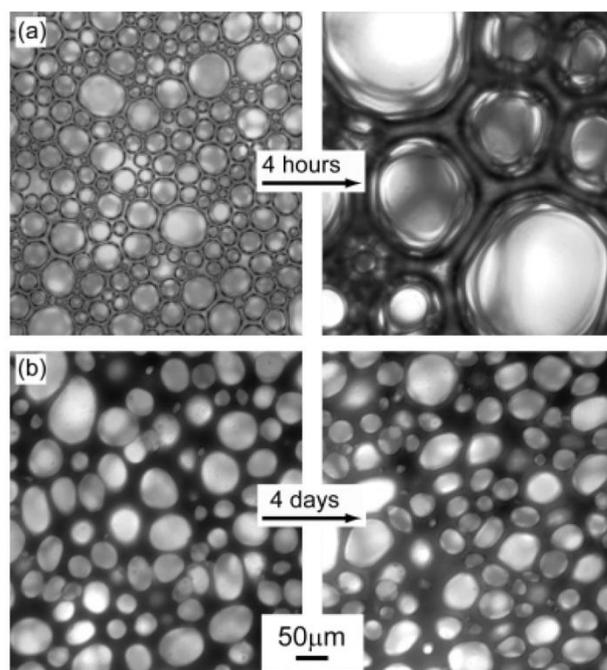


Рис. 2.20. Сравнение стабильности пены при стабилизации а- ПАВ и б- частицами [49]

На рис. 2.21 представлены возможности получения макропористых материалов вышеописанным методами [49]. Каждый метод позволяет достичь определенную пористость и размер пор.

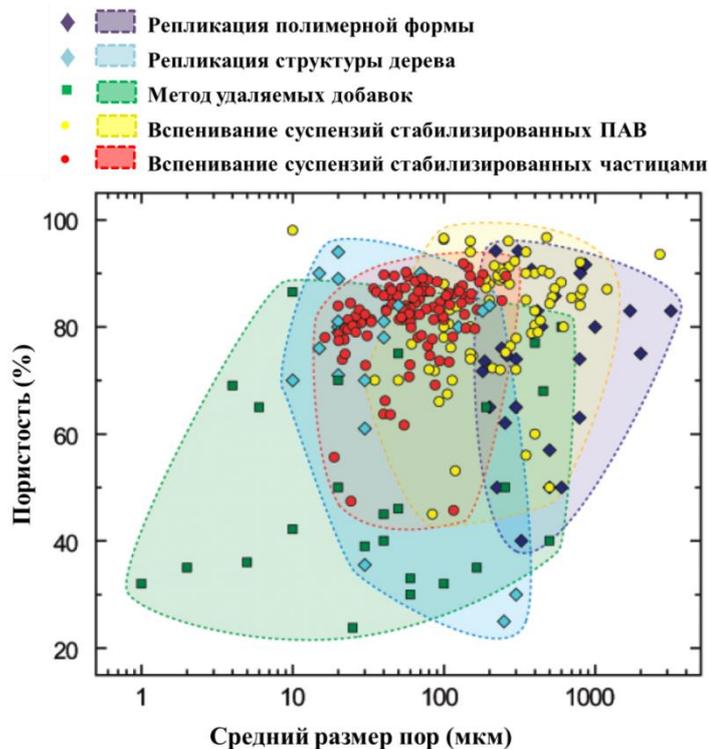


Рис. 2.21. Зависимость пористости от среднего размера пор для разных способов получения пористой керамики [49]

Для получения остеокондуктивной керамики, необходимо чтобы получаемая структура была высокопористой (>60%) и обладала двумя типами пор - первый тип должен быть не менее 300 мкм, а второй в диапазоне от 1 до 10 мкм [80]. Для получения макропористой керамики с большим размером пор (более 300 мкм) и высокой пористостью подходят почти все вышеописанные методы, согласно рис. 2.21. Однако механические характеристики значительно снижаются при таких параметрах ячеистой структуры.

Второе необходимое условие получения керамических материалов для биомедицинского применения с высокими остеокондуктивными свойствами - наличие сплошных рядов сообщающихся каналов вдоль одного или нескольких направлений, для обеспечения прорастания в имплантат кровеносных сосудов, нервных окончаний, а также содействия свободному прохождению потоков веществ, необходимых для роста костной ткани. Ни одна из описанных методик не позволяет получить направленные каналы. Данная проблема может быть решена только при использовании технологий быстрого прототипирования.

2.10. Технологии быстрого прототипирования

Быстрое прототипирование (англ. Rapid Prototyping) - уникальная технология, позволяющая в минимальные сроки получить физический трехмерный объект из компьютерной модели, смоделированной с использованием систем автоматизированного проектирования (САПР, англ. CAD (Computer Aided Design) - software). Использование данной технологии позволяет на 50-80% сократить сроки подготовки производства. У термина “быстрое прототипирование” существует много синонимов используемых в литературе: Solid Freeform Fabrication (SFF), цифровое производство, 3D-печать, послойно производство, лазерное прототипирование и аддитивные технологии производства.

Для создания физической трехмерной модели прототипа необходимо предварительно подготовить компьютерную модель. Для этого модель разбивается на тонкие слои (рис. 2.22) при помощи программного обеспечения. Затем подготовленный формат данных отправляется на исполнение - происходит послойное создание трехмерной модели.



Рис. 2.22. Трехмерная модель и ее послойное разбиение.

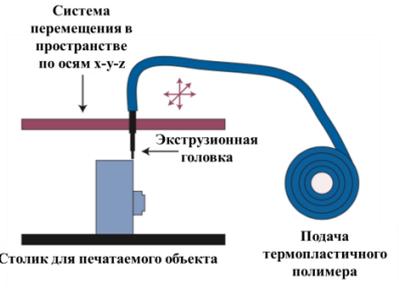
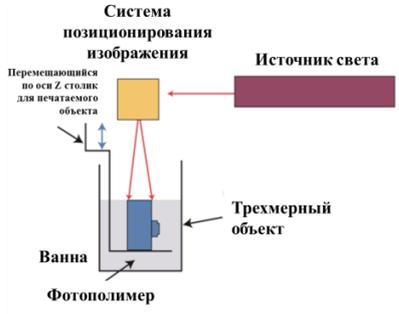
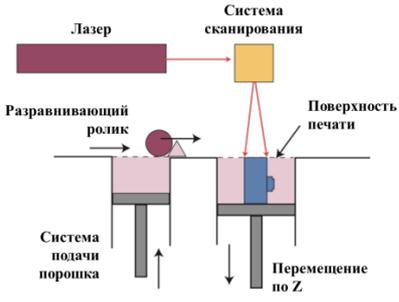
Все методы быстрого прототипирования можно разделить на три основные группы (табл. 2.4) [81]:

- Химическое связывание порошкового материала “склеивающим” агентом для создания единичного слоя;
- Выдавливание жидких суспензий (с быстрой скоростью затвердевания на воздухе) или экструзия термопластичного полимера через сопло;
- Полимеризация жидких или твердых мономеров под воздействием лазерного излучения (или спекание порошкового материала).

Таблица. 2.4 Характеристики различных технологий быстрого прототипирования.

Преимущества и недостатки методов.

	<p>Порошковая 3D печать</p> <p>Толщина слоя: При использовании суспензий: 20-100 мкм [82] При использовании сухого порошка: 50 мкм [83]</p> <p>Минимальный размер элемента: 350-500 мкм [84, 85]</p>	<p>Преимущества:</p> <ul style="list-style-type: none"> + Широкий выбор материалов 1) Низкая стоимость 1) Нет необходимости в поддерживающих структурах 1) Комнатная температура создания трехмерной модели <p>Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Маленькая прочность необожженного изделия • Сложность удаления нескачанного порошка из-за низкой связи частиц порошка • Порошок с узким распределением частиц по размерам
--	--	--

 <p>Система перемещения в пространстве по осям x-y-z</p> <p>Экструзионная головка</p> <p>Поддача термопластичного полимера</p> <p>Стол для печатаемого объекта</p>	<p>Термоэкструзионная печать</p> <p><i>Толщина слоя:</i> 20-370 мкм [86-89]</p> <p><i>Минимальный размер элемента:</i> диаметр отверстия экструдера: 150-700 мкм [87]</p>	<p>Преимущества:</p> <ul style="list-style-type: none"> + Низкая стоимость материалов 1) Минимальное количество отходов 1) Возможность получение композитных структур <p>Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Низкое разрешение печати • Анизотропия механических свойств • Высокие температуры при печати
 <p>Система позиционирования изображения</p> <p>Источник света</p> <p>Перемещающийся по оси Z стол для печатаемого объекта</p> <p>Трехмерный объект</p> <p>Ванна</p> <p>Фотополимер</p>	<p>Стереолитография</p> <p><i>Толщина слоя:</i> 1 мкм [90, 91]</p> <p><i>Минимальный размер элемента:</i> 1-5 мкм [92] 10-70 мкм [90] [93]</p>	<p>Преимущества:</p> <ul style="list-style-type: none"> 1) Высокое разрешение 1) Возможность использования большого количества материалов в качестве наполнителя фотополимера 1) Возможность использования ВКС (>55% порошка по объему) <p>Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Использование фотополимера • Необходимо использование структуры поддержки • Рассеяние света на керамических частицах • Высокая вязкость суспензий
 <p>Лазер</p> <p>Система сканирования</p> <p>Разравнивающий ролик</p> <p>Поверхность печати</p> <p>Система подачи порошка</p> <p>Перемещение по Z</p>	<p>Селективное лазерное спекание</p> <p><i>Толщина слоя:</i> 20-100 мкм [94-96]</p> <p><i>Минимальный размер элемента:</i> 30-100 мкм [94]</p>	<p>Преимущества:</p> <ul style="list-style-type: none"> 1) Высокие механические характеристики 1) Нет необходимости в поддерживающих структурах 1) Создание металлических изделий <p>Недостатки:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Высокие температуры при процессе спекания • Шероховатость поверхности • Порошок с узким распределением частиц по размерам

2.10.1. Порошковая 3D печать (англ. Powder-based Three Dimensional Printing (3DP))

Порошковая 3D-печать была предложена в 1993 году [97]. В основе данного метода лежит привычная нам струйная печать на бумаге. В начале происходит распределение тонкого слоя порошка (полимера или керамических частиц) на рабочей поверхности,

затем головка селективно наносит связывающее вещество (растворитель или кислоту) на порошок, в результате чего частицы порошка связываются. После завершения нанесения связующего вещества происходит нанесение следующего слоя порошка, который в свою очередь опять селективно связывается, так происходит пока не будет воссоздана трехмерная модель. После этого модель извлекают из объема несвязанного порошка и подвергают термической обработке для дополимеризации полимера или для спекания, если в качестве порошка были выбраны керамические частицы. Латеральное разрешение данного метода составляет 350-500 мкм [84, 85]. Толщина слоя зависит от типа порошка и размера его частиц (20-100 мкм) [82, 83].

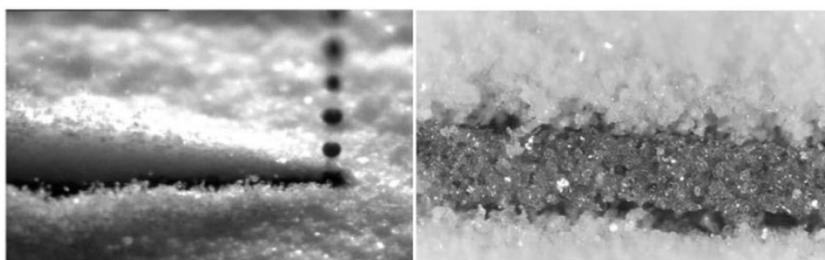


Рис. 2.23. Фотографии процесса порошковой 3D-печати .

Главное преимущество 3DP технологии - получение трехмерных структур из материалов, которые термически не стабильны, поэтому из них невозможно получить керамику. Такими материалами для биомедицинского применения являются: октакальциевый фосфат, карбонатзамещенный апатит, брушит, монетит и т.д.

Размер минимального объекта (=латеральное разрешение) является главным недостатком этого метода. В данном случае разрешение печати связано с размером капли, которая подается для связывания частиц порошка (рис. 2.23). Также необходимо модифицирование поверхности частиц для равномерного нанесения слоя порошка [98]. Смачиваемость и реакционная способность порошков является одним из ключевых факторов при подборе материала для создания трехмерных объектов.

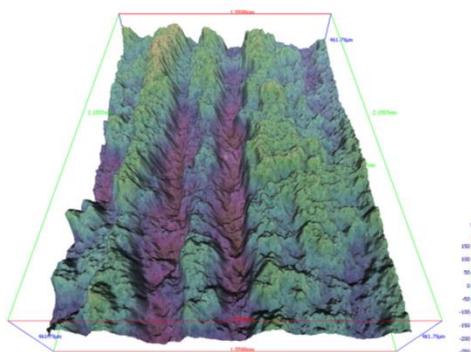


Рис. 2.24. Морфология поверхности единичного слоя ТКФ при порошковой 3D- печати [98].

2.10.2. Термоэкструзионная печать

В основе данного метода лежит термоэкструзия термопластичного волокна через подогреваемое сопло [99]. Сопло передвигается (табл.2.4) в одной плоскости (X-Y) нанося расплавленный полимер на рабочую поверхность в заданных программой местах. После затвердевания полимера (за счет резкого охлаждения) рабочая поверхность перемещается по оси Z на толщину заданную разумением модели и затем процесс повторяется слой за слоем. Латеральное разрешение данного метода составляет 150-700 мкм [87]. Толщина слоя определяется точностью позиционирования рабочей поверхности и составляет 20-750 мкм [100-102].

Основным материалом для данного вида прототипирования является АБС (сополимер акрилонитрила с бутадиеном и стиролом). Также широко применяются поликарбонаты, поликапролактон, поливиниловый спирт, полилактиды и т.д.

Данный метод можно использовать для получения форм для шликерного литья керамических суспензий (метод реплики), с последующим термическим удалением формы. Главным отличием от пен, используемых в методе реплик, является возможно получения структур с заданной архитектурой и морфологией пор, а также варьировать размер пор.

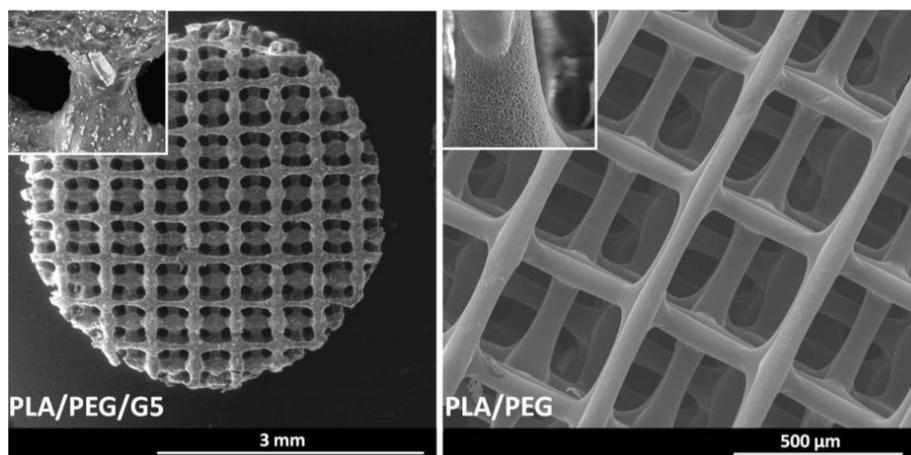


Рис. 2.25. Полимерные каркасы на основе ПЛА/ПЕГ полученные методом термоэкструзионной печати [103]

С другой стороны возможно получать сложные структуры с заданной системой направленных пор используя в качестве экструдированного материала композит биodeградируемый полимер/фосфатная керамика. Для этого необходимо получить полимерное (ПЛА/ПЕГ - полилактид/полиэтиленгликоль) волокно, заполненное частицами фосфата кальция [Drummer, Suitability of PLA/TCP [103]. Однако при загрузке порошка >5% по массе композит становится очень хрупким, поэтому необходимо вносит изменения в технологический процесс подачи волокна для экструзии. В результате можно

получить материал с очень интересными биосовместимыми свойствами. Биодegradуемый полимер может выступать в качестве единственного материала для создания материалов со сложной архитектурой (рис. 2.25).

Главным недостатком данного метода является получения материалов с анизотропными механическими свойствами и использование высоких температур.

2.10.3. Стереолитография

Стереолитография была предложена одной из первых в качестве технологии послойного воссоздания трехмерных объектов. Объемный объект создается путем послойно полимеризации жидкого мономера с помощью источника излучения (лазер или свет лампы, пропускаемый через маску). Латеральное разрешение данного метода составляет 30-100 мкм [90, 93]. Толщина слоя определяется точностью позиционирования рабочей поверхности, вязкостью мономера (или суспензии на основе фотомономера) и составляет от 1 до 150 мкм [90, 91].

Для получения макропористой керамики с помощью стереолитография необходима светоотверждаемая суспензия на основе керамического порошка и светоотверждаемого мономера. Технологический процесс получения материалов с помощью стереолитографии представлен на схеме 2.1. Критическими являются следующие параметры:

- Большая загрузка суспензии порошком (>50%) по объему;
- Низкая вязкость суспензии;
- Стабильность суспензии;
- Глубина полимеризации;
- Рассеяние света в суспензии при полимеризации.

Получение высококонцентрированных суспензий (ВКС) необходимо для уменьшения усадки материала и предотвращения его растрескивания во время процесса спекания. Для получения плотной керамики после процесса керамики необходимо, чтобы объемная часть твердой фазы суспензии составляла не менее 50-65%, такая же объемная доля что и в неотожженных изделиях при традиционных способах получения плотной керамики. Так как в процессе полимеризации трехмерной структуры не происходит никакой усадки, то объемная доля твердой фазы в выращенном материале равна исходной загрузке в керамической суспензии. С увеличением загрузки порошка по объему происходит увеличение вязкости суспензии. На рис. 2.26 представлена тенденция изменения вязкости при увеличении загрузки порошка по объему [104]. Для получения ВКС с максимальной загрузкой необходимо использовать ПАВ, причем в зависимости от характеристик

(природа вещества, размер и морфология частиц и т.д.) для каждого порошка необходима своя концентрация ПАВ (рис. 2.27) [105].

Схема 2.1. Технологический процесс получения керамических материалов с помощью стереолитографии и его сложности [106].



Вязкость суспензии можно выразить с помощью модифицированного уравнения Кригера-Догерти (2.10.3.1):

$$\eta = \eta_0 \left(1 - \frac{\beta\phi}{\phi_0} \right)^{-2.5\phi_0} \quad (2.14)$$

где η - вязкость суспензии наполненной частицами порошка, η_0 - вязкость жидкой фазы, ϕ - загрузка порошка в суспензии по объему, ϕ_0 - объемная доля твердой фазы при плотнейшей упаковке частиц, при которой жидкая суспензия переходит в состояние "влажного порошка". Максимальная загрузка порошка по объему варьируется от 63% (сферические частицы одного размера) до ~70% (широкое распределение частиц по размерам). $\beta\phi$ - полезный объем диспергированной твердой фазы суспензии. При идеальной дисперсии частиц в растворе $\beta=1$, в этом случае вязкость минимальна. При $\phi \rightarrow \phi_0$, вязкость резко возрастает, поэтому приготовление суспензий с объемной долей порошка 50-60% по объему является сложной задачей [107]. При выборе субмикронных

частиц $\beta \gg 1$, поэтому вязкость возрастает значительно быстрее. Для получения ВКС на основе субмикронных частиц требует правильного подбора диспергирующего вещества - ПАВ.

Правильный подбор ПАВ также влияет и на стабильность суспензий. При увеличении температуры вязкость ВКС понижается рис. 2.28 [104]. Вязкость и компоненты жидкой фазы суспензии влияют на общую вязкость системы [104].

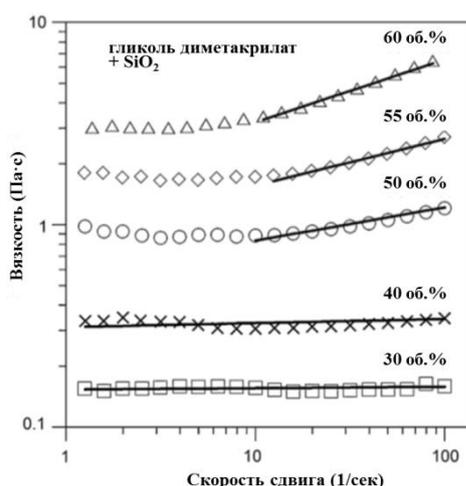


Рис. 2.26. Влияние объемной доли порошка на вязкость суспензии на основе оксида кремния.

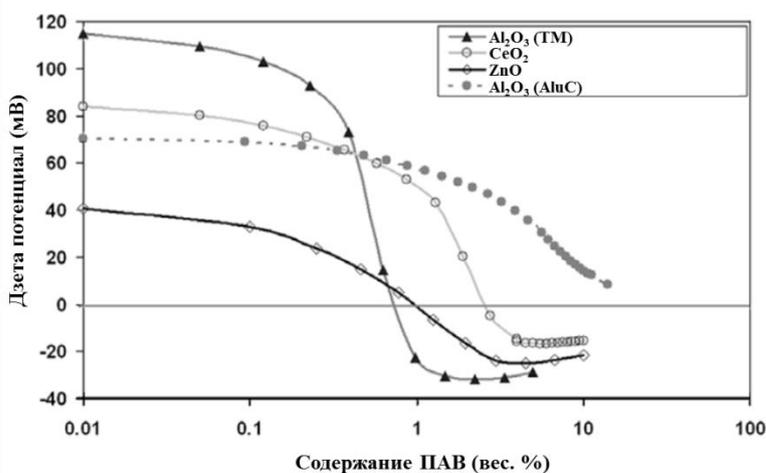


Рис. 2.27. Зависимость дзета потенциала от концентрации ПАВ, на примере оксида алюминия, оксида цинка и оксида церия.

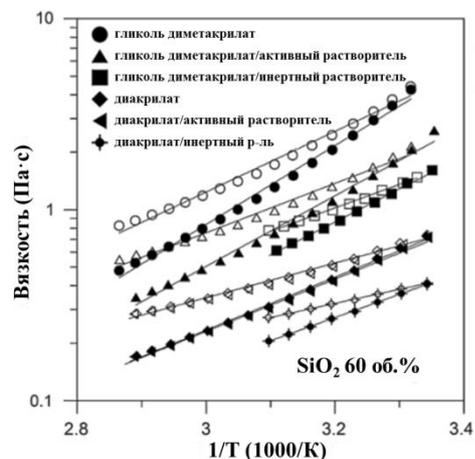


Рис. 2.28. Влияние различных мономеров на зависимость вязкости суспензии от обратной температуры.

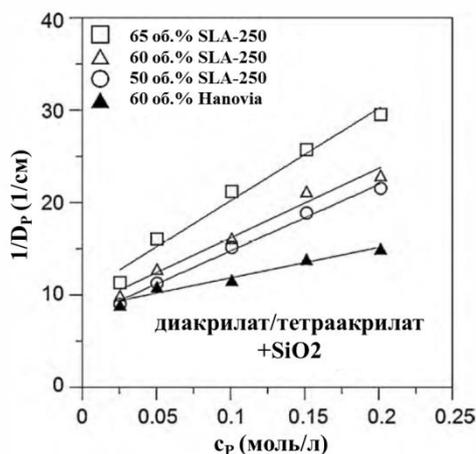


Рис. 2.29. Влияние концентрации фотоинициатора на светочувствительность суспензии, на примере ВКС на основе оксида кремния.

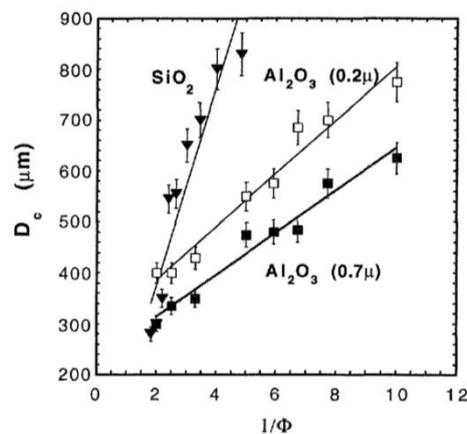


Рис. 2.30. Влияние обратной объемной доли порошка на глубину полимеризации суспензии на основе оксида кремния.

Уменьшая глубину полимеризации можно уменьшить толщину полимеризуемого слоя, тем самым увеличить пространственное разрешение метода. На глубину полимеризации, при использовании керамических суспензий, влияет несколько факторов (рис. 2.29, 2.30): природа порошка (индекс преломления, размер частиц и т.д.); концентрация фотоинициатора; доза излучения.

Глубина полимеризации (C_d) выражается уравнением Якоба (модифицированный закон Бугера-Ламберта-Бера [108]):

$$C_d = D_p \ln(E_0/E_c),$$

где D_p - чувствительность суспензии (обратно пропорциональна коэффициенту поглощения α), E_0 - энергия первичного пучка, E_c - минимальная энергия фотополимеризации.

Поскольку $C_d \sim (d/\phi)(1/Q)\ln(E_0/E_c)$, где d - средний размер твердых частиц, ϕ - их объемная доля, Q - эффективность рассеяния.,

$$Q \approx \left[\frac{\Delta n}{n_0} \right]^2 \left(\frac{d}{\lambda} \right)^2, \quad (2.15)$$

Основная причина ухудшения разрешения при использовании керамических суспензий в стереолитографии - рассеяние света на частицах диспергированных в растворе мономера (рис. 2.31) [109]. Фотон, попадающий в ВКС, начинает рассеиваться на твердых частицах и менять направление своего хода проникновения в суспензию, в результате чего происходит увеличение латеральных размеров проецируемого изображения. На рис. 2.32 показана зависимость глубины и радиуса полимеризации от размера частиц [109].

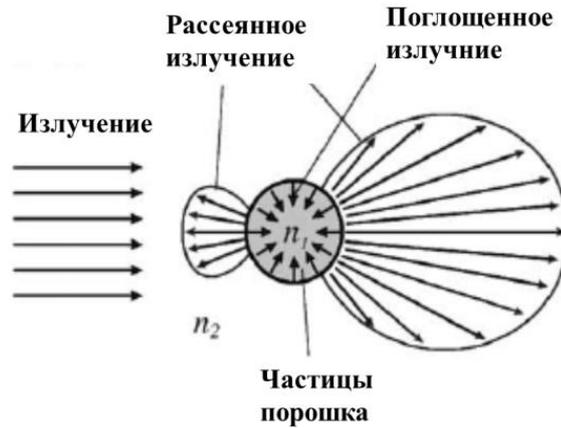


Рис. 2.31. Иллюстрация рассеяния света на частицах порошка диспергированных в светоотверждаемой суспензии.

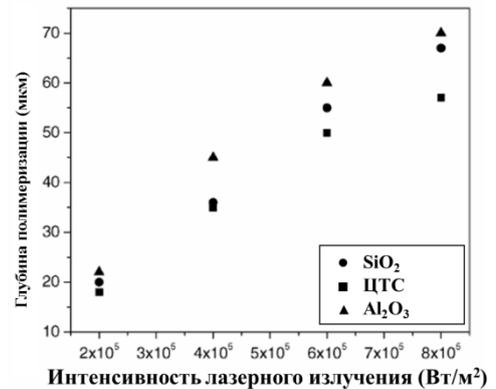
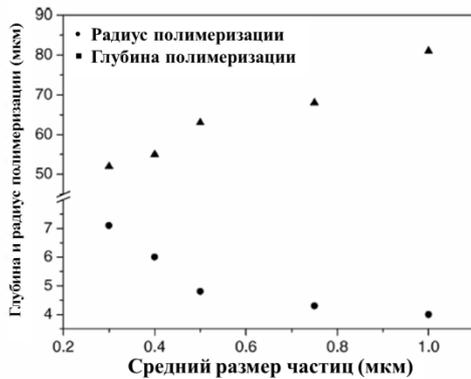


Рис. 2.32. Зависимость радиуса и глубины полимеризации от размера частиц.

Рис. 2.33. Зависимость глубины полимеризации от дозы излучения. На примере суспензий на основе оксида кремния, оксида алюминия и цирконата-титаната свинца.

Для улучшения латерального разрешения модели, полученной методом стереолитографии, можно использовать краситель для уменьшения эффекта рассеяния на частицах в суспензии[110]. Чувствительность суспензии D_p можно представить следующим образом:

$$\frac{1}{D_p} = \frac{1}{l_{sc}} + (1 - \Phi)(c_p \varepsilon_p + c_D \varepsilon_D), \quad (2.16)$$

где l_{sc} - глубина рассеяния, Φ - объемная доля порошка по объему, c_p - концентрация фотоинициатора, ε_p - коэффициент экстинкции фотоинициатора, c_d - концентрация красителя, ε_d -коэффициент экстинкции красителя.

2.11. Архитектура каркасов для создания остеокондуктивных материалов

Остеокондуктивные свойства требуют от имплантата связных пор макроскопического размера, занимающих от 50 до 90 % объема материала. Распределение материала каркаса в пространстве (т.е. топология каркаса) определяется наложенными извне ограничениями (формой имплантата) и условиями (требование достижения максимума прочностных свойств при заданном типе нагружения, требование достижения максимальной проницаемости в заданном направлении(ях), комбинация этих требований и т.п.). Математическая формулировка подобной задачи – топологической оптимизации, сводится к нахождению экстремума целевой функции (например, минимума упругой энергии) в пространстве дизайна $X=\{x_1, \dots, x_N\}$, разбитом на N конечных элементов, причем только часть элементов (с долей ϕ) заполнена материалом, а оставшаяся – пустая (поры) [111]. В условиях сохранения внешних границ пространства X (т.е. макроформы образца), связности заполненных конечных элементов (макропористый образец со связным каркасом), неизменности внешней системы нагрузки и сохранения доли η , конечные элементы перемещаются внутри X так, чтобы обеспечить минимум упругой энергии. На каждом этапе с учетом механического равновесия решается соответствующее дифференциальное уравнение теории упругости методом конечных элементов (МКЭ). Поскольку общее число перемещений велико – 2^N , целесообразно использовать быстрые приближенные методы нахождения экстремума. Для решения описанной проблемы оптимизации упругих свойств (E) хорошо зарекомендовала себя схема SIMP (solid isotropic microstructure or material with penalisation), существо которой состоит в переходе к непрерывному распределению материала в объеме X и введению степенной штрафной функции за возрастание упругой энергии при очередном перемещении элемента объема X . Формально решение проблемы E в рамках SIMP может быть записана как E :

$$\min_x f(x) = \mathbf{q}^T \mathbf{r} = \sum_{i=1}^N (x_i)^p q_i^T K_i q_i$$

, в условиях определенных выше ограничений, где q_i – вектор деформаций \mathbf{q} , K_i – элементы матрицы жесткости \mathbf{K} , \mathbf{r} – вектор нагрузок, p – представляет штрафной параметр схемы SIMP. Пример оптимизации модельной проблемы кантилевера для $\phi=0.5$ представлен на рис. 2.34.

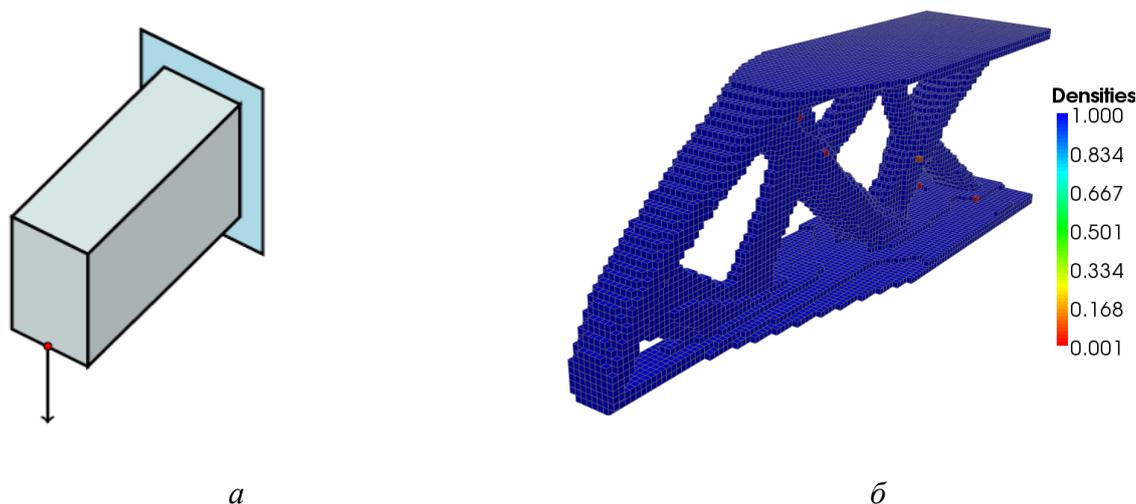


Рис. 2.34. а) Графическая формулировка проблемы изгиба одноконсольной балки (кантилевера) и б) топологическая оптимизация для доли материала в объеме дизайна $\phi=0.5$; решение с помощью пакета ToRu на сетке из $28 \times 37 \times 111$ конечных элементов (50 итераций, пороговая фильтрация)

Следует отметить, что подобного рода задача решается нашим организмом при ремоделировании (перестройке) костной ткани. Ее результат выражается *законом Вольфа*: плотность костных балок (трабекул) максимальна вдоль линий максимальной нагрузки [112]. Несмотря на активное использование топологической оптимизации в машиностроительном дизайне, создание на ее основе остеокондуктивных костных имплантатов – новая и малоразработанная область, в которой во всем мире работает всего несколько коллективов [81]. При этом, строго говоря, неизвестен полный набор условий, который определяет целевую функцию для оптимизации архитектуры костного имплантата. Можно полагать, что эта функция должна включать и прочностную компоненту, и остеокондуктивность. Последняя характеристика, описывающая проницаемость материала для растающей в него образующейся *de novo* костной ткани, несомненно коррелирует с физической проницаемостью пористого тела. Как известно [113], проницаемость может быть описана законом фильтрации Дарси:

$$q = -\frac{k}{\eta} \frac{\Delta P}{L}, \quad (2.17)$$

где q – поток флюида (=скорости флюида на выходе/площадь), ΔP – разность давлений (напор), L – толщина материала в направлении фильтрации, η – вязкость флюида, k – коэффициент пропорциональности, который обычно называют проницаемостью. Влияние архитектуры пористого тела на проницаемость – предмет различного рода теорий и эмпирических зависимостей. Используя хорошо разработанную

полуэмпирическую модель проницаемости пористого тела Катца-Томпсона [114] вместе с перколяционным подходом Арчи [115], можно показать, что

$$k = cl_c \left(\frac{\phi - \phi_c}{1 - \phi_c} \right)^\mu, \quad (2.18)$$

где c – константа, определяемая геометрией отдельной поры, l_c – критический размер поры (если флюид представляет собой суспензию, то это максимальный диаметр частиц дисперсной фазы), ϕ – объемная доля пор, ϕ_c – порог перколяции (= от 0.16 для полиэдров Вороного до 0.66 для монодисперсных перекрывающихся пор эллиптической формы), μ – скейлинговая экспонента (обычно полагают $\mu=1.3$ для квазидвухмерных систем).

Типичной моделью описывающей упругость и разрушение ВПЯМ является модель Гибсон-Эшби [53], в рамках которой рассматриваются две моды разрушения при выгибании прямолинейного элемента каркаса: 1) при достижении предела упругости материала каркаса и 2) разрушение при пластической деформации. Предел прочности в рамках первой моды равен $\sigma_{упр} \sim 0.03 \cdot E_k \cdot (\rho_{отн})^2 (1 + (\rho_{отн})^{1/2})^2$, $\rho_{отн} = \rho / \rho_k = 1 - \phi$, где E_k – модуль Юнга материала каркаса, ρ_k – плотность материала каркаса, ρ – плотность ВПЯМ.

Очевидно, что требования высокой прочности и высокой проницаемости противоречат друг другу (рис. 2.35). В зависимости от материала каркаса, допустимых минимумах прочности и проницаемости, может быть ограничена область компромисса между проницаемостью (P) и прочностью (E), в пределах которой и следует проводить топологическую оптимизацию.

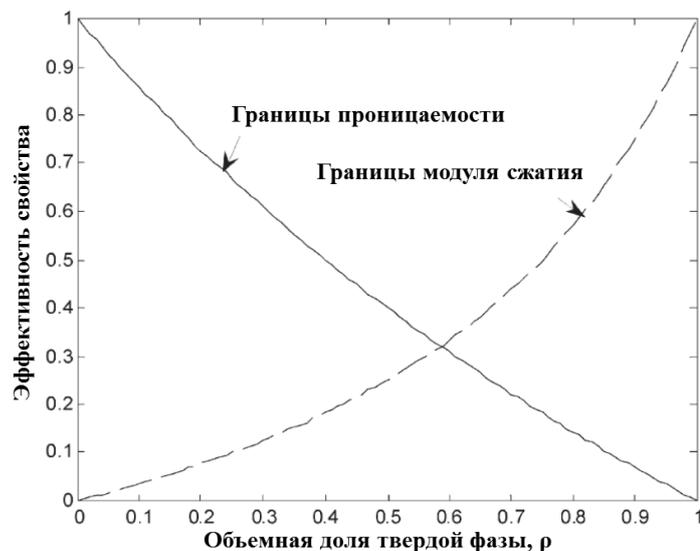


Рис. 2.35 Границы Хашина-Штрикмана для модуля упругости (пунктирная линия) и проницаемости (сплошная линия) в зависимости от пористости материала.

На рис. 2.36 представлены трехмерные минимальные поверхности (ТМП) - биоморфные архитектуры (найлены в природе см. рис. 2.37), которые теоретически обладают очень хорошей проницаемостью.

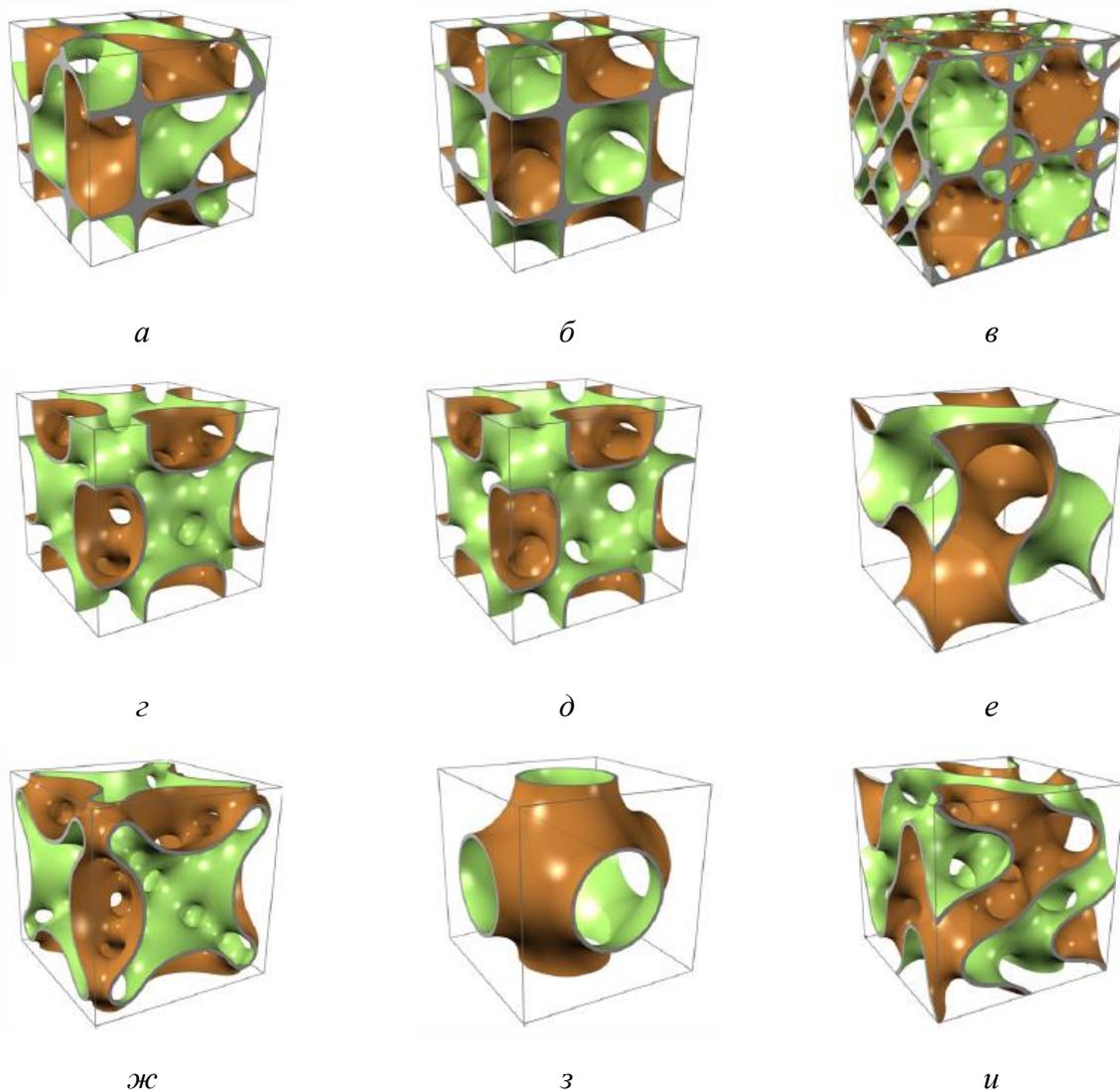


Рис. 2.36. Модели трехмерных минимальных поверхностей с наибольшими теоретическими индексами проницаемости а) “С(Y)”, б) алмазная архитектура, в) “С(D)”, г) “Крыло летучей мыши”, д) “F-RD”, е) гироид, ж) “Манта 35”, з) примитивная структура, и) архитектура Фишера-Коха

Топологическая оптимизация таких моделей в рамках различных условий нагружения способна привести к решению проблемы E^*P - суперпозиция упругой проблемы (E) и достижения максимальной проницаемости (P). Так, при сопоставимой пористости (50%) наиболее проницаемы модели Фишера-Коха (рис. 2.36, и), а наиболее жестки (как в отношении объемного модуля, так и модуля Юнга) алмазные модели (рис. 2.36, б), но проницаемость их невелика. В качестве разумного компромисса между проницаемостью и прочностью часто рассматривают модель типа «гироид» (рис. 2.36, е).

однако рациональных доводов для такого выбора пока не представлено. Отметим, что несмотря на довольно непростую топологию ТМП, их алгебраический вид несложен (например, гириод может быть представлен уравнением $\sin(2\pi x)\cos(2\pi y)+\sin(2\pi z)\cos(2\pi x)+\sin(2\pi y)\cos(2\pi z)=C$, что позволяет создавать и масштабировать компьютерные модели таких архитектур.

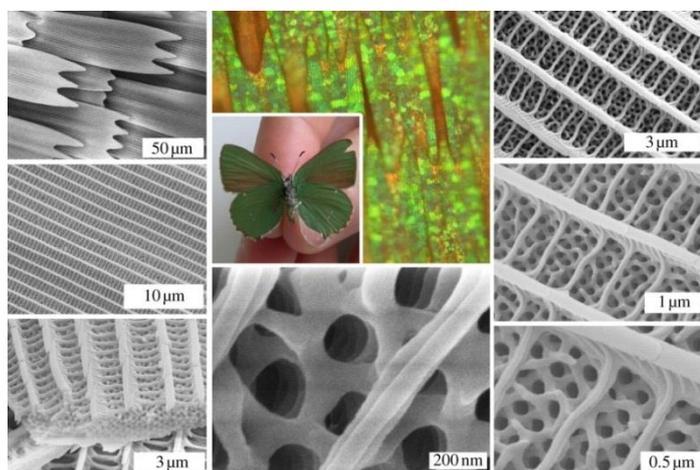


Рис. 2.37. Строение крыла бабочки *Calliphrys Rubi* при разном увеличении.

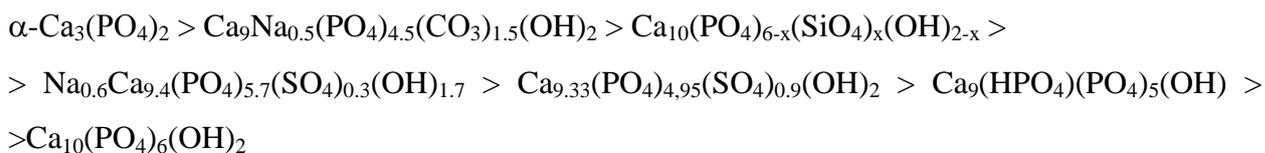
2.12. Оценка биоактивности материалов

Биоактивность материалов, предназначенных для замены костных дефектов, определяют как “способность” данных материалов способствовать остеоинтеграции (т.е. возможности инициировать рост новой костной ткани на границе кость-имплантат). В случае *in vitro* тестов две характеристики могут служить своеобразной оценкой поведения синтетических имплантатов в реальном контакте с костной тканью: 1) растворимость этого материала в среде, имитирующей межклеточную жидкость, 2) слой новообразованного апатита на поверхности материала из данного раствора [3].

Среди требований, которые адресуют биоактивным материалам, применяемым в медицинской практике для восстановления целостности костной ткани, на первом плане стоят относительно высокая скорость растворения (на уровне десятков мкм в год) и активная роль поверхности в биохимических реакциях, протекающих на границе раздела кость/имплантат, с участием клеток, специфических для процесса остеосинтеза. Материалы, используемые в настоящее время (керамика на основе ГА, полученного твердофазным методом), растворяются медленно и остаются внутри естественной кости даже по прошествии 3-5 лет после операции [15, 39]. Существует мнение, что керамика, полученная с использованием α -ТКФ ($PP_{\alpha\text{-ТКФ}} \sim 10^{-29}$), растворяется столь быстро, что растущая кость не успевает заполнить появляющиеся полости [13]. В то же время, ведется

интенсивный поиск новых материалов с повышенным уровнем резорбции. Представляется, что должны существовать различные по своим резорбционным характеристика материалы, конкретные представители которых могли бы выбраны исходя из требований конкретного клинического случая.

Эксперименты по растворимости материалов проводят либо в буферных растворах, либо в подкисленных растворах. Так, на основании полученных экспериментальных данных порошки фосфатов кальция были ранжированы в следующий ряд по степени резорбируемости (растворения) в кислой среде [116]:



В качестве модельной среды в испытаниях на биоактивность последнее время широко используется SBF-раствор (англ. synthetic body fluid) при 37°C и pH, близким к физиологическим. Этот раствор идентичен по своему химическому составу (концентрации ионов) человеческой межтканевой жидкости (плазме крови). Многочисленные работы Кокубо (одного из создателей SBF) показывают, что оценка биоактивности материалов, выполненная в модельной среде, если и не заменяет экспериментов *in vivo*, то хотя бы даёт априорную оценку биоактивности, актуальную в большинстве (~ 80 %) из рассмотренных им случаев: для различных по природе, составу, проявляемым свойствам и принципу действия материалов биомедицинского назначения [117].

Поскольку растворимость биоматериалов в кислой среде довольно хорошо моделирует их резорбционное поведение *in vitro*, то целесообразно при поиске новых резорбируемых материалов использовать богатый опыт, накопленный в химии и технологии фосфорных минеральных удобрений. В этой области в свое время решались аналогичные проблемы: переход от плохо усваиваемых растениями природных фосфоритов (вследствие их плохой растворимости) к растворимым удобрениям типа суперфосфатов и ренанитов. В качестве критерия усваиваемости растением фосфора используется растворимость соответствующего фосфорного удобрения в лимонной кислоте [47]. Существует две методики исследования растворимости минеральных удобрений первая является официальной методикой в США, вторая используется для тестирования удобрений в Японии. Американская методика в качестве среды для тестирования растворимости предлагает использовать нейтральный раствор цитрата аммония, стандартизации размера частиц порошка нет. 1 г исследуемого материала в течение часа перемешивают в 100 мл раствора цитрата аммония, если после часа

перемешивания все вещество растворилось, то делается вывод о хорошей растворимости удобрения. Если вещество остается после процедуры, то осадок отфильтровывают, высушивают и взвешивают, после чего производится оценка степени растворения удобрения по относительной потере массы в ходе эксперимента. Японская методика предлагает более стандартизированный подход. В качестве среды растворения используют 150 мл 2% лимонной кислоты, размер частиц исследуемого материала должен быть меньше 250 мкм. 1 г исследуемого удобрения в течение часа перемешивают в растворе лимонной кислоты, затем применяют тот же набор операций, что и в «американской» методике, критерии оценки используются те же. Подобный метод оценки позволяет лишь качественно оценить растворимость материалов, однако не дает никакой количественной характеристики. Следует отметить, что подобный подход используется в международном ISO 10993 и российском ГОСТ Р ИСО 10993-14-2001 стандартах по оценке резорбируемости биоматериалов. Использование подобных кислых сред согласуется с кислой средой, которая создается остеокластами и составляет pH ~ 4-5 [118-120].

Растворимость натрий-кальциевых фосфатов в 2% лимонной кислоте можно расположить в следующем порядке [47]:



Растворимость $\beta\text{-CaNaPO}_4$, вероятно, сопоставима с таковой для $\alpha\text{-ТКФ}$. Это обстоятельство послужило основой для рассмотрения ренанитовых фаз в качестве перспективных керамических резорбируемых биоматериалов. Здесь следует также отметить, что высокая растворимость ренанита в воде и последующая его гидролитическая конверсия в апатит, привели к созданию некерамических резорбируемых материалов – кальцийфосфатных цементов, содержащих ренанит в качестве высокоактивного вяжущего компонента [121].

2.13. Выводы из литературного обзора

Анализ литературы позволяет сделать следующие выводы:

1) Разработка двухфазных и многофазных композиционных биоматериалов является актуальной задачей современного материаловедения. Методика лечения зачастую требует от биоматериала его резорбции в организме человека с приемлемой скоростью, поэтому чаще всего прибегают к разработке композиционных материалов с контролируемым соотношением резорбируемых и резистивных фаз.

2) Информации по поводу использования β -CaNaPO₄ в качестве резорбируемой фазы вместе с гидроксиапатитом достаточно мало, и, в целом, вопросу создания новых биорезорбируемых материалов на основе двойных фосфатов кальция и щелочных металлов уделяется необоснованно мало внимания. Попыток же использования ренанита в качестве индивидуального компонента для создания материалов биомедицинского назначения в обозримой литературе не найдено.

3) Абсолютно обойден вниманием вопрос о возможностях использования калиевых ренанитов в медицине: ни в качестве резорбируемой фазы, ни в качестве самостоятельного биокерамического материала. Более того, в отличие от соответствующего натриевого аналога, для систем, содержащих калиевый ренанит практически нет надежных данных относительно фазовых равновесий и методов получения соединений.

4) Вопрос о растворимости CaNaPO₄, CaKPO₄, а тем более высокотемпературной фазы α - ренанита затронут в недостаточной степени (только в той части, какой это было необходимо в химии и технологии фосфорных минеральных удобрений). Высокотемпературный α - ренанит, по-видимому, и вовсе не рассматривается как наиболее перспективная растворимая фаза, и уж во всяком случае, вопрос о влиянии фазового превращения $\alpha \leftrightarrow \beta$ ренанит на возможность получения керамики не поднимался никогда.

5) Для получения остеокондуктивной биокерамики со специальной архитектурой методы быстрого прототипирования являются безальтернативными. В литературе практически отсутствуют работы, связанные с изготовлением этими методами высокорезорбируемых макропористых керамик.

В настоящей работе будут решены следующие задачи:

1. Исследование фазообразования и фазовых отношений в субсолидусной области (квази)бинарных разрезов Ca₃(PO₄)₂ – CaMPO₄ системы CaO – M₂O – P₂O₅ (где M=Na, K); критический анализ имеющихся литературных данных (в перспективе необходима ревизия фазовых диаграмм натриевой системы, построение таковой для калиевой и детальное обсуждение взаимосвязи кристаллохимии ренанитоподобных фаз с известными структурными типами β -K₂SO₄ и глазерита). Оценка областей гомогенности фаз β -ТКФ, легированных щелочным металлом.

2. Выбор условий синтеза (исходные реагенты, температура, время) двойных фосфатов кальция и натрия общей формулой Ca_(3-x)M_{2x}(PO₄)₂ (x=0÷1, M=Na, K) исходя из полученных данных о фазообразовании и кинетики твердофазных реакций в указанных системах.

3. Получение керамического материала на основе ренанита CaMPO_4 , возможно композита, содержащего высокорастворимые ренанитовые фазы. Оценка влияния полиморфного превращения на возможность получения прочной керамики и на ее резорбируемость (в перспективе необходимо восполнить отсутствие структурной информации относительно высокотемпературных ренанитных фаз и на этой основе выяснить механизм полиморфного превращения, а также возможность использования этого превращения для получения керамики с повышенной трещиностойкостью).

4. Оценка резорбируемости некоторых составов ряда $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($x=0\div 1$, $\text{M}=\text{Na}$, K) в растворяющей среде при значениях pH близких к нейтральным.

5. Установление параметров процессов 3D-печати макропористых керамических образцов для создания экспериментальных образцов остеокондуктивных имплантатов со специальной архитектурой.

3. Экспериментальная часть

3.1. Подготовка образцов

3.1.1. Синтез трикальциевого фосфата (ТКФ)

Получение трикальциевого фосфата осуществляли твердофазным методом по реакции (3.1):



Для этого готовые навески исходных веществ (CaCO_3 (х.ч.), $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (х.ч.)) помещали в барабан из стабилизированного оксида циркония шаровой мельницы планетарного типа Pulverisette (Fritsch, Германия) с набором шаров для помола из оксида циркония. Масса шаров составляла ≈ 50 г, масса порошковой смеси исходных веществ – 5 г для обеспечения эффективности помола и смешения реагентов, помол проводили с использованием ацетона ($(\text{CH}_3)_2\text{CO}$, х. ч.) в качестве жидкой среды в течение 10 минут на средней скорости вращения. После этого барабаны сушили на воздухе. Сухую смесь протирали через полиэфирное сито Saatilene HiTech™ с размером ячеек ~ 200 мкм. Основную массу засыпали в алундовый тигель и проводили отжиги в интервале температур $800 \div 1400$ °С в течение нескольких часов (продолжительность до 36 часов) в муфельной печи Nabertherm (Германия). Полученные в ходе отжига порошки перетирали в агатовой ступке и проводили их рентгенофазовый анализ. Оптимальный вариант выбирали, руководствуясь результатами рентгенофазового анализа.

3.1.2. Синтез пирофосфата кальция термическим разложением брусита

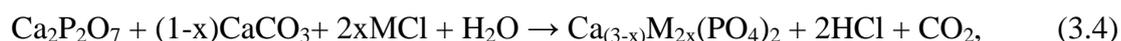
Синтез брусита проводили методом осаждения из водных растворов солей. Для этого к 400 мл 0.6 М раствора $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ при непрерывном перемешивании на магнитной мешалке приливали 400 мл 0.6 М раствора $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (раствор готовили из $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (ч.)), и суспензию оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение получаса. Брусит образуется согласно уравнению:



По прошествии 30 минут перемешивание останавливали. Полученный осадок промывали 3 раза декантацией, а затем фильтровали, промывая дистиллированной водой. Для получения пирофосфата снятый с фильтра осадок сушили на воздухе в течение 12 часов, а затем перемещали в тигель и отжигали в муфельной печи при 800 °С в течение 5 часов. Пробы исходного брусита и полученного пирофосфата отбирались на проведение рентгенофазового анализа.

3.1.3. Синтез двойных смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов.

Для получения материалов с повышенной биорезорбируемостью на основе двойных смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов были синтезированы составы, содержащие щелочной металл, для чего в смесь прекурсоров дополнительно вводили соли натрия и калия (NaCl (х.ч.), Na₂CO₃ (х.ч.), Na₂SO₄ (х.ч.), KCl (х.ч.), K₂CO₃ (х.ч.)). Получение продуктов осуществляли твердофазным методом по реакциям (3.3) и (3.4):



где M = Na, K; а x=0÷1. Составы выбирались исходя из следующих соображений: 1) получить известные соединения (CaNaPO₄, Ca₆Na₃(PO₄)₅, Ca₁₀Na(PO₄)₇); 2) изучить предельное количество натрия встраиваемое в структуру β-Ca₃(PO₄)₂, а также возможность получения материалов с различным соотношением Ca/Na. Полученный после отжига порошок перетирали в ступке и дезагрегировали помолом в планетарной мельнице Pulverisette (Fritsch, Германия). В качестве среды помола был выбран ацетон (х.ч.). Помол осуществляли в той же мельнице планетарного типа, которую использовали для смешения исходных реагентов. Порошки после помола оставляли сохнуть для удаления ацетона. Высушенные порошки протирали через сито с размером ячеек ~200 мкм. Полученные порошки использовались для получения керамик.

3.1.4. Исследование поведения двойных смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов в водной среде.

Для полученного порошка проводились модельные исследования скорости растворения. Для этого 0.1 г порошка вносился в 100 мл дистиллированной воды pH=5.6 при непрерывном перемешивании. Зависимости pH раствора от времени изучали с помощью иономера со стеклянным электродом. Время измерений составляло до 24 часов. После проведения опытов на растворение полученный порошок отфильтровывали и сушили на воздухе для проведения дальнейшего рентгенофазового анализа, а так же изучения с помощью СЭМ и РСМА.

3.1.5. Получение керамики

Высушенные порошки измельчали в агатовой ступке и протирали через сита, так, что конечный размер агломератов был менее 200 мкм. Одноосное одностороннее прессование таблеток массой ≈ 0.1 г проводили на ручном прессе Carver C (США), при давлении ~ 2 МПа. Прессовки отжигали при температурах 900°C - 1000°C в течение 6 часов. Скорость нагрева была 5°C/мин, образцы охлаждали с печью. Для облегчения процесса прессования и уменьшения вероятности образования трещин «перепрессовки»

при прессовании в порошки, предназначенные для приготовления керамики, вводили пластифицирующую добавку в соотношении 10% по массе порошка. В качестве пластификатора выбирали парафин (х.ч.), растворенный в тетрахлориде углерода CCl_4 (ч.д.а). В порошки при перемешивании добавляли пластификатор и сушили под тягой в течение часа. Затем каждый из порошков протирали через капроновое сито с размером ячеек 100 мкм.

3.1.6. Получение макропористых керамических материалов с помощью репликации формы ППУ губки

Для получения макропористой керамики на основе $Ca_{(3-x)}M_{2x}(PO_4)_2$ ($M=Na,K$) методом репликации ППУ, была выбрана ретикулированная (отсутствие перегородок между порами) ППУ пена (Regicell 20) со средним размером пор 120 мкм.

Для нанесения порошка на поверхность ППУ губки использовали водную ВКС. В суспензию вводили поливиниловый спирт (5% по массе порошка) для улучшения адгезии порошка к поверхности ППУ губки. ППУ губку погружали в ВКС, а затем удаляли излишки суспензии путем отжимания губки с помощью валика для гляцевания фотографий. Затем ППУ губку подвергали высушиванию в сушильном шкафу при температуре 60°C в течение 12 часов для удаления воды из нанесенного слоя. ППУ губки с порошком на поверхности обжигали при температурах 900°C - 1400°C в течение 6-24 часов. Скорость нагрева составляла 1°C/мин для плавного удаления продуктов разложения ППУ губки. Образцы охлаждали как с печью, так и производили закалку образцов на воздухе.

3.1.7. Получение макропористой керамики с использованием технологий трехмерной печати

Для создания макропористой керамики на основе $Ca_{(3-x)}M_{2x}(PO_4)_2$ ($M=Na,K$) с заданной архитектурой использовали подходы с применением двух технологий трехмерной печати (рис. 3.1): термоэкструзионная печать (FFF- Fused Filament Fabrication) и стереолитография (SLA- Stereolithography).



Рис. 3.1. Блок-схема технологического процесса получения остеокондуктивной керамики с заданной архитектурой на основе смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов.

3.1.7.1. Обратная репликация полимерных форм

Полимерные формы для получения макропористой керамики на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($\text{M}=\text{Na}, \text{K}$) методом обратной репликации изготавливали на термоэкструзионном принтере Ultimaker (Ultimaker, Нидерланды) с максимальным разрешением до 100 мкм. Для управления принтером использовалось бесплатное открытое программное обеспечение Cura v.13.11.2. Для создания трехмерных моделей использовали программный пакет SolidWorks (SolidWorks Corporation, США). Для изготовления пластиковых форм использовали термопластичные полимеры: ПЛА (полилактид), АБС (акрилонитрилбутадиенстирол), ПВХ (поливиниловый спирт). Температура экструзии 180-250°C. Разрешение по вертикальной оси варьировали от 10 до 200 мкм. Размер экструзионной фильеры изменяли от 100 до 500 мкм.

ВКС для шликерного литья в полимерные формы изготавливали следующего состава: деионизированная вода; порошок $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($\text{M}=\text{Na}, \text{K}$) до 60% по объему; ПАВ. В качестве ПАВ были выбраны полиакрилат аммония (Displex AA 4030, BASF, Германия и Darvan 821A, Vanderbilt, США) и полиметакрилат аммония (Darvan C-N, Vanderbilt, США). Заполнения форм шликером производили используя метод “пресс-фильтрации”. Для этого в тефлоновую ячейку (3 на рис. 3.2) помещали полимерную форму (2) на поверхность фильтра из ПЭЭК (полиэфирэфиркетон) (1), сверху заливали полимерную форму ВКС (4). Тефлоновую ячейку герметично закрывали крышкой накладной с резьбой (7), через входной штуцер (6) с помощью трубочки (9) подавали газ при давлении до 5 атм. Для герметичности сборки использовали уплотнительное

резиновое кольцо круглого сечения (5). В результате полимерная форма заполнялась суспензией, а жидкая фаза удалялась через ПЭЭК фильтр (2).

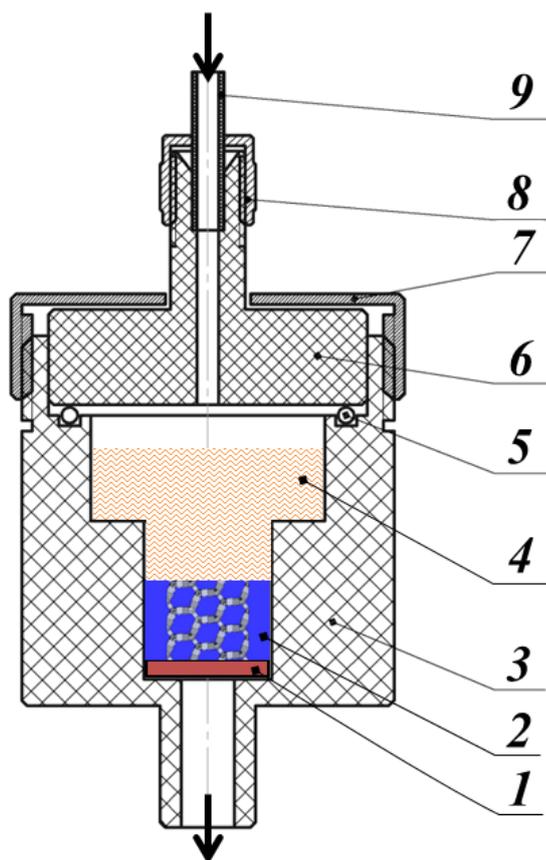


Рис. 3.2. Схема ячейки для заполнения полимерных форм ВКС под давлением.

После проведения процесса пресс-фильтрации заполненная форма извлекалась из ячейки и подвергалась предварительной сушке при 60°C в течение 12 часов для удаления остаточной воды. После сушки производили термическое удаление полимерной формы при медленных скоростях нагрева $=1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$. Следующим этапом, после удаления полимера формы, спекали порошки, сохранившие архитектуру полимерной формы, при $900\text{-}1400^{\circ}\text{C}$. Образцы охлаждали как с печью, так и производили закалку образцов на воздухе. Схема получения макропористых керамических материалов с заданной архитектурой с использованием технологии термоэкструзионной печати представлена на рис. 3.3.

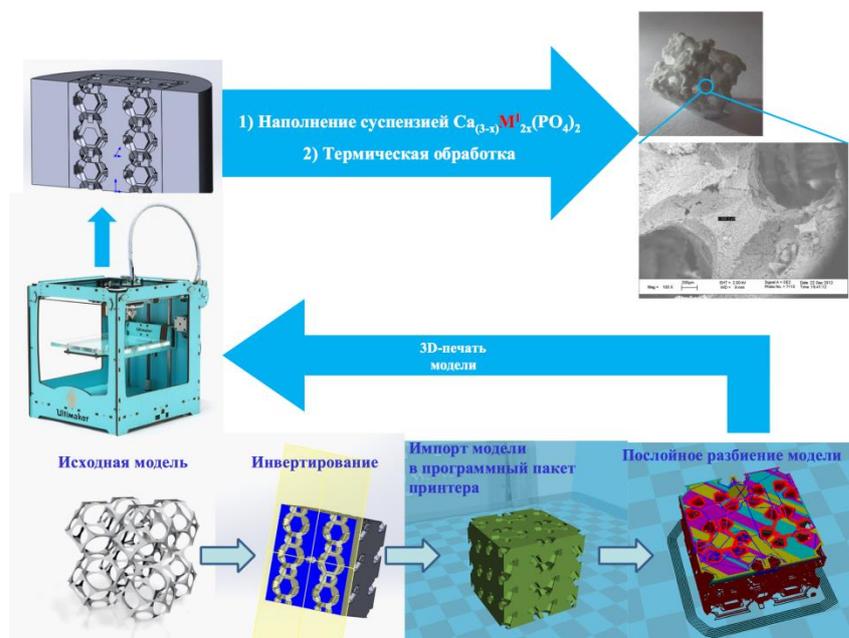


Рис. 3.3. Схема получения макропористой керамики с помощью обратной репликации полимерных форм полученных методом термоэкструзионной печати.

3.1.7.2. Получение макропористой керамики с использованием стереолитографии

Стереолитографию использовали для получения макропористой керамики путем полимеризации светотверждаемой суспензии, наполненной частицами $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($\text{M}=\text{Na}, \text{K}$). Для полимеризации жидкой светосуспензии использовали трехмерный стереолитографический принтер B9Creator (B9Creations, США). Для создания трехмерных моделей использовали программный пакет SolidWorks (SolidWorks Corporation, США). Для роста трехмерных моделей использовали следующую геометрию (рис. 3.4): (1) - источник света, DLP (Digital Light Processing) - проектор; (2) - ванна с жидкой светотверждаемой суспензией (3); (4) - столик (рабочая поверхность на которой происходит выращивание трехмерного объекта); (5) - мотор вращающий ходовой винт (6) для поднятия столика по вертикальной оси (Z).

Светотверждаемую суспензию использовали следующего состава:

- 1) Мономер Laromer 8889 (BASF, Германия);
- 2) Растворитель (ГДДА - гександиолдиакрилат);
- 3) Фотоинициатор TPO-L (BASF, Германия);
- 4) Порошок $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($\text{M}=\text{Na}, \text{K}$);
- 5) ПАВ Triton X-100 (Sigma-Aldrich, Германия);
- 6) Краситель судан оранжевый (Индия).

Перед получением светотверждаемой суспензии модифицировали поверхность порошка $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($\text{M}=\text{Na}, \text{K}$) путем помола порошка в планетарной мельнице

мельнице Pulverisette (Fritsch, Германия) в течение часа со скоростью 400 об/мин с ПАВ, в качестве среды помола использовали ацетон. Высушенный порошок и остальные компоненты светоотверждаемой суспензии помещали в полиэтиленовую банку темного цвета (для защиты от воздействия УФ-излучения) и добавляли мелющие тела из диоксида циркония (соотношение суспензия /шары 1:2 по объему), с помощью шаровой мельницы лабораторной сборки производили перемешивание в течение суток с скоростью вращения 30 об/мин.

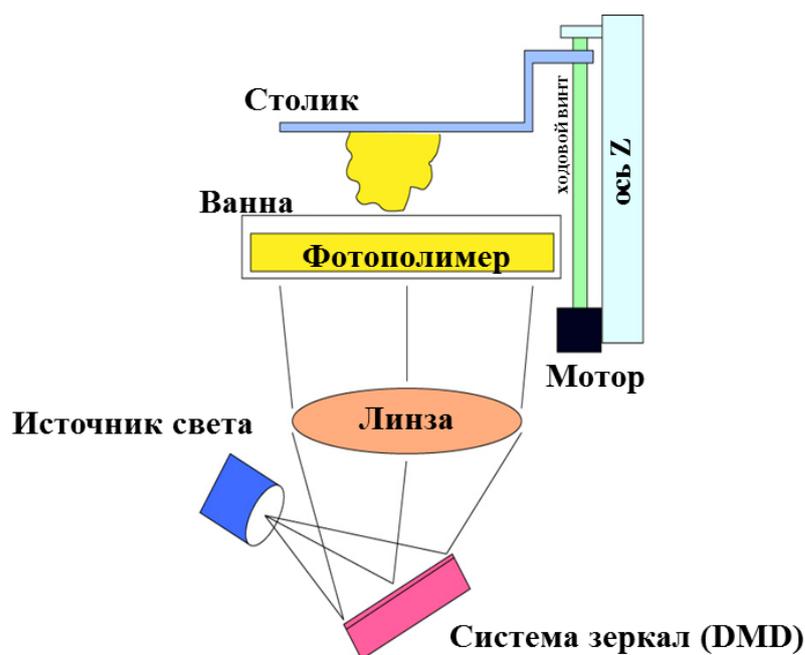


Рис. 3.4. Геометрия стереолитографической установки V9Creator

Для получения трехмерных моделей на основе светоотверждаемой суспензии использовали следующие параметры печати:

- 1) Разрешение проецируемого изображения (размер пикселя): 50-100 мкм;
- 2) Толщина полимеризуемого слоя: 20-120 мкм;
- 3) Время экспозиции слоя: 1-15 сек.

После получения композитных (полимер/смешанный фосфат кальция и щелочного металла) конструкций проводили температурную обработку. Для выбора температурной программы обработки получаемых керамик использовали программное обеспечение Thermokinetics (Netzsch, Германия). После плавного удаления полимерной составляющей проводили спекание каркаса из $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$. Спекание проводили при температуре 900-1400°C. Схема получения макропористых керамических материалов с заданной архитектурой с использованием технологии стереолитографии представлена на рис. 3.5.

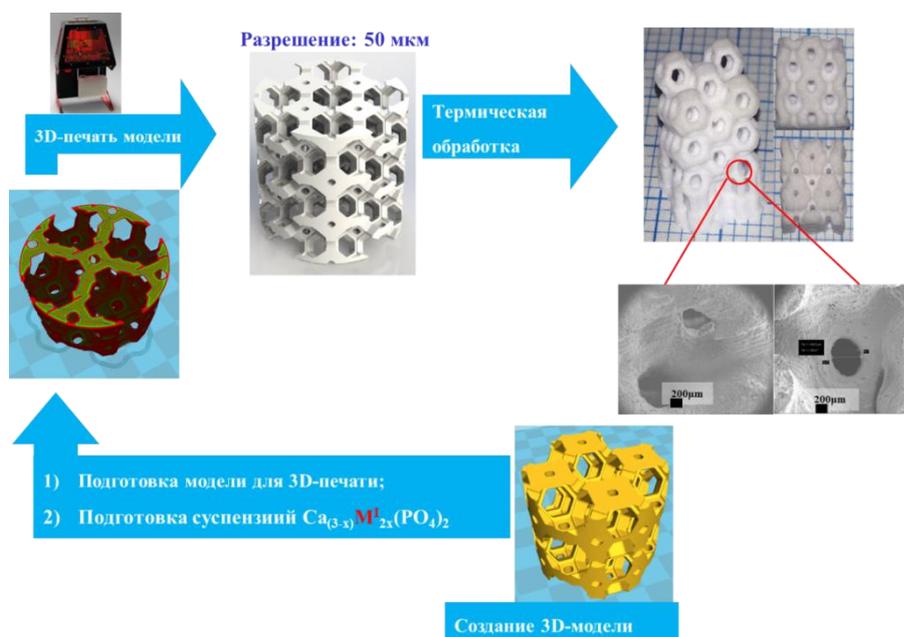


Рис. 3.5. Схема получения макропористой керамики с помощью стереолитографии

3.2. Методы исследования образцов и обработка экспериментальных данных

3.2.1. Рентгенографические исследования. Качественный и количественный рентгенофазовый анализ (РФА).

Качественный рентгенофазовый анализ проводили на дифрактометре Rigaku D/Max-2500 с вращающимся анодом (Япония). Съёмку проводили в режиме на отражение (геометрия Брегга-Брентано) с использованием $\text{Cu K}_{\text{ср}}$ излучения (длина волны $\lambda = 1.54183 \text{ \AA}$). Параметры работы генератора: ускоряющее напряжение 40 кВ, ток трубки 200 мА. Съёмку проводили в кварцевых кюветах без усредняющего вращения. Для закрепления порошковых образцов использовали растворители. Параметры съёмки: интервал углов $2\theta = 3-70^\circ$, шаг по $2\theta 0.02^\circ$, скорость регистрации спектров $5^\circ/\text{мин}$. Для коррекции спектра в качестве внутреннего стандарта использовали порошок кремния (ASTM). Качественный анализ полученных рентгенограмм проводили с помощью программы WinXPOW при использовании базы данных ICDD PDF-2. Профильный анализ спектров и определение значений параметров решётки осуществляли в программе WinXPOW. Индексирование рентгенограмм проводили с использованием открытого программного обеспечения CRYSFIRE 2004. Процедура индексирования включала в себя последовательное использование различных расширений данной программы и выполнялась в следующей комбинации: 1) DICVOL (high symmetry mode); 2) ITO; 3) TREOR; 4) DICVOL (low symmetry mode); 5) LZON. В отсутствие нахождения удовлетворительных параметров кристаллической ячейки применялась программа McMaille, которая для индексирования рентгенограмм используют метод Монте-Карло.

Оценку количественного состава смеси проводили с использованием корундового числа I/I_c по методу Чанга (Chung) [122]. Эта величина равна отношению интенсивностей 100% линий вещества и корунда ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) в смеси, содержащей по 50 вес. % компонентов. При известных величинах корундового числа получаем, что $\sum \omega_k=1$, $k=1, 2, 3 \dots$, где ω_k – соответствующие весовые доли компонентов. Весовая доля вычисляется по формуле:

$$\omega_A = \frac{I_{iA} / (I/I_c(A) \cdot I_{iA}^{rel})}{\sum_K I_{jK} / (I/I_c(K) \cdot I_{jK}^{rel})}, \quad (3.5)$$

где I_{iA} – измеренная интенсивность для i рефлекса фазы А, I_{iA}^{rel} – относительная интенсивность этого рефлекса в базе данных, $I/I_c(A)$ – корундовое число для определяемой фазы А, I_{jK} , I_{jK}^{rel} , $I/I_c(K)$ – соответствующие величины для всех (включая А) компонентов смеси. Корундовые числа брали следующие:

$I_c(\beta\text{-ТКФ})=1.1$; $I_c(\alpha\text{-ТКФ})=0.44$; $I_c(\beta\text{-CaNaPO}_4)=0.97$; $I_c(\alpha\text{-CaNaPO}_4)=2.4$;
 $I_c(\text{Ca}_6\text{Na}_3(\text{PO}_4)_5)=1.5$; $I_c(\beta\text{-CaKPO}_4)=1.03$ и $I_c(\alpha\text{-CaKPO}_4)=2.96$.

Рентгенографические эксперименты при температурах от 50 до 1250 °С проводили *in-situ* с использованием приставки НТ-1500 на дифрактометре с вращающимся анодом Rigaku D/MAX 2500 (Rigaku, Япония) в той же геометрии и параметрах генератора рентгеновского излучения, что и при фазовом анализе при комнатной температуре. Высокотемпературные эксперименты проводили в платиновой кювете.

3.2.2. Растровая электронная микроскопия

Исследование микроструктуры образцов проводили на растровом электронном микроскопе с автоэмиссионным источником LEO SUPRA 50VP (Carl Zeiss, Германия) а также на электронном микроскопе FIB-системы NVision 40 (Carl Zeiss, Германия). Для исследования микроструктуры керамических материалов проводили шлифование и полировку на шлифовальной машине DAP-V/Pedemin (Struers, Дания) и TegraPol-11 (Struers, Дания) с автоматическим вращателем образцов TegraForce-1 (Struers, Дания) по методике F (Metalog Guide, Struers, Дания), на заключительном этапе полировки использовалась суспензия оксида алюминия с размером частицами < 100 нм. Травление полированной поверхности проводили термическим способом при температуре на 100-150° ниже температуры спекания в течение 30 минут для проявления микроструктуры, или в растворе лимонной кислоты при pH=5 в течение 10 секунд при комнатной температуре с последующей промывкой в спирте. Для исследования на образцы был нанесен слой углерода или хрома (напылительная установка Quorum Technologies, QT-150T ES, Великобритания). Ускоряющее напряжение электронной пушки составляло 3-10 кВ. Изображения получали во вторичных электронах при увеличениях до 100000x при помощи детектора типа SE2.

3.2.3. Инфракрасная спектроскопия (ИК)

ИК-спектры поглощения образцов регистрировали на ИК-спектрофотометре Spectrum One (Perkin-Elmer, США) в диапазоне 350-4000 см⁻¹ с шагом сканирования 1 см⁻¹. Образцы прессовали в таблетки диаметром 13 мм с бромистым калием (усилие прессования 4 метрических тонны) из расчета 1 мг анализируемого порошка на 150 мг KBr (для ИК). Анализ спектров проводили на основании литературных данных.

3.2.4. Термогравиметрический и дифференциальный термический анализ

Дифференциально-термический (ДТА) и термогравиметрический (ТГ) анализ образцов проводили с использованием синхронного термоанализатора с вертикальной загрузкой образцов STA 409 PC Luxx (Netzsch, Германия). Измерения проводили в воздушной атмосфере в интервале температур от комнатной до 1480°C со скоростями нагрева 5÷50°C. Навески образцов составляли до 130 мг. Для проведения эксперимента использовали алундовые тигли. Для исследования отходящих газов использовали квадрупольный масс-спектрометр Aëolos QMS 403 C (Netzsch, Германия) с нагревом капиллярной системы входного отверстия.

3.2.5. Рентгеноспектральный микроанализ (РСМА)

Для полученных образцов проводили рентгеноспектральный микроанализ на микроскопе SUPRA 50VP, снабженном системой энергодисперсионного микроанализа INCA Energy 300 (Oxford Instruments, Великобритания). Для анализа были выбраны Ca K, P K, Na K и K K линии спектра. Определение состава проводилось как для больших участков поверхности, размером 20×20 мкм, так и локально в отдельных точках с областью генерации сигнала ~ 1 мкм. Кроме этого проводилось картирование (построение карт распределения элементов) в анализируемых образцах.

3.2.6. Дилатометрические измерения

Измерение линейной усадки прессованных образцов проводили в политермическом режиме до T = 1100°C со скоростью нагрева 5°/мин в горизонтальном дилатометре DIL 402 C (Netzsch, Германия).

Обработка дилатометрических данных проводилась с помощью программы ProteusAnalysis и заключалась в сглаживании полученных кривых усреднением значения в каждой точке по интервалу из четырех соседних точек. Затем кривая численно дифференцировалась, при этом бралась разностная центральная производная по трем узлам сетки:

$$\left(\frac{dy}{dx}\right)_i = \left(\frac{y_{i+1} - y_i}{x_{i+1} - x_i} + \frac{y_i - y_{i-1}}{x_i - x_{i-1}}\right), \quad (3.6)$$

3.2.7. Расчет геометрической плотности

Относительная плотность по результатам геометрических измерений рассчитывалась по формуле:

$$\rho_{отн} = \frac{m}{a \times b \times c \times \rho_{теор}} \times 100\%, \quad (3.7)$$

где m – масса образца в граммах, a , b , c – линейные размеры образца в сантиметрах, $\rho_{теор}$ – теоретическая плотность (г/см³).

Относительная ошибка измерения оценивалась сверху, как сумма относительных ошибок измеряемых величин:

$$\varepsilon_p = \left(\frac{\Delta m}{m} + \frac{\Delta a}{a} + \frac{\Delta b}{b} + \frac{\Delta c}{c} \right) \times 100\%, \quad (3.8)$$

3.2.8. Определение распределения частиц порошка по размерам

Распределение частиц по размерам проводили методом динамического рассеяния света на лазерном анализаторе частице Analysette-22 (Fritsch, Германия) в диапазоне 0.1 мкм – 302.58 мкм. Небольшое количество порошка диспергировали в воде ультразвуком, затем суспензию помещали в измерительную ячейку. Распределение частиц по размеру рассчитывали при помощи специальной программы из частотного распределения доплеровского смещения лазерного луча.

3.2.9. Определение критической энергии полимеризации и глубины полимеризации

Для определения критической энергии полимеризации и ее глубины строили калибровочную зависимость глубины полимеризации от дозы облучения. Времена экспозиции составляли 5, 10, 20, 40 и 60 секунд, в каждом случае проводили измерение дозы (мДж/см²) с помощью УФ-радиометра Photex P-420 (Техэконт, Россия), погрешность измерения 0,5 мДж/см²). В качестве проецируемого изображения для калибровки выбирали круг. После световой экспозиции измеряли толщину получаемой детали с помощью микрометра (погрешность 5 мкм).

3.2.10. Ионметрия растворов

Ионметрия растворов (рН, рСа) проводилась на рН-метре-иономере, Эконикс-Эксперт-001 (Россия). При исследовании динамики растворения по 0.1 г порошков растворялись в 100 мл воды для измерения изменения рН и в буферном растворе (рН=7.4) в случае измерения изменения рСа. Измерения проводились при комнатной температуре в течение 1-3 суток.

3.2.11. Механические испытания¹

Испытания на сжатие образцов при комнатной температуре проводили по ГОСТ 8462-85 и ГОСТ 25.503-97 со скоростью испытания 1 мм/мин, из расчета 5 образцов на точку. Разрывная испытательная электромеханическая машина Instron 5848 (Instron, Великобритания) соответствовала требованиям ГОСТ 28840. Расстояние между опорами составляло 10 мм. Расчет прочности при изгибе для каждого образца проводился по формуле:

$$\sigma = (3Wl)/(2bd^2), \quad (3.9)$$

где σ - предел прочности при изгибе, МПа; W - разрушающая нагрузка, Н; l - расстояние между опорами, мм; b - ширина испытательного образца (размер стороны, перпендикулярной к направлению приложения нагрузки), мм; d - толщина образца (размер стороны, параллельной направлению приложения нагрузки), мм.

Трещиностойкость K_{IC} рассчитывали по формуле Эванса-Чарльза [123]:

$$K_{IC} = 0.0752PC^{-3/2}, \quad (3.10)$$

где P – прикладываемая нагрузка при индентировании и C длина медианной трещины. Для измерения трещиностойкости была приложена нагрузка 1 кг (время нагрузки 30 секунд) на поверхность керамических образцов с помощью индентора для измерения твердости по Виккерсу Wolpert Group 402MVD (Wolpert Group, Великобритания).

3.2.12. Биологические испытания *in vitro*

3.2.12.1. Бесклеточная модель

Скорости растворения керамики и порошков на основе $Ca_{(3-x)}M_{2x}(PO_4)_2$ ($M=Na,K$) исследовали в модельных средах при различных pH. Для этого 0.05 г керамики (или порошка) помещали в водные растворы лимонной кислоты разной концентрации и производили pH (3-7) 0.025 М лимонной кислотой автоматическим титратором Titration Excellence T50 (Mettler Toledo, Швейцария). По объему потраченной кислоты на поддержание pH производили расчет степени и скорости растворения смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов.

3.2.12.2. Клеточная модель для плотных керамических образцов²

Исследование цитотоксичности проводили с использованием вытяжек и самих материалов согласно требованиям ГОСТ Р ИСО 10993.5-99 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследование на

¹ Испытания проведены совместно с к.т.н. Д.В. Просвирниным (ИМЕТ РАН)

² Испытания *in vitro* проведены совместно с к.ф.-м.н. И.И. Селезневой (ИТЭБ РАН, г. Пушкино)

цитотоксичность: методы *in vitro*.» и ГОСТ Р ИСО 10993.12-99 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 12. Приготовление проб и стандартные образцы». В качестве модельной среды для приготовления вытяжек была использована культуральная среда ДМЕМ/F12 с добавлением 5% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) и 100Ед/мл пенициллин/стрептомицина. Приготовление вытяжек проводилось в стерильных полипропиленовых планшетах с соблюдением асептики в течение 1 суток при 37°C. Перед приготовлением вытяжки материалы в стерильных условиях были помещены в планшеты, на каждый материал делали три пробы. Соотношение площади поверхности материала в квадратных сантиметрах и объема модельной среды в миллилитрах составляло $2,03 \text{ см}^2 \times 1000 \text{ }\mu\text{l}$ среды. Вытяжки вносили в лунки планшета полной заменой культуральной среды по четыре лунки на каждую пробу с последующим культивированием при 37°C в течение 1 суток. В эксперименте использовали мышинные фибробласты линии NCTC L929. Посевная концентрация 10тыс/см².

Для изучения адгезивных характеристик материалов и их способности поддерживать пролиферативную активность клеток использовали культуру первичных клеток человека, выделенных из зачатка третьего моляра. Культура клеток на 7 пассаже была использована для тестирования материалов. Клетки культивировали при температуре 37°C в атмосфере 5% CO₂ в среде ДМЕМ/F12 (1:1) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) и 100Ед/мл пенициллин/стрептомицина. Образцы материалов были помещены в лунки 12-луночного планшета для культивирования клеток, после чего на их поверхность были высеяны клетки с плотностью 20 тыс./см². Клетки культивировали в течение 7 суток в среде ДМЕМ/F12 (1:1) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) и 100Ед/мл пенициллин/стрептомицина.

Оценку жизнеспособности клеток проводили с помощью колориметрического МТТ-теста, основанного на восстановлении бесцветной соли тетразолия (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид, МТТ) митохондриальными и цитоплазматическими дегидрогеназами живых метаболически активных клеток с образованием голубых кристаллов формазана, количество которого измеряется спектрометрически (фотометр модель 680 BIO-RAD, США).

Оценку морфологии и жизнеспособности клеток, культивируемых на поверхности и в присутствии вытяжек исследуемых материалов, проводили на микроскопе Axiovert 200. Для проведения анализа использовали метод флуоресцентного окрашивания клеток набором, в который входят два флуоресцентных красителя, SYTO 9 и иодид пропидия.

SYTO 9 окрашивает все клетки в зеленый цвет, иодид пропидия окрашивает в красный цвет ядра погибших клеток.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Origin, за ошибку принимали среднеквадратичное отклонение от среднего значения, за достоверные принимали различия по U-критерию Манна – Уитни при $p < 0,05$.

3.2.12.3. Клеточная модель керамических образцов с заданной архитектурой³

Все образцы керамических материалов с заданной архитектурой перед исследованиями *in vitro* подвергали сухожаровой стерилизации с режимом 180°C, 1,5 часа (Tau Steril Hospital, Италия). Исследования образцов трехмерных керамических каркасов осуществляли в 24-х луночных планшетах (Costar, США). Перед началом экспериментов поверхность дна части лунок планшетов обрабатывали стерильным 1% раствором агарозы (Sigma) для предотвращения миграции клеток с опытных образцов на культуральный пластик. Далее образцы каркасов помещали вертикально в платы для культивирования с обработанным дном, заливали раствором полной ростовой среды (ПРС) следующего состава: среда ДМЕМ (ПанЭко, Москва), 10% эмбриональной телячьей сыворотки (РАА, Австрия), глютамин (600мг/л), гентамицин (50мкг/мл), Хепес-буфер (20 мМ) и помещали в CO₂ инкубатор на 24 часа (37⁰С, 5% CO₂). Каждый опытный образец в платах был представлен в триплетах.

Дизайн экспериментов по оценке цитосовместимости образцов материалов в экспериментах in vitro. В качестве тест-культуры для оценки цитосовместимости (наличия/ отсутствия острой цитотоксичности и матричных свойств поверхности) образцов трехмерных керамических каркасов использовали клеточную линию иммортализованных фибробластов кожи человека штамма 1608 h TERT (ФЧ, Федеральное государственное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г.Москва).

Линию ФЧ поддерживали в ПРС. В экспериментах использовали клетки в логарифмической фазе роста (предконфлюэнтный монослой). Для получения суспензии диссоциированных клеток монослой ФЧ обрабатывали 0,25% раствором трипсина (Sigma, США), полученную взвесь клеток дважды тщательно отмывали центрифугированием в большом объеме ПРС, производили их подсчет и оценку жизнеспособности, окрашивая клеточную суспензию 0,4% раствором трипанового синего. Затем в платы с подготовленными накануне образцами трехмерных керамических каркасов (опыт) и без

³ Биологические испытания макропористых керамик *in vitro* и *in vivo* проведены проф., д.б.н. Н.С. Сергеевой (МНИО им.П.А.Герцена)

них (контроль) аккуратно наносили микропипеткой суспензию ФЧ с концентрацией 1 млн клеток/мл в плотности 20 тыс.клеток в объеме 20,0 мкл ПРС на каркас и помещали в CO₂ инкубатор на 3 часа. В контрольные лунки вносили ФЧ в той же плотности в объеме 120 мкл на лунку (агароза - , контроль I) и на слой агарозы (агароза + , контроль II). По истечении 3 часов в платы с опытными образцами добавляли по 2 мл ПРС, в контроле – по 1,88 мкл и инкубировали: для определения наличия/отсутствия острой цитотоксичности – в течение 24 часов, для оценки матричных свойств поверхности образцов биоматериалов – 3, 7 и 10 суток с регулярной (дважды в неделю) полной заменой ПРС. Все операции осуществляли в стерильных условиях, в атмосфере влажного воздуха, содержащего 5% CO₂ при 37⁰С. Жизнеспособность ФЧ в динамике эксперимента оценивали с помощью МТТ-метода, который основан на способности дегидрогеназ живых клеток восстанавливать 3-(-4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенилтетразолий бромистый (МТТ, Sigma, США) в голубые кристаллы формазана, нерастворимые в воде.

На этапах культивирования ФЧ с испытуемыми образцами по данным МТТ-теста рассчитывали величину пула жизнеспособных клеток (ПЖК) (по отношению к контролю) по формуле:

$$\text{ПЖК} = \frac{\text{ОД}_{\text{опыт}}}{\text{ОД}_{\text{контр}}} \times 100\%, \quad (3.11)$$

где ОД*- оптическая плотность раствора формазана.

Образец биоматериала считали цитосовместимым при отсутствии острой цитотоксичности и наличии матричных свойств поверхности. Критерий отсутствия острой цитотоксичности образцов материалов – величина ПЖК $\geq 70\%$ (по сравнению с контролем, 24 часа культивирования). Критерий наличия матричных свойств поверхности образцов материалов - величина ПЖК в конкретный срок наблюдения $\geq 100\%$ (по отношению к контролю).

Дополнительной характеристикой керамических материалов в отношении тест-культуры в экспериментах *in vitro* является скорость прироста клеточной популяции при долгосрочном культивировании их с клетками. Для этого определяют изменение пула ФЧ (Δ) в конкретный срок (3-и, 7-е, 11-е сутки наблюдения) по формуле:

$$\Delta = \frac{\text{ОД}_{\text{наст}} - \text{ОД}_{\text{пред}}}{\text{ОД}_{\text{пред}}} \times 100\%, \quad (3.12)$$

где ОД_{наст.}- величина оптической плотности раствора формазана в конкретный срок, ОД_{пред.} - величина оптической плотности раствора формазана в предыдущий срок.

Положительная величина пула свидетельствует о приросте популяции ФЧ, отрицательная – о гибели части популяции.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики с использованием пакета программ Biostat. Достоверность различий оценивали с помощью параметрического t критерия Стьюдента; статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

На этапах эксперимента производили визуальный контроль за процессами экспансии клетками поверхности трехмерных каркасов и осуществляли фотоархивирование (видеокомплекс на основе стереомикроскопа и цифровой видеокамеры Olympus, Япония).

3.2.13. Биологические испытания *in vivo*

Для исследования биосовместимости образцов биоматериалов в экспериментах *in vivo* использовали модель подкожной имплантации. Для этого мышам-самкам линии BDF1 весом 18-20г под наркозом смесью (1:1) 0,5% раствора реланиума и 0,5% раствора кетамина (по 0,1 мл на мыш, внутривенно), делали кожный надрез в области грудного отдела позвоночника (паравертебрально). Тупым концом скальпеля кожу осторожно отделяли от прилегающего слоя подкожной клетчатки и мышц и в образованный «карман» имплантировали стерильный образец. На область раны накладывали 2 операционных шва, после чего животных оставляли под наблюдением. Мышей выводили из эксперимента через 1, 3, 6 и недели (по два животных на каждый срок), образцы материалов с прилегающими тканями извлекали, проводили их визуальную оценку (видеокомплекс на основе стереомикроскопа и цифровой видеокамеры «Olympus» (Япония) и осуществляли их фиксацию в 10% растворе формалина. Далее по стандартной методике проводили обезвоживание, заливку материалов в парафин и приготовление гистопрепаратов. Окраску гистологических срезов осуществляли гематоксилин-эозином.

3.3. Термодинамические расчеты

Энергию Гиббса растворения индивидуальных фаз $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ в воде находили как $\Delta G^\circ_{298(\text{раств})} = \Delta H^\circ_{298(\text{раств})} - 298\Delta S^\circ_{298(\text{раств})}$. Энтальпийный и энтропийный вклады определяли как суммы величин двух последовательных процессов: 1) разрушения кристаллической решетки до газообразных ионов и 2) гидратации газообразных ионов. В частности, энтропия растворения $\Delta S^\circ_{298(\text{раств})} = \Delta S^\circ_{298(\text{реш})} + \Delta S^\circ_{298(\text{гидр})}$, причем энтропию решетки рассчитывали как разность между суммой абсолютных энтропий газообразных ионов, на которые распалась решетка, и абсолютной энтропии фазы $\Delta S^\circ_{298(\text{реш})} = \sum S^\circ_{298(\text{ион}, \text{г})} - S^\circ_{298(\text{фазы})}$. Абсолютная энтропия соединения была рассчитана по соотношению, предложенному Дженкинсом и Глассером [124]:

$$S^{\circ}_{298(\text{фазы})} = 1262 V_m + 13, \quad (3.13)$$

где V_m – мольный объем (точнее объем формульной единицы) фазы в нм^3 , значение $S^{\circ}_{298(\text{фазы})}$ вычисляется в Дж/моль·К. Значения энтропий гидратации катионов и анионов были заимствованы из обзоров Маркуса [125]. Следует отметить, что точность определения (или расчета) величин энтропий гидратации не слишком высока, и она, в конечном счете, определяет ошибку оценки свободной энергии растворения. Поэтому для получения качественно правильных результатов (т.е. для возможности сравнения между собой энергий Гиббса растворения двух различных фаз) необходимо использовать согласованный набор энтропийных данных. В данной работе, исходя из данных Маркуса, были приняты следующие значения энтропии гидратации ионов: Ca^{2+} (-325,5), Na^+ (-171,0), K^+ (-130,8), PO_4^{3-} (-382,6), OH^- (-302,0) в Дж/моль·К.

Энтальпия растворения $\Delta H^{\circ}_{298(\text{раств})} = \Delta H^{\circ}_{298(\text{реш})} + \Delta H^{\circ}_{298(\text{гидр})}$, причем $\Delta H^{\circ}_{298(\text{гидр})}$ представляет сумму энтальпий гидратаций ионов, составляющих рассчитываемую фазу; соответствующие величины были также заимствованы из обзора Маркуса [126]. Энтальпия решетки связана с потенциальной энергией кристаллической решетки фазы $U_{\text{реш}}$ следующим соотношением [127]:

$$\Delta H^{\circ}_{T(\text{реш})} = U_{\text{реш}} + \sum s_i (c_i/2 - 2) RT, \quad (3.14)$$

где s_i – число ионов типа i в формульной единице, $c_i = 3$ для моноатомного иона, 5 для линейного иона и 6 для полиатомного иона произвольной геометрии, R – газовая постоянная, T – температура в К (в нашем случае 298 К). Следует отметить, что различие энтальпии и энергии решетки в наших расчетах не превосходило 1 кДж/моль.

Потенциальную энергию кристаллической решетки $U_{\text{реш}}$ в кДж/моль вычисляли по предложенному Глассером и Дженкинсом обобщенному уравнению Капустинского [124, 128]:

$$U_{\text{реш}} = A \cdot I \cdot (2I/V_m)^{1/3} (P/L), \quad (3.15)$$

где $A=121.39$ кДж/моль (константа, включающая в себя константу Маделунга), $I = (1/2)\sum z_i \cdot n_i^2$ аналог ионной силы для сложной решетки, составленной из n_i ионов с зарядом z_i , V_m – объем формульной единицы (или мольный объем) в нм^3 , определяемой, например, из рентгенографического эксперимента, P – фактор отталкивания электронных оболочек ионов, L – фактор плотности упаковки ионов. Уравнение справедливо для диапазона энергий решеток $8000 < U_{\text{реш}} < 12000$ кДж/моль. При дополнительной подгонке параметра P/L ошибка расчета не превышает 5%. В данной работе по значениям энергий решеток ГА и обеих модификаций ТКФ этот параметр был определен как $P/L = 1.03 \pm 0.01$.

Для вычисления ионных равновесий в растворах использовались программы ChemEQL v.3.1 и MEDUSA/HYDRA.

4. Обсуждение результатов

4.1. Фазообразование в смесях солей $\text{Na}_2\text{CO}_3 - \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 - \text{CaCO}_3$, $\text{NaCl} - \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 - \text{CaCO}_3$, $\text{K}_2\text{CO}_3 - \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 - \text{CaCO}_3$, $\text{KCl} - \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 - \text{CaCO}_3$

4.1.1. Выбор условий синтеза $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($\text{M}=\text{Na, K}$ и $x=0 - 1$).

Для проведения реакций получения двойных фосфатов натрия-кальция выбор натрийсодержащих исходных солей (из предложенных) был сделан исходя из следующих соображений: а) температуры плавления солей должны быть сопоставимы с температурами начала взаимодействия в соответствующих солевых смесях; в этом случае диффузионный транспорт в смесях достаточно быстрый, в то же время количество расплава не слишком велико, чтобы вызвать ускоренный рост кристаллов продукта реакции и его рекристаллизацию; б) разложение самого натрийсодержащего прекурсора не должно происходить до температур ниже 800°C (температура заметного разложения CaCO_3); в этом случае для исследования кинетических особенностей реакции можно применить термический анализ, так как потеря массы смеси будет определяться глубиной протекания реакции. С этих точек зрения среди натриевых солей Na_2CO_3 ($T_{\text{пл}}=852^\circ\text{C}$), NaCl ($T_{\text{пл}}=800^\circ\text{C}$), NaNO_3 ($T_{\text{пл}}=310^\circ\text{C}$, разлагается при 380°C), Na_2SO_4 ($T_{\text{пл}}=890^\circ\text{C}$) выбор был сделан в пользу первых двух. Предварительные исследования показали, что в случае двух последних солей наблюдается сильное плавление реакционной смеси, и продукт реакции трудно извлечь из тигля. Кроме того, следует иметь в виду, что 1) Na_2CO_3 – главный компонент реакции «Ренани-процесса», используемый в производстве удобрений для получения ренанита, и, следовательно, можно опираться на имеющиеся в литературе экспериментальные данные; 2) NaCl – типичная примесная фаза при получении фосфатов кальция, например, гидроксиапатита растворным методом, исходя из CaCl_2 и Na_2HPO_4 ; при последующем отжиге свежесажженный нанокристаллический $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (или аморфный фосфат кальция, в зависимости от температуры осаждения) может реагировать с хлоридом натрия, образуя ренанит; 3) при разложении нитрата выделяются токсичные оксиды азота. В случае калийсодержащих солей были избраны соли с аналогичными анионами для возможности сравнения процессов фазообразования в натрий- и калийсодержащих системах.

Таким образом, для синтеза были избраны следующие схемы получения двойных фосфатов (реакции приведены для составов, соответствующих стехиометрии ренанитоподобных фаз):



Термолиз хлорида щелочного металла и выделение паров хлороводорода были подтверждены ТГ-экспериментами с ИК-анализом выделяющихся газов (см. прил. рис. 1, характерный пик колебаний молекулы HCl при 3000 см^{-1}). Термодинамика реакций (4.1) и (4.2) обусловлена как энтальпийным фактором (образование смешанного ортофосфата – соединения с большей энергией кристаллической решетки по сравнению с пирофосфатом кальция, поскольку ортофосфат более компактный анион), так и энтропийным фактором (энтропия реакций положительна, т.к. их протекание связано с увеличением числа молей газообразных продуктов). В связи с тем, что выбранные схемы синтеза двойных фосфатов кальция и щелочных металлов в литературе не описаны, то в первую очередь было целесообразно определить (качественно) насколько предложенные схемы подходят для получения материалов на основе двойных фосфатов. Для этого крайние составы $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_x(\text{PO}_4)_2$ (где $\text{M}=\text{Na}, \text{K}$ и $x=0, x=1$) были получены с помощью твердофазных реакций типа (4.1) и (4.2) при $T=1100^\circ\text{C}$ в течении 12 часов. РФА образцов показал, что при данных условиях получают однофазные образцы $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\beta\text{-CaNaPO}_4$. (рис. 4.1, 4.2). В отношении же $\beta\text{-CaKPO}_4$ достоверные рентгенометрические данные отсутствуют, и они были получены в рамках данной работы (см. главу 4.2.3)

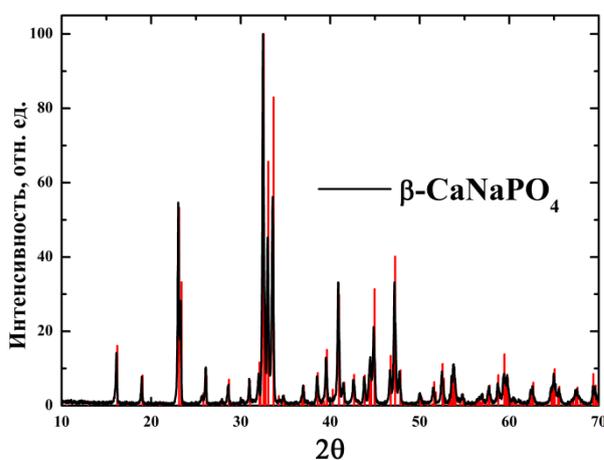


Рис. 4.1. Рентгенограмма порошка $\beta\text{-CaNaPO}_4$, полученного при $T=1100^\circ\text{C}$. Штрих-диаграмма соответствует карточке # 76-1456 базы ICDD PDF-2.

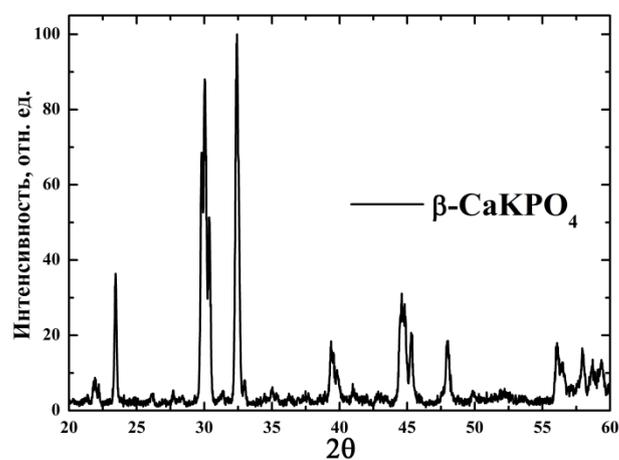


Рис. 4.2. Рентгенограмма образца со стехиометрией на CaKPO_4 , полученного при $T=1100^\circ\text{C}$.

Дальнейший выбор условий проведения синтеза (оценка температуры завершения реакции) был определен из ряда термогравиметрических экспериментов с использованием исходных смесей солей. По данным ТГ было определено, что при использовании карбоната натрия в качестве прекурсора, основная потеря массы заканчивается при

$T=900^{\circ}\text{C}$ и равна теоретически рассчитанной. Для хлорида натрия эта температура ожидаемо выше и составляет $T=1100^{\circ}\text{C}$.

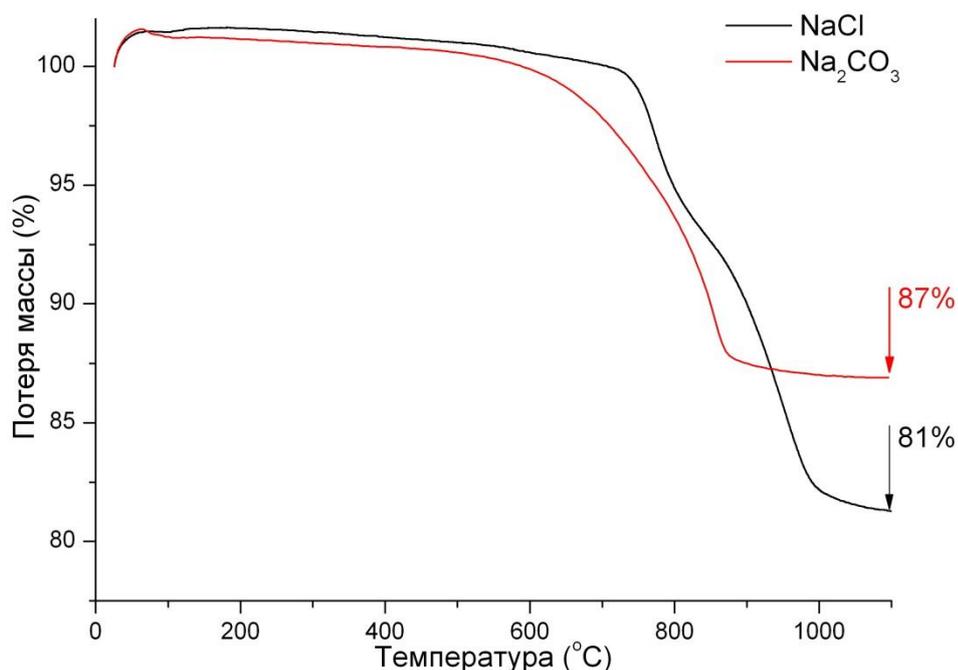


Рис. 4.3. ТГ исходных смесей $\text{Na}_2\text{CO}_3 : \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 1:1$ и $\text{NaCl} : \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 1:1$ для получения CaNaPO_4 по реакциям (4.1) и (4.2); гомогенизация в лабораторной ступке

Таблица 4.1. Теоретические и экспериментальные данные по потере массы в результате хода реакций типа (4.1) и (4.2)

Исходная соль	Потеря массы, %	
	Теоретическая	Экспериментальная
Na_2CO_3	12	13
NaCl	18	19
K_2CO_3	11	13
KCl	17	26

Анализ рис. 4.3 позволяет заключить, что начало реакций ($\sim 600^{\circ}\text{C}$ в случае карбоната и $\sim 750^{\circ}\text{C}$ для хлорида) лежит в температурной области, предшествующей плавлению натриевого прекурсора, то есть начальная стадия, возможно, имеет твердофазный характер. В таком случае, изменение условий гомогенизации порошка (использование помола на шаровой мельнице планетарного типа для достижения большей дисперсности и лучшего перемешивания) способно сместить конец реакции в область более низких температур. Применение планетарной шаровой мельницы позволило уменьшить средние размеры частиц исходных смесей от 35 мкм до 7 мкм (рис. 4.4). В результате чего, температуры завершения протекания реакции значительно снижаются до $T=680^{\circ}\text{C}$ и $T=790^{\circ}\text{C}$ для Na_2CO_3 и NaCl , соответственно (рис. 4.5).

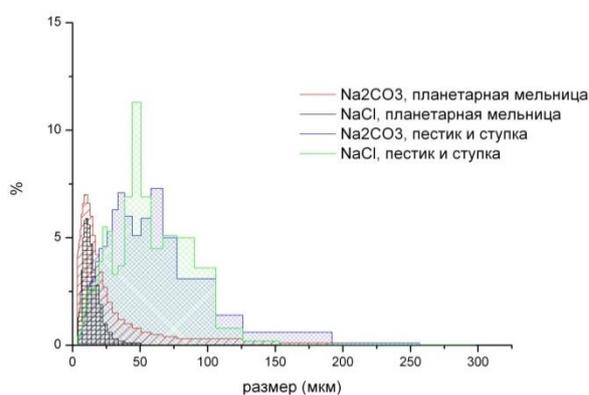


Рис. 4.4. Распределение частиц по размерам в исходных смесях для реакций (4.1) и (4.2) с различными способами помола.

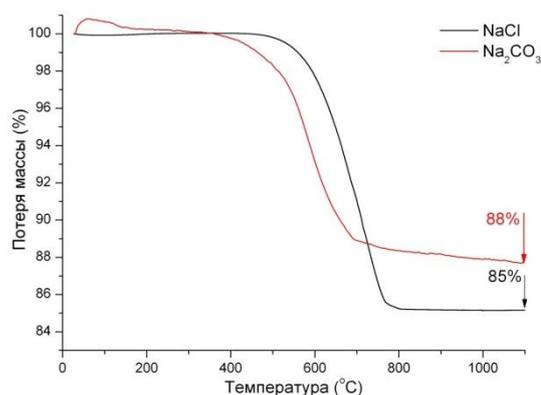


Рис. 4.5. ТГ исходных смесей Na_2CO_3 : $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 1:1$ и $\text{NaCl} : \text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 1:1$ для получения CaNaPO_4 по реакциям (4.1) и (4.2); гомогенизация с помощью шаровой мельницы планетарного типа Pulverisette.

По результатам проведения ТГ (рис. 4.6) и ДТА экспериментов можно отметить, что ход кривых для образцов с близкими составами имеет одну и ту же форму. Указанная аффинность кривых потери массы отражает однотипность механизмов соответствующих твердофазных реакций. Следует отметить, что образование ренанита начинается при более низкой температуре (состав $x=1$ на рис. 4.6), чем реакция образования трикальциевого фосфата (состав $x=0$ на рис. 4.6). Поскольку перестройка кристаллической решетки пирофосфата кальция в реакциях $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{Na}_2\text{CO}_3 = 2 \text{CaNaPO}_4 + \text{CO}_2$ и $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{CaCO}_3 = \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ достаточно кардинальная в обоих случаях и требует разрыва связи Р-О в пирофосфат-ионе и, затем, удаления друг от друга образовавшихся ортофосфат-ионов, то различие в температурах начала и интервале прохождения реакций отражает, по-видимому, различие в диффузионной подвижности ионов Na^+ и Ca^{2+} . Это, в свою очередь, позволяет представить схему реакции, как диффузию ионов Na^+ , Ca^{2+} и O^{2-} в частицу пирофосфата кальция через слой продукта.

При нахождении в областях (по содержанию CaNaPO_4) лежащих ближе к составу трикальциевого фосфата наблюдается характерный размытый пик при $\sim 750^\circ\text{C}$, на кривых ДТА, связанный с твердофазной реакцией образования фазы трикальциевого фосфата. При дальнейшем переходе же к составам с отношением в исходной смеси $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ к CaNaPO_4 порядка 1:1, наблюдается довольно резкий эндотермический эффект при $660 \pm 5^\circ\text{C}$ (начало эффекта, практически неизменно для всех исследованных составов), который следует связать с эвтектоидным превращением $\alpha\text{-CaNaPO}_4 \rightarrow \beta\text{-CaNaPO}_4 + \beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (см. литобзор, 2.9). Таким образом, при температурах больше 660°C в реакционной схеме появляется дополнительная стадия, связанная с образованием фазы $\alpha\text{-CaNaPO}_4$ (где $\text{Ca}/\text{Na} > 1$, приблизительно 1.05 для эвтектоидного состава), продвижением

реакционной границы этой фазы с пирофосфатом в глубину пирофосфатной частицы и одновременной диффузией ионов натрия через ренанитный слой к реакционной границе. Эта стадия заметна по высокотемпературному «плечу» на ТГ-кривых.

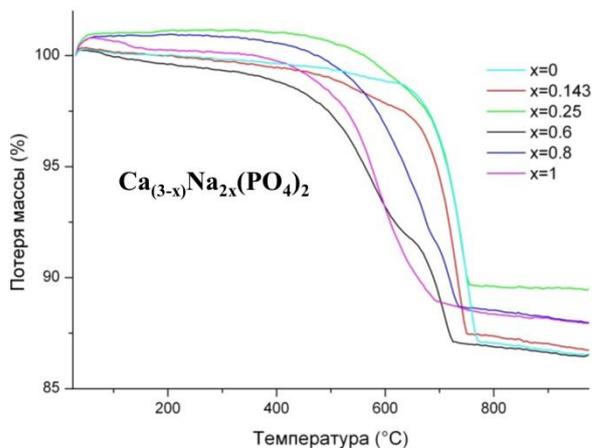


Рис. 4.6. ТГ исходных смесей Na_2CO_3 : $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ = от 0:1 до 1:1 для получения CaNaPO_4 по реакции (4.1); гомогенизация с помощью шаровой мельницы планетарного типа Pulverisette.

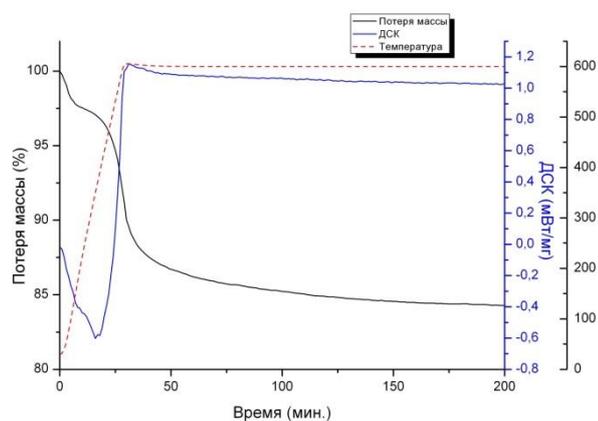


Рис. 4.7. ТГ исходной смесей Na_2CO_3 : $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ = 1:1 для получения CaNaPO_4 по реакции (4.1) со скоростью нагрева ($20^\circ/\text{мин}$) для быстрого выхода на изотерму 600°C ; гомогенизация с помощью шаровой мельницы планетарного типа Pulverisette.

В дальнейшем был проведен ряд ТГ экспериментов, с различными скоростями нагрева ($\beta = 2,5; 5; 7,5; 10^\circ/\text{мин}$), для смесей с заложенной стехиометрией на состав ренанита, с использованием в качестве реагента карбоната натрия. По результатам которых (рис. 4.6) было отмечено, что в случае медленного режима нагрева реакция начинается при более низких температурах и проходит быстрее. По данным ТГ с различными скоростями нагрева, с использованием двух различных моделей (Озавы-Флинна-Уолла и Вязовкина[129-131]), была рассчитана энергия активации данной реакции. С использованием модели Озавы-Флинна-Уолла (прил. рис. 2) энергия активации получилась равной $E_a=95$ кДж/моль, используя вторую модель (прил. рис. 3) получили, что $E_a=91$ кДж/моль, что соответствует результатам полученным при расчете с использованием модели Озавы-Флинна-Уолла. Это позволяет дать осторожную оценку энергии активации реакции образования ренанита (если точнее, то ее низкотемпературной стадии до 660°C) как 90 ± 10 кДж/моль. Подобное невысокое по величине значение энергии активации свидетельствует, по-видимому, о том, что в смысле лимитирующего процесса реакция находится в режиме и кинетического (реакция на границе раздела фаз) и диффузионного контроля.

Для выбора оптимальных условий синтеза (температура, время) необходимо стараться провести реакцию при возможно низких температурах для получения активных

к дальнейшему спеканию порошков. Так, был проведен изотермический при $T=600^{\circ}\text{C}$ эксперимент с использованием смеси $(\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7+\text{Na}_2\text{CO}_3)$ для получения CaNaPO_4 . Для этого использовали быстрый ($20^{\circ}/\text{мин.}$) нагрев для выхода на данный режим. По результатам которого (рис. 4.7) можно утверждать, что температуру получения β - CaNaPO_4 можно снизить до 600°C , так как потеря массы соответствует теоретически рассчитанной (табл. 4.1) в предположении того, что из системы полностью удаляется углекислый газ при разложении карбоната натрия. Поскольку карбонат натрия не может разлагаться произвольно при данной температуре, это свидетельствует о протекании реакции его взаимодействия с пирофосфатом кальция. ТГ-кривая показывает, что 4 часа при данной температуре достаточно для полного протекания реакции образования ренанита (рис. 4.7).

Подводя итог, необходимо отметить, что медленное нагревание реакционных смесей позволяет провести реакции в присутствии минимального количества расплава (и, возможно, даже в твердофазном режиме), температура 900°C гарантированно позволяет получить однофазный продукт даже без повторного измельчения и обжига реакционной смеси.

4.2. Фазовые диаграммы $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$ и $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaKPO}_4$

4.2.1. Полиморфизм $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

Поскольку $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ является общим компонентом для обеих систем, было проведено термоаналитическое изучение его полиморфизма, тем более, что в литературе этот вопрос освещен весьма скудно. При съемках ДТА данных образцов были добавлены несколько сегментов последующего охлаждения и нагрева. В случае с $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ на первом сегменте нагрева (рис. 4.8) можно отметить два эндотермических пика при 1183 и 1455°C , которые соответствуют переходу из низкотемпературной β -модификации $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в высокотемпературную α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и переходу α/α' - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, соответственно. Причем первый эффект является более размытым и не столь интенсивным по сравнению с эффектом, который связан с переходом α/α' , что говорит о кинетически заторможенном переходе из низкотемпературной β -модификации $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в высокотемпературную α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, и о быстром переходе во втором случае. На сегменте последующего охлаждения проявился единственный экзотермический пик при $T=1455^{\circ}\text{C}$, который соответствует обратному переходу α'/α , однако никаких эффектов, связанных с переходом α/β , на термограмме не было отмечено, так же как и на последующих сегментах нагрева и охлаждения, что свидетельствует о возможности получения

высокотемпературной фазы α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ не только путем закалки, но и с постепенным охлаждением печи. Данные, полученные с помощью РФА, подтвердили наше предположение, что после проведения дифференциального термического анализа в данных условиях в итоге мы получили однофазный порошок α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Это свидетельствует о том, что даже при скорости охлаждения печи $5^\circ/\text{мин}$ можно получить данную фазу, в то время как высокотемпературную фазу α' - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ таким образом получить невозможно, даже путем резкого охлаждения.

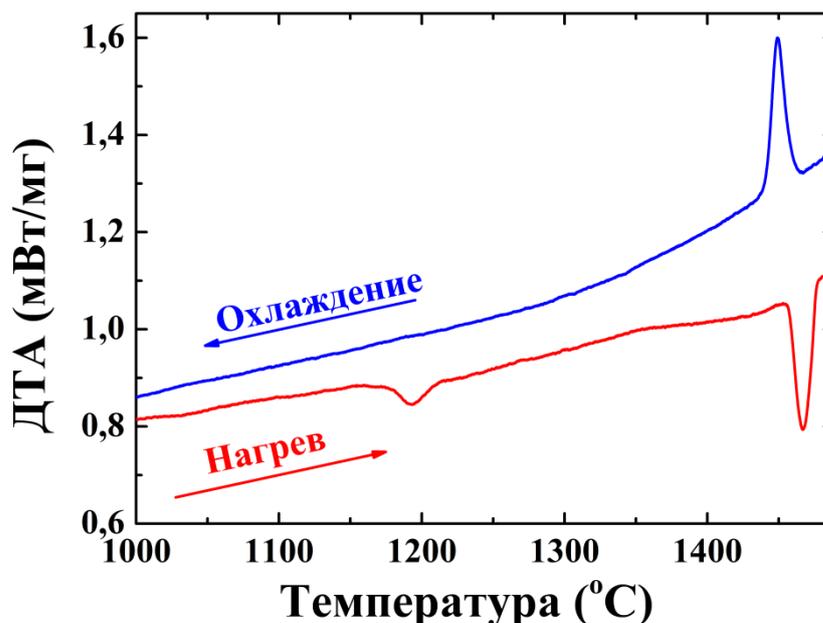


Рис. 4.8 Данные ДТА полученные при нагреве и охлаждении ТКФ со скоростью $5^\circ/\text{мин}$.

Кинетику превращения α/β исследовали в изотермических условиях при $T=900, 1050, 1100^\circ\text{C}$ при выходе на изотермы из области более высоких температур в процессе дилатометрических экспериментов (пример дилатометрической кривой приведен на рис. 4.9). Данные обобщены в виде части ТТТ-диаграммы (рис. 4.10).

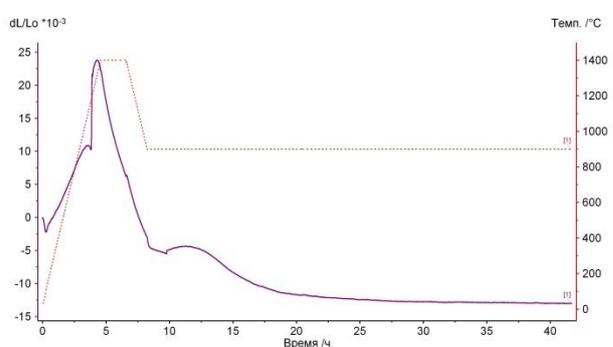


Рис. 4.9. Дилатометрическая кривая нагрева и охлаждения керамики $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ до 900°C

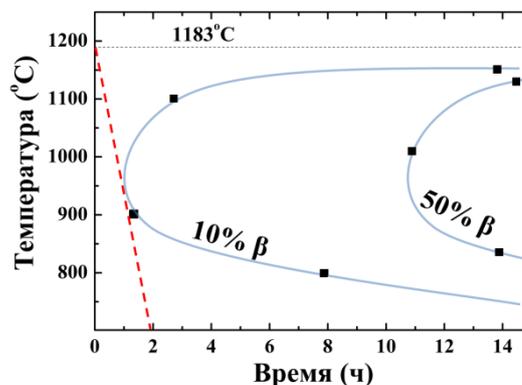


Рис. 4.10. ТТТ- диаграмма $\alpha \rightarrow \beta$ превращения в $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; изолиния, соответствующая степени превращения 10% и 50%.

Кинетика изотермического превращения $\alpha \rightarrow \beta$ при 1100°C (подход к изотерме при нагревании от комнатной температуры) свидетельствует, что к моменту выхода на изотерму превращение прошло на 70% (рис. 4.11).

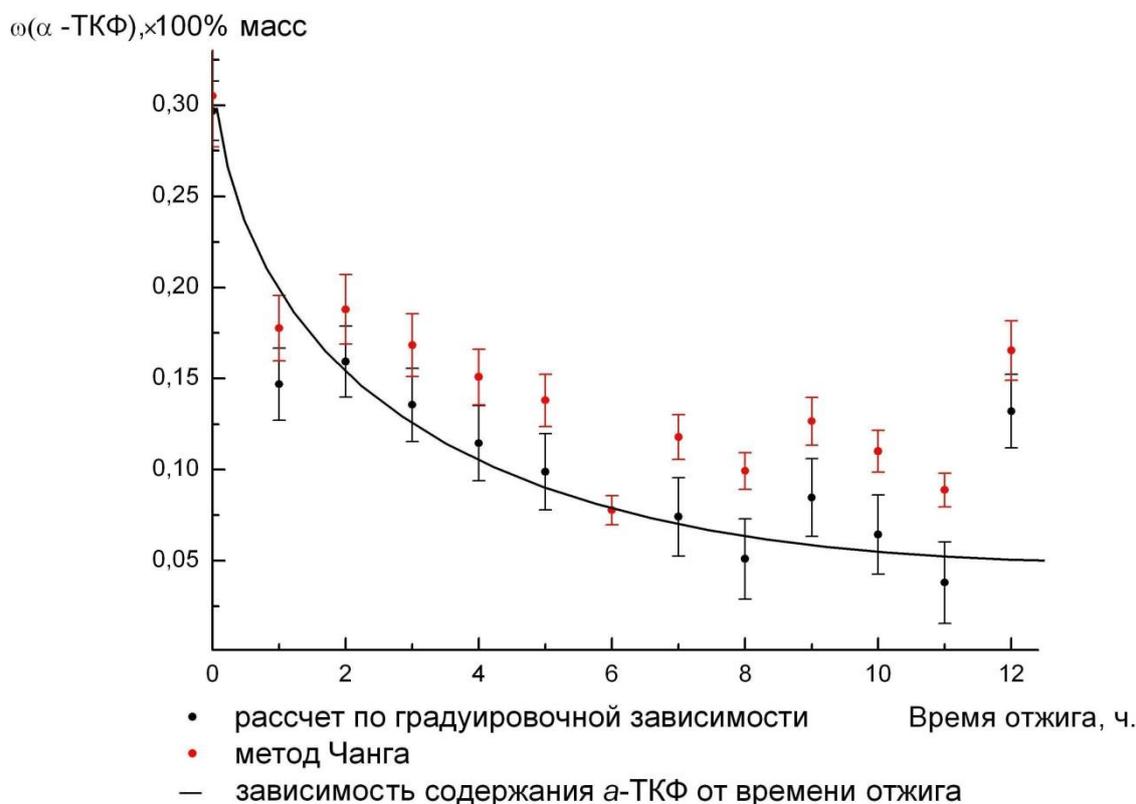


Рис. 4.11. Зависимость содержания α -ТКФ в порошковой бифазной системе от времени отжига.

Оценка критической скорости охлаждения для предотвращения перехода $\alpha \rightarrow \beta$ дает величину 4,5 °C/мин, «опасный» температурный интервал 800-900 °C. Различие в кинетике превращения при подходе «сверху» и «снизу», торможение превращения на заключительных этапах, говорят о существенной роли процессов зародышеобразования. Рост зародышей (и, соответственно, геометрия интерфейса α/β -ТКФ) контролируется возникающими в процессе превращения механическими напряжениями (переход $\alpha \rightarrow \beta$ сопровождается объемным эффектом $\Delta V/V = -4,5\%$). Микрофотография протравленного шлифа керамики α -ТКФ (охлажденной со скоростью чуть ниже критической) выявляет «оболочки» фазы β -ТКФ по границам зерен (рис. 4.12). Образование новой фазы на границе зерен однозначно указывает на механизм превращения α/β -ТКФ, связанный с образованием и ростом зародышей. Можно показать, что «оболочки» фазы β -ТКФ вследствие отрицательного объемного эффекта превращения $\alpha \rightarrow \beta$ находятся в состоянии тангенциальных растягивающих и радиальных сжимающих напряжений. Это приводит к образованию радиальных трещин в «оболочках» β -ТКФ по границам зерен. Наличие

сильно растреснутого зернограничного слоя приводит к низким прочностным свойствам керамики α -ТКФ с примесью низкотемпературного полиморфа.

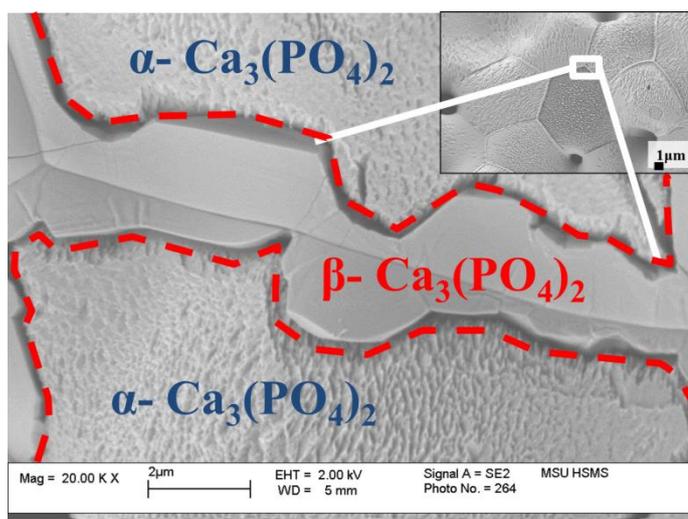


Рис. 4.12 Микрофотография протравленного кипящей водой шлифа керамики α -ТКФ, испытавшей частичное превращение в β -ТКФ

Резюмируя данные о превращениях в ТКФ.

Переход $\beta \rightarrow \alpha$ является заторможенным реконструктивным переходом 1-го рода с $\Delta H = 6,8$ кДж/моль и $\Delta V/V = +4.5\%$, превращение начинается при 1183°C , для его полного протекания требуется обжиг при 1400°C в течение порядка 1 ч. При обратном переходе величины переохлаждения могут превышать 300°C . Это позволяет получить высокотемпературную α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ даже при не слишком быстром охлаждении (порядка $5^\circ\text{C}/\text{мин}$).

Переход $\alpha \rightarrow \alpha'$ относится к быстрым деформационным переходам 1-го рода с $\Delta H = 10.73$ кДж/моль, переход начинается при 1455°C и практически не демонстрирует температурного гистерезиса. Это исключает возможность получения α' - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ даже при закалке.

4.2.2. Система $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$

Для проверки фазовой диаграммы $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$ и исследования ранее не изученного фазового равновесия $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaKPO}_4$ были приготовлены β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, β - CaNaPO_4 и β - CaKPO_4 для последующего смешивания в различном массовом соотношении. Исходные соединения для смесей были получены методом твердофазных реакций, при $T = 1100^\circ\text{C}$ в течении $t = 12$ часов, с использованием пирофосфата кальция и соответствующей карбонатной соли щелочного металла. Смеси готовились с шагом в 10% по массе. Таким образом, для изучения каждой фазовой диаграммы мы имели по 11

готовых смесей $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaNaPO}_4$ и $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaKPO}_4$ (где $x = 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0$), которые были предварительно гомогенизированы с помощью шаровой мельницы планетарного типа с использованием ацетона для улучшения степени гомогенизации, с этой же целью полученные смеси были отожжены при $T=600^\circ\text{C}$ в течение $t=6$ часов.

Для изучения границ фазовых полей все полученные смеси были исследованы с помощью дифференциального термического анализа. При пересечении таких границ мы ожидали проявление эндотермических процессов по данным дифференциального термического анализа (ДТА). Так как энергия эффекта прямо пропорциональна количеству вещества, то для усиления проявления данных процессов в ходе термического анализа использовалась максимальная навеска смесей для используемого нами прибора (около 130 мг.). Съёмки проводились при различных скоростях нагрева/охлаждения в диапазоне от 25 до 1400°C .

4.2.2.1. Полиморфизм CaNaPO_4

Для CaNaPO_4 в литературе [24] известны две модификации: высокотемпературная $\alpha\text{-CaNaPO}_4$ и низкотемпературная $\beta\text{-CaNaPO}_4$ с температурой перехода $T=690^\circ\text{C}$. На рис. 4.13 данные высокотемпературной дифрактометрии фазы $\alpha\text{-CaNaPO}_4$ показаны в сравнении с низкотемпературной $\beta\text{-CaNaPO}_4$.

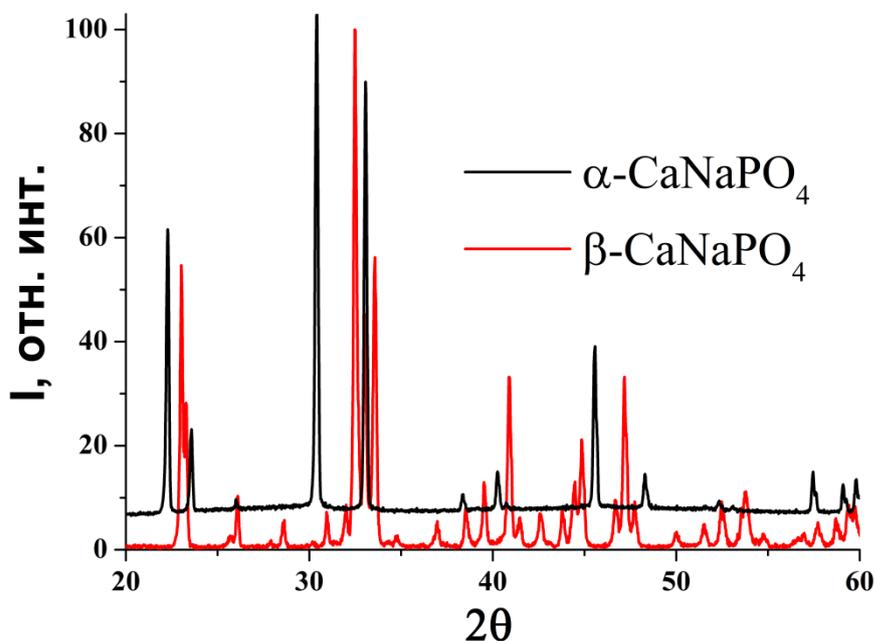


Рис. 4.13. Сравнение данных РФА низкотемпературной модификации $\beta\text{-CaNaPO}_4$ и высокотемпературной $\alpha\text{-CaNaPO}_4$

Рентгенометрические данные для α -CaNaPO₄ (прил. табл. 10) были сравнены с известной рентгенограммой № 74-1950 для этой фазы в базе данных ICDD PDF-2, полученных Бредигом [24] в 1942 году. По нашим данным имеется большее количество рефлексов, которые полностью индицируются согласно гексагональной сингонии (предполагаемая пространственная группа $P\bar{3}m1$), предложенной в литературе [24] с параметрами элементарной ячейки $a=5.23\text{\AA}$, $c=7.24\text{\AA}$. Рентгенометрические данные для β -CaNaPO₄ соответствуют карточке №76-1456 (соответственно работе [23]) и индицируются в орторомбической ячейке (пространственная группа $Pn2_1a$) с параметрами $a'=20.378(3)$, $b'=5.406(1)$ и $c'=9.155(5)\text{\AA}$. Между размерами ячеек обеих модификаций можно установить следующую взаимосвязь: $a' \approx 3c$, $b' \approx a$, $c' \approx \sqrt{3}a$, которая отражает направление осей в гексагональной и ортогексагональной системах координат, а также упорядочение вдоль оси 6-го порядка (утроение параметра ячейки). Последнее связано с тремя различными ориентациями фосфатных тетраэдров в катион-анионных глазеритных колонках [23]. Следовательно, превращение связано с поворотами ортофосфатных групп, и может протекать очень быстро. По данным проведенного ДТА (рис. 4.14) температура перехода β/α -CaNaPO₄ составляет $T=680^\circ\text{C}$, причем данный переход сопровождается резким эндотермическим эффектом при нагреве и равным по энергии ($\Delta H_{\beta/\alpha}=8,22\pm 0,16$ кДж/моль) с экзотермическим эффектом, который связан с переходом α/β -CaNaPO₄, при охлаждении ($\Delta H_{\alpha/\beta}=8,06\pm 0,16$ кДж/моль), температурного гистерезиса не наблюдается. По данным дилатометрии переход $\beta \rightarrow \alpha$ CaNaPO₄ сопровождается положительным объемным эффектом $\Delta V/V= + 6 \%$ (рис. 4.15, $\Delta L/L \approx 2\%$) высокотемпературная рентгенография дает сходную оценку $\Delta V/V= +5.6 \%$.

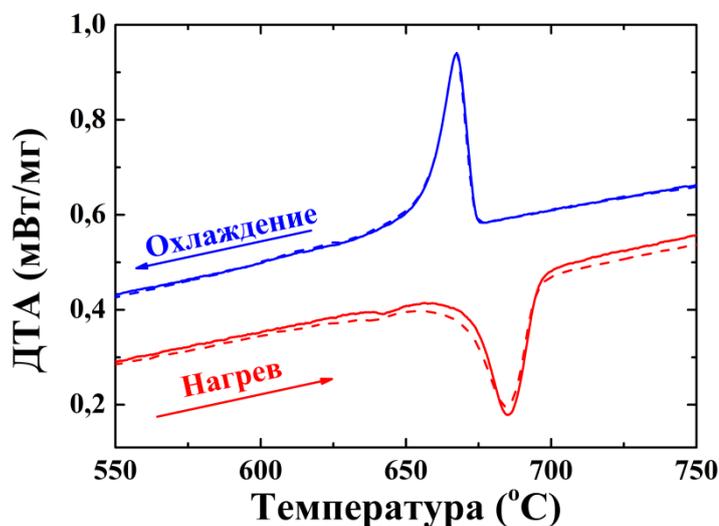


Рис. 4.14. Данные ДТА для CaNaPO₄ (два сегмента нагрева и два сегмента охлаждения).

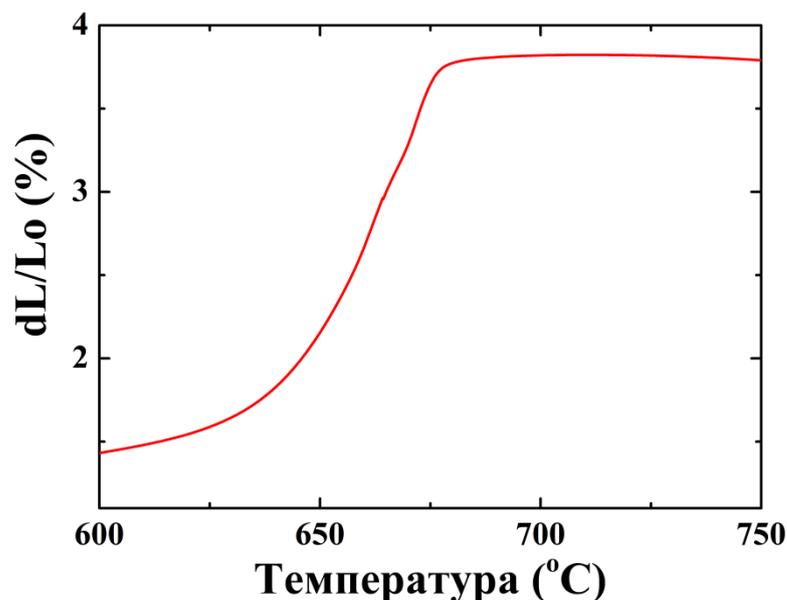


Рис. 4.15 Данные дилатометрии для компактного образца чистой фазы CaNaPO_4 .

Впервые были получены зависимости (табл. 4.2) изменения линейных параметров (рис. 4.16) CaNaPO_4 от температуры, в том числе была получена зависимость изменения объема кристаллической решетки в зависимости от температуры (рис. 4.17). Для этого использовали Al_2O_3 в качестве внутреннего стандарта. Зная его закон изменения коэффициента термического расширения ($\alpha=2,08(6)\cdot 10^{-5}+0,66(5)\cdot 10^{-8}T$ по одному направлению и по второму $\alpha=2,13(3)\cdot 10^{-5}+0,63(1)\cdot 10^{-8}T-0,13(6)/T^2$ [132]), были определены межплоскостные расстояния, которые должны соответствовать расположению дифракционных пиков Al_2O_3 на рентгенограмме для определенной температуры, затем сравнивая с реальным расположением данных пиков Al_2O_3 на полученных дифрактограммах при определенной температуре был посчитан приборный сдвиг нуля для каждой температуры, и с учетом этого параметра были проиндцированы пики соответствующие фазе CaNaPO_4 , и в дальнейшем рассчитаны параметры элементарной ячейке при заданной температуре. На рис. 4.17 можно четко отметить значительный скачок в объеме при смене модификации CaNaPO_4 из низкотемпературной в высокотемпературную. Если принять в качестве нижней границы оценки модуля Юнга ренанита величину 10 ГПа, то указанное изменение объема создаст механические напряжения порядка 600 МПа. Это, разумеется, выше предела прочности любой фосфатной керамики, и, следовательно, превращение будет приводит к интенсивному растрескиванию компактного материала.

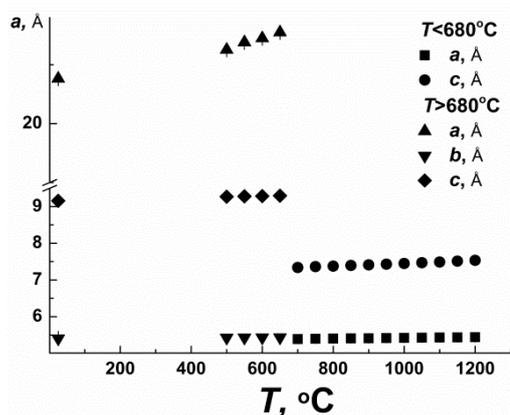


Рис. 4.16. Изменение параметров элементарной ячейки CaNaPO_4 в зависимости от температуры.

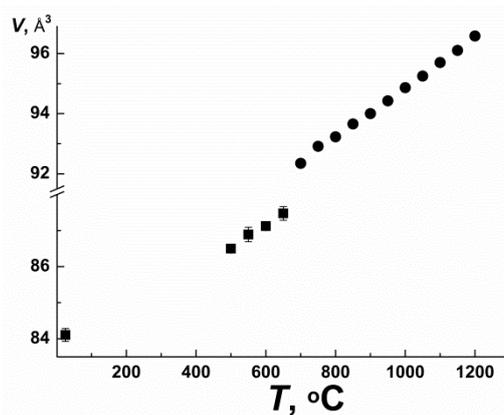


Рис. 4.17. Изменение объема элементарной ячейки CaNaPO_4 в зависимости от температуры.

Таблица 4.2. Зависимость параметров элементарной ячейки CaNaPO_4 от температуры.

Параметр	Зависимость параметров элементарной ячейки CaNaPO_4 от температуры	
	$T < 680^\circ\text{C}$	$T > 680^\circ\text{C}$
$a, \text{Å}$	$20.38(3) + 1.45(9) \cdot 10^{-4} \cdot T + 7.23(1) \cdot 10^{-7} \cdot T^2$	
$b, \text{Å}$	$5.41(1) + 4.3(1) \cdot 10^{-5} \cdot T$	
$c, \text{Å}$	$9.15(5) + 2.25(9) \cdot 10^{-4} \cdot T$	
$a, \text{Å}$		$5.32(2) + 9.77(2) \cdot 10^{-5} \cdot T$
$c, \text{Å}$		$7.08(5) + 3.82(6) \cdot 10^{-4} \cdot T$
$V, \text{Å}^3$	$83.95(8) + 0.0053(1) \cdot T$	$173.16(6) + 0.17(2) \cdot T$

Таким образом, быстрый переход 1-го рода $\alpha/\beta\text{-CaNaPO}_4$ носит деформационный характер и связан с небольшими (меньше межатомных расстояний) кооперативными смещениями атомов в катион-анионных колонках структуры глазерита и, главным образом, с поворотами фосфатных тетраэдров. Это напоминает ситуацию с переходом $\alpha/\alpha'\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, и получение однофазного продукта, содержащего исключительно высокотемпературную фазу $\alpha\text{-CaNaPO}_4$ невозможно. Следует предположить схожий структурный мотив $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и $\beta\text{-CaNaPO}_4$, а так же $\alpha'\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и $\alpha\text{-CaNaPO}_4$, и возможность образования непрерывного ряда твердых растворов, по крайней мере, между последними двумя фазами при высоких температурах. Это позволяет предложить способ нивелировать последствия быстрого перехода $\alpha/\beta\text{-CaNaPO}_4$. Для этого нужно отступить от чистого компонента CaNaPO_4 в сторону промежуточных составов $\text{Ca}_{2-x}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$. В области высоких температур фазовый состав будет соответствовать фазе $\alpha\text{-CaNaPO}_4$. При понижении температуры должно будет произойти превращение $\alpha/\beta\text{-CaNaPO}_4$, однако конечная фаза $\beta\text{-CaNaPO}_4$ будет иметь иной катионный состав с $\text{Ca}/\text{Na}=1$, поскольку упорядоченная фаза требует вполне определенного состава. Следовательно, лишний кальций должен быть диффузионно удален из кристаллов растущего

низкотемпературного полиморфа. Превращение получает диффузионную составляющую, и его кинетика должна замедлиться. Таким образом, надлежащим выбором условий термообработки можно или избежать превращения или добиться его протекания с такой скоростью, чтобы возникающие механические напряжения успевали бы релаксировать.

4.2.2.2. Фазовая диаграмма $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$

По данным ДТА, в зависимости от состава смесей $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaNaPO}_4$ были получены данные, которые представлены в прил. табл. 8.

Данные из прил. табл. 8 совпадают с результатами, которые приводятся в литературе, при нанесении на приведенные фазовые диаграммы $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$ (рис. 4.18).

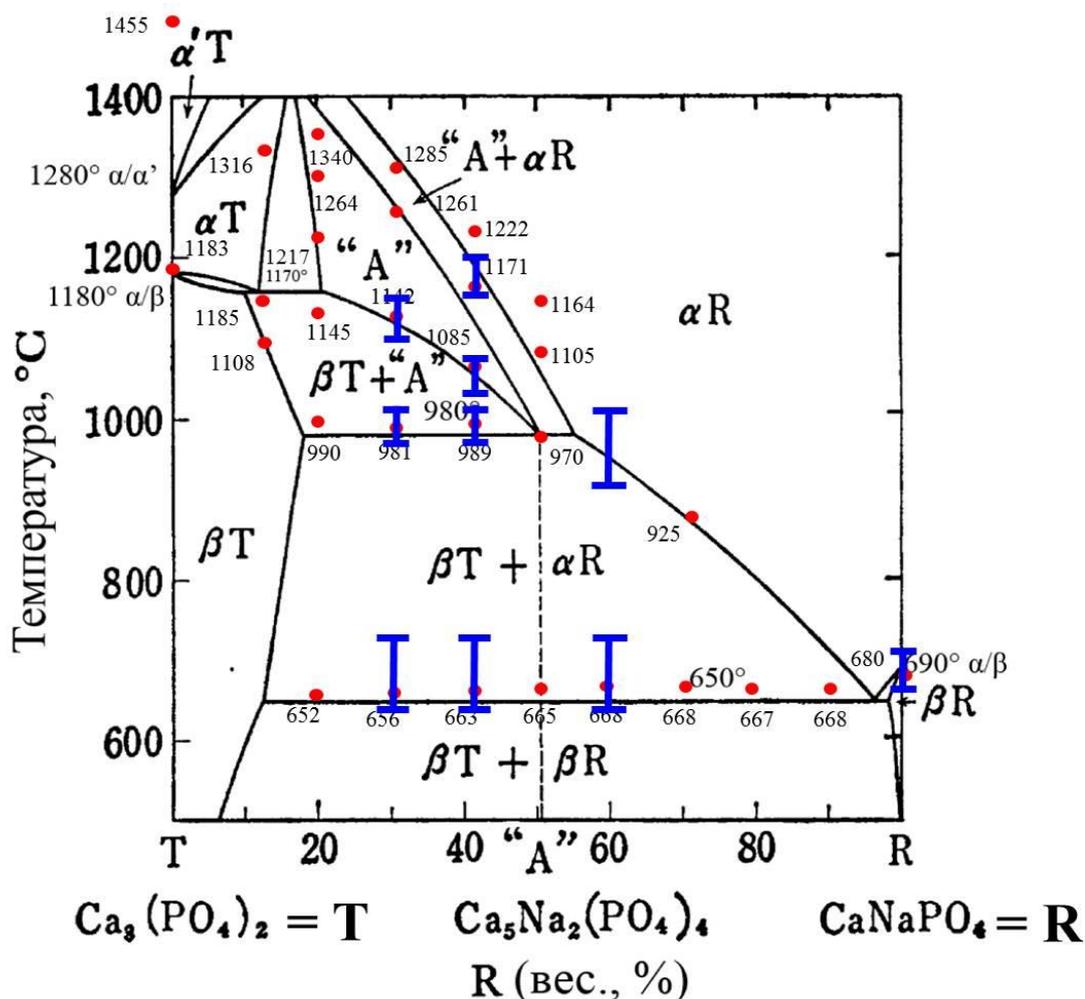


Рис. 4.18. Фазовая диаграмма [46] системы $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$ с нанесенными данными ДТА (прил. табл. 8, красные точки) и высокотемпературного РФА (синие отрезки, обозначающие температурный диапазон, в котором наблюдалось фазовое превращение, концы отрезков – температуры проведения Т-РФА).

Для уточнения состава фазовых полей системы $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$ был проведен высокотемпературный рентгенофазовый анализ на смесях $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaNaPO}_4$ с

составами $x=0,3$; $0,4$; $0,6$ и $1,0$. Результаты, полученные в ходе данного метода (табл. 4.3), подтверждают литературные данные. Также по данным высокотемпературного рентгенофазового анализа были подтверждены области температур фазовых превращений для смесей данного состава (табл. 4.3).

Таблица 4.3. Сравнение данных по температурным областям границ фазовых переходов, полученных с помощью РФА и ДТА

	Состав смеси					
	$x=0.3$			$x=0.4$		
Температура переходов по данным ДТА (табл. 4.2), °С	656°	981	1142	663	989	1085
Область температур переходов по данным РФА, °С	640-660	980-1000	1140-1160	660-700	980-1000	1060-1080
	$x=0.6$			$x=1.0$		
Температура переходов по данным ДТА (табл. 4.2), °С	668			680		
Область температур переходов по данным РФА, °С	650-700	950-1000		660-700		

Область гомогенности фазы β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ состава $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ соответствует $x < 0.2$. Измерение параметра решетки (рис. 4.19) дает значение $x < 0,25$. Таким образом, границу области гомогенности фазы β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ можно оценить как $x = 0.15 \pm 0.5$. Отметим, что рассматриваемый в литературе состав $\text{Ca}_{10}\text{Na}(\text{PO}_4)_7$ лежит внутри этой области, но не является граничным.

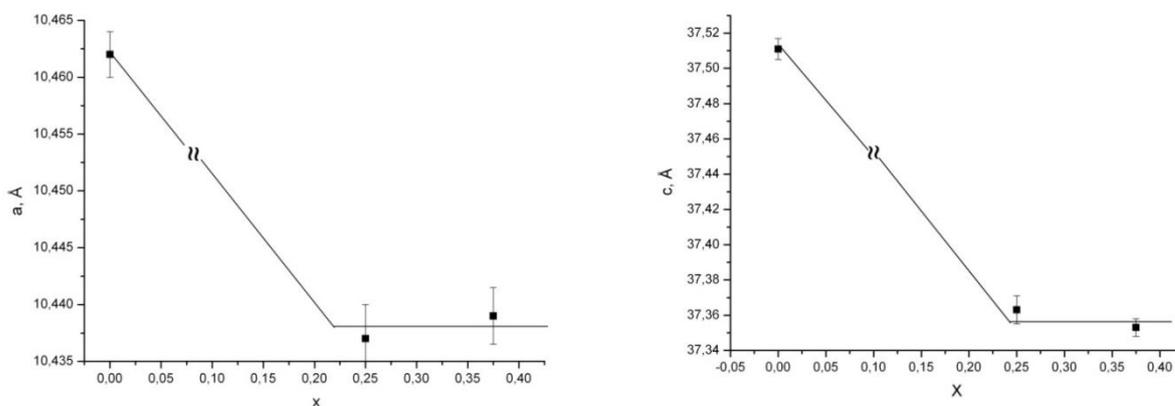


Рис. 4.19. Изменение параметров решетки (параметр a слева, c – справа) $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ в зависимости от x .

Для изучения существования фазы «А», были детально исследованы смеси $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaNaPO}_4$ с составами $x=0,3; 0,4$. В ходе высокотемпературного РФА были получены рентгенограммы в области температур существования фазы «А», которые были выбраны по литературным данным [24, 133], а также с использованием данных ДТА (прил. табл. 8). По данным исследования рентгенограмма однофазной «А» выглядит следующим образом (рис. 4.20), можно заметить, что полученная рентгенограмма в основном совпадает с рентгенограммой $\alpha\text{-CaNaPO}_4$ (рис. 4.20), за исключением наличием дополнительных линий, которые можно объяснить увеличением периода чередования в элементарной ячейке $\alpha\text{-CaNaPO}_4$, то есть появлением сверхструктуры. В отличие от известных данных в литературе [24, 134] мы получили рентгенограмму (рис. 4.20) чистой фазы «А», что подтверждается совпадением рентгенограмм для разных составов ($x=0,3; 0,4$) в области температур существования фазы «А». Параметры ячейки данной фазы при разных температурах и составах приведены в табл.4.4. Ее можно описать как упорядоченный твердый раствор на основе $\alpha\text{-CaNaPO}_4$ с образованием сверхструктуры 2×3 , т.е. $a_A = 2a_\alpha, c_A = 3c_\alpha$.

Таблица 4.4. Сравнение параметров элементарной ячейки фазы «А» при разных температурах и составах с параметрами высокотемпературной фазы $\alpha\text{-CaNaPO}_4$

	$a, \text{Å}$	$c, \text{Å}$	$V, \text{Å}^3$
$x=0.4; T=1100^\circ\text{C}$	10,7500(21)	22,598(3)	2261,6(8)
$x=0.3; T=1200^\circ\text{C}$	10,7360(22)	22,681(5)	2264,0(10)
$x=0.4; T=1200^\circ\text{C}$	5,3837(17)	7,5697(16)	190,01(11)

Если рассматривать данную фазу как родственную нагельшмидтиту (тип $A_7(\text{XO}_4)_2(\text{YO}_4)_2$), то максимальная степень упорядочения должна наблюдаться для состава $\text{Ca}_5\text{Na}_2(\text{PO}_4)_4$, кристаллохимическая формула которого с учетом глазеритного мотива разбиения структуры на катионные { } и катион-анионные [] колонки может выглядеть как $\{\text{Ca}_4\}[\text{CaNa}_2\Box(\text{PO}_4)_4]$. Помимо поворотов фосфатных тетраэдров сверхструктура может быть связана как с упорядочением вакансий (сверхструктура вдоль a) и упорядочением кальция и натрия в катион-анионной колонке сверхструктура вдоль c). Судя по тому, что эвтектоидное превращение «А» $\rightarrow \beta\text{-ТКФ} + \beta\text{-CaNaPO}_4$ демонстрирует нормальную (т.е. не слишком быструю) кинетику, то атомные процессы превращения связаны с перемещением катионов. Общую формулу твердого раствора «А» на основе нагельшмидтита можно записать таким образом как $\{\text{Ca}_4\}[\text{Ca}_{1+x/2}\text{Na}_{2-x}\Box_{1+x/2}(\text{PO}_4)_4]$.

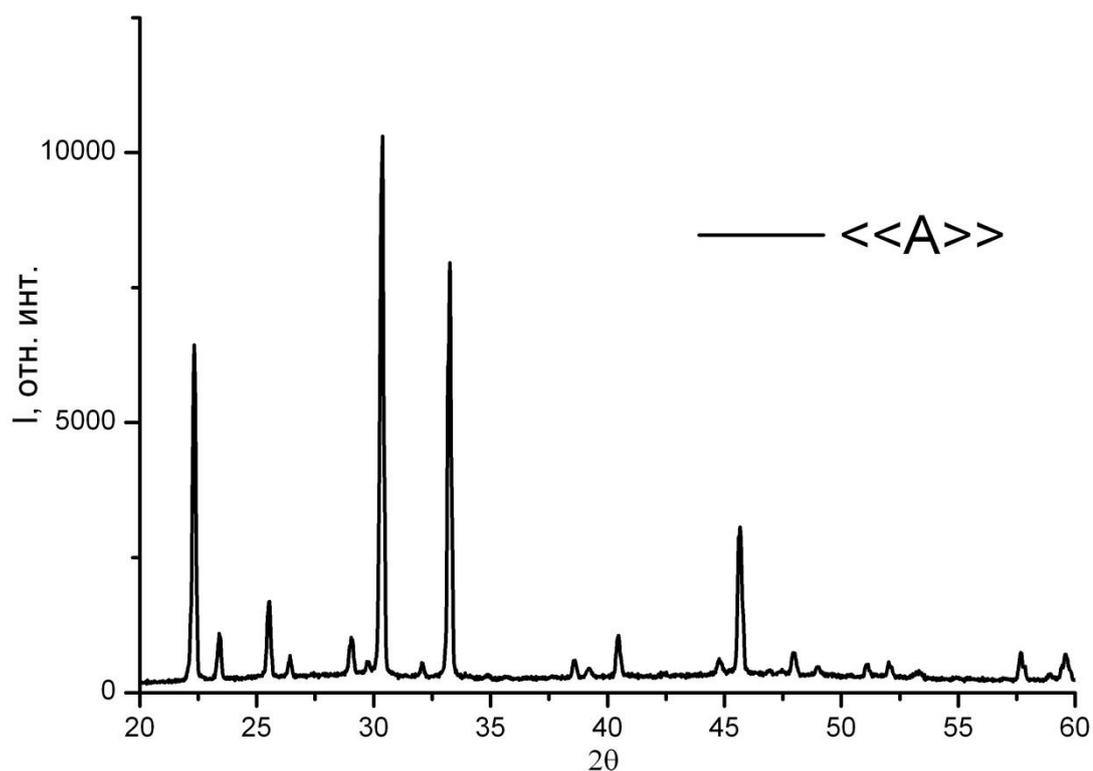


Рис. 4.20. Рентгенограмма для фазы «А», полученная при нагреве до 1200°C, состава $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaNaPO}_4$ с $x=0.3$.

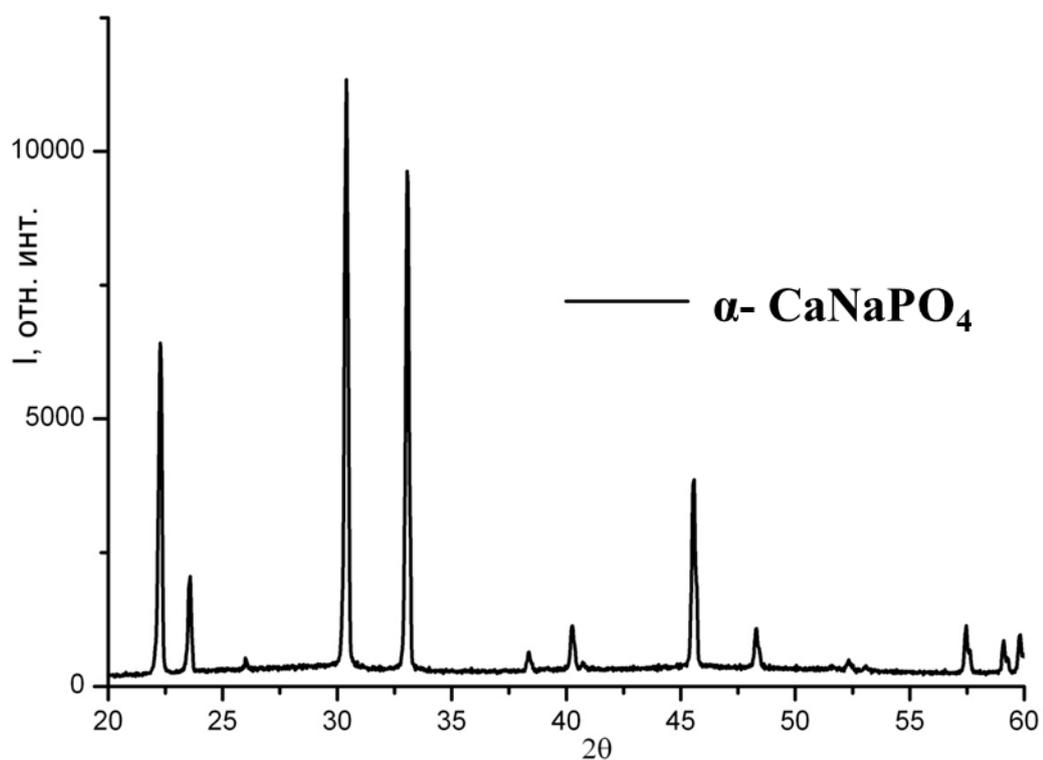


Рис. 4.21. Рентгенограмма для фазы $\alpha\text{-CaNaPO}_4$ полученная при нагреве до 1200°C, состава $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaNaPO}_4$ с $x=0.6$.

4.2.3. Система $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - CaKPO_4

4.2.3.1. Полиморфизм CaKPO_4

Для определения структурного типа высокотемпературной фазы α - CaKPO_4 был проведен эксперимент аналогичный с CaNaPO_4 , с использованием Al_2O_3 в качестве внутреннего стандарта. Полученная в результате рентгенограмма (рис. 4.22) для α - CaKPO_4 полностью повторяет рентгенограмму для α - CaNaPO_4 , только со смещением всей дифракционной картины в сторону меньших углов, а то есть с увеличением параметров элементарной ячейки (табл. 4.5).

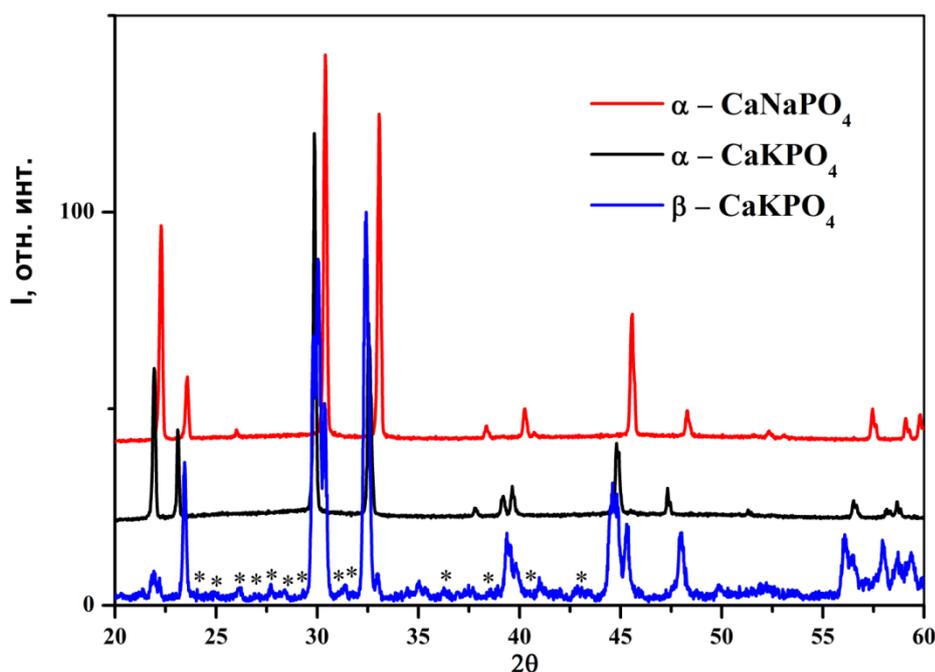


Рис. 4.22. Сравнение рентгенограмм для фаз α - CaNaPO_4 , α - CaKPO_4 и β - CaKPO_4 . На рентгенограмме для β - CaKPO_4 звездочками отмечены непроиндексированные рефлексы.

Таблица 4.5. Сравнение параметров элементарной ячейки (гексагональная ячейка $P\text{-}3m_1$) β - CaKPO_4 с α - CaKPO_4 и α - CaNaPO_4 (параметры последних двух фаз определены при 1200°C)

	$a, \text{Å}$	$b, \text{Å}$	$c, \text{Å}$	$V, \text{Å}^3$	$\beta, ^\circ$
α - CaNaPO_4	5.440(5)		7.536(3)	193.16 (2)	90
α - CaKPO_4	5.615(1)		7.725(1)	210.96(6)	90
β - CaKPO_4	5.492(4)	9.603(2)	16.245(5)	799.6(4)	68,9(1)

Рентгенометрические данные для α - CaKPO_4 (прил. табл. 12) были сравнены с известной рентгенограммой № 74-1951 для этой фазы в базе данных ICDD PDF-2, полученных Бредигом [24] в 1942 году. На полученных нами рентгенограммах β - CaKPO_4

имеется большее количество рефлексов, которые связаны, по-видимому, с моноклинным искажением гексагональной структуры высокотемпературной фазы α -СаКРО₄. Данный вывод следует из характера группировки интенсивных рефлексов β -СаКРО₄, которые можно трактовать в рамках метода гомологии [135] как расщепление основных линий гексагональной решетки. Однако помимо интенсивных рефлексов, соответствующих моноклинной субъячейке, на рентгенограммах присутствует большое количество слабых линий, которые, по-видимому, следует отнести к образованию сверхструктуры. Индицирование рентгенограммы было предпринято в рамках программного комплекса Crysfire и, окончательно, с помощью программы McMaille как в режиме расчета методом Монте-Карло, так и прямым перебором на сетке параметров. Наилучшее решение (минимальный объем моноклинной ячейки, максимальное число описываемых рефлексов) представлено в прил. табл. 13. Следует отметить, что часть слабых рефлексов оказалась непроиндицированной. Это может быть связано а) эти рефлексы относятся к примесным фазам, б) сверхструктура несоизмерна субъячейке вследствие того, что описываемая фаза является несоизмерно модулированной. Параметр b β -СаКРО₄ примерно равен $\sqrt{3}a$ для α -СаКРО₄, что отражает, по-видимому, такое же выделение ортогексагональной ячейки, как и в натриевой системе, однако параметр c β -СаКРО₄ не кратен таковому для высокотемпературной модификации. Это говорит о сложном характере упорядочения, по крайней мере, вдоль этой оси..

Переход β/α -СаКРО₄ явно имеет более сложную природу в сравнении с аналогичным переходом в натриевой системе. По данным проведенного ДТА температура переход β/α -СаКРО₄ происходит в диапазоне 660-860 °С (по данным высокотемпературного РФА около $675 \pm 25^\circ\text{C}$), $\Delta H \approx 2,8$ кДж/моль; причем и сам эффект, и его значение воспроизводятся плохо (рис. 4.23). По данным дилатометрии переход $\beta \rightarrow \alpha$ СаКРО₄ сопровождается объемным эффектом $\Delta V/V$ не более 2% (рис. 4.24).

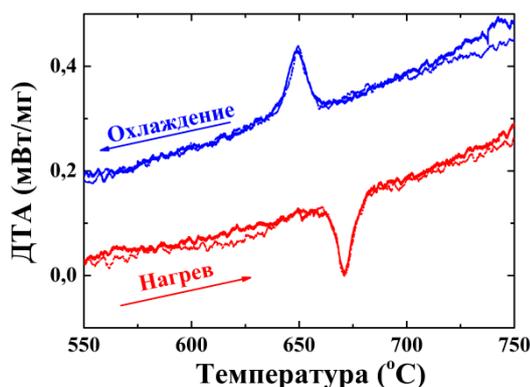


Рис. 4.23. Данные ДТА для СаКРО₄. Два сегмента нагрева (красный цвет) и два сегмента охлаждения (синий цвет).

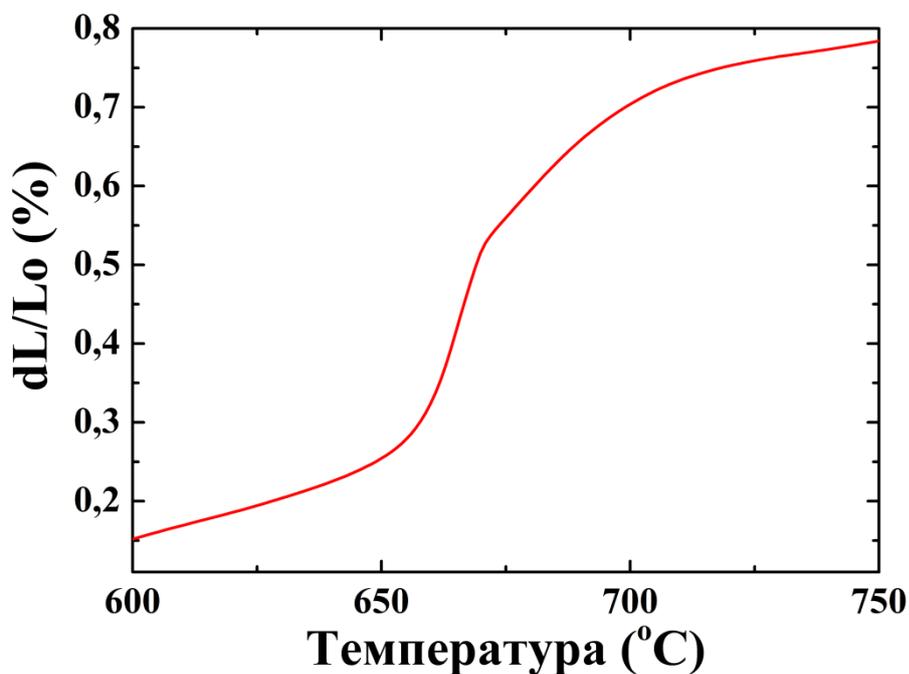


Рис. 4.24. Данные дилатометрии для компактного образца чистой фазы CaKPO₄

Можно полагать, что по сравнению с превращением α/β -CaNaPO₄ переход 1-го рода α/β -CaKPO₄ кинетически заторможен, что явно связано с большим ионным радиусом K по сравнению с Na, приводящем более медленному смещению катионов в колонках и затруднению вращения фосфатных тетраэдров. Сложный и затянутый характер перехода хорошо отражает, как минимум, двухступенчатая спонтанная деформация, фиксируемая дилатометрией (рис. 4.24). Это позволяет получать однофазный продукт содержащий исключительно высокотемпературную фазу α -CaKPO₄ путем быстрого охлаждения. Особенно легко это удастся, если отступить от чистого состава в сторону промежуточных составов с пониженным содержанием калия.

По аналогии с исследованием CaNaPO₄ были рассчитаны законы изменения параметров кристаллической решетки, а так же и ее объема (табл. 4.6).

Таблица 4.6. Зависимость параметров элементарной ячейки CaNaPO₄ от температуры.

Параметр	Закон изменения параметра в зависимости от температуры для чистой фазы CaNaPO ₄
	T > 680°C
a, Å	$5.454(7) + 1.96(17) \cdot 10^{-4} \cdot T - 4.75(91) \cdot 10^{-8} \cdot T^2$
c, Å	$7.65(1) - 1.42(12) \cdot 10^{-4} \cdot T + 1.73(6) \cdot 10^{-7} \cdot T^2$
V, Å ³	$197.78(22) + 8.55(9) \cdot 10^{-3} \cdot T + 2.29(34) \cdot 10^{-6} \cdot T^2$

4.2.3.2. Фазовая диаграмма $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - CaKPO_4

Данных по данной системе в литературе не было найдено, поэтому приведенные ниже результаты – первая попытка построения диаграммы рассматриваемой системы.

Температуры эндотермических эффектов, которые были получены по данным ДТА (прил. табл. 9), были нанесены на диаграмму $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - CaKPO_4 в зависимости от состава (рис. 4.25).

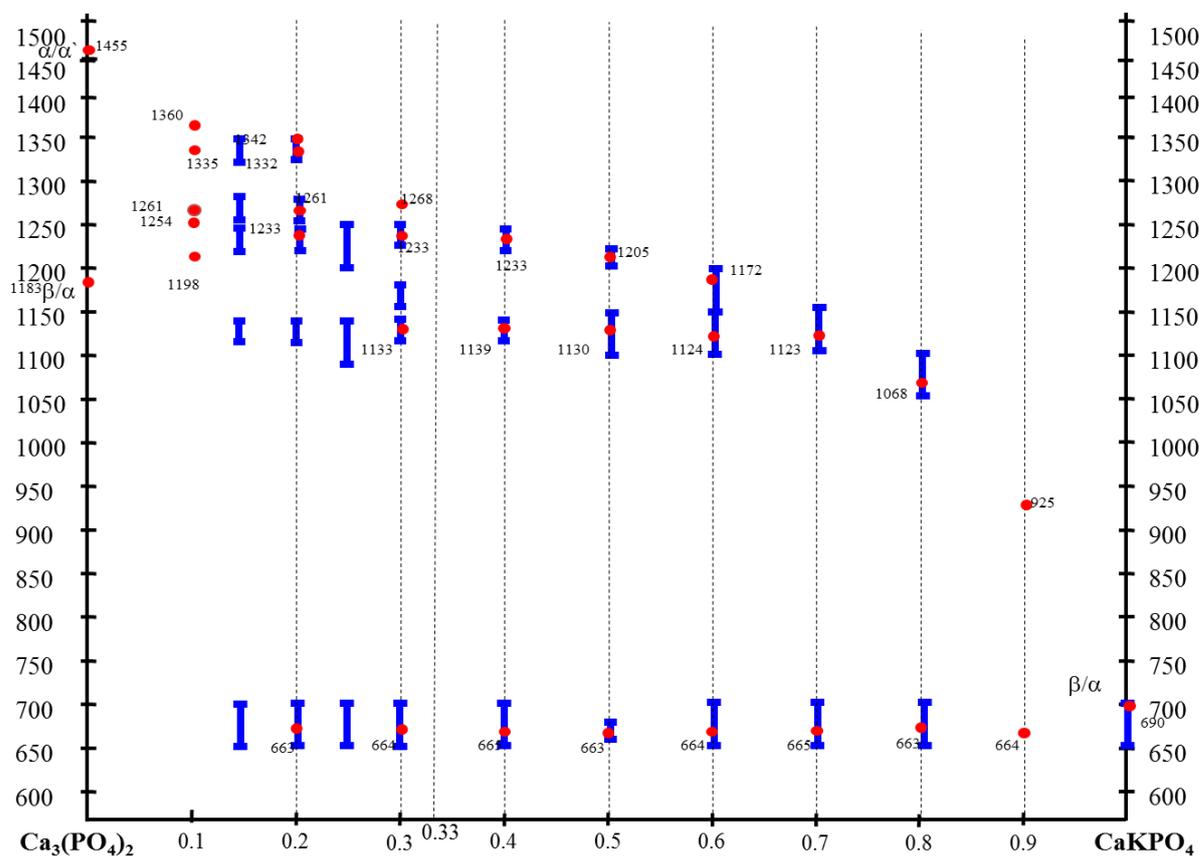


Рис. 4.25. Данные ДТА (прил. табл. 9, красные точки) и высокотемпературного РФА (синие отрезки, обозначающие температурный диапазон, в котором наблюдалось фазовое превращение, концы отрезков – температуры проведения Т-РФА) нанесенные на поле системы $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - CaKPO_4 .

На данной диаграмме явно прослеживаются 3 горизонтальные линии при $T = 664 \pm 5$, 1130 ± 5 и 1233 ± 5 °C. Из расположения всех точек на данной диаграмме мы изначально предположили два варианта интерпретации данной диаграммы: а) одна основывается на возможном существовании фазы типа «А» наподобие той, что существует в системе $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - CaNaPO_4 ; б) используя предположение, что в данной системе эта фаза не существует и при $T > 1130 \pm 5$ °C в равновесии находятся фазы α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и α - CaKPO_4 . Детальный высокотемпературный РФА составов, содержащих 30 и 40 мас.% компонента

CaKPO₄, склонил наш выбор в сторону первого варианта (рис. 4.26), однако выявил и отличия от диаграммы Ca₃(PO₄)₂-CaNaPO₄:

- 1) Состав промежуточной фазы и ее строение отличается от фазы «А». Мы обозначили ее как фаза «X»
- 2) При температуре выше 1233 °С фаза «X» превращается в новую фазу «В»

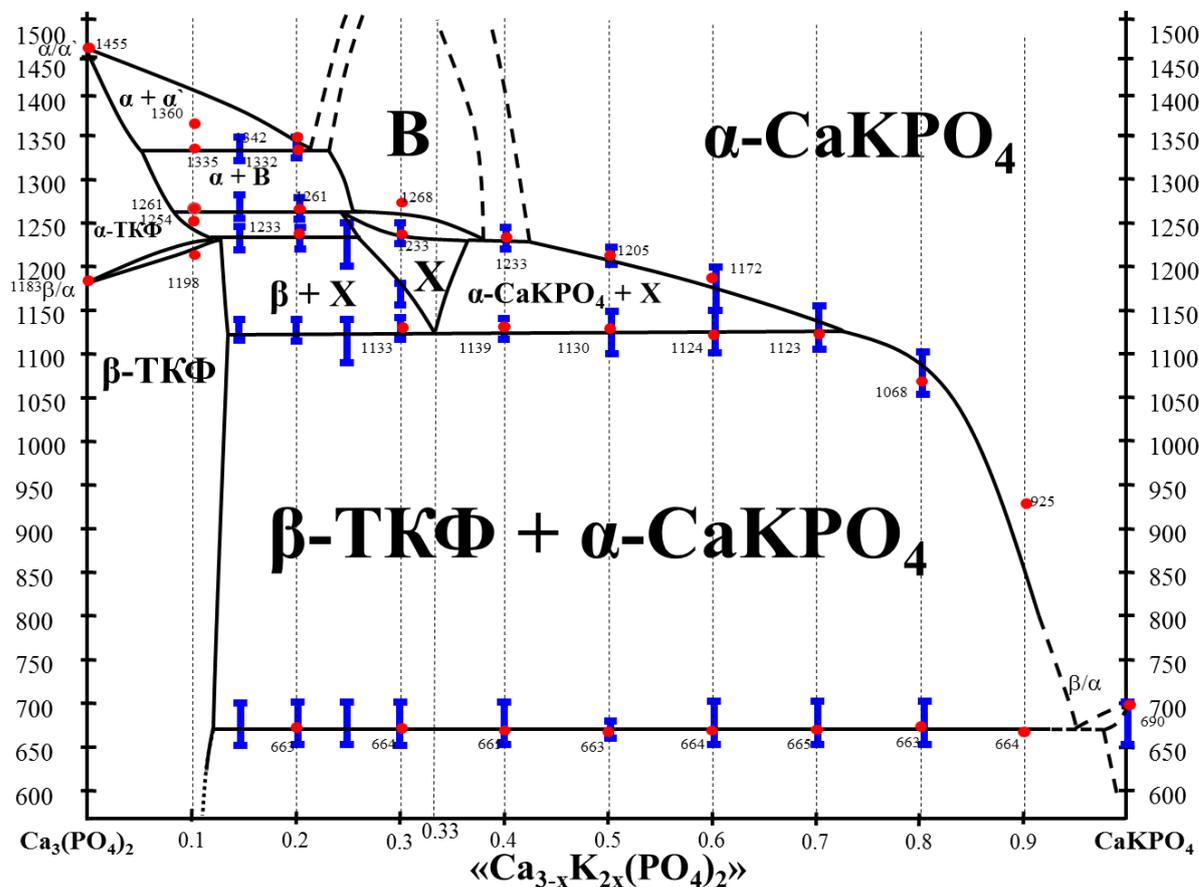


Рис. 4.26. Фазовая диаграмма системы Ca₃(PO₄)₂-CaKPO₄

Для изучения фазовых полей данной фазовой диаграммы было проведено несколько высокотемпературных РФА для смесей (1-x)Ca₃(PO₄)₂ + xCaKPO₄ с составами x=0.3; 0.4; 1.0.

4.2.3.2.1. Фаза «X»

Полученная рентгенограмма фазы «X» (рис. 4.27) полностью индицируется (табл. 4.7) в рамках пространственной группы $R\bar{6}_3/m$ (строго говоря, в рамках данного дифракционного класса, описываемого экстинционным символом $R\bar{6}_3$ - -, находятся также группы $R\bar{6}_3$ и $R\bar{6}_322$); параметры элементарной ячейки $a = 9.458(1) \text{ \AA}$, $c = 7.033(5) \text{ \AA}$. Полученные размеры и тип симметрии элементарной ячейки, а также запись формулы фазы «X» - Ca_(6-y)K_xCa_(2+y)K_(2-y)(PO₄)₆□₂ (приводя состав Ca_(3-x)K_{2x}(PO₄)₂ с x= 0.33 к целочисленным индексам), позволяют предположить, что фаза «X» имеет сходную с

апатитом структуру, в которой каналы, составленные катионами в позиции II (6*h*), являются пустыми. По данным ИК- спектроскопии, никаких характерных колебаний для ОН-группы (при ≈ 630 и 3570 см^{-1}) не было обнаружено, что косвенно свидетельствует об отсутствии молекул воды и, следовательно, о незаполненном канале в структуре апатита. Возможность существования подобной высокотемпературной фазы (ниже $1130 \pm 5^\circ\text{C}$ она претерпевает эвтектоидный распад на β -ТКФ и α -СаКРО₄) мы связываем как с энтропийным фактором стабилизации за счет распределения катионов между позициями типа I и II, так и уменьшением электростатического отталкивания катионов, образующих канал, за счет снижения среднего заряда в позициях 6*h* при замене Са²⁺ на К⁺.

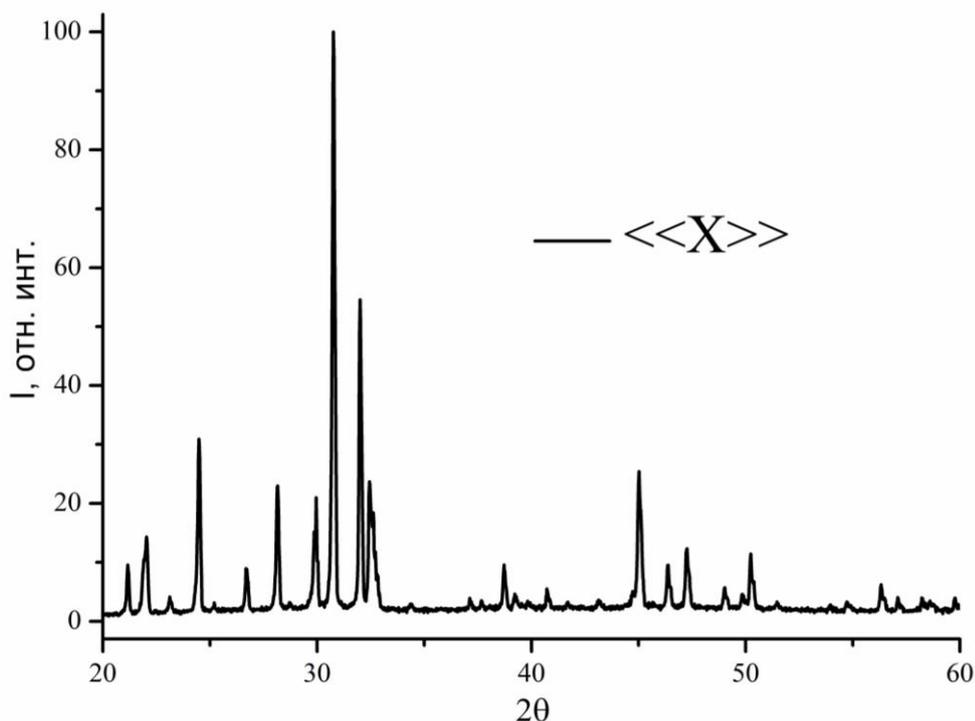


Рис. 4.27. Рентгенограмма фазы «X» при температуре 1200°C.

Отсутствие фазы «X» в натриевой системе заставляет предположить, что соотношение ионных радиусов щелочного и щелочноземельного катионов влияет на распределение катионов по позициям структуры апатита и, тем самым, на устойчивость фазы с незаполненными гексагональными каналами. Были предприняты попытки получить подобные фазы $A_8B_2(PO_4)_6 \square_2$, комбинируя различные по размерам щелочные и щелочноземельные катионы: $A = Ca^{2+}, Ba^{2+}$; $B = K^+, Cs^+$. Однако синтез в интервале температур 1000-1300°C не привел к искомым результатам. Подобный экспериментальный факт не отрицает важности соотношений размеров катионов, а, скорее, подчеркивает необходимость поиска области стабильности фаз $A_8B_2(PO_4)_6 \square_2$ в более широком диапазоне температур.

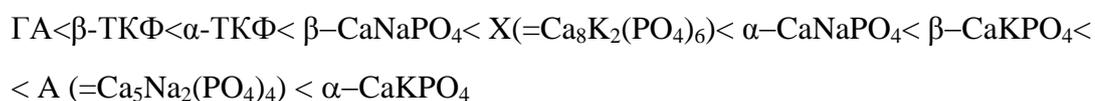
Таблица 4.7. Рентгенометрические данные для $\text{Ca}_8\text{K}_2(\text{PO}_4)_6\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ при комнатной температуре (предполагаемая пространственная группа $P6_3/m$)

d, Å	I, %	(hkl)
8.285	39	100
4.761	14	110
4.119	16	200
3.947	13	111
3.538	49	002
3.249	10	102
3.110	35	210
2.848	100	211
2.832	78	112
2.742	92	300
2.677	8	202
2.552	5	301
2.330	1	212
2.280	23	310

4.2.4. Термодинамическая оценка растворимости основных кристаллических фаз в системах $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaNaPO}_4$ и $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaKPO}_4$

Имеющиеся данные о кристаллических фазах в исследуемых системах и значения объемов их элементарных ячеек позволяют сделать термодинамическую оценку растворимости с целью прогноза их резорбционных свойств. Результаты расчетов сведены в таблицу 4.8. Очевидно, что увеличение содержания щелочных металлов действительно позволяет значительно понизить энергию кристаллической решетки соответствующих соединений. При этом, однако, падает и энтальпия гидратация, поскольку однозарядные катионы гидратируются хуже двухзарядного катиона кальция. На примере натриевой системы видно, что наименьшее значение энтальпии растворения достигается как раз для

среднего состава – фаза А ($\text{Ca}_5\text{Na}_2(\text{PO}_4)_2$). Энтропия растворения у рассматриваемых фаз не носит такого определяющего влияния, как в случае ГА, но, тем не менее, задает абсолютное значение свободной энергии растворения, а, следовательно, и растворимость (произведение растворимости). Оцененные значения рПР для фаз ТКФ на 5-10 единиц отличаются от приведенных в литературе значений, что соответствует ошибке в определении $\Delta G^\circ_{298(\text{раств})}$ на 30-60 кДж/моль. Таким образом, безусловно растворимыми следует считать фазы А, $\alpha\text{-CaKPO}_4$ и $\beta\text{-CaKPO}_4$. Фаза Х, как и другие апатитные фазы, обладает довольно высокими значениями энергии кристаллической решетки и, потому, довольно низкой в сравнении с другими фазами калиевой системы растворимостью. Исходя из значений энергии Гиббса растворения, рассматриваемые фазы можно ранжировать по их растворимости в воде следующим образом:



Использование другой системы данных по энтальпии и энтропии гидратации катионов [136] изменяет абсолютные значения $\Delta G^\circ_{298(\text{раств})}$ (в сторону их увеличения), однако, не меняет приведенный выше порядок следования фаз.

Следует отметить, что представленные расчеты характеризуют лишь устойчивость кристаллических решеток соединений по отношению к распаду на гидратированные ионы. Реальный процесс растворения осложнен следующими факторами: 1) все рассмотренные фазы (кроме ГА) растворяются инконгруэнтно, с кристаллизацией на их поверхности апатита, который уменьшает свободную поверхность, 2) рН и ионным составом окружающего раствора, 3) фазовым составом и микроструктурой реального материала. Именно это будет определять кинетику растворения, а, следовательно, и то, как материал будет вести себя в растворяющей среде организма. Кроме того, следует подчеркнуть заметную растворимость фаз калиевой системы. Поскольку создание высокой концентрации ионов калия с наружной стороны клеточной мембраны способно вызвать цитотоксический эффект, то при выборе составов для изготовления керамики, помимо микроструктурных и механических характеристик необходимо исследовать их *in vitro* с клеточными культурами.

Таблица 4.8. Результаты термодинамических оценок растворимости некоторых фаз в системах $\text{CaNaPO}_4 - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и $\text{CaKPO}_4 - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в сравнении с ГА (все значения приведены на формульные единицы, содержащие одну PO_4 -группу)

Соединение	Мольный объем V_m , нм ³	Энтальпия решетки $\Delta H^\circ_{298(\text{реш})}$, кДж/моль	Энтальпия гидратации $\Delta H^\circ_{298(\text{гидр})}$, кДж/моль	Энтальпия растворения $\Delta H^\circ_{298(\text{раств})}$, кДж/моль	Энтропия решетки $\Delta S^\circ_{298(\text{реш})}$, Дж/моль·К	Энтропия гидратации $\Delta S^\circ_{298(\text{гидр})}$, Дж/моль·К	Энтропия растворения $\Delta S^\circ_{298(\text{раств})}$, Дж/моль·К	Энергия Гиббса растворения $\Delta G^\circ_{298(\text{раств})}$, кДж/моль	Произведение растворимости рПР (= -lgПР)
ГА	0.080	5683	-5726	-43	468	-1026	-558	+123	22
β -ТКФ	0.081	5249	-5282	-33	383	-871	-488	+112	20
α -ТКФ	0.090	5239	-5282	-43	371	-871	-500	+106	19
β -CaNaPO ₄	0.084	4842	-4897	-55	450	-879	-429	+73	13
α -CaNaPO ₄	0.092	4672	-4897	-225	440	-879	-439	-94	растворима
Фаза «А» $\equiv \text{Ca}_5\text{Na}_2(\text{PO}_4)_2$	0.095	4797	-5089	-292	400	-875	-475	-151	растворима
β -CaKPO ₄	0.099	4556	-4815	-259	437	-839	-402	-139	растворима
α -CaKPO ₄	0.105	4468	-4815	-347	429	-839	-410	-225	растворима
Фаза «Х» $\equiv \text{Ca}_8\text{K}_2(\text{PO}_4)_6$	0.091	4975	-5120	-145	395	-859	-464	-7	растворима(?)

4.2.5. Керамика на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$

Для дальнейшего изучения параметров синтеза были выбраны следующие условия получения составов $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$, с использованием Na_2CO_3 в качестве прекурсора: 1) отжиг $900^\circ\text{C}/6$ часов; 2) отжиг $900^\circ\text{C}/16$ часов; 3) отжиг $1000^\circ\text{C}/12$ часов. С использованием NaCl : 1) отжиг $900^\circ\text{C}/20$ часов; 2) отжиг $1000^\circ\text{C}/20$ часов; 3) отжиг $1000^\circ\text{C}/12$ часов. Для всех порошков, полученных при различных условиях (разные исходные компоненты, температура, время выдержки), а так же для образцов, полученных в ходе ТГ экспериментов (режим нагрева $5^\circ/\text{мин.}$), были определены массовые соотношения фаз (рис. 4.28). Очевидно, что в области «средних» составов $x=0.3-0.8$ в результате быстрого охлаждения с температур выше инвариантного равновесия β -ТКФ – «А» - $\alpha\text{-CaNaPO}_4$ удается получить значительные количества фазы на основе высокотемпературного (упорядоченного или неупорядоченного, в зависимости от состава) $\alpha\text{-CaNaPO}_4$, наилучшие в этом смысле состава лежат в области $x=0.5-0.6$.

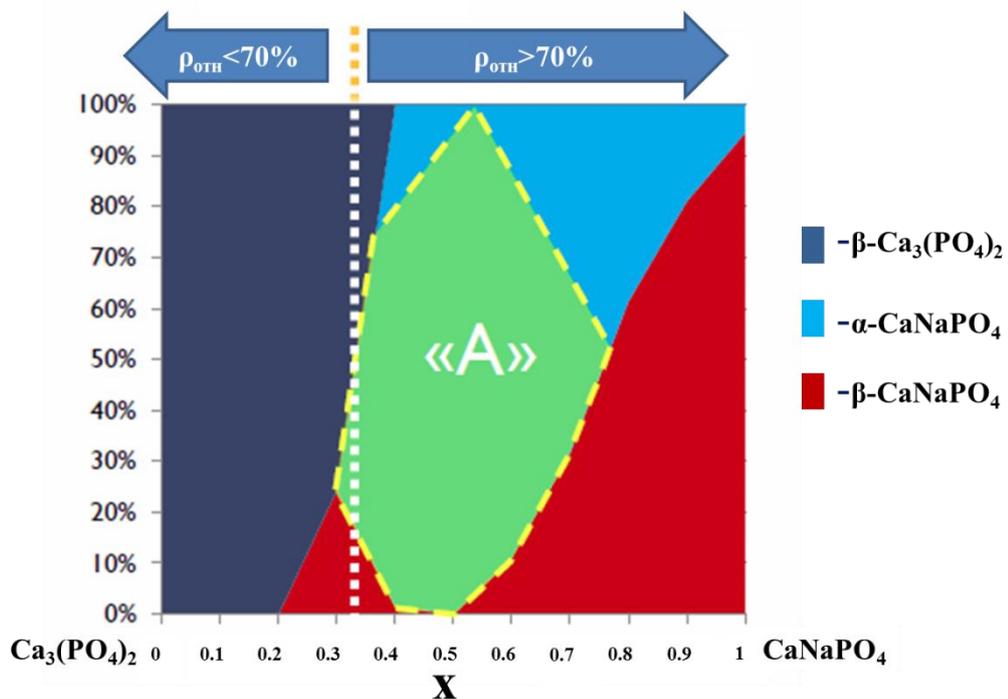


Рис. 4.28. Массовая доля фаз $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\beta\text{-CaNaPO}_4$, $\alpha\text{-CaNaPO}_4$, «А» (сверхструктура $\alpha\text{-CaNaPO}_4$), в образцах $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ с различным x , полученных по реакции (4.1). Образцы получены путем закалки с $T=1200^\circ\text{C}$ после 12 часовой выдержки на $T=1200^\circ\text{C}$. Стрелками указана относительная плотность керамических образцов

Анализ плотности керамики (рис. 4.29) показывает, что наибольшее уплотнение наблюдается для составов с $x=0.5-0.7$, а хуже всего спекаются составы с $x=0.1-0.4$. Плохое спекание составов с малым содержанием Na мы связываем: а) с худшей диффузионной подвижностью Ca^{2+} по сравнению с Na^+ , б) с превращением $\alpha \rightarrow \beta$ -ТКФ при охлаждении.

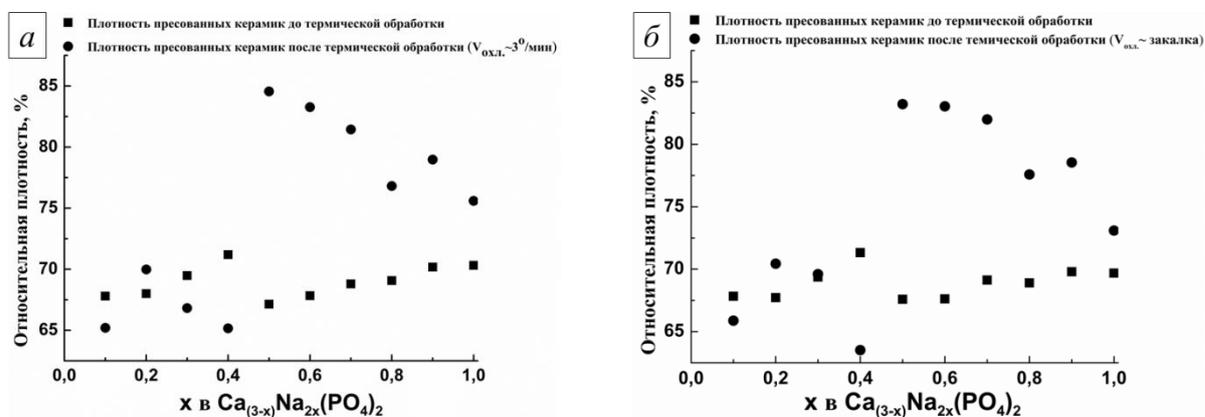


Рис. 4.29. Сравнение зависимостей относительной плотности прессованных керамик $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ от состава (x) до и после термической обработки: а – постепенное охлаждение керамических образцов, скорость охлаждения составила $3^\circ/\text{мин}$; б – закалка керамических образцов.

4.2.6. Микроструктура спеченных образцов $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$

Для сравнения микроструктуры образцов, порошки CaNaPO_4 с разной предысторией получения, а также исходные смеси для получения CaNaPO_4 по реакциям (4.1) и (4.2), были спрессованы в компактные образцы для дальнейшего спекания в течение 20 часов при $T=900^\circ\text{C}$. По данным, полученным с помощью растровой электронной микроскопии (РЭМ), можно отметить, что вне зависимости от предыстории получения компактных образцов, они получаются пористыми.

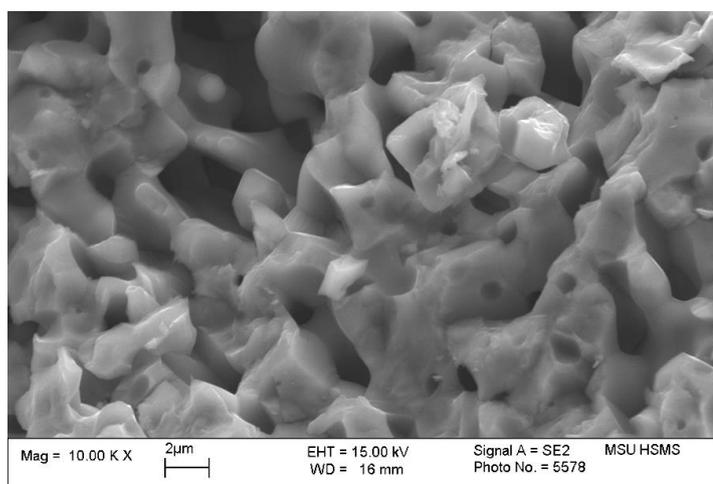


Рис. 4.30. Микрофотография компактного образца исходной смеси для получения CaNaPO_4 по реакции (4.1)

Таким образом, указанный температурный интервал соответствует переходу от начальной стадии спекания к заключительной – образованию замкнутых пор. Стоит отметить, что использование NaCl в качестве прекурсора, позволяет получить монолитную структуру по сравнению с образцами, полученными из Na₂CO₃ (рис. 4.30-31). Это естественно объяснить образованием расплава NaCl во время протекания реакции (4.2), в то же время температура плавления (850°C) карбоната натрия лежит гораздо выше температуры окончания реакции, даже при использовании механической гомогенизации исходной смеси. Средний размер зерен в образцах, полученных из NaCl, больше по сравнению с аналогичными из Na₂CO₃, что может в дальнейшем отрицательно повлиять на как на прочностные характеристики материалов, так и на скорость взаимодействия такого материала с водой (т.е. на его резорбцию).

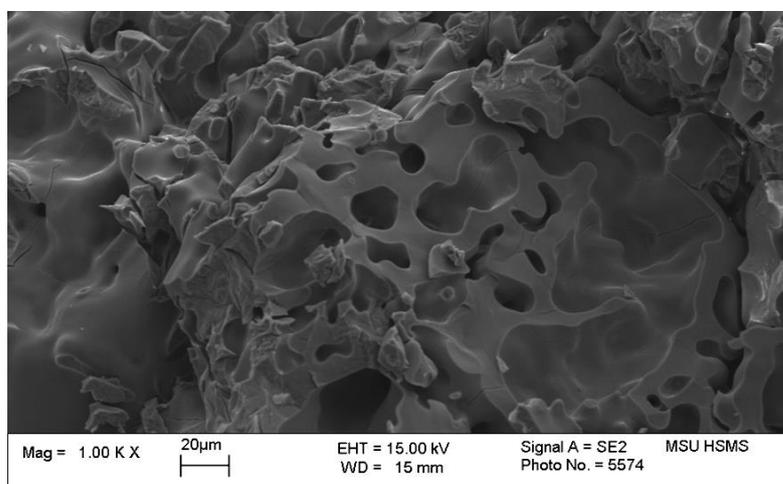


Рис. 4.31. Микрофотография компактного образца исходной смеси для получения CaNaPO₄ по реакции (4.2), после отжига 900°C/ 20 часов

Следует обратить внимание на образование трещин во всех полученных образцах (рис. 4.32-33), которые скорее всего образуются при полиморфном превращении CaNaPO₄, которое происходит быстро при 690°C [47] и сопровождается объемным эффектом. Для предотвращения растрескивания керамики необходимо стабилизировать высокотемпературную фазу α-ренанита. Для этого необходимо увеличить соотношение Ca/Na в фазе ренанита, тогда превращение будет носить диффузионный характер, следовательно, его можно будет эффективно предотвратить закалкой. В образцах Ca_(3-x)Na_{2x}(PO₄)₂ (x=0.6 и 0.8) практически не содержится трещин. Кроме того, эти образцы, содержащие значительные количества высокотемпературной фазы α-ренанита и/или фазы «А», должны обладать лучшей растворимостью (резорбцией), т.к. закаленная высокотемпературная фаза метастабильна и, следовательно, обладает избытком свободной энергии. Таким образом, в качестве перспективных резорбируемых материалов на основе двойных фосфатов кальция и щелочных металлов следует рассматривать

именно материалы, содержащие стабилизированную нестехиометричную высокотемпературную фазу α -ренанита и/или «А».

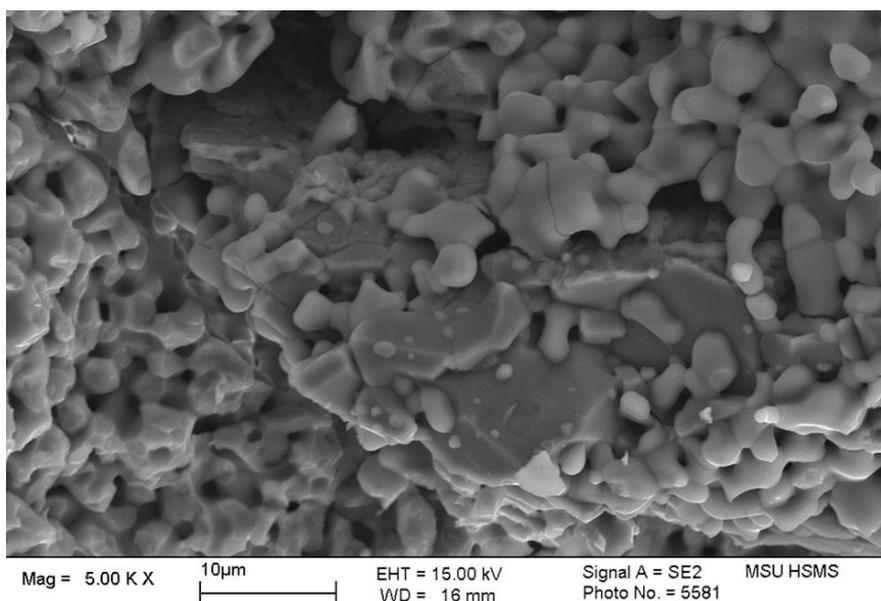


Рис. 4.32. Микрофотография компактного образца CaNaPO_4 , полученного по реакции (4.1), после отжига 900°C / 20 часов.

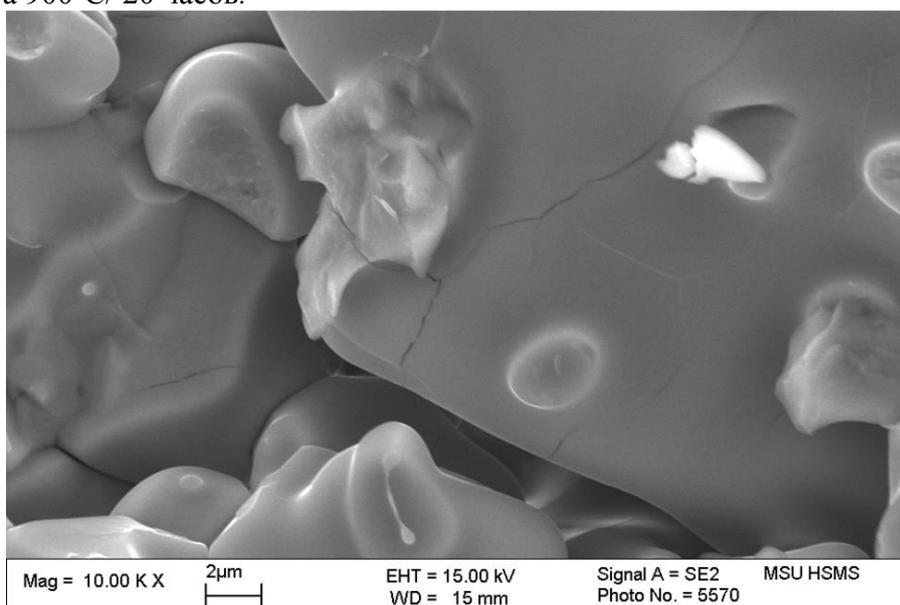


Рис. 4.33. Микрофотография компактного образца CaNaPO_4 , полученного по реакции (4.2), после отжига 900°C / 20 часов

4.2.7. Взаимодействие образцов $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ с водой

Для анализа поведения образцов в водной среде, предполагая их оценку в качестве резорбируемых материалов, было отобрано 6 различных образцов:

- 1) образец $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, который являлся, фактически, образцом сравнения, поскольку фаза β -ТКФ широко используется в качестве компонента резорбируемых материалов;
- 2) легированный натрием однофазный трикальцийфосфат состава $\text{Ca}_{2.95}\text{Na}_{0.1}(\text{PO}_4)_3$;

3) и 4) составы двухфазной области $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaNaPO}_4$ с $x=0.6$, один из них получен медленным охлаждением от температуры синтеза, а второй – закален с этой температуры и содержит значительные количества (до 77 мас.%) высокотемпературного α -ренанита и/или фазы «А»;

5) и 6) образцы β -ренанита, полученные исходя из карбоната и хлорида натрия.

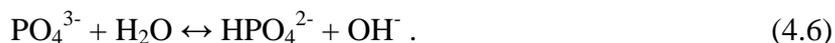
В рамках данной работы мы получили два вида данных:

- динамика изменения рН водных суспензий образцов во времени, которая позволяет на качественном уровне судить о характере гидролитических процессов;

- микроморфология порошков после гидролиза.

Эти данные позволяют ранжировать исследованные образцы по их динамике взаимодействия с водным раствором, и, тем самым, оценить их резорбируемость.

Согласно рис. 4.34, взаимодействие образцов с водой с точки зрения изменения рН суспензий протекает, по меньшей мере, в два этапа. На первом этапе рН раствора очень резко возрастает за счет растворения образца (в той степени, в какой это определяется значением ПР; к сожалению, эти величины для двойных фосфатов неизвестны) и немедленным гидролизом ортофосфат-иона:



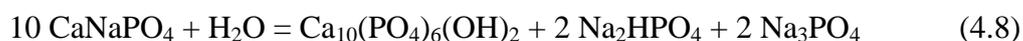
Величина начального скачка рН должна коррелировать с растворимостью материала, и с этих позиций, натрийзамещенные образцы (за исключением крупнозернистого образца ренанита, полученного из хлорида натрия) показывают большую в сравнении с чистым ТКФ начальную растворимость. На втором этапе рН раствора относительно медленно (характерное время 6 часов) падает до 7-8.5 и остается на этом уровне. Мы связываем это падение с образованием термодинамически наиболее стабильной фазы в водном растворе – гидроксипатита различной Ca/P стехиометрии, т.е. с образованием зародышей. Дальнейшая неизменность рН означает достижение динамического равновесия двух процессов – растворения образца и роста фазы апатита⁴. Величина рН определяется стехиометрией апатита и составом раствора (т.е., фактически, составом исходного образца). Накопление фазы апатита (т.е. рост зародышей апатита) происходит при практически неизменном уровне рН. Любые изменения уровня означают нарушение стационарности, и причинами этого могут быть как изменение геометрии роста продукта, так и механическое отделение кристаллов апатита от частицы исходного порошка при перемешивании суспензии. Таким образом, основная информация получаемая из подобного эксперимента – значение стационарного уровня рН. Для чистого

⁴ Поскольку количества образующегося в процессе гидролиза образцов при комнатной температуре весьма малы за счет низкой скорости роста фазы, один из образцов был гидролизован при 100°C и подвергнут РФА. Фаза гидроксипатита была однозначно идентифицирована в этом случае.

ТКФ оно близко к 7, что отмечалось ранее [137] и связывается с образованием апатита с Ca/P=1.5:



В случае же составов, содержащих ренанит уровень pH достигает 8.5, что позволяет заключить, что взаимодействие с водой можно описать реакцией



Буферные свойства системы $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (тв.) / HPO_4^{2-} / PO_4^{3-} , по-видимому, также позволяют удерживать pH на данном уровне. Отметим, что подобный уровень pH вполне приемлем для биомедицинского применения подобных материалов.

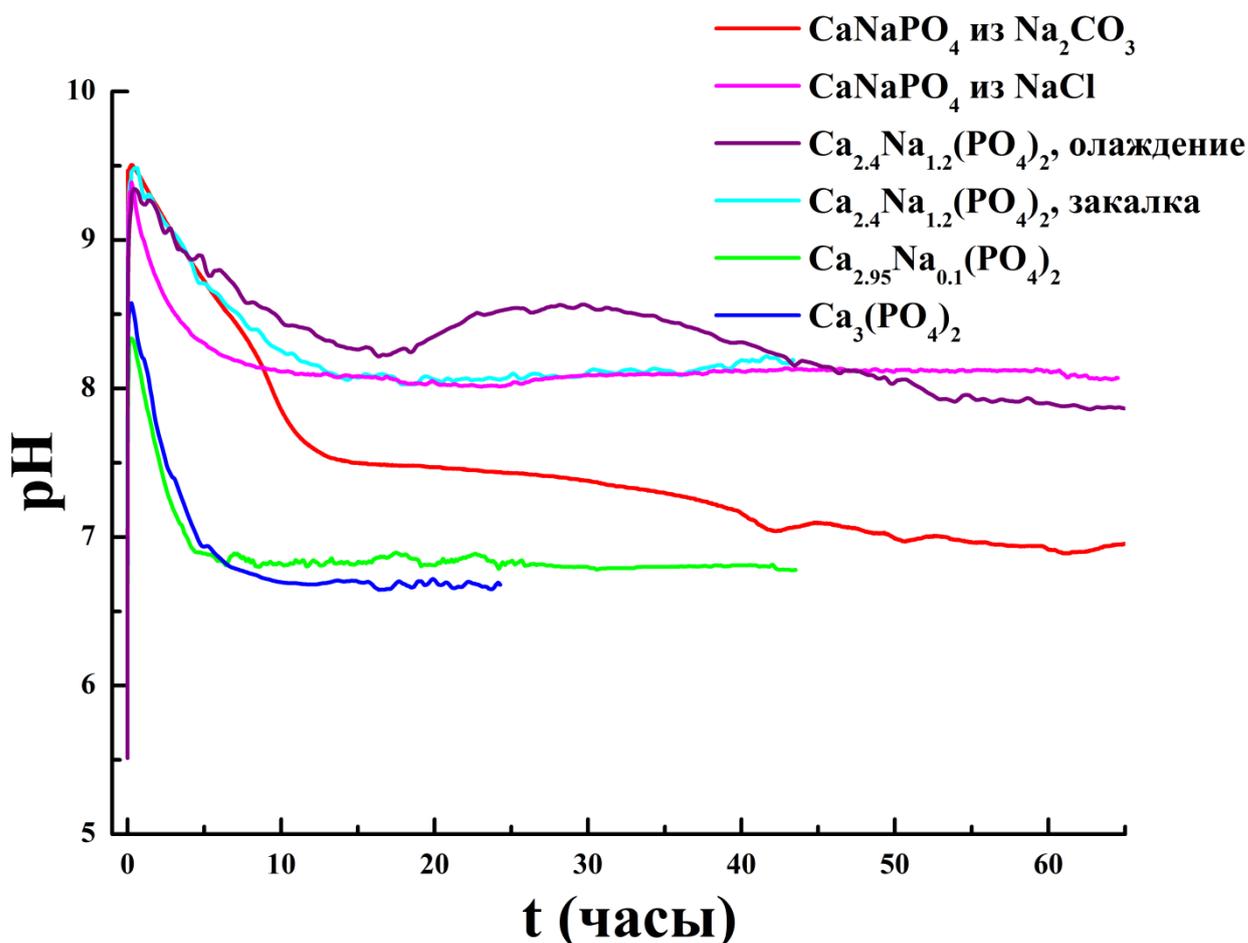


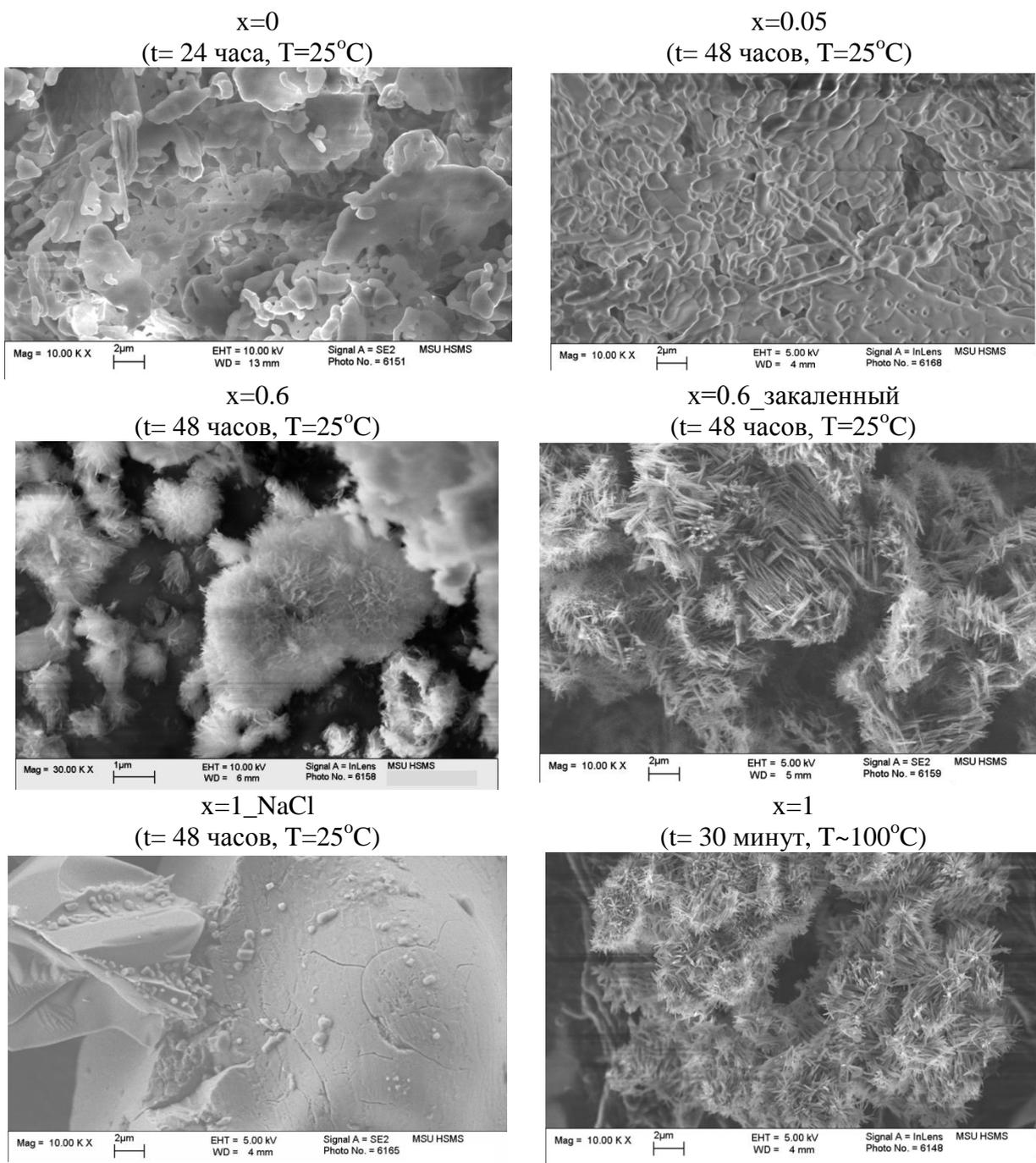
Рис. 4.34 Изменение pH водных суспензий образцов двойных фосфатов

Микроморфология продуктов гидролиза различных образцов представлена в табл. 4.9. Два момента существенны для этой таблицы снимков:

- 1) Существуют две морфологические формы продукта гидролиза – пластинчатые и игольчатые кристаллы ГА. Переключение с одной формы на другую связано, по-видимому, с изменением степени пересыщения раствора.

2) Огромное количество игольчатых кристаллов ГА для закаленного образца с $x=0.6$, содержащего значительное количество α -ренанита, свидетельствует о большей скорости процессов растворения-осаждения по сравнению с другими образцами, т.е. с его лучшей резорбируемостью.

Таблица 4.9. Результаты опытов на растворение в водной среде образцов $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ полученных по реакции (4.1), образец * -получен по (4.2).



4.2.8. Керамика на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{K}_{2x}(\text{PO}_4)_2$

Для получения плотных керамических материалов на основе двойного фосфата кальция и калия, порошки $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaKPO}_4$ (где $x = 0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0$), были спрессованы в компактные образцы для дальнейшего спекания при $T=1200^\circ\text{C}$ в течение разных времен $t=3, 6$ и 9 часов. Все компактные образцы с увеличением времени выдержки на данной температуре увеличивали свою плотность (рис. 4.35).

Однако на смесях $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaKPO}_4$ с $x = 0,3$ и $0,4$ можно заметить явный провал в общей тенденции увеличения плотности, по сравнению с остальными составами они не имеют явного увеличения плотности образцов по сравнению с исходными. По данным дилатометрии (рис. 4.36) именно на компактных образцах из смесей этого состава происходит увеличение объема дважды, в то время как на остальных образцах такой эффект проявляется или один раз, или не проявляется вовсе, в связи с подавлением процессами спекания. Таким образом, для получения качественной керамики с максимальным содержанием высокотемпературной ренанитной фазы целесообразно выбрать составы, содержащие не менее 50 мас.% ренанитного компонента.

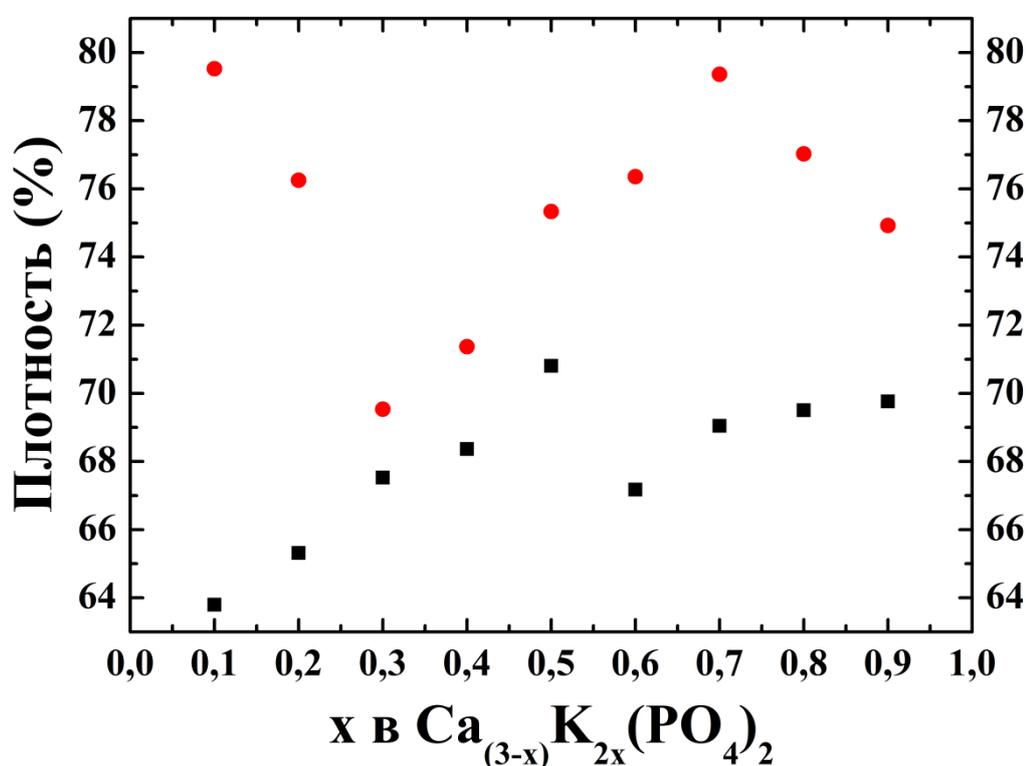


Рис. 4.35. Зависимость плотности керамических материалов на основе $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaKPO}_4$ до (черные квадраты) и после (красные точки) спекания в зависимости от состава

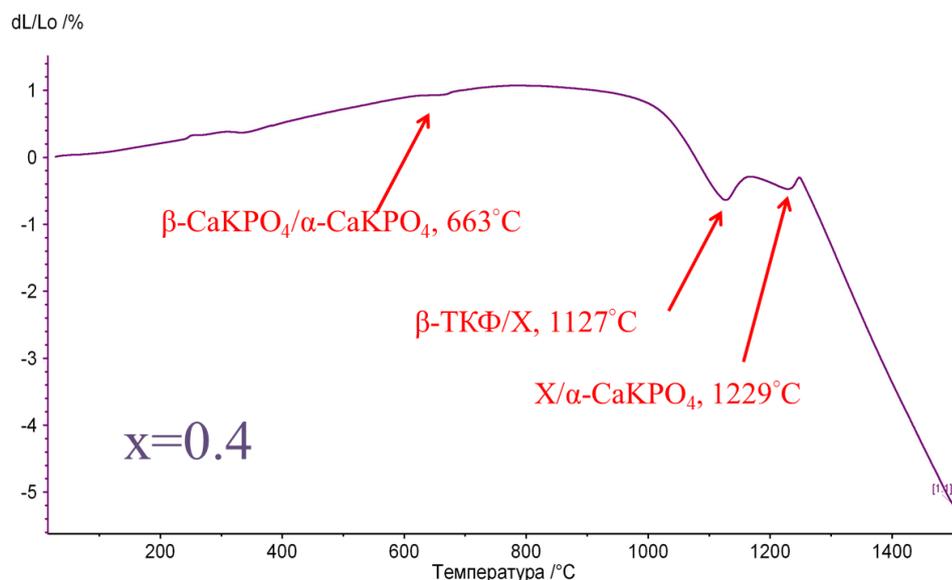


Рис. 4.36. Данные дилатометрии для компактного образца фазы с $x=0.4$

4.2.9. Взаимодействие $\text{Ca}_{(3-x)}\text{K}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ с водной средой

Кривые накопления Са в растворе (рис. 4.37) показывают, что наибольшей растворимостью и, следовательно, резорбцией должен обладать составы с содержанием CaKPO_4 более 40%. При их растворении в трис-буфере ($\text{pH}=7.4$) примерно через 10 час достигается значение $\text{pCa}=2.9$. В дальнейшем оно медленно возрастает, т.е. происходит осаждение ГА из пересыщенного раствора на поверхность керамической таблетки.

Взаимодействие с водой можно описать реакцией

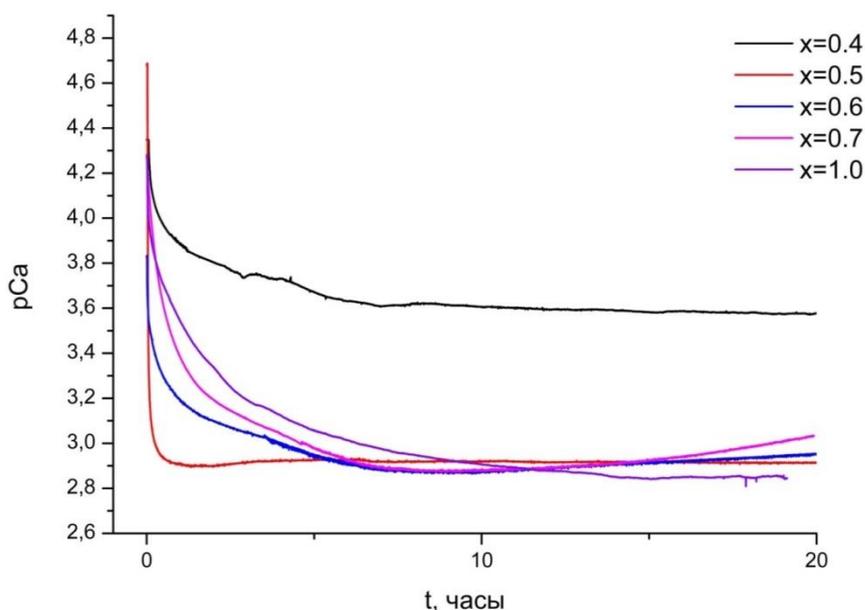
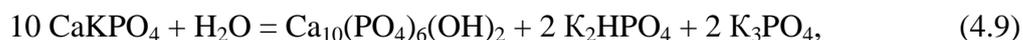


Рис. 4.37. Изменение pCa суспензий образцов двойных фосфатов кальция и калия $\text{Ca}_{(3-x)}\text{K}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ в буферном растворе ($\text{pH}=7.4$)

При использовании в качестве среды растворения воды, как и в случае натриевой системы, буферные свойства системы $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (тв.) / HPO_4^{2-} / PO_4^{3-} , по-видимому, также позволяют удерживать pH на уровне 8.5. Подобный уровень pH вполне приемлем для биомедицинского применения подобных материалов.

Микроморфология образцов после 20 часов выдерживания в трис-буфере при pH=7.4 представлена в табл.4.10. При ее описании надо остановиться на следующих моментах:

- 1) При переходе от образца с 40% ренанита к образцу с 70% растет содержание высокотемпературной фазы α -СаКРО₄; заметно растворение этой фазы по характерным линзообразным пустотам. Удаление именно этой фазы подтверждается данными РФА (рис. 4.38). Специфическая микроструктура обусловлена особенностями превращения, протекающего при закалке смеси фаз «Х» и α -СаКРО₄ с 1200°C; причем наибольшим изменениям (параметров решетки) подвергается фаза α -СаКРО₄.
- 2) Падение содержания кальция (рост рСа), особенно заметное для образца с 70% после 20 часов опыта приводит к образованию на поверхности образца в пустотах, оставшихся от растворившегося α -СаКРО₄, мелких пластинчатых кристаллов апатита (обнаруживается с помощью РФА).

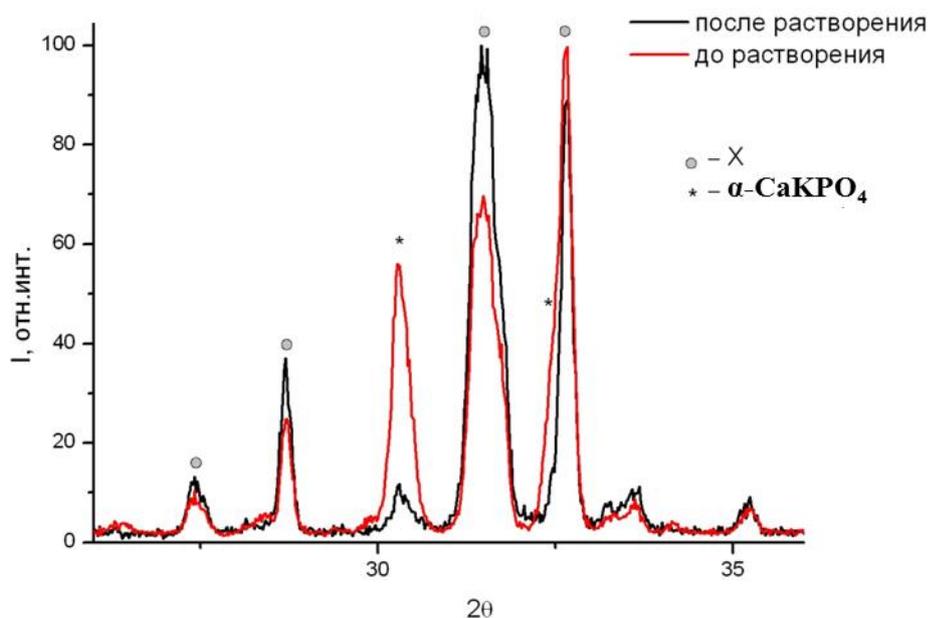
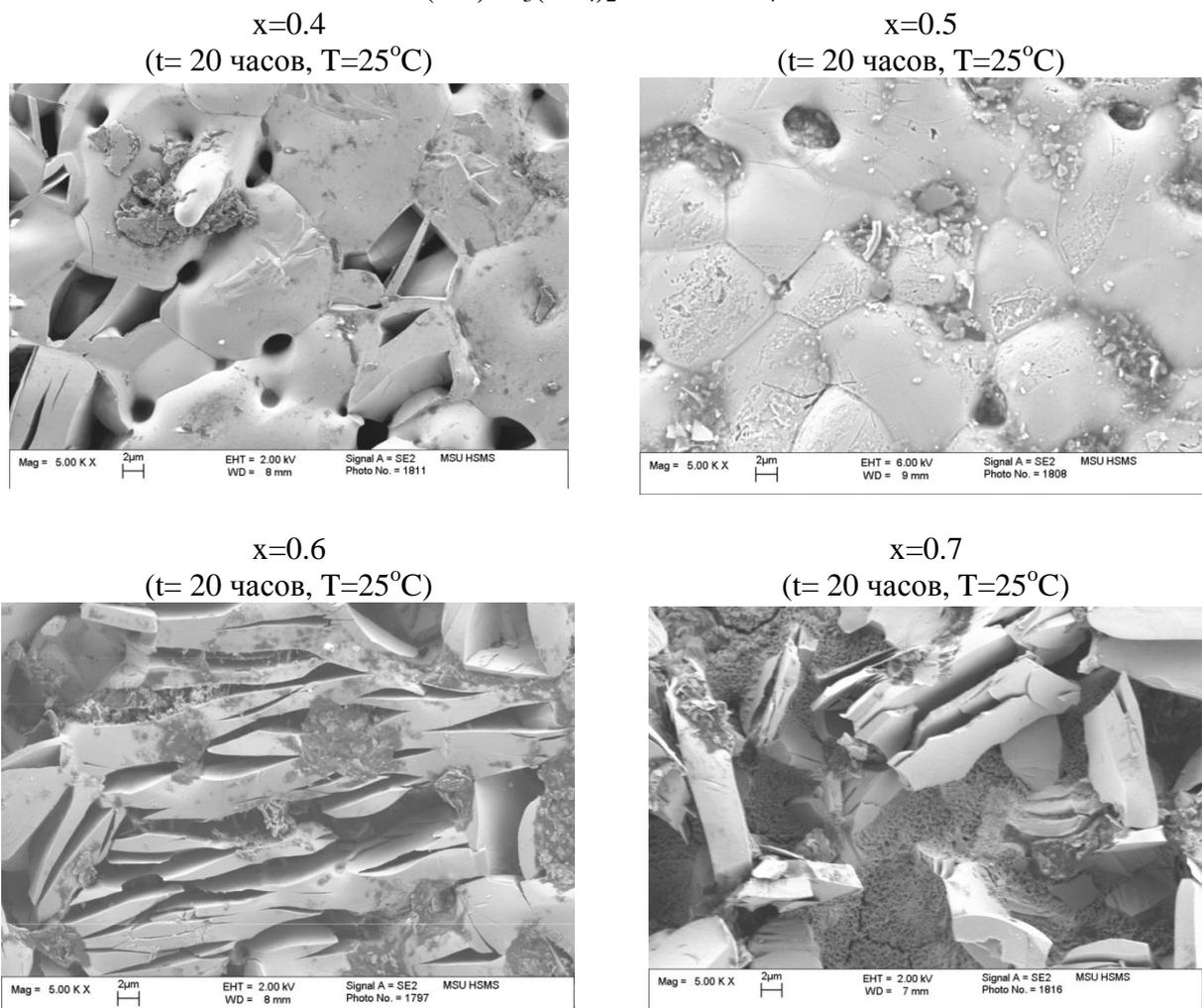


Рис. 4.38. Данные РФА для образца $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaKPO}_4$ с составом $x=0.6$ до (красный график) растворения в буферном растворе и после (черный).

Таблица 4.10. Результаты выдерживания в буферном растворе (рН=7.4) образцов $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaKPO}_4$.



Для демонстрации различия скоростей растворения фазы X и высокотемпературной фазы $\alpha\text{-CaKPO}_4$ провели химическое травление полированных поверхностей керамических образцов раствором лимонной кислоты при рН=5. Из микрофотографии (рис. 4.39) керамики на основе $\text{Ca}_{2.3}\text{K}_{1.4}(\text{PO}_4)_2$ отчетливо видно, что на поверхности образцов имеется два вида участков, отличающихся по химическому контрасту электронного изображения (детектор SE2, 15 кВ). Один вид участков углублен относительно другого. По данным РСМА (рис. 4.39, б) было показано, что углубленная часть имеет отношение Са/К выше, чем более высокая поверхность, причем у выступающей фазы соотношение Са/К равно 4, что соответствует $\text{Ca}_8\text{K}_2(\text{PO}_4)_2$, фаза X.

Таким образом, твердые растворы на основе высокотемпературного ренанита $\alpha\text{-CaKPO}_4$ являются перспективным компонентом для создания резорбируемой биокерамики на его основе; значение рН водной суспензии (близкое к 8) является приемлемым для рекомендации подобных материалов к дальнейшим медико-биологическим испытаниям. Предлагаемые материалы представляют собой бифазные

композиты, содержащие высокорезорбируемую фазу α -CaMPO₄ (ее уровень растворимости превышает таковой для CaHPO₄·2H₂O) и резистивную фазу, в качестве которой выступают β -ТКФ или фаза X с апатитной структурой.

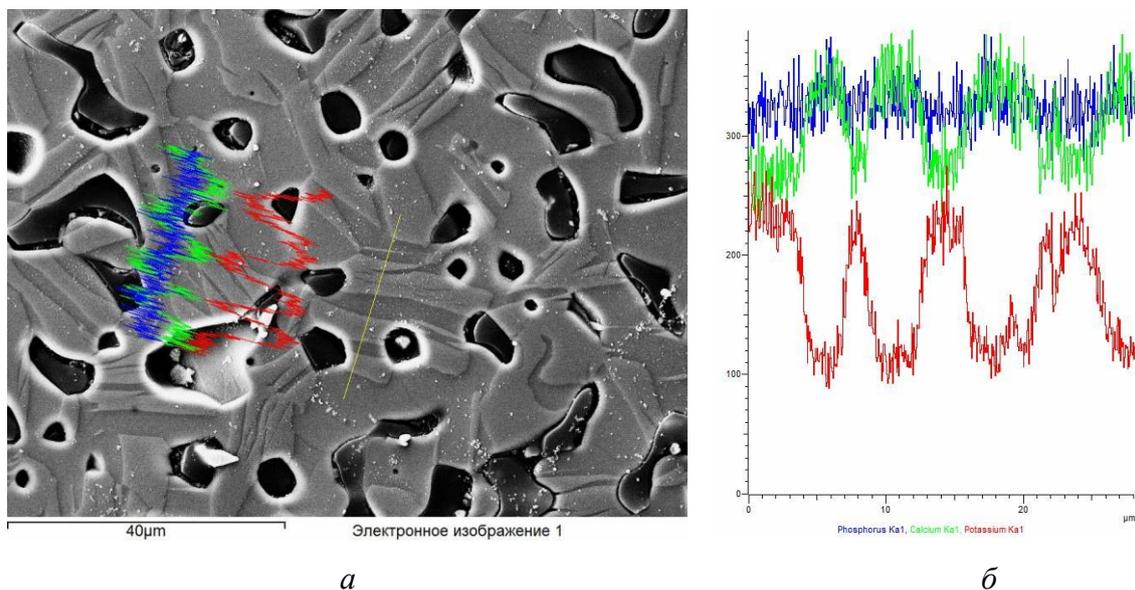


Рис. 4.39 Микрофотография микроструктуры керамического образца на основе $\text{Ca}_{2.3}\text{K}_{1.4}(\text{PO}_4)_2$ с данными РСМА. Керамика подвергнута травлению раствором лимонной кислоты (10 сек, pH=5). Красный график соответствует содержанию калия, зеленый – кальций, синий – фосфор.

4.2.10. Механические характеристики $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$

Исследование прочностных характеристик плотных керамик (рис. 4.40) показывает, что прочность (на изгиб) выше у средних составов $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ $x=0.6-0.7$ для Na и $x=0.7$ для K. Экстремальный ход зависимости прочности от состава коррелирует с плотностью керамик, хотя не может быть полностью объяснен только различной плотностью.

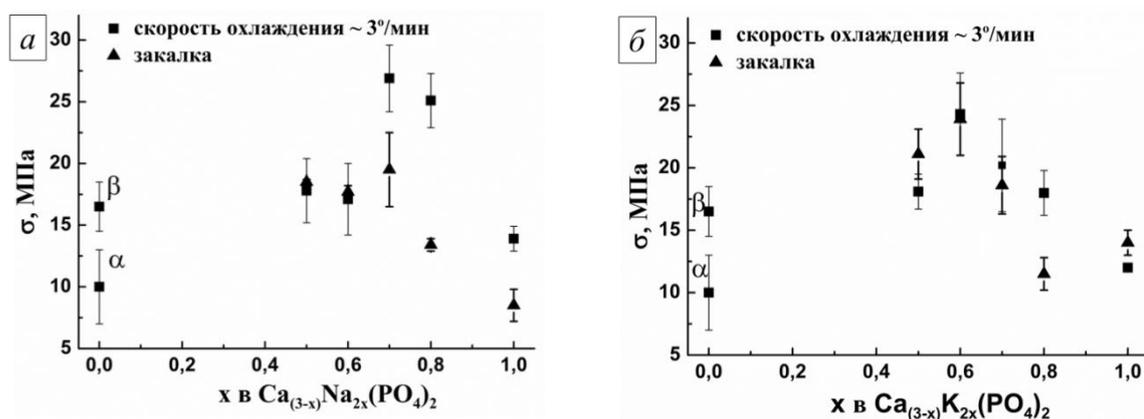


Рис. 4.40. Сравнение зависимостей прочности (на изгиб) керамических образцов, полученных при разных скоростях охлаждения, от состава (x): a – прочность керамик на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$; b – прочность керамик на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{K}_{2x}(\text{PO}_4)_2$.

Следует отметить, что микрорастрескивание наблюдается практически во всех полученных образцах вследствие анизотропии изменения размеров при переходе β/α в CaNaPO_4 , тем не менее, это не приводит к спонтанному разрушению керамик, а образцы с $x=0.6 - 0.8$ демонстрируют прочность при изгибе не менее 10 МПа. Распространение трещины в керамиках связано с особенностями их микроструктуры (рис. 4.41). Различные этапы травления шлифов керамик (в процессе моделирования их резорбции в средах с различным рН) выявляют ламелярную структуру вследствие фазовых превращений.

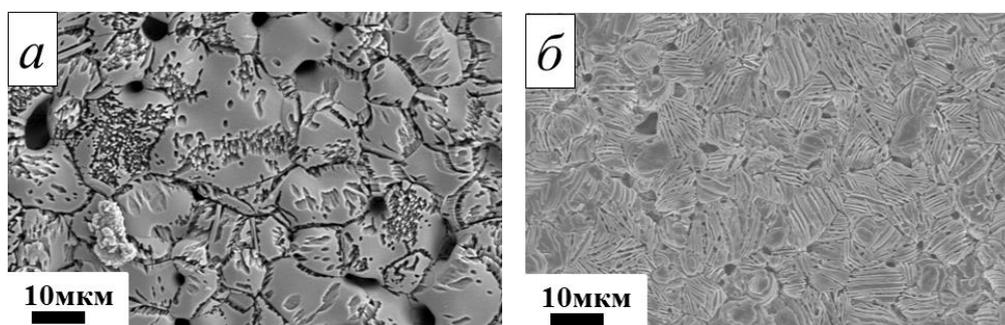


Рис. 4.41. Микроструктура образцов керамик $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$, где $x=0.4$, после опытов по растворению в: a) трис-буфере с рН=7.4; b) воде с рН=6.5.

Толщина ламелей уменьшается с ростом x . Таким образом, механизм упрочнения может быть связан как с уменьшением характерного масштаба элемента микроструктуры, так и с переориентацией трещины при переходе от одной системы ламелей к другой. Интересным представляется вопрос о возможности воздействия внешнего механического напряжения на переохлажденную высокотемпературную фазу ренанита с целью ее двойникования (т.е., фактически, для реализации канала диссипации упругой энергии, высвобождающейся при раскрытии трещины). Это позволило бы оценить возможность

использования фазовых превращений в исследуемых системах для реализации трансформационного упрочнения керамик на основе двойных фосфатов.

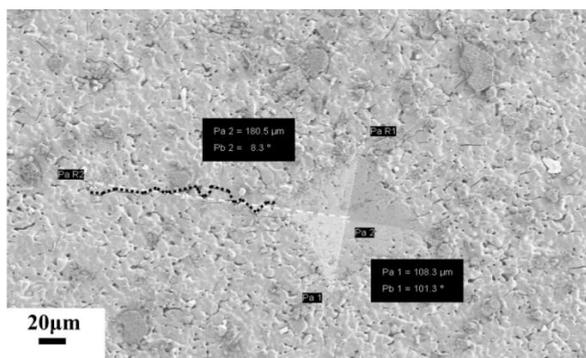


Рис. 4.42. Микрофотография поверхности керамического образца с отпечатком пирамиды Виккерса, черным пунктиром обозначен ход медианной трещины.

На рис. 4.42 представлена микрофотография отпечатка индентора Виккерса на поверхности керамической балки. Видно, что медианная трещина носит как интергранулярный, так и трансгранулярный характер. Траектория ее распространения позволяет заключить, что основными механизмами торможения трещины является ее переориентация и ветвление. Трещиностойкость, оцененная по длине медианных трещин вокруг отпечатка индентора Виккерса (рис. 4.43), так же как и в случае прочности на изгиб, проходит через максимум, меняясь от 0.3 для крайних составов до 0.9 МПа·м^{1/2} для средних составов, содержащих наибольшее количество переохлажденной высокотемпературной модификации α -CaMPO₄.

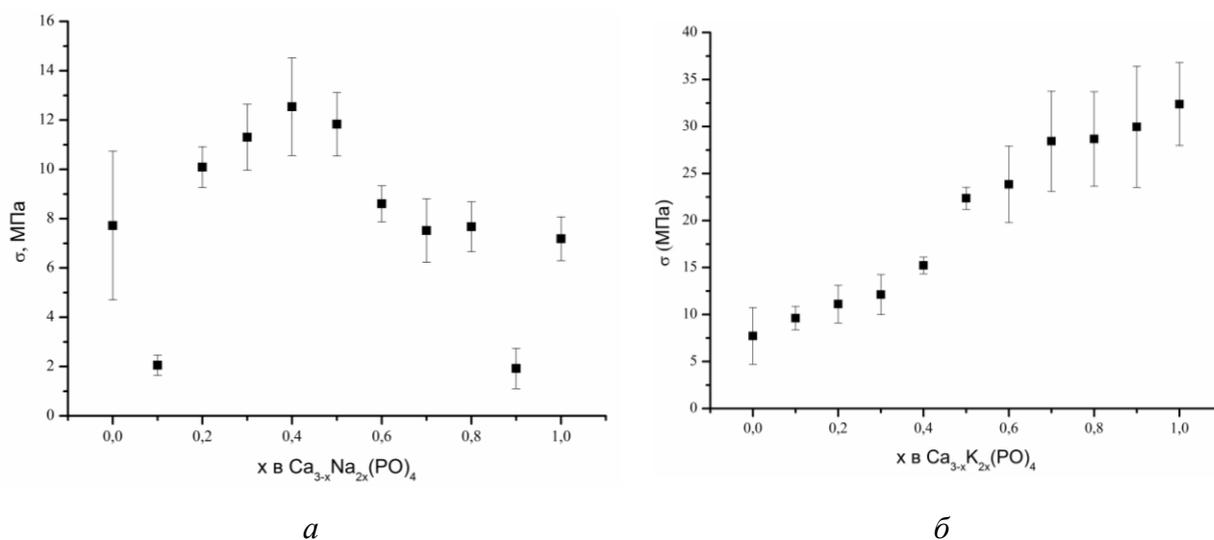


Рис. 4.43. Сравнение зависимостей трещиностойкости керамических образцов, полученных при разных скоростях охлаждения, от состава (x): *a* – Трещиностойкость керамик материалов на основе Ca_(3-x)Na_{2x}(PO₄)₂; *б* – трещиностойкость керамик на основе Ca_(3-x)K_{2x}(PO₄)₂.

4.2.11. Биологические испытания *in vitro*

При культивировании клеток на поверхности композитных материалов наблюдается защелачивание культуральной среды DMEM/F12 в присутствии всех исследуемых материалов $\text{Ca}_{(3-x)}\text{K}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ (образцы 5-8) и материала $\text{Ca}_{2.2}\text{Na}_{1.6}(\text{PO}_4)_2$ (образец 4) как на первые сутки инкубации, так и после замены среды на свежую на третьи сутки (рис. 4.44)

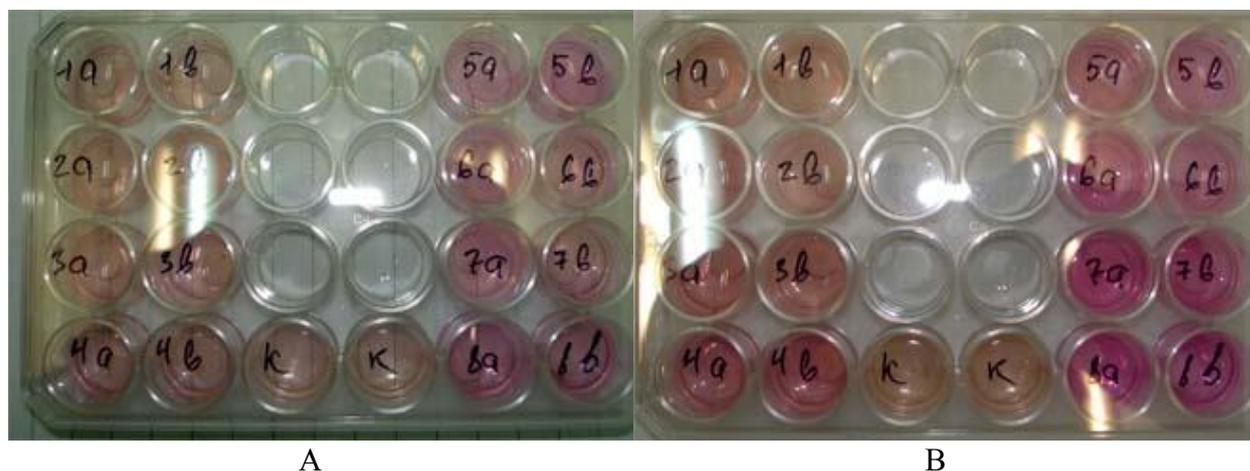


Рис. 4.44 Изменение pH среды при инкубации клеток линии NCTC L929 с материалами на основе ТКФ в течении 1 суток (А) и 3 суток (В): 1 - $\text{Ca}_{2.5}\text{Na}(\text{PO}_4)_2$, 2 - $\text{Ca}_{2.4}\text{Na}_{1.2}(\text{PO}_4)_2$, 3 - $\text{Ca}_{2.3}\text{Na}_{1.4}(\text{PO}_4)_2$, 4 - $\text{Ca}_{2.2}\text{Na}_{1.6}(\text{PO}_4)_2$, 5 - $\text{Ca}_{2.5}\text{K}(\text{PO}_4)_2$, 6 - $\text{Ca}_{2.4}\text{K}_{1.2}(\text{PO}_4)_2$, 7 - $\text{Ca}_{2.3}\text{K}_{1.4}(\text{PO}_4)_2$, 8 - $\text{Ca}_{2.4}\text{K}_{1.2}(\text{PO}_4)_2$

4.2.11.1. Исследование цитотоксического действия вытяжек керамических материалов

Исследование жизнеспособности клеток NCTC L929, культивируемых в присутствии вытяжек из материалов показало отсутствие достоверных различий с контролем во всей серии образцов- $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ и образцов $\text{Ca}_{2.3}\text{K}_{1.4}(\text{PO}_4)_2$, $\text{Ca}_{2.4}\text{K}_{1.2}(\text{PO}_4)_2$. При этом наблюдалось снижение жизнеспособности клеток в присутствии вытяжек из материалов $\text{Ca}_{2.5}\text{K}(\text{PO}_4)_2$, $\text{Ca}_{2.4}\text{K}_{1.2}(\text{PO}_4)_2$. Однако флуоресцентное окрашивание клеток показало наличие значительного токсического воздействия только у вытяжки из материала $\text{Ca}_{2.5}\text{K}(\text{PO}_4)_2$, (100% гибель клеток) и незначительное увеличение числа мертвых клеток (6-7% против 3-5% в контроле) (рис. 4.45-4.49).

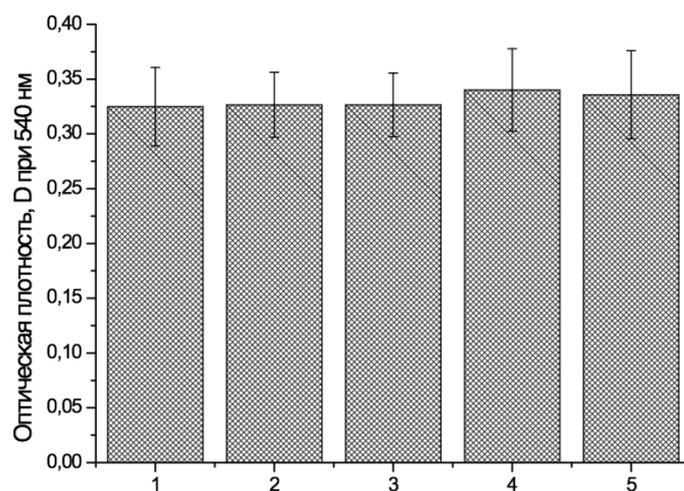


Рис. 4.45. Оптическая плотность растворов формазана при инкубации клеток линии NCTC L929 с вытяжками из материалов на основе ТКФ: 1 - $\text{Ca}_{2.5}\text{Na}(\text{PO}_4)_2$, 2 - $\text{Ca}_{2.4}\text{Na}_{1.2}(\text{PO}_4)_2$, 3 - $\text{Ca}_{2.3}\text{Na}_{1.4}(\text{PO}_4)_2$, 4 - $\text{Ca}_{2.2}\text{K}_{1.6}(\text{PO}_4)_2$, 5 – контроль. Отсутствие достоверных различий по U – критерию Вилкоксона - Манна – Уитни для $p < 0,05$

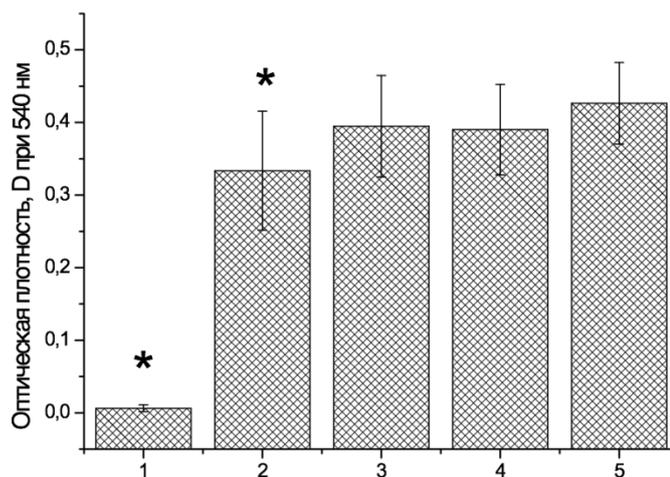


Рис. 4.46. Оптическая плотность растворов формазана при инкубации клеток линии NCTC L929 с вытяжками из материалов на основе ТКФ: 1 - $\text{Ca}_{2.5}\text{K}(\text{PO}_4)_2$, 2 - $\text{Ca}_{2.4}\text{K}_{1.2}(\text{PO}_4)_2$, 3 - $\text{Ca}_{2.3}\text{K}_{1.4}(\text{PO}_4)_2$, 4 - $\text{Ca}_{2.2}\text{K}_{1.6}(\text{PO}_4)_2$, 5 – контроль. Различия достоверны по U – критерию Вилкоксона - Манна – Уитни для $p < 0,05$

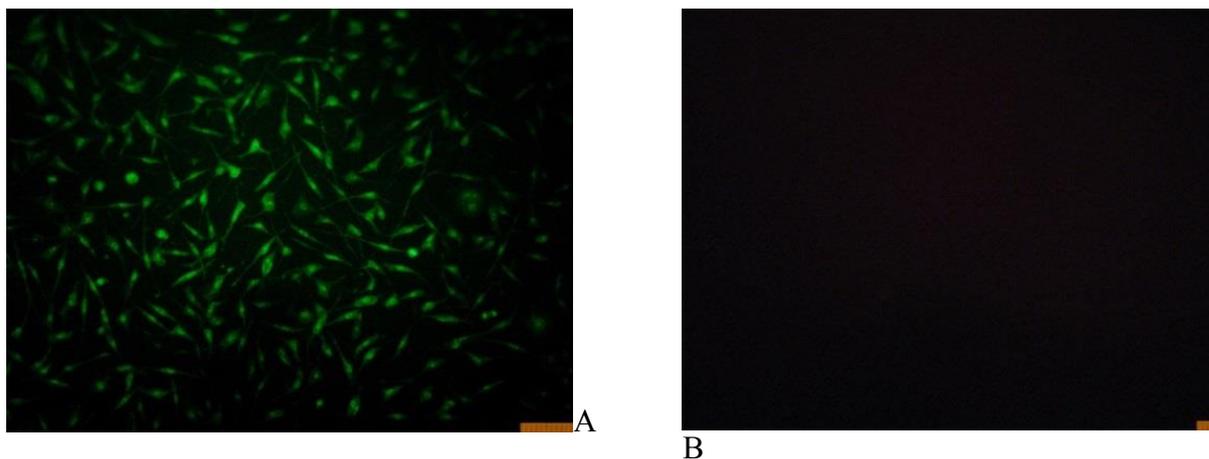


Рис. 4.47. Внешний вид клеток линии NCTC L929 при инкубации с суточными вытяжками из материала $\text{Ca}_{2.5}\text{Na}(\text{PO}_4)_2$. 1 сутки инкубации. А-окраска Syto9, В – окраска ядер мертвых клеток пропидиум йодидом

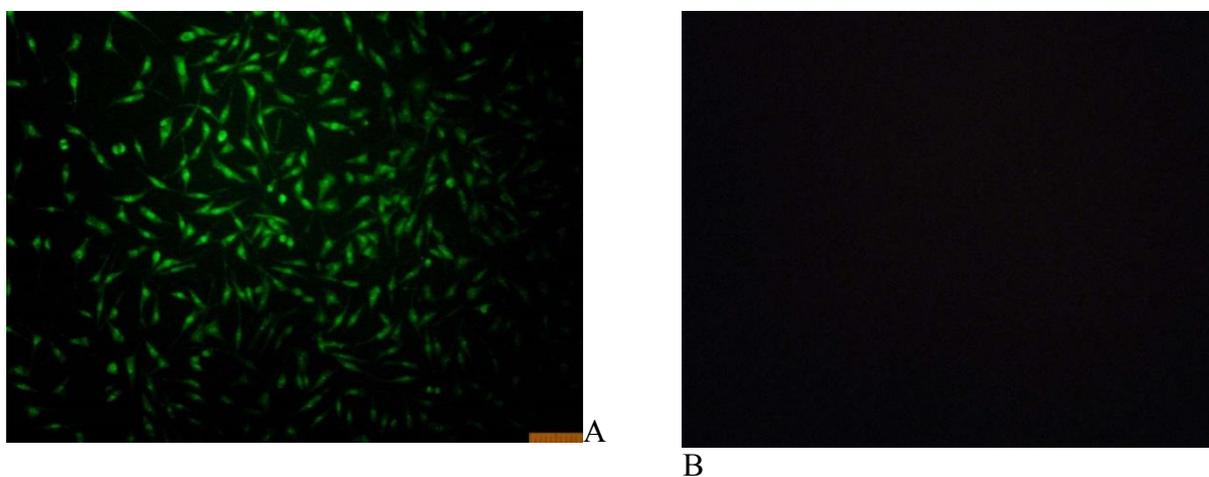


Рис. 4.48. Внешний вид клеток линии NCTC L929 при инкубации в среде DMEM/ F12 + 5 FBS. 1 сутки инкубации. А-окраска Syto9, В – окраска ядер мертвых клеток пропидиум йодидом

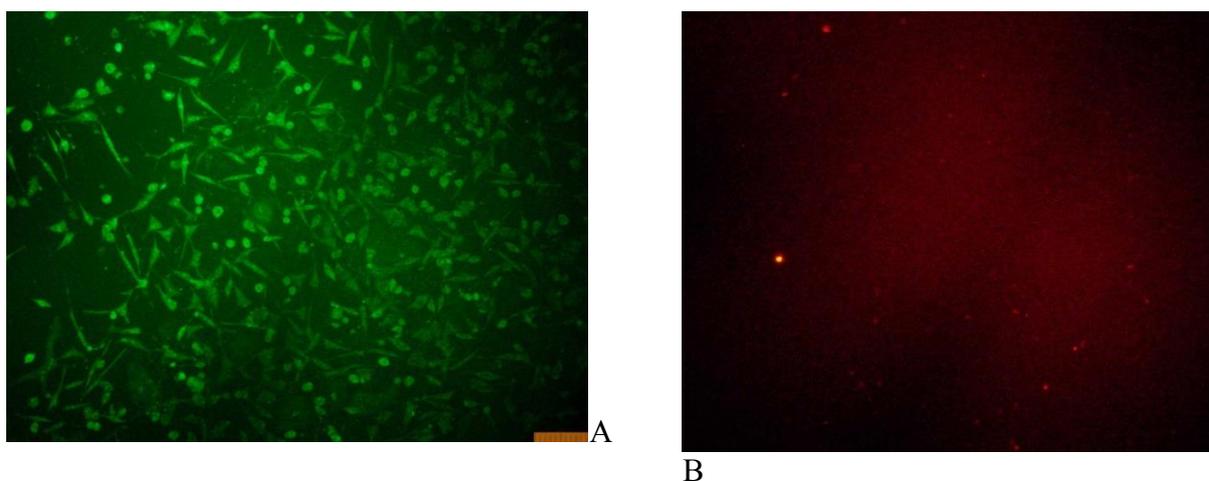


Рис. 4.49. Внешний вид клеток линии NCTC L929 при инкубации с суточными вытяжками из материала $\text{Ca}_{2.3}\text{K}_{1.4}(\text{PO}_4)_2$. 1 сутки инкубации. А-окраска Syto9, В – окраска ядер мертвых клеток пропидиум йодидом

4.2.11.2. Исследование адгезии и пролиферативной активности клеток на поверхности композитных материалов.

Исследование показало хорошую адгезию и интенсивный рост клеток на поверхности материалов $\text{Ca}_{2.5}\text{Na}(\text{PO}_4)_2$, $\text{Ca}_{2.4}\text{Na}_{1.2}(\text{PO}_4)_2$ и $\text{Ca}_{2.3}\text{Na}_{1.4}(\text{PO}_4)_2$ наряду со слабой адгезией клеток на остальных материалах. При этом наличие большого числа мертвых клеток на поверхности материалов $\text{Ca}_{(3-x)}\text{K}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ ($x > 0.7$) может быть следствием воздействия токсичных для клеток веществ, выделяемых поверхностью материалов. (Рис. 4.50-51).

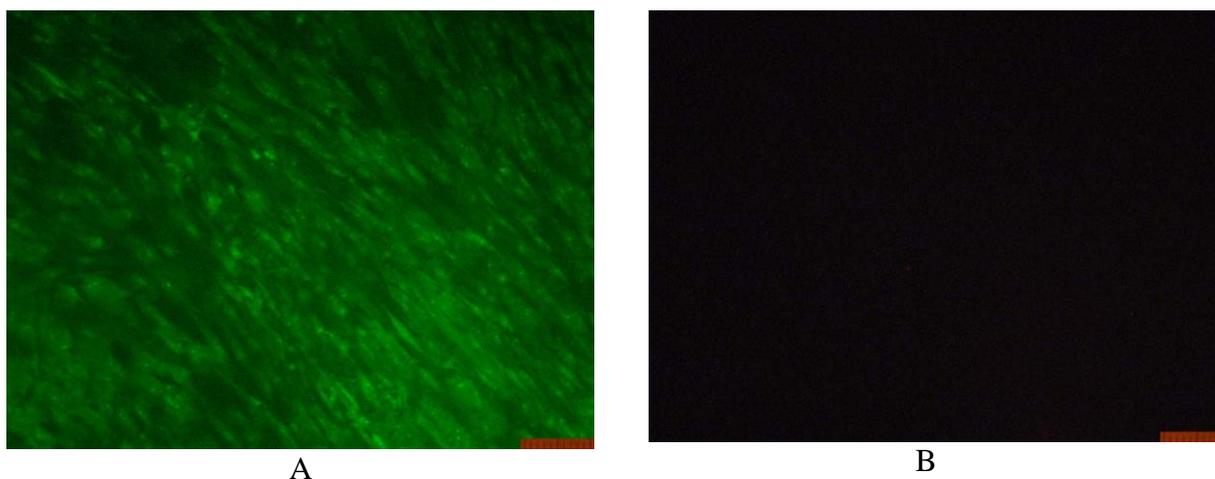


Рис. 4.50. Внешний вид первичных клеток человека, растущих на поверхности материала $\text{Ca}_{2.5}\text{Na}(\text{PO}_4)_2$. А – окраска Syto 9, В – окраска пропидиум йодидом. 7 суток инкубации

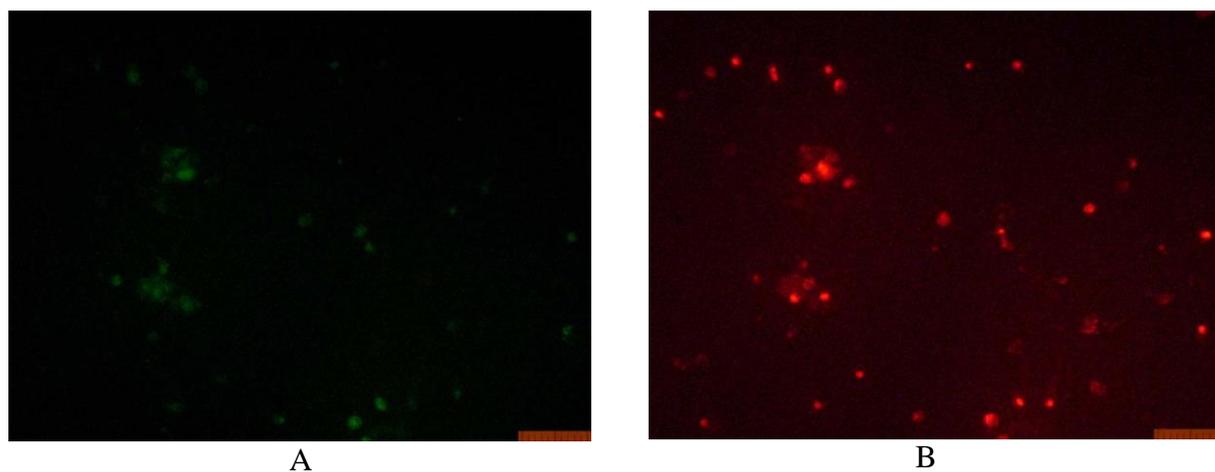


Рис. 4.51. Внешний вид первичных клеток человека, растущих на поверхности материала $\text{Ca}_{2.2}\text{K}_{1.6}(\text{PO}_4)_2$. А – окраска Syto 9, В – окраска пропидиум йодидом. 7 суток инкубации

4.3. Макропористая керамика на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$

Для получения макропористой керамики на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ были выбраны составы с $x = 0.5 \div 0.8$ для $\text{M} = \text{Na}, \text{K}$ на основании изучения фазовых равновесий в системах $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{CaMPO}_4$ ($\text{M} = \text{Na}, \text{K}$), механических характеристик, резорбируемости, а также биологической активности материалов на основе смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов (рис. 4.52).



Рис. 4.52. Схема стратегии выбора составов смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов для получения макропористой керамики

4.3.1. Получение макропористой керамики

4.3.1.1. Репликация ППУ губки

Для получения макропористой керамики методом репликации была выбрана ППУ губка со средним диаметром пор 1000 мкм (рис. 4.53). При нанесении водной суспензии порошков $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ происходит “налипание” частиц с модифицированной поверхностью на ППУ губку. В результате происходит повторение формы губки. На рис. 4.54-55 представлены микрофотографии ППУ губки, поперечный срез “перемычки” которой имеет форму “вогнутого” треугольника со стороной ~ 300 мкм (рис. 4.54). При термическом удалении ППУ каркаса образуется пористая структура. Поперечный срез “перемычки” полученного каркаса повторяет форму ППУ губки - “вогнутый” треугольник, у которого площадь сечения является слегка уменьшенной в связи с усадкой керамического каркаса в ходе процесса спекания.



Рис. 4.53. Фотография ППУ губки со средним диаметром пор 1000 мкм.

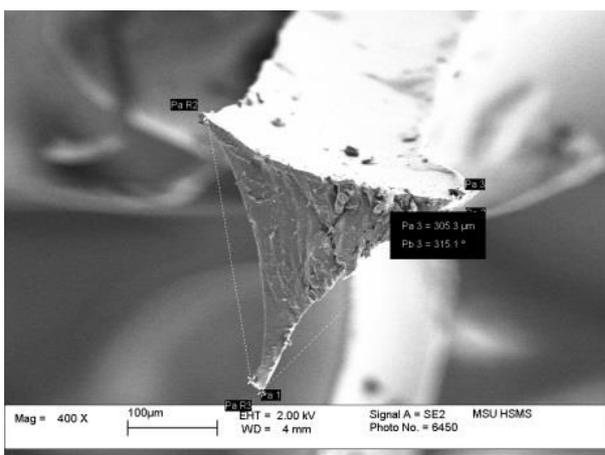


Рис. 4.54. Поперечное сечение «перемычки» ППУ губки.

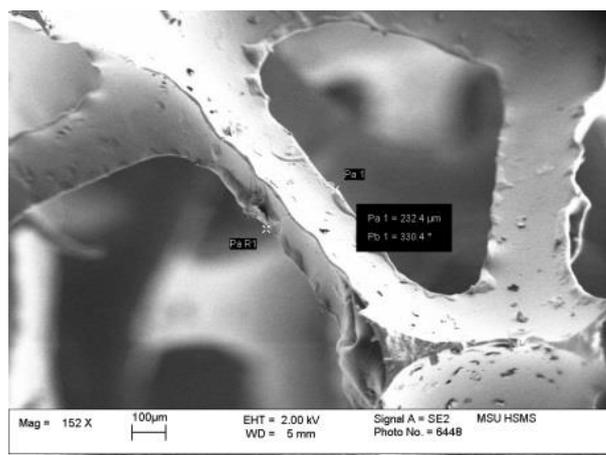


Рис. 4.55. Микрофотография строения ППУ губки.

На рис. 4.56 представлены микрофотографии керамического каркаса на основе смешанного фосфата кальция и калия $\text{Ca}_{2,4}\text{K}_{1,2}(\text{PO}_4)_2$. Использование медленных скоростей нагрева во время процесса термического удаления ППУ каркаса не позволяет избежать большого количества трещин в керамическом образце (рис. 4.56).

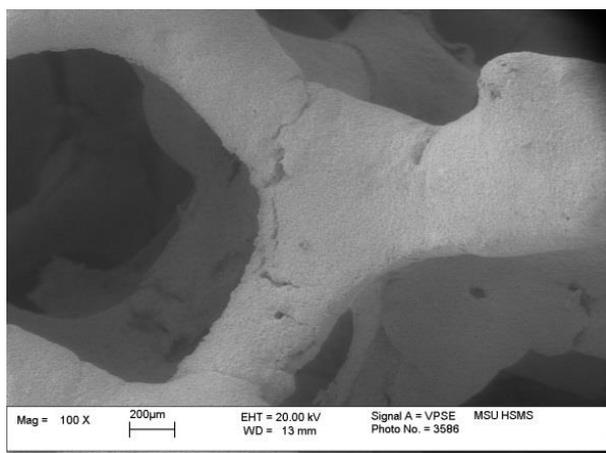
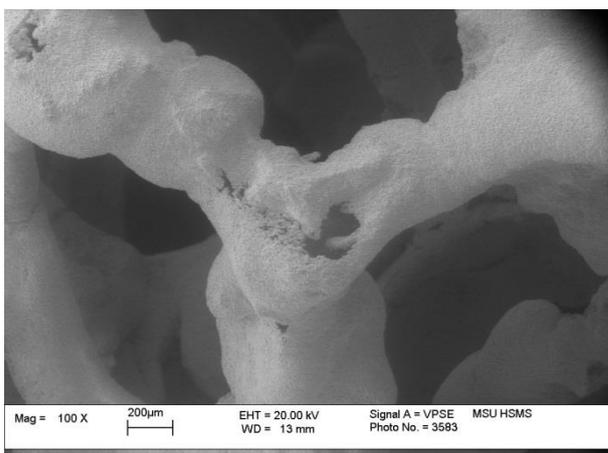


Рис. 4.56. Микрофотография керамики на основе $\text{Ca}_{2,4}\text{K}_{1,2}(\text{PO}_4)_2$ полученной методом репликации ППУ.

Для уменьшения размера полостей у керамического каркаса, полученного репликацией ППУ губки, была предпринята попытка дополнительной пропитки керамических каркасов ВКС на основе $\text{Ca}_{2,4}\text{K}_{1,2}(\text{PO}_4)_2$. Для этого полученную керамику выдерживали под вакуумом в течение 30 минут для удаления воздуха из полостей перемычек. После 30 минут выдержки керамический каркас помещали в ВКС, также под вакуумом, и выдерживали еще в течение 30 минут, затем керамическую форму доставали и подвешивали, в результате излишки ВКС стекали с формы. Затем керамический каркас, вновь пропитанный суспензией, спекали. Процесс повторной пропитки повторяли три раза. В результате дополнительной пропитки происходит значительное уменьшение площади поперечного сечения полости каркаса (средний размер стороны треугольника составляет ~ 50 мкм), происходит частичное заполнение и “залечивание” трещин керамического материала (рис. 4.57).

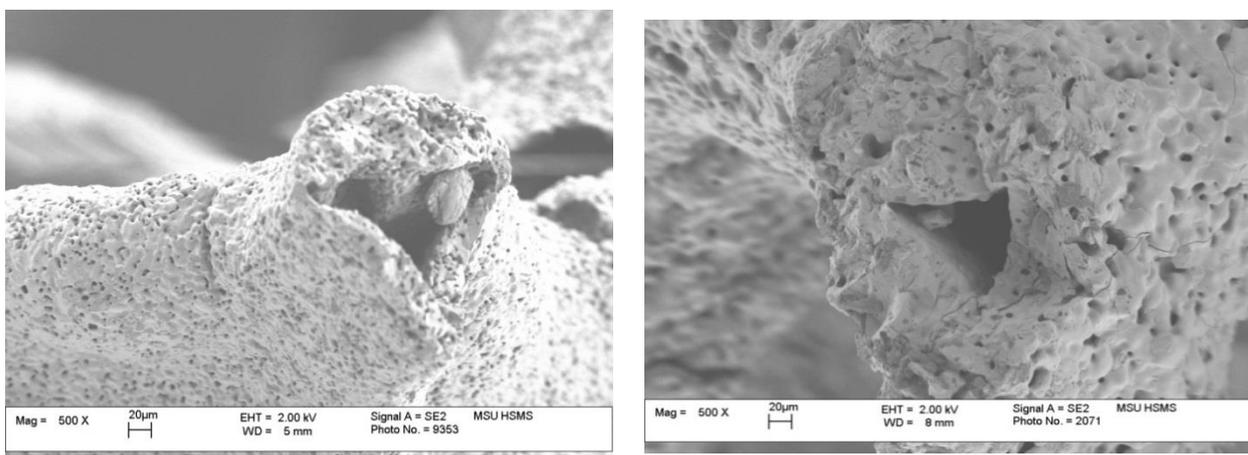


Рис. 4.57 Микрофотография керамики на основе $\text{Ca}_{2,4}\text{K}_{1,2}(\text{PO}_4)_2$ полученной методом репликации ППУ с последующей дополнительной пропиткой ВКС

При проведении механических испытаний было показано, что ВПЯМ-керамика на основе смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов, полученная репликой с сетчато-ячеистого полиуретана, обладает прочностью менее 0.1 Мпа (рис. 4.58), поскольку представляет собой тонкостенный полый керамический каркас с дополнительными концентраторами напряжений в виде остроугольных переходов. На основании полученных данных в ходе механических испытаний на сжатие можно сделать вывод, что фосфатная керамика, созданная в варианте ППУ реплики, ведет себя не как объемное тело, а скорее как система слабосвязанных полых фрагментов. Это обусловлено тем, что балки, составляющие каркас, имеют вид пустотелых тонкостенных призм.

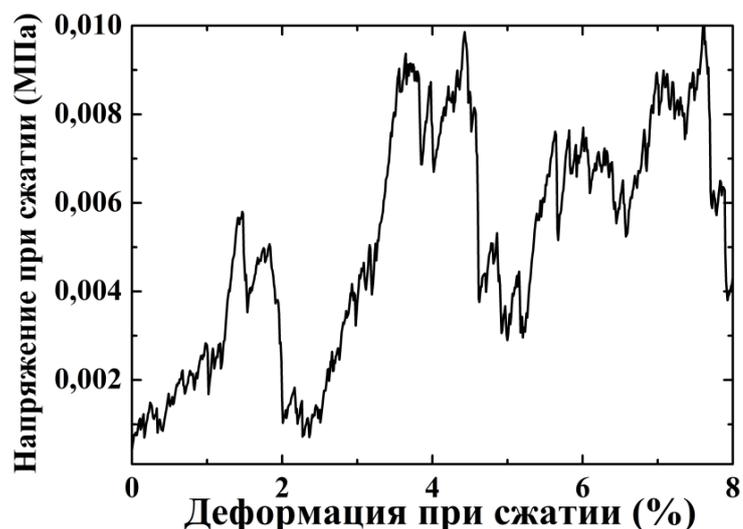


Рис. 4.58 Кривая нагружения керамического материала на основе $\text{Ca}_{2,4}\text{K}_{1,2}(\text{PO}_4)$ полученного методом репликации ППУ.

Структура Кельвина

В качестве образца структуры для получения трехмерных каркасов с заданной формой при использовании технологии трехмерной печати была выбрана модель имеющая топологию структуры Кельвина. Данная структура была предложена Уильямом Томпсоном (лорд Кельвин) в 1887 году в качестве модели регулярной пены, рис. 4.59 [138]. Данная модель представляет собой ОЦК решетку, составленную из усеченных октаэдров. Если взять ретикулированную (оставить только оболочку от усеченного октаэдра и удалить все “стенки” соединяющие соседние поры) форму данной модели, то получится архитектура имеющая сквозные каналы вдоль направлений [100] и [111] (рис. 4.60-61). Наличие таких направленных каналов обуславливает хорошую проницаемость, однако она не является оптимальной.

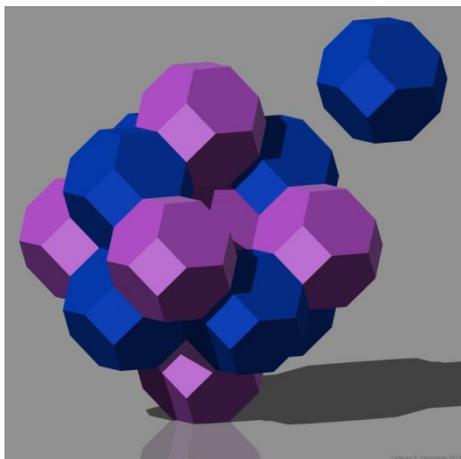


Рис. 4.59. Структура Кельвина



Рис. 4.60. Ретикулированный вариант структуры Кельвина

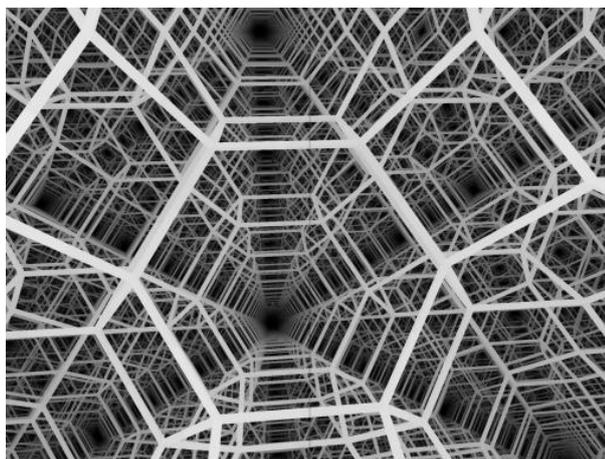


Рис. 4.61 Направленные каналы вдоль направления [111] в структуре Кельвина

Перед использованием данной модели было проведено моделирование проницаемости (рис. 4.62) и анализ распределения напряжений при одноосном нагружении модели (рис. 4.63) методом конечных элементов с использованием программного обеспечения SolidWorks 2013. Видно, что происходит концентрация напряжений в местах стыка перемычек данного каркаса при однотонном нагружении верхней поверхности. При моделировании протекания жидкости (вода, скорость потока на входе 0.1 м/с) через макропористое тело с архитектурой Кельвина видно, что происходит торможение потока, вследствие отсутствия прямых каналов вдоль направления протекания.

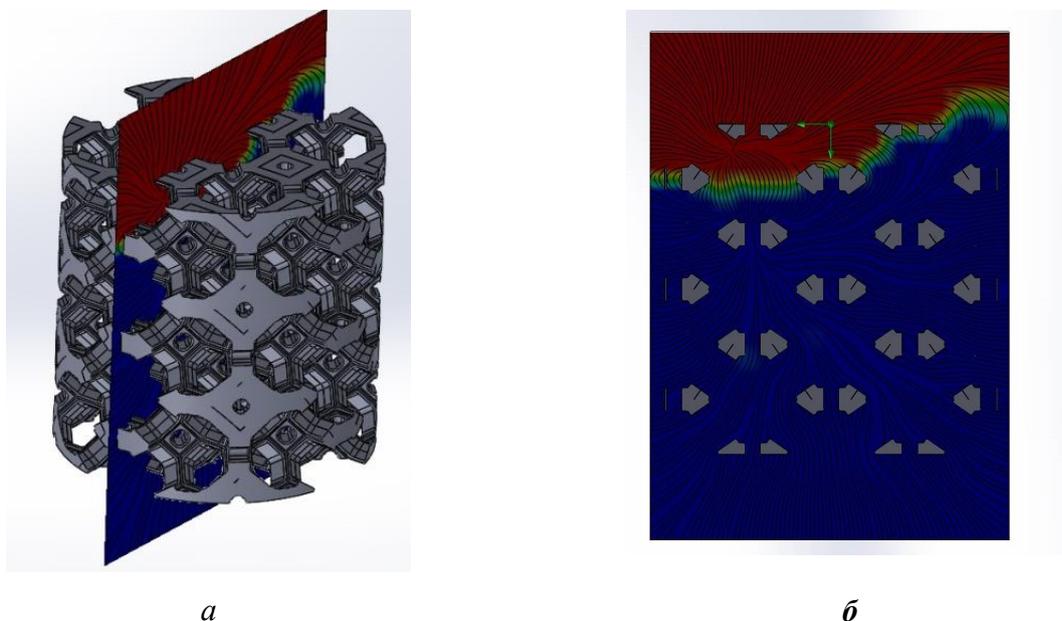


Рис. 4.62. Моделирование протекания жидкости (вода, скорость потока на входе 0.1 м/с) через макропористое тело. (*а*- пространственное изображение расположения плоскости распределения плотности потока; *б*- распределение линий тока и плотности)

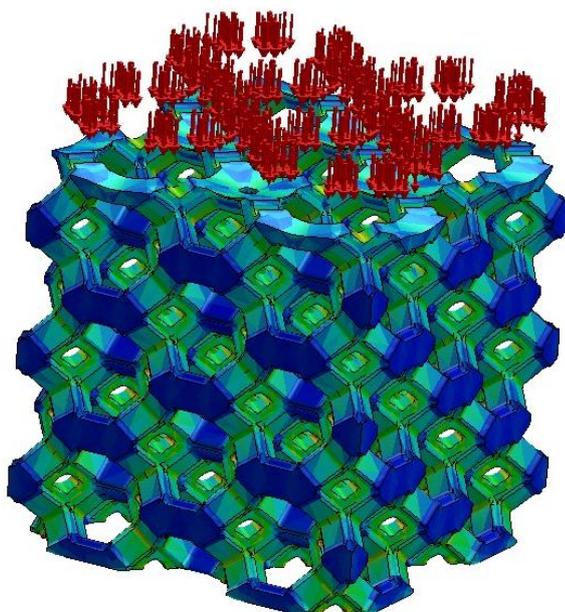


Рис. 4.63. Моделирование внешнего одноосного нагружения на образец со структурой Кельвина

4.3.1.2. Термоэкструзионная печать

Макропористую керамику на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ с заданной архитектурой получали с помощью термоэкструзионного (FFF) 3D-принтера. Сначала изготавливалась трехмерная полимерная форма для заполнения ВКС, содержащей порошок смешанного фосфата кальция и щелочного металла. Полимерная форма имела архитектуру, обратную структуре Кельвина (рис. 4.64).

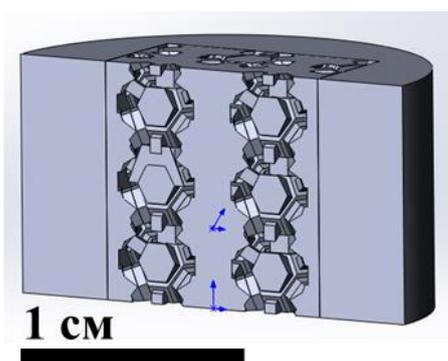


Рис. 4.64 Трехмерная модель для получения полимерной формы с архитектурой инвертированной структуры Кельвина.

После наполнения полимерной формы порошком и последующей сушки порошка от остатков воды проводили термическое удаление полимерного каркаса. Медленная температурная обработка полученного композита (полимер/порошок $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$) позволяет удалить органическую составляющую без повреждения сплошности

получаемого каркаса порошка. После удаления всего полимера проводили быстрый нагрев и спекали образцы. Полученные керамические образцы обладают заданной архитектурой со структурой Кельвина. В каркасе полученных керамик отсутствуют полости в отличие от керамик полученных методом репликации ППУ губок. Термоэкструзионная трехмерная печать позволяет получать формы с заданным размером элементов каркаса, в результате были получены структуры в форме куба со стороной 1 см, размером “перемычек” ~1000 мкм и диаметром пор ~750 мкм (рис. 4.65). При этом пористость получаемых структур $\geq 65\%$, что является хорошим значением для проницаемости, получаемых структур, при их достаточной прочности.

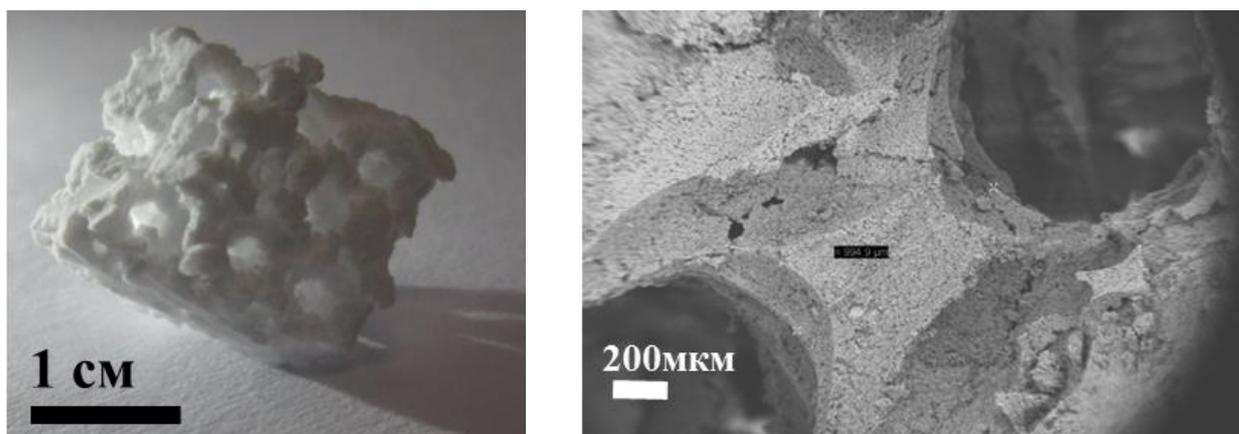


Рис. 4.65 Макро- и микрофотографии керамических каркасов на основе $\text{Ca}_{2,3}\text{Na}_{1,4}(\text{PO}_4)_2$ со структурой Кельвина

На рис. 4.66 представлены результаты измерения напряжения при сжатии керамических материалов на основе смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов, на примере $\text{Ca}_{2,3}\text{Na}_{1,4}(\text{PO}_4)_2$. Керамические материалы, полученные путем заполнения форм заданной архитектуры, обладают прочностью, как минимум, на порядок величины превосходящей прочность керамики, полученной с использованием репликации ППУ. Поведение керамики, созданной с использованием FFF- технологии, при нагружении соответствует сплошному твердому телу.



Рис. 4.66. Зависимость напряжения при сжатии от деформации для керамического материала на основе $\text{Ca}_{2,3}\text{Na}_{1,4}(\text{PO}_4)_2$ полученного методом репликации ППУ.

На рис. 4.67 сопоставлены прочностные характеристики керамических материалов, полученных по технологии негативной репликации пенополиуретана (ППУ) и с использованием FFF- трехмерной печати.

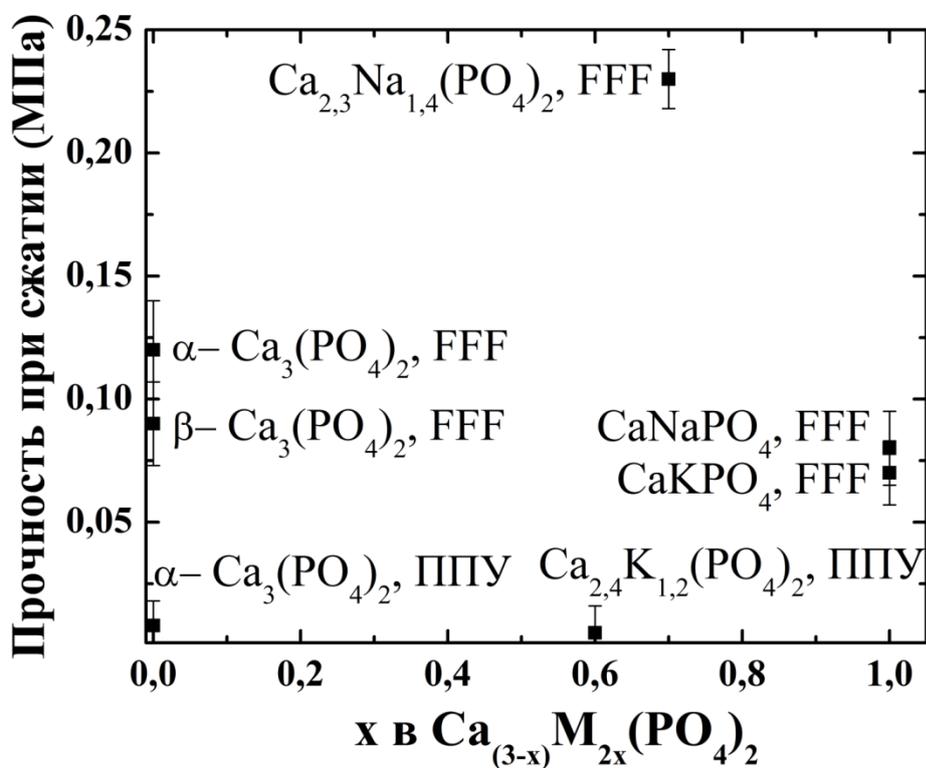


Рис. 4.67. Сравнение прочностных характеристик керамических материалов, полученных путем различных техник: ППУ - негативная реплика пенополиуретана; FFF- получение форм для шликерного литья путем трехмерной термозкструзионной печати (FFF).

4.3.1.3. Стереолитография

Использование стереолитографии для получения макропористой керамики с заданной топологией было обусловлено разрешением данного метода (размер минимального элемента $\sim 50\div 100$ мкм при использовании стереолитографии, против $\sim 300\div 800$ мкм при использовании термоэкструзионной печати). Для создания контролируемых условий технологического процесса печати трехмерных структур из светоотверждаемых ВКС наполненных порошком $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$, были приготовлены порошки с максимально близкими характеристиками.

Для получения ВКС с тождественными свойствами на основании различных смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов проводили модификацию поверхности порошков с помощью ПАВ. Для получения однородных ВКС необходимо иметь максимально узкое распределение частиц по размерам, причем размер частиц не должен сильно превышать значение в 1 мкм. Порошок $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ подвергали дезагрегации в шаровой планетарной мельнице в среде ацетона с добавлением ПАВ (Triton X-100) в течение часа. В результате получили порошки с промодифицированной ПАВ поверхностью со средним размером частиц $\sim 2\pm 0.5$ мкм (рис. 4.68).

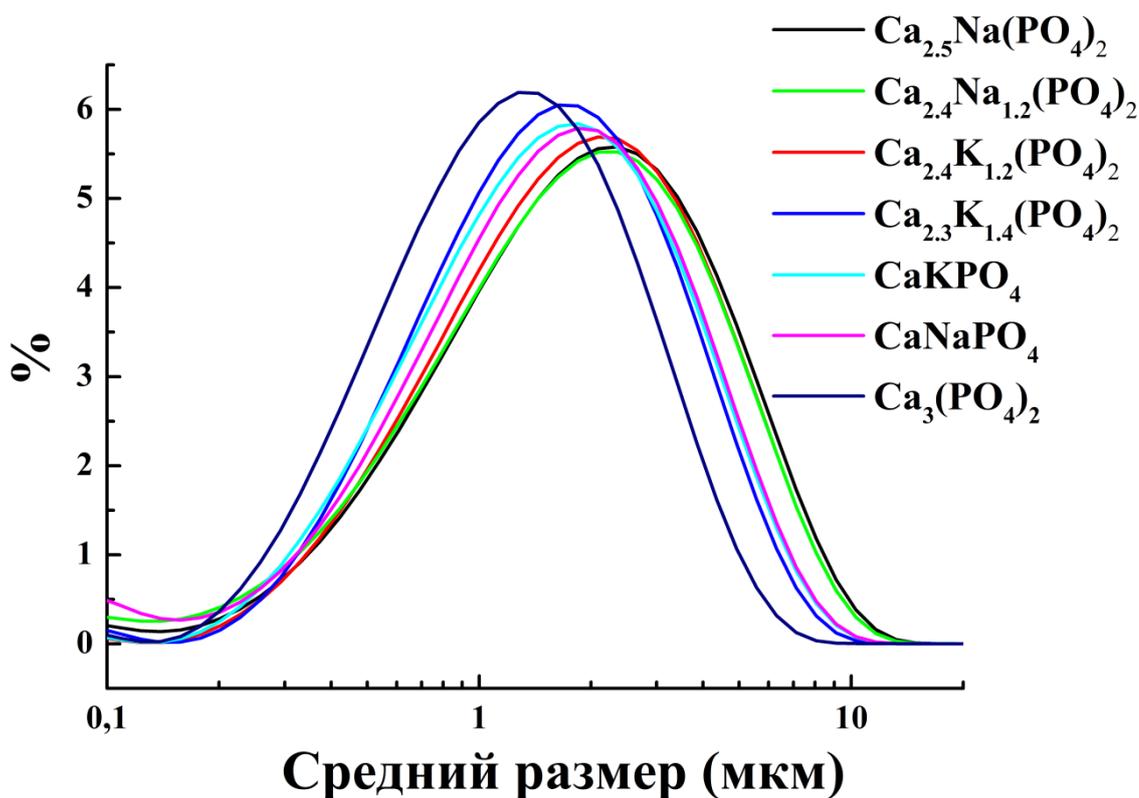


Рис. 4.68 Распределение частиц по размерам для различных порошков смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов после помола с использованием ПАВ

Уменьшение латерального разрешения (“размытие” проектируемого пикселя) - одна из серьезных проблем при использовании светоотверждаемых ВКС наполненных

порошком для создания трехмерных моделей с помощью стереолитографии. Для увеличения латерального разрешения при использовании ВКС использовали краситель Судан Ж. На рис. 4.69. приведена зависимость глубины полимеризации светоотверждаемой суспензии на основе $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ от облучаемой дозы при разной концентрации красителя. Видно, что при отсутствии красителя чувствительность суспензии очень высокая и составляет 480 ± 32 мкм. При добавлении красителя чувствительность суспензии падает пропорционально концентрации красителя. Чувствительность характеризует распространение света в суспензии по направлению светового потока, однако латеральное рассеяние света также уменьшается в связи с ростом концентрации красителя [109]. Было показано (рис. 4.69), что в качестве добавки для увеличения латерального разрешения стереолитографии можно использовать сажу. С увеличением содержания сажи происходит уменьшение светочувствительности ВКС.

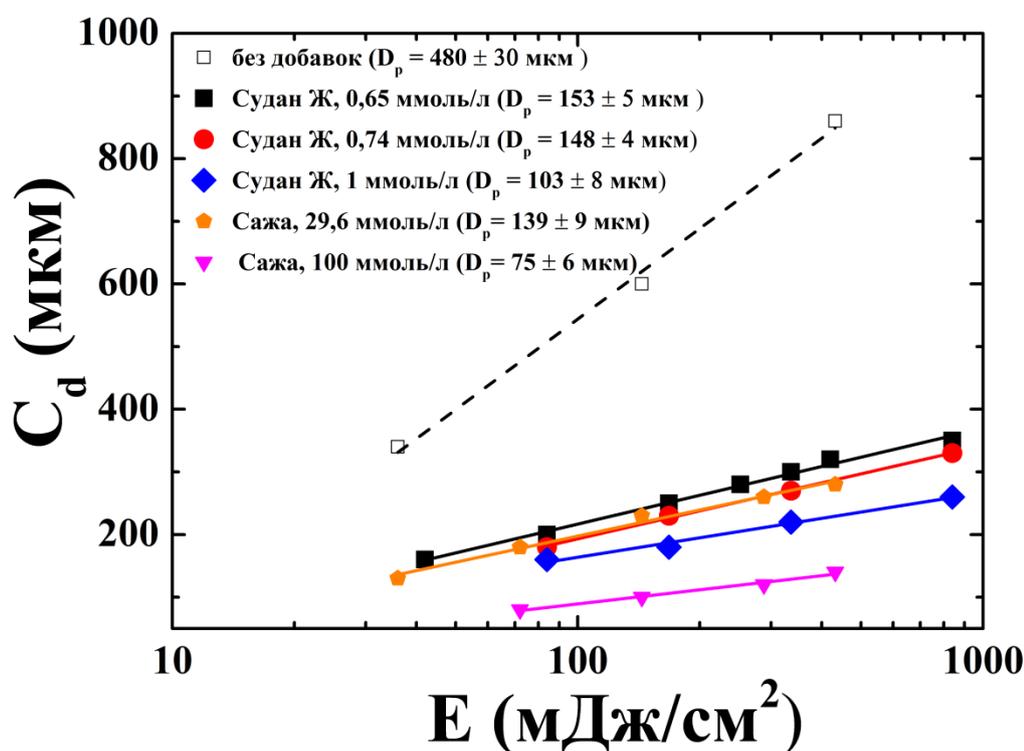


Рис. 4.69. Зависимость глубины полимеризации ВКС на основе ТКФ от дозы при использовании разной концентрации красителя Судан Ж.

На рис. 4.70 представлены микрофотографии керамических образцов на основе ТКФ полученных с использованием технологии стереолитографии после процесса спекания. Как видно на левой фотографии рис. 4.70, отсутствие красителя в светоотверждаемой ВКС приводит к сильному рассеянию в плоскости, в результате чего происходит изменение заданной геометрии трехмерной модели. Использование красителя уменьшает вклад рассеяния света при полимеризации светоотверждаемых ВКС (рис. 4.70).

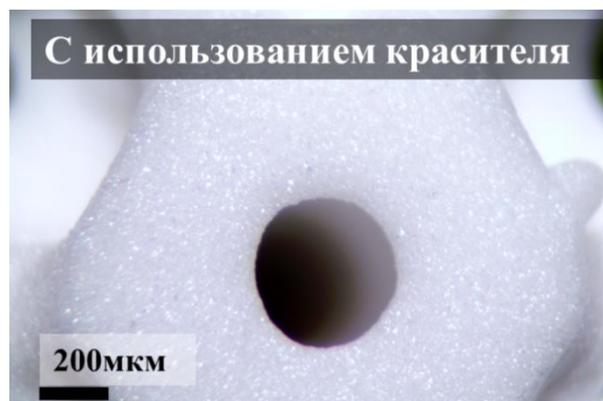
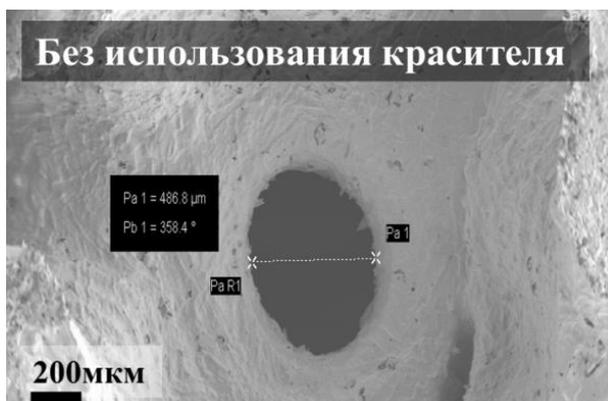


Рис. 4.70. Сравнение разрешения метода стереолитографии при использовании красителя в качестве добавки для ВКС с добавлением порошка смешанных фосфатов (правая фотография) и без добавок (левая фотография)

После получения оптимальных технологических параметров для создания каркасов с заданной архитектурой были “выращены” трехмерные модели со структурой Кельвина на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ (где $\text{M} = \text{Na}, \text{K}$, а $x = 0; 0,5 \div 0,8; 1$). На рис. 4.71-74 представлены фотографии композитных (полимер/порошок смешанного фосфата кальция и щелочного металла) цилиндрических структур с разным размером пор, однако с одинаковой пористостью 70%. Послойное разбиение модели составляет 50 мкм. Данная форма каркасов была выбрана для последующих биологических испытаний.

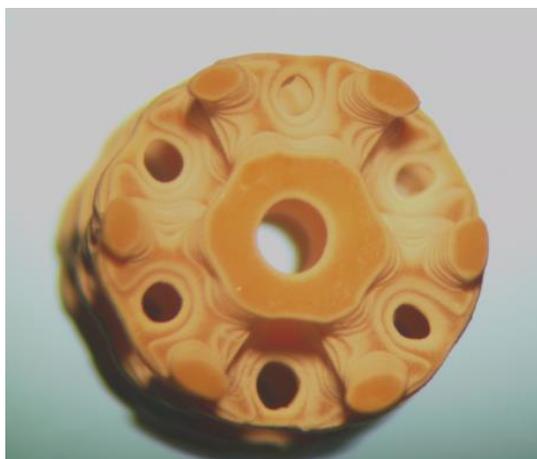


Рис. 4.71. Фотография композита (полимер/порошок) цилиндрической формы со структурой Кельвина вдоль направления [111]. Диаметр пор 750 мкм.



Рис. 4.72. Фотография композита (полимер/порошок) цилиндрической формы со структурой Кельвина вдоль направления [111]. Диаметр пор 500 мкм.

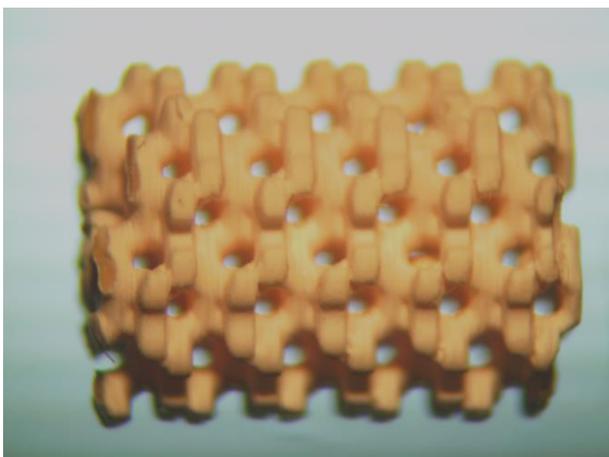


Рис. 4.73. Фотография композита (полимер/порошок) цилиндрической формы со структурой Кельвина. Диаметр пор 500 мкм.

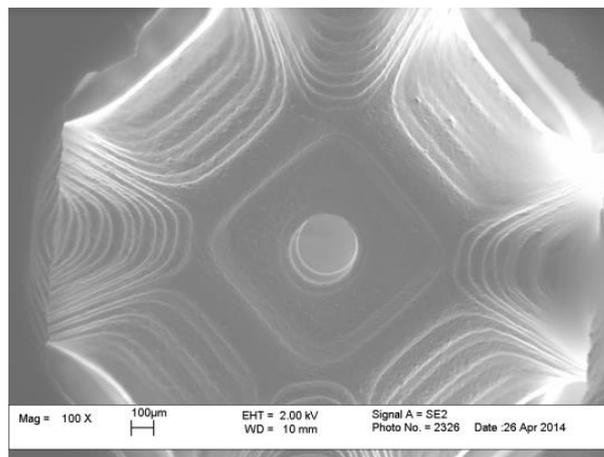


Рис. 4.74. Микрофотография композита (полимер/порошок) цилиндрической формы со структурой Кельвина вдоль направления [100]. Диаметр пор 500 мкм.

Для оптимизации процесса удаления полимерной составляющей в ходе температурной обработки было использовано программное обеспечение Thermokinetics (Netzsch, Германия). Для этого полученный композит исследовали с помощью термогравиметрии при разных скоростях нагрева. При анализе термограмм было обнаружено, что их наилучшее описание достигается схемой из шести последовательных процессов. Следует заметить, что в эти шесть процессов входят как химические реакции, так и физические процессы десорбции и испарения. Расчет энергий активации каждой реакции проводили по модели Озавы-Флинна-Уолла. Рассчитанные данные приведены в таблице 4.11. Расчет данных проводили исходя из следующей схемы шести последовательных реакции порядка n (код модели в программе Thermokinetics $h;i;i;i;i$):

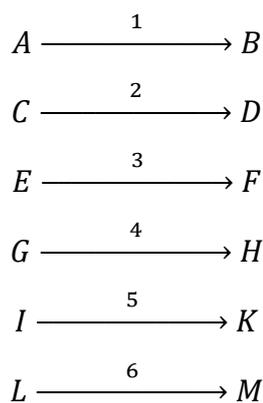


Таблица.4.11. Кинетические параметры рассчитанные для экспериментальных данных в модели шестиступенчатой реакции (код $h;i;i;i;i$)

№	Параметр	Значение	№	Параметр	Значение
1	$\log (A_1/s^{-1})$	5.99	10	$\log (A_4/s^{-1})$	30.68
2	E_1 (кДж/моль)	78.54	11	E_4 (кДж/моль)	438.24

продолжение таблицы 4.11.

3	Порядок реакции 1	3.06	12	Порядок реакции 4	3.37
4	$\log (A_2/s^{-1})$	11.47	13	$\log (A_5/s^{-1})$	21.66
5	E_2 (кДж/моль)	165.47	14	E_5 (кДж/моль)	353.87
6	Порядок реакции 2	1.37	15	Порядок реакции 5	1.84
7	$\log (A_3/s^{-1})$	26.16	16	$\log (A_6/s^{-1})$	2.04
8	E_3 (кДж/моль)	359.60	17	E_6 (кДж/моль)	73.80
9	Порядок реакции 3	2.74	18	Порядок реакции 6	0.64

Согласно полученным данным (табл. 4.11) была смоделирована температурная программа (рис. 4.75), в ходе которой бы происходила потеря массы с постоянной скоростью (0.1%/мин). Полученная температурная программа была апробирована на тестовом образце композита (керамика/порошок). В результате проведения термогравиметрического эксперимента скорость потери массы на участке 40-600°C составила 0.1%/мин, что было граничным условием при проведении моделирования.

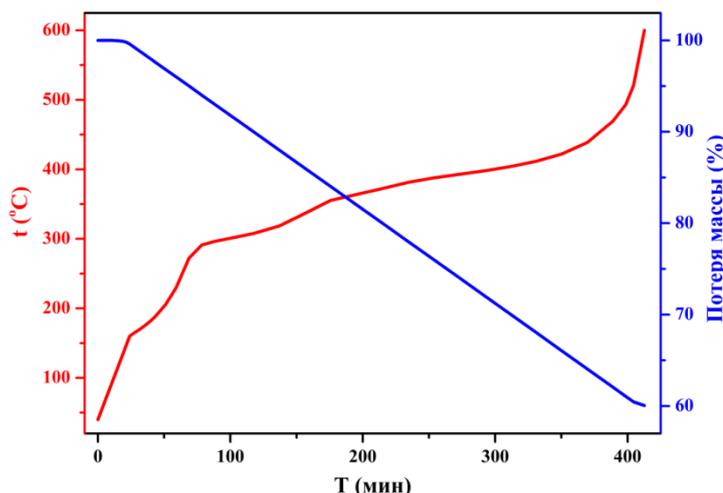


Рис. 4.75. Температурная программа для удаления органических компонентов из композита (полимер/порошок), полученного с помощью метода стереолитографии, с постоянной скоростью 0,1%/мин

Из рис. 4.76 видно, что даже маленькие скорости нагрева не позволяют избежать резкого увеличения объема композита (полимер/порошок), связанного с удалением органических компонентов из материала. Подобное увеличение объема в ходе термической обработки негативно влияет на микроструктуру будущего образца, образуя большое количество трещин, что может привести к полному разрушению синтезируемого образца. Использование рассчитанной температурной программы (рис. 4.75) позволяет контролируемо удалять органические компоненты без повреждения микроструктуры изготавливаемого образца.

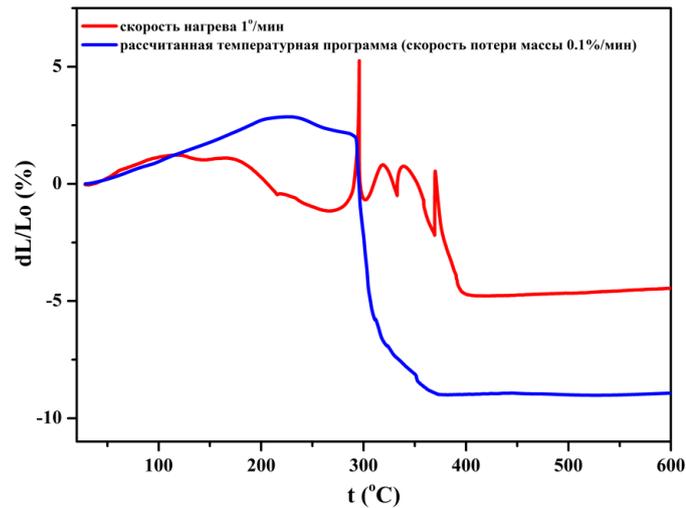


Рис. 4.76. Данные дилатометрии для композитов (светоотвержденный полимер/порошок ТКФ) при разной скорости нагрева. Красный график соответствует дилатограмме при скорости нагрева равной 1°/мин. Синий график соответствует дилатограмме с температурной программой, представленной на рис 4.75

После удаления органической составляющей порошки смешанных фосфатов кальция подвергали процессу спекания. На рис. 4.77-79 представлены керамические каркасы с заданной архитектурой на основе смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов.

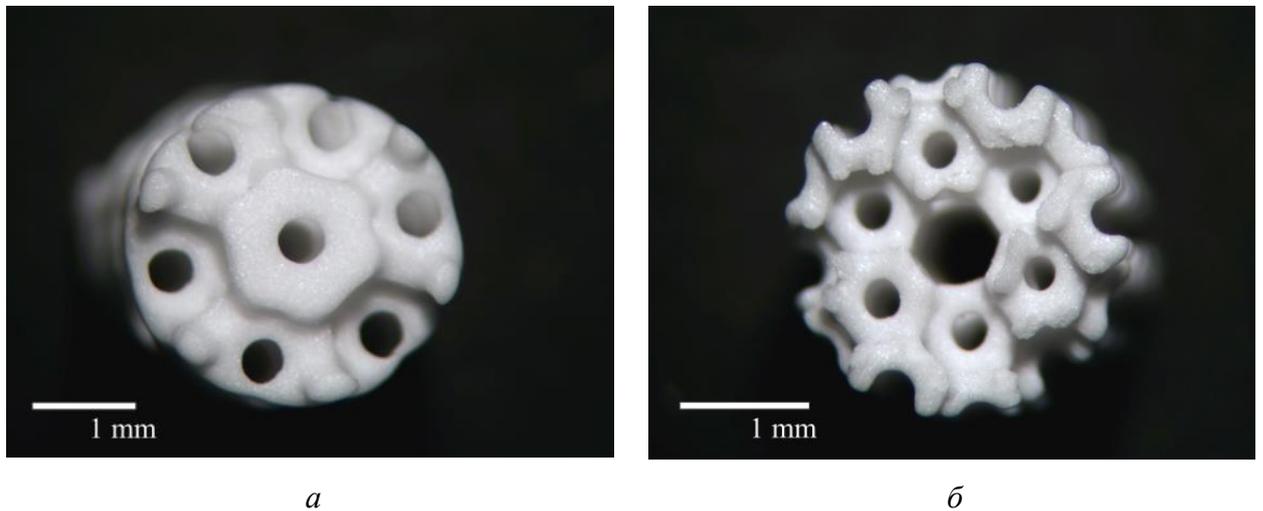


Рис. 4.77. Фотография керамического каркаса цилиндрической формы со структурой Кельвина вдоль направления [111]. *a* - диаметр пор 750 мкм; *б* - диаметр пор 500 мкм.

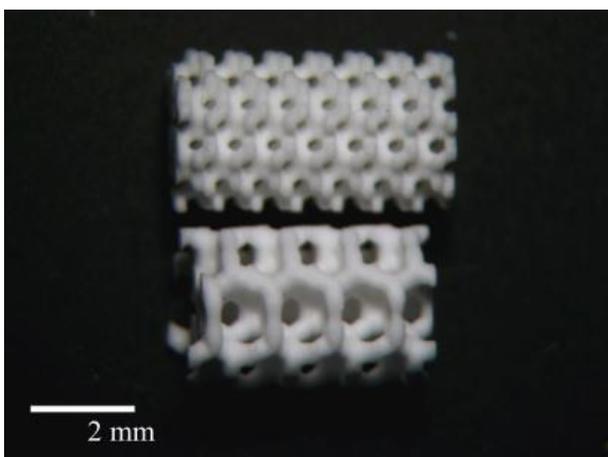


Рис. 4.78. Сравнение керамических каркасов с одинаковой пористостью (>70%), но разным диаметром пор (500 мкм и 750 мкм).

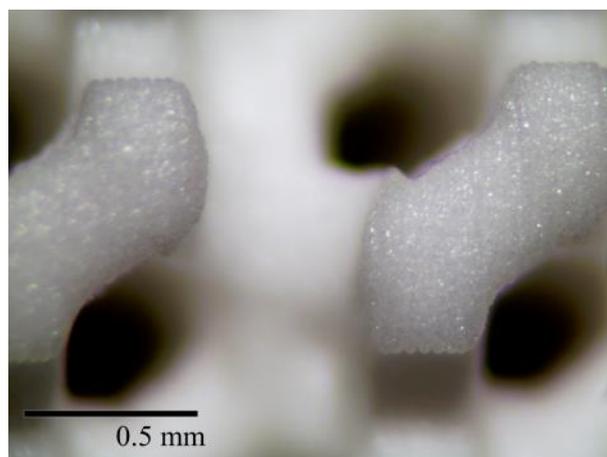


Рис. 4.79. Фотография послойного строения керамического каркаса, полученного методом стереолитографии.

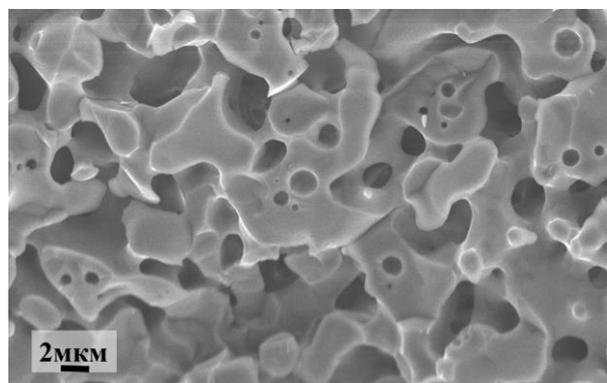
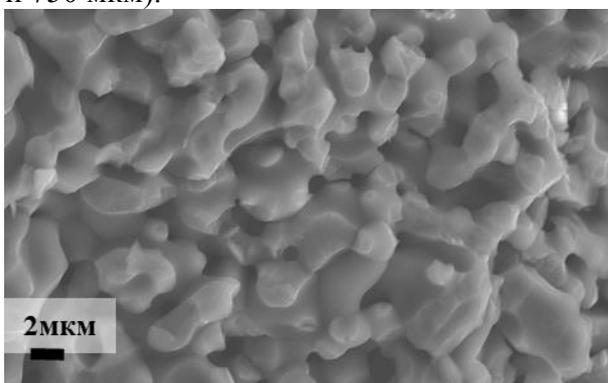


Рис. 4.80. Сравнение микроструктуры керамических материалов, сформованных методом одноосного прессования (левая микрофотография) и стереолитографией (правая)

В результате процесса спекания геометрические размеры каркасов и их пор уменьшились на ~10%. Полученные данные соответствует дилатометрическим измерениям проведенных на керамических материалах полученных методом одноосного прессования. Толщина слоя керамического каркаса также уменьшилась и составила ~30 мкм. Из рис. 4.80 видно, что микроструктура образцов полученных с помощью технологии стереолитографии не отличается от микроструктуры материалов полученных методом прессования.

На рис. 4.81 представлены результаты измерения напряжения при сжатии керамических материалов на основе смешанных фосфатов кальция и щелочных металлов, на примере $\text{Ca}_{2,3}\text{K}_{1,4}(\text{PO}_4)_2$. Прочностные характеристики керамических материалов с заданной архитектурой Кельвина, полученные с помощью метода стереолитографии, как минимум, на три порядка величины превосходят прочность керамики, полученной с использованием репликации ППУ и почти на два порядка – полученных с помощью заполнения полимерных форм. Поведение такой керамики при нагружении соответствует сплошному твердому телу.

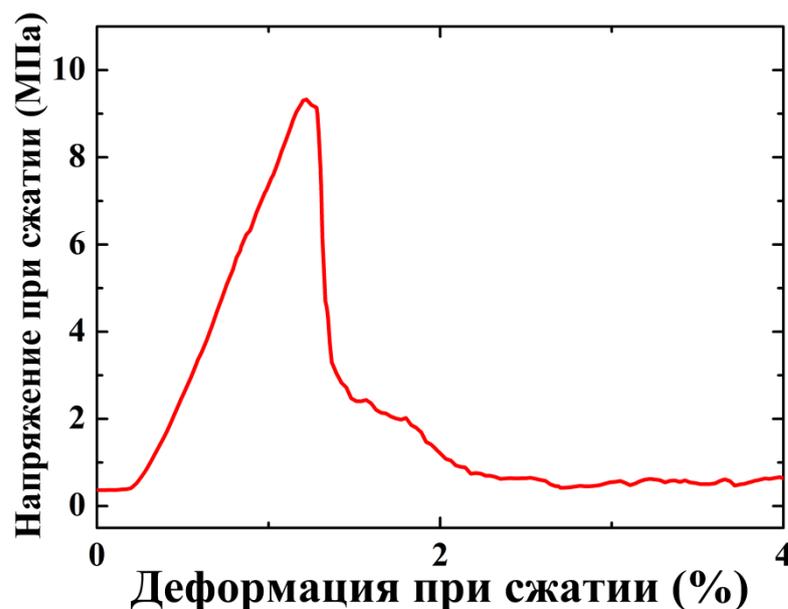


Рис. 4.81 Зависимость напряжения при сжатии от деформации для керамического материала на основе $\text{Ca}_{2,3}\text{K}_{1,4}(\text{PO}_4)$ полученного с помощью метода стереолитографии.

Таблица 4.12. Сравнение максимальных значений прочностных характеристик при сжатии макропористых керамических материалов на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ (M=Na, K), полученных различными методиками

Метод получения макропористой керамики		
ПШУ	FFF	Стереолитография
0,01 МПа	0,22 МПа	10 МПа

4.4. Растворимость образцов макропористой керамики на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$

Растворимость полученных макропористых керамических материалов с заданной архитектурой исследовали в средах с различными значениями pH, которые задавались различными концентрациями лимонной кислоты. Для выбора значения pH (которое в течение всего опыта поддерживалось автотитратором путем добавления лимонной кислоты), соотношения массы навески образца к объему раствора (которое фактически задает концентрацию ионов кальция и фосфат-иона) предварительно было проведено термодинамическое моделирование ионных равновесий в растворах (рис. 4.82), содержащих Ca^{2+} , PO_4^{3-} и цитратный анион cit^{3-} при различных pH. Экспериментально было установлено, что при поддержании pH=4 растворение идет столь быстро, что не удастся дифференцировать образцы различных составов друг от друга, при pH=6 растворение происходит крайне медленно. Для дальнейших опытов было выбрано значение pH=5, тем более, что это значение попадает в диапазон кислотности среды, создаваемой остеокластами при резорбции кости в организме. Для оценки диапазонов концентрации ионов (которые задают отношение масса навески/объем раствора) были построены диаграммы преимущественных форм существования кальция в растворе в

координатах $\lg[\text{cit}^{3-}] - \text{pH}$ при различных концентрациях ионов с условием $\text{Ca/P}=1.5$ (рис. 4.82).

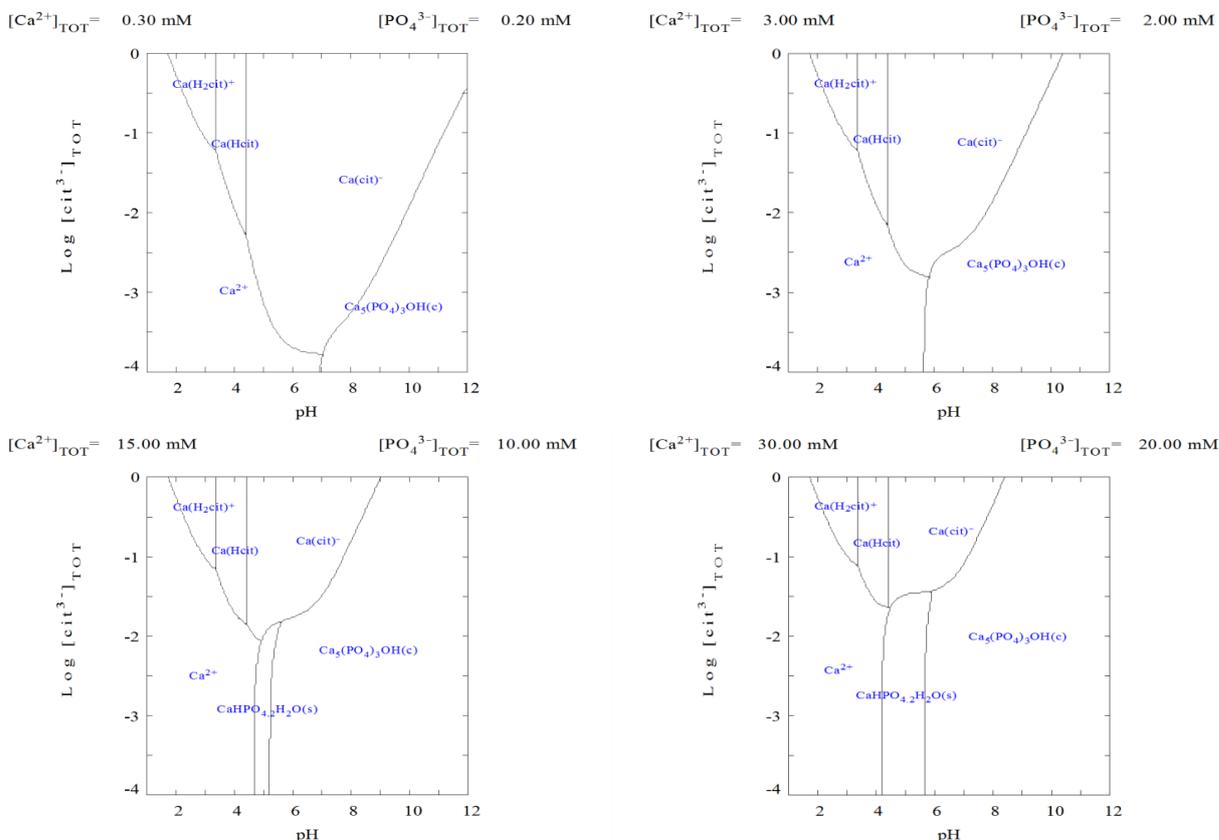


Рис. 4.82. Диаграммы преимущественных форм существования кальция в растворе в координатах $\lg[\text{cit}^{3-}] - \text{pH}$ при различных концентрациях ионов с условием $\text{Ca/P}=1.5$

Видно, что для конгруэнтного растворения (отсутствие твердой фазы иного состава, например, брусита $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) концентрация Ca должна быть менее 15 ммоль. В экспериментах масса навесок выбиралась так, чтобы после растворения концентрация составила бы примерно 3 ммоль, при этом основная часть кальция находится в форме комплексов $\text{Ca}(\text{cit})^-$ и $\text{Ca}(\text{Hcit})^0$ (рис. 4.83-84).

Для исключения внешнедиффузионных затруднений (и, тем самым, зависимости от гидродинамических условий при перемешивании раствора) макропористые керамики были несильно размолоты в ступке.

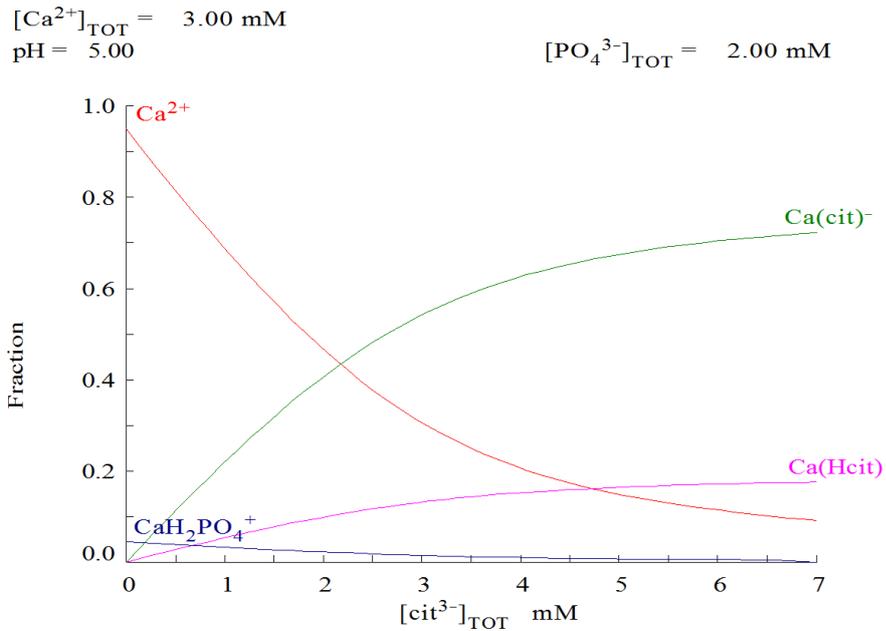


Рис. 4.83. Диаграмма изменения соотношения преимущественных форм существования кальция в растворе при различных концентрациях цитратного иона

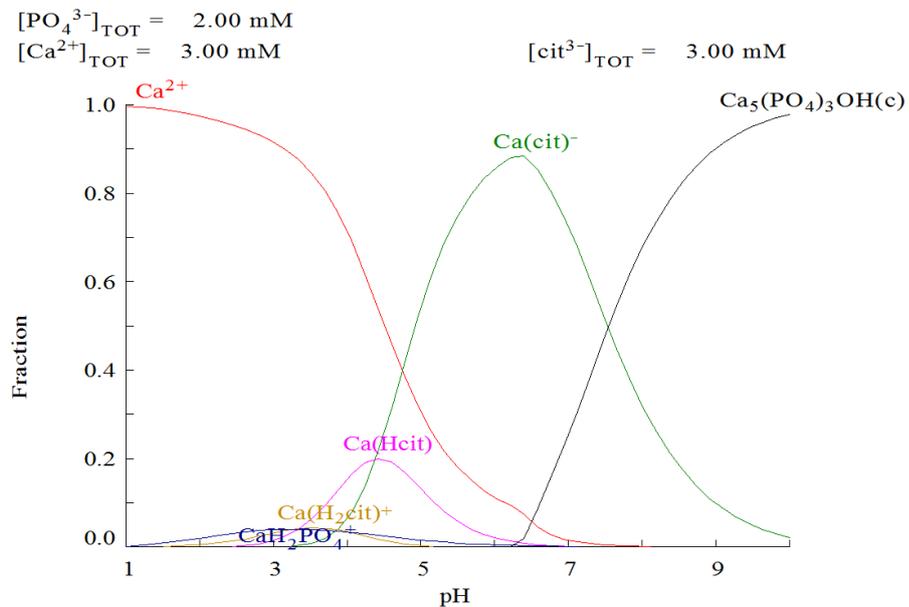


Рис. 4.84. Диаграмма изменения соотношения преимущественных форм существования кальция в растворе при различных значениях рН

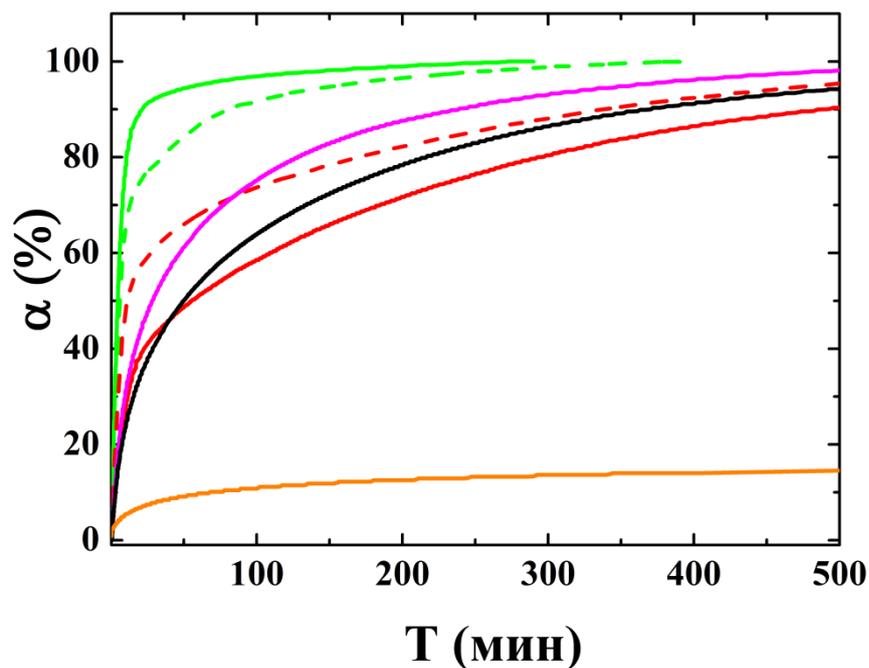


Рис. 4.85. Кинетика растворения порошков ГА (оранжевый график), β -ТКФ (черный график), α -ТКФ (фиолетовый график), $\text{Ca}_{2.5}\text{Na}(\text{PO}_4)_2$ (зеленый график), $\text{Ca}_{2.4}\text{Na}_{1.2}(\text{PO}_4)_2$. Сплошная линия соответствует образцам, который были получены путем медленного охлаждения, пунктирная линия – образцы полученные путем закалки на воздухе с 1200°C .

Из кинетических кривых растворения видно, что керамика с наибольшим содержанием высокотемпературной фазы натриевого ренанита – фазы «А» ($x=0.5$) растворяется быстрее по сравнению с ГА, ТКФ и другими двойными фосфатами кальция и натрия (рис. 4.85). Закаленные образцы растворяются быстрее, поскольку содержат большее количество высокотемпературных фаз. Причем растворимость материала на основе натриевого ренанита с $x=0.5$ превышает растворимость высокотемпературной фазы α -ТКФ, на основании этого факта можно предположить, что данный состав должен обладать лучшими свойствами биорезорбируемости. Этот вывод соответствует термодинамической оценке растворимости, сделанной в предыдущем разделе.

Растворимость керамических образцов на основе калиевого ренанита обусловлена наличием высокотемпературной фазы α -СаКРО₄ (рис. 4.86). В образцах на основе двойных фосфатов кальция и калия при x близких к 0.5 преобладает наличие фазы X, которую имеет структурный тип апатита и наихудшую среди фаз этой системы растворимость по термодинамической оценке, сделанной ранее. Это приводит к уменьшению скорости растворения данных материалов, по сравнению с натриевыми аналогами. Однако, при увеличении содержания катиона калия в подобных структурах происходит уменьшение содержания высокотемпературной фазы X ($\text{Ca}_8\text{K}_2(\text{PO}_4)_6$) и увеличение содержания высокотемпературной фазы α -СаКРО₄, что приводит к увеличению растворимости

керамических образцов на основе калиевого ренанита. Закаленные образцы, которые содержат больше апатитной фазы X, растворяются медленнее, чем незакаленные.

В целом, несмотря на потенциально высокую растворимость соединений калиевой системы, образцы с повышенным содержанием калия представляют композиты типа X/ α -CaKPO₄. Неоднородное растворение таких композитов приводит, по-видимому, к возникновению внутридиффузионных затруднений, в результате чего скорость их растворения ниже, чем у натриевых образцов. Таким образом, в соответствии с кинетикой растворения реальных образцов керамики можно выстроить следующий ряд:

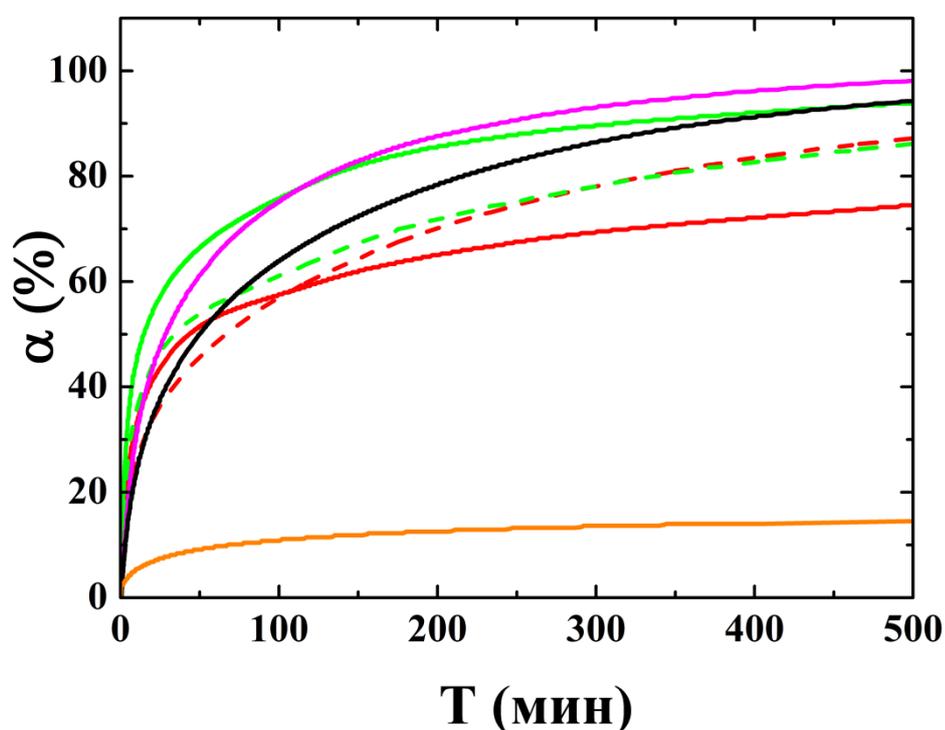
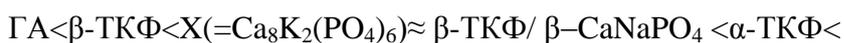


Рис. 4.86 Кинетика растворения порошков ГА (оранжевый график), β -ТКФ (черный график), α -ТКФ (фиолетовый график), $\text{Ca}_{2,4}\text{K}_{1,2}(\text{PO}_4)_2$ (зеленый график), $\text{Ca}_{2,3}\text{K}_{1,4}(\text{PO}_4)_2$ (синий график). Сплошная линия соответствует образцам, который были получены путем медленного охлаждения, пунктирная линия – образцы полученные путем закалки на воздухе с 1200°C .

4.5. Биологические испытания *in vitro* и *in vivo* образцов макропористой керамики на основе $\text{Ca}_{(3-x)}\text{M}_{2x}(\text{PO}_4)_2$

Результаты исследования цитосовместимости данных образцов биоматериалов приведены в таблице 4.13. Выявлено, что данные материалы не токсичны для клеток, т.к. активно поддерживают колонизацию поверхности в динамике культивирования. Величина ПЖК на опытных образцах материалов 67,1 и 55,7 % по сравнению с контролем

свидетельствует не об их цитотоксичности, а объясняется, по нашему мнению, сложностью равномерного высева клеток на поверхность без потери части их через поровые пространства. О наличии выраженных матричных свойств поверхности биоматериалов свидетельствует величина прироста клеток в контроле и опыте (табл. 4.14)

Таблица 4.13. Величина оптической плотности раствора формазана (МТТ-тест, усл.ед.) и ПЖК (в %, относительно контроля I) при культивировании ФЧ на полистироле (агароза -), (контр.1), на полистироле (агароза +) (контр.2) и керамических образцах трехмерных конструкций β -ТСР (опыт) и $\text{Ca}_{2,5}\text{Na}(\text{PO}_4)_2$ (опыт) в динамике наблюдения

Контроль кл./ Образец	Оптическая плотность раствора формазана (МТТ-тест, усл.ед.) и ПЖК (в %, относительно контроля I) при культивировании ФЧ на полистироле, слой агарозе и материале (опыт) в динамике (сутки)			
	1	4	7	11
Контр. I (полистирол без агарозы)	0,070±0,003	0,161±0,008	0,370±0,016	0,773±0,018
Контр. II (полистирол без агарозы)	0,018±0,005* 25,7	0,021±0,002* 13,0	0,030±0,002* 8,1	0
Опыт - β-ТСР (лунки с агарозой)	0,047±0,004* 67,1	0,083±0,003* 51,6	0,265±0,020* 71,6	0,569±0,012* 73,6
Опыт - $\text{Ca}_{2,5}\text{Na}(\text{PO}_4)_2$ (лунки с агарозой)	0,039±0,002* 55,7	0,084±0,005* 52,2	0,247±0,025* 66,8	0,472±0,010* 61,1

Таблица 4.14. Скорость прироста популяции ФЧ (в %) при культивировании их на керамических конструкциях с заданной архитектурой в динамике

Контроль кл./Образец	Скорость прироста популяции ФЧ (в %)			
	1 сут	4vs1	7vs4	11vs7
Контр. I (полистирол без агарозы)	100	230,0	359,8	468,7
Опыт - β-ТСР (лунки с агарозой)	100	176,6	395,9	510,6
Опыт - $\text{Ca}_{2,5}\text{Na}(\text{PO}_4)_2$ (лунки с агарозой)	100	215,4	409,4	500,5

Следует отметить, что импрегнация макропористой керамики (конструктов) клетками представляет собой отдельную задачу. Наслоение клеток сверху приводит к тому, что большая часть из них прикрепляется не к конструкту, а по дну адгезивной полистироловой платы. Были апробированы разные варианты наслоения клеток (табл. 4.15) и выбран оптимальный (№ 5), обеспечивающий заселение конструкта клетками и их пролиферацию.

Таблица 4.15. Апробированные варианты наслоения клеток (фибробластов, мультипотентных мезинхимальных стромальных клеток) на керамические материалы со структурой Кельвина

	Вариант наслоения	Результат
1	Капельное наслоение клеток сверху на влажные конструкты	Большая часть клеток – на дне плашки
2	Импрегнация клетками в роллерной установке	Снижение жизнеспособности клеток
3	Неадгезивное покрытие дна платы 1% агарозой	Увеличение числа клеток на конструкте
4	Капельное наслоение клеток сверху на сухие конструкты, стоящие на плате, обработанной 1% агарозой	+ +
5	Капельное наслоение клеток сверху на сухие конструкты с непористым дном, стоящие на плате, обработанной 1% агарозой	+ + +



Рис. 4.87. Прирост иммортализованной культуры фибробластов человека на керамических образцах с заданной структурой Кельвина (форма - цилиндр "с дном") на основе β-ТКФ

Хорошие адгезивные (для клеток) свойства поверхности конструкта подтверждаются фотодокументированными данными (рис. 4.88) На оптических фотографиях видно, что фибробласты постепенно заселяют всю поверхность керамических образцов с заданной архитектурой.

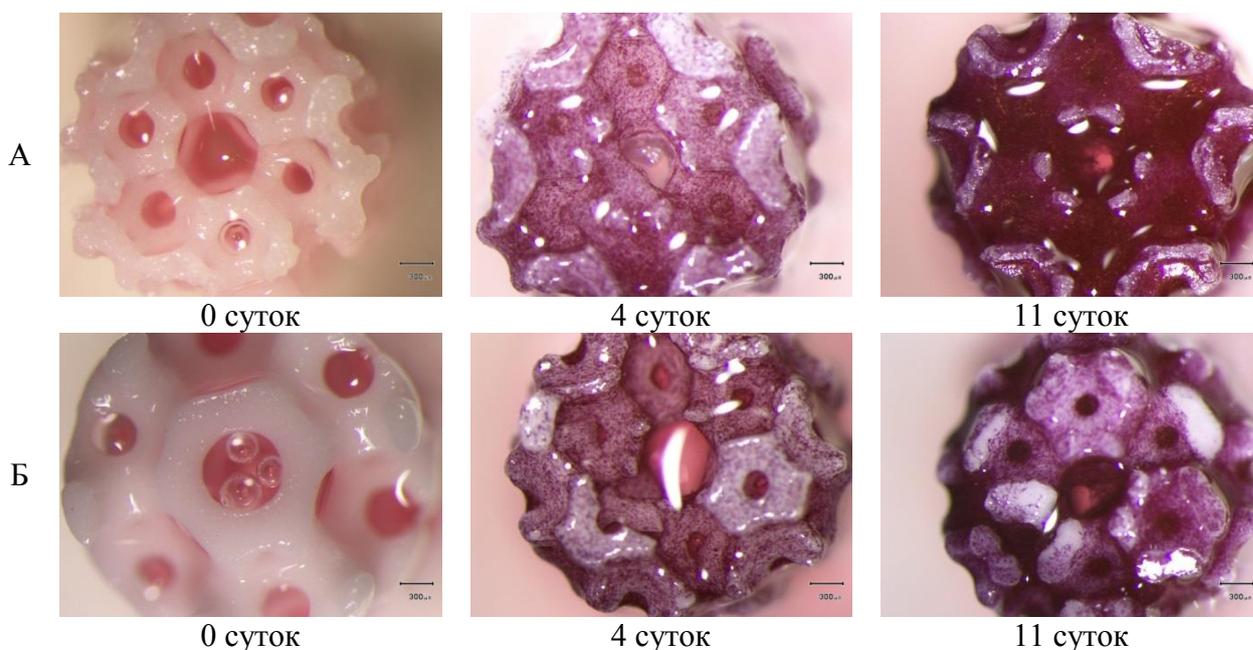


Рис. 4.88. Заселение керамических материалов с заданной архитектурой Кельвина на основе β -ТКФ (А) и $\text{Ca}_{2.5}\text{Na}(\text{PO}_4)_2$ (Б) фибробластами человека *in vitro*

Результаты исследования биосовместимости конструкторов на основе β -ТКФ (типа «Кельвин») под кожей мышей представлены на рис. 4.89. Из рис. 4.89 видно, что недокальцинированный фрагмент 3D конструкции окружен тонким ободком правильно организованной соединительной ткани. Окружающие имплантат ткани интактны: реакции воспаления и отторжения отсутствуют. Таким образом, исследуемый материал следует признать биосовместимым.

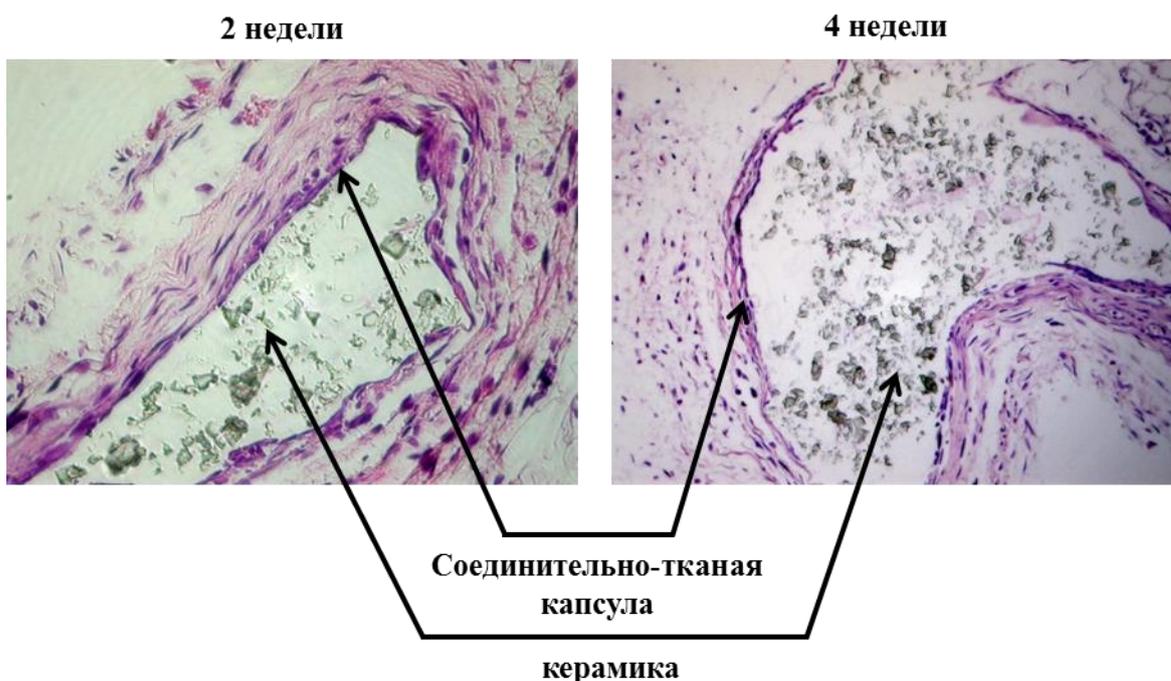


Рис. 4.89. Гистологические срезы мягких тканей с имплантированными образцами макропористой керамики на основе β -ТКФ в модели подкожной имплантации мышам

5. Выводы.

1. Фазовые соотношения в квазибинарных разрезах $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - CaMPO_4 (где $M=\text{Na}, \text{K}$) характеризуются высокотемпературным изоморфизмом между глазеритоподобными фазами α' - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и α - CaMPO_4 . В области составов, близких к чистым компонентам, понижение температуры приводит к относительно быстрым фазовым превращениям 1-го рода деформационного характера. В области средних составов понижение температуры сопровождается катионным упорядочением высокотемпературного твердого раствора на основе α - CaMPO_4 с образованием индивидуальных фаз.

2. Основные отличия системы $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - CaKPO_4 от $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ - CaNaPO_4 заключаются:

а) в смещении невариантных равновесий в область более высоких температур;

б) в замедлении фазовых превращений, вследствие меньшей диффузионной подвижности катиона K^+ , приводящей, в частности, и к появлению полиморфизма у промежуточной фазы упорядоченного твердого раствора на основе α - CaKPO_4 ;

в) в отличной от натриевого аналога структуре низкотемпературной β - CaKPO_4 , вследствие чего превращение $\alpha \rightarrow \beta$ сопровождается меньшим изменением мольного объема, чем у натриевого аналога.

3. В керамиках на основе β - CaNaPO_4 и β - CaKPO_4 быстро протекающее полиморфное превращение вызывает образование трещин, в первом случае значительный положительный объемный эффект превращения может приводить к разрушению образцов. Для предотвращения этого явления предложено использовать материалы, содержащие высокотемпературные полиморфные модификации α - CaMPO_4 нестехиометрического состава с $\text{Ca}/M > 1$.

4. Показано, что стереолитография кальцийфосфатных суспензий позволяет получить керамические имплантаты с заданным размером макропор (от 50 мкм) и общей пористостью 70-80%. Впервые получены образцы макропористой керамики на основе двойных фосфатов кальция и щелочных металлов с архитектурой Кельвина, обеспечивающей остеокондуктивность, а также характеризующиеся достаточной механической прочностью (до 10 МПа).

5. Исследованные в работе материалы можно ранжировать следующим образом в порядке возрастания резорбируемости в нейтральных и слабокислых растворах: β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 < \text{Ca}_8\text{K}_2(\text{PO}_4)_6 \approx$ композиты β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2/\beta$ - $\text{CaNaPO}_4 < \alpha$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 < \text{компози́ты}$

α -CaKPO₄/Ca₈K₂(PO₄)₆ < композиты Ca₅Na₂(PO₄)₄/α-CaNaPO₄. Твердые растворы на основе высокотемпературного ренанита α- CaMPO₄ являются перспективным компонентом для создания резорбируемой биокерамики на его основе; значение pH водной суспензии (близкое к 8) является приемлемым для рекомендации подобных материалов к медико-биологическому применению.

6. Результаты биологических испытаний подтверждают, что материалы Ca_(3-x)M_{2x}(PO₄)₂ (x=0÷1, для M=Na и x=0÷0,7 для M=K) биосовместимы с культурой клеток фибробластов человека, не являются цитотоксичными и не содержат компонентов, затрудняющих адгезию, распластывание и пролиферативную активность фибробластов, могут применяться в работах по тканевой инженерии.

6. Список литературы.

1. Баринов С.М., Комлев В.С. Биокерамика на основе фосфатов кальция. М.: Наука, 2005. 204 с.
2. Путляев В.И., Сафронова Т.В. Новое поколение кальций фосфатных биоматериалов: роль фазового и химического состава // Стекло и керамика. 2006. № 3. С. 30-33.
3. Doremus R.H. Bioceramics // Journal of Materials Science. 1992. Т. 27, № 2. С. 285-297.
4. Suchanek W., Yoshimura M. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants // Journal of Materials Research. 1998. Т. 13, № 1. С. 94-117.
5. Hench L.L. Bioceramics // Journal of the American Ceramic Society. 1998. Т. 81, № 7. С. 1705-1728.
6. Kokubo T., Kim H.M., Kawashita M. Novel bioactive materials with different mechanical properties // Biomaterials. 2003. Т. 24, № 13. С. 2161-2175.
7. Hughes J.M., Rakovan J. The Crystal Structure of Apatite, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{OH}, \text{Cl})$ // Phosphates: Geochemical, Geobiological, and Materials Importance / Kohn M.J., Rakovan J., Hughes J.M. Washington: Mineralogical Soc America, 2002. С. 1-12.
8. Vallet-Regi M. Ceramics for Medical Applications // Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions. 2001.10.1039/b007852m № 2. С. 97-108.
9. Azrou M., Azdouz M., Manoun B., Essehli R. [и др.] Rietveld Refinements and Vibrational Spectroscopic Studies of $\text{Na}_{1-x}\text{K}_x\text{Pb}_4(\text{PO}_4)_3$ Lacunar Apatites ($0 \leq x \leq 1$) // Journal of Physics and Chemistry of Solids. 2011. Т. 72, № 11. С. 1199-1205.
10. Каназава Т. Неорганические фосфатные материалы. Киев: Наукова думка, 1998. 17-109 с.
11. Eanes E.D. Thermochemical Studies on Amorphous Calcium Phosphate // Calcified Tissue Research. 1970. Т. 5, № 2. С. 133-145.
12. LeGeros R.Z. Properties of osteoconductive biomaterials: Calcium phosphates // Clinical Orthopaedics and Related Research. 2002. № 395. С. 81-98.
13. Orlovskii V.P., Komlev V.S., Barinov S.M. Hydroxyapatite and hydroxyapatite-based ceramics // Inorganic Materials. 2002. Т. 38, № 10. С. 973-984.
14. Ritzoulis C., Scoutaris N., Papademetriou K., Stavroulias S. [и др.] Milk protein-based emulsion gels for bone tissue engineering // Food Hydrocolloids. 2005. Т. 19, № 3. С. 575-581.
15. Dorozhkin S.V., Epple M. Biological and Medical Significance of Calcium Phosphates // Angewandte Chemie-International Edition. 2002. Т. 41, № 17. С. 3130-3146.
16. Hing K.A. Bioceramic Bone Graft Substitutes: Influence of Porosity and Chemistry // International Journal of Applied Ceramic Technology. 2005. Т. 2, № 3. С. 184-199.
17. LeGeros R.Z., Lin S., Rohanizadeh R., Mijares D. [и др.] Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications // Journal of Materials Science-Materials in Medicine. 2003. Т. 14, № 3. С. 201-209.
18. Mathew M., Schroeder L.W., Dickens B., Brown W.E. Crystal-Structure of Alpha- $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ // Acta Crystallographica Section B-Structural Science. 1977. Т. 33, № MAY13. С. 1325-1333.
19. Bian J.J., Kim D.W., Hong K.S. Microwave Dielectric Properties of $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ // Journal of the European Ceramic Society. 2003. Т. 23, № 14. С. 2589-2592.

20. Christoffersen M.R., Balic-Zunic T., Christoffersen J. Kinetics and Mechanisms of Dissolution and Growth of Acicular Triclinic Calcium Pyrophosphate Dihydrate Crystals // *Crystal Growth & Design*. 2002. T. 2, № 6. C. 567-571.
21. Wagh A.S., Jeong S.Y. Chemically bonded phosphate ceramics: I, A dissolution model of formation // *Journal of the American Ceramic Society*. 2003. T. 86, № 11. C. 1838-1844.
22. Safronova T.V., Putlyaev V.I., Shekhirev M.A., Kuznetsov A.V. Composite ceramic containing a bioresorbable phase // *Glass and Ceramics*. 2007. T. 64, № 3-4. C. 102-106.
23. Ben Amara M., Vlasse M., Leflem G., Hagenmuller P. Structure of the Low-Temperature Variety of Calcium Sodium Ortho-Phosphate, NaCaPO_4 // *Acta Crystallographica Section C-Crystal Structure Communications*. 1983. T. 39, № NOV. C. 1483-1485.
24. Bredig M.A. Isomorphism and Allotropy in Compounds of the Type A_2XO_4 // *Journal of Physical Chemistry*. 1942. T. 46, № 6. C. 747-764.
25. Ben Amara M., Olazcuaga R., Leflem G., Vlasse M. Crystal-Structure of Cadmium Sodium Ortho-Phosphate $\text{Cd}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ // *Acta Crystallographica Section B-Structural Science*. 1979. T. 35, № JUL. C. 1567-1569.
26. Ben Amara M., Vlasse M., Olazcuaga R., Le Flem G. [*u dp.*] Structure de l'Orthophosphate Triple de Magnesium et de Sodium, $\text{NaMg}_4(\text{PO}_4)_3$ // *Acta Crystallographica Section C*. 1983. T. 39, № 8. C. 936-939.
27. Kolsi A.W., Quarton M., Freundlich W. Crystal-Structure of NaBaPO_4 // *Journal of Solid State Chemistry*. 1981. T. 36, № 1. C. 107-111.
28. Knotts R.M., Jalota S., Bhaduri S.B., Tas A.C. Synthesis of Rhenanite (Beta- NaCaPO_4)-Apatitic Calcium Phosphate Biphasics for Skeletal Repair // *Advances in Bioceramics and Porous Ceramics / Narayan R., Colombo P., 2009*. C. 151-164.
29. Spencer L.J. Fifteenth list of new mineral name // *Min. Mag.* 1940. T. 25. C. 621-660.
30. Frank H.H., Bredig M.A., Kanert E. Untersuchungen Über Kalk-Alkali-Phosphate. II. Über Calcium-Kalium-Phosphate // *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*. 1938. T. 237, № 1. C. 49-78.
31. Klement R., Dihn P. Lime alkali phosphates - Comments on the works with the same name by H H Franck and his co-workers // *Zeitschrift Fur Anorganische Und Allgemeine Chemie*. 1938. T. 240, № 1. C. 40-49.
32. Klement R., Steckenreiter F. Analysis of the isomorphic compensation element in alkali-earthalkali phosphates // *Zeitschrift Fur Anorganische Und Allgemeine Chemie*. 1940. T. 245, № 3. C. 236-253.
33. Berger G., Gildenhaar R., Ploska U. Rapid Resorbable, Glassy Crystalline Materials on the Basis of Calcium Alkali Orthophosphates // *Biomaterials*. 1995. T. 16, № 16. C. 1241-1248.
34. Niu J.L., Zhang Z.X., Jiang D.Z., Yang S.H. [*u dp.*] Preparation, Structure and Solubility of $\text{Ca}_2\text{KNa}(\text{PO}_4)_2$ // *Journal of Materials Science*. 2001. T. 36, № 15. C. 3805-3808.
35. Niu J.L., Zhang Z.X., Jiang D.Z. Investigation of Phase Evolution During the Formation of Calcium Potassium Sodium Orthophosphate // *Materials Chemistry and Physics*. 2002. T. 78, № 2. C. 308-312.
36. Knowles J.C., Franks K., Abrahams I. Investigation of the solubility and ion release in the glass system $\text{K}_2\text{O-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$ // *Biomaterials*. 2001. T. 22, № 23. C. 3091-3096.
37. Rokbani R. Study of the solubility diagram of $\text{H}_3\text{PO}_4\text{-KOH-Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_2\text{O}$ at 25 degrees C section $\text{CaHPO}_4\text{-KOH-H}_2\text{O}$ // *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 1998. T. 54, № 3. C. 855-861.

38. Gross K.A., Berndt C.C. Biomedical Application of Apatites // Phosphates: Geochemical, Geobiological, and Materials Importance / Kohn M.J., Rakovan J., Hughes J.M., 2002. C. 631-672.
39. Bohner M. Physical and Chemical Aspects of Calcium Phosphates Used in Spinal Surgery // European Spine Journal. 2001. T. 10. C. S114-S121.
40. DeGroot K. Medical Applications of Calciumphosphate Bioceramics // Journal of the Ceramic Society of Japan. 1991. T. 99, № 10. C. 943-953.
41. Brown P.W. Phase-Relationships in the Ternary-System CaO-P₂O₅-H₂O at 25-Degrees-C // Journal of the American Ceramic Society. 1992. T. 75, № 1. C. 17-22.
42. Martin R.I., Brown P.W. Phase equilibria among acid calcium phosphates // Journal of the American Ceramic Society. 1997. T. 80, № 5. C. 1263-1266.
43. Ginebra M.P., Fernandez E., Driessens F.C.M., Planell J.A. Modeling of the Hydrolysis of Alpha-Tricalcium Phosphate // Journal of the American Ceramic Society. 1999. T. 82, № 10. C. 2808-2812.
44. Везер В. Фосфор и его соединения. М.: Издательство научной литературы, 1962.
45. Li Y.B., Zhang X.D., deGroot K. Hydrolysis and phase transition of alpha-tricalcium phosphate // Biomaterials. 1997. T. 18, № 10. C. 737-741.
46. Ando J. Phase Diagrams of Ca₃(PO₄)₂-Mg₃(PO₄)₂ and Ca₃(PO₄)₂-CaNaPO₄ Systems // Bulletin of the Chemical Society of Japan. 1958. T. 31, № 2. C. 201-205.
47. Ando J., Matsuno S. Ca₃(PO₄)₂-CaNaPO₄ System // Bulletin of the Chemical Society of Japan. 1968. T. 41, № 2. C. 342-+.
48. Handbook of Advanced Ceramics: Materials, Applications, Processing, and Properties, 2nd Edition. Handbook of Advanced Ceramics: Materials, Applications, Processing, and Properties, 2nd Edition. / Под ред. Somiya S. San Diego: Elsevier Academic Press Inc, 2013. Handbook of Advanced Ceramics: Materials, Applications, Processing, and Properties, 2nd Edition. 1-1229 с.
49. Studart A.R., Gonzenbach U.T., Tervoort E., Gauckler L.J. Processing Routes to Macroporous Ceramics: A Review // Journal of the American Ceramic Society. 2006. T. 89, № 6. C. 1771-1789.
50. Schwartzwalder K., Somers A.V. Method of making porous ceramic articles // Book Method of making porous ceramic articles / EditorGoogle Patents, 1963.
51. Saggio-Woyansky J., Scott C.E., Minnear W.P. Processing of Porous Ceramics // American Ceramic Society Bulletin. 1992. T. 71, № 11. C. 1674-1682.
52. Sepulveda P. Gelcasting Foams for Porous Ceramics // American Ceramic Society Bulletin. 1997. T. 76, № 10. C. 61-65.
53. Gibson L.J., Ashby M.F. Cellular Solids: Structure and Properties. Cambridge University Press, 1999.
54. Luyten J., Thijs I., Vandermeulen W., Mullens S. [u dp.] Strong ceramic foams from polyurethane templates // Advances in Applied Ceramics. 2005. T. 104, № 1. C. 4-8.
55. Pu X.P., Liu X.J., Qiu F.G., Huang L.P. Novel Method to Optimize the Structure of Reticulated Porous Ceramics // Journal of the American Ceramic Society. 2004. T. 87, № 7. C. 1392-1394.
56. Brown D.D., Green D.J. Investigation of Strut Crack Formation in Open Cell Alumina Ceramics // Journal of the American Ceramic Society. 1994. T. 77, № 6. C. 1467-1472.
57. Zhu X.W., Jiang D.L., Tan S.H., Zhang Z.Q. Improvement in the strut thickness of reticulated porous ceramics // Journal of the American Ceramic Society. 2001. T. 84, № 7. C. 1654-1656.

58. Lange F.F., Miller K.T. Open-Cell, Low-Density Ceramics Fabricated From Reticulated Polymer Substrates // *Advanced Ceramic Materials*. 1987. T. 2, № 4. C. 827-831.
59. White R.A., White E.W., Weber J.N. Replamineform - New Process for Preparing Porous Ceramic, Metal, and Polymer Prosthetic Materials // *Science*. 1972. T. 176, № 4037. C. 922-&.
60. Roy D.M., Linnehan S.K. Hydroxyapatite Formed From Coral Skeletal Carbonate by Hydrothermal Exchange // *Nature*. 1974. T. 247, № 5438. C. 220-222.
61. Hu J., Russell J.J., Ben-Nissan B., Vago R. Production and Analysis of Hydroxyapatite From Australian Corals via Hydrothermal Process // *Journal of Materials Science Letters*. 2001. T. 20, № 1. C. 85-87.
62. Ota T., Takahashi M., Hibi T., Ozawa M. [*u dp.*] Biomimetic Process for Producing SiC "Wood" // *Journal of the American Ceramic Society*. 1995. T. 78, № 12. C. 3409-3411.
63. Colombo P., Bernardo E., Biasetto L. Novel Microcellular Ceramics From a Silicone Resin // *Journal of the American Ceramic Society*. 2004. T. 87, № 1. C. 152-154.
64. Lyckfeldt O., Ferreira J.M.F. Processing of porous ceramics by 'starch consolidation' // *Journal of the European Ceramic Society*. 1998. T. 18, № 2. C. 131-140.
65. Fitzgerald T.J., Michaud V.J., Mortensen A. Processing of Microcellular SiC Foams. 2. Ceramic Foam Production // *Journal of Materials Science*. 1995. T. 30, № 4. C. 1037-1045.
66. Hotta Y. Silica Honeycomb-Crystal Structure Prepared by Fabrication of Silica-Coated Particles // *Eco-Materials Processing & Design* / Kim H.S., Park S.Y., Lee S.W. Zurich-Uetikon: Trans Tech Publications Ltd, 2003. C. 186-191.
67. Bouler J.M., Trecant M., Delecrin J., Royer J. [*u dp.*] Macroporous Biphasic Calcium Phosphate Ceramics: Influence of Five Synthesis Parameters on Compressive Strength // *Journal of Biomedical Materials Research*. 1996. T. 32, № 4. C. 603-609.
68. Toberer E.S., Weaver J.C., Ramesha K., Seshadri R. Macroporous monoliths of functional perovskite materials through assisted metathesis // *Chemistry of Materials*. 2004. T. 16, № 11. C. 2194-2200.
69. Kim H., da Rosa C., Boaro M., Vohs J.M. [*u dp.*] Fabrication of highly porous yttria-stabilized zirconia by acid leaching nickel from a nickel-yttria-stabilized zirconia cermet // *Journal of the American Ceramic Society*. 2002. T. 85, № 6. C. 1473-1476.
70. Miyagawa N., Shinohara N. Fabrication of porous alumina ceramics with uni-directionally-arranged continuous pores using a magnetic field // *Journal of the Ceramic Society of Japan*. 1999. T. 107, № 7. C. 673-677.
71. Wang H., Sung I., Li X., Kim D. Fabrication of Porous SiC Ceramics with Special Morphologies by Sacrificing Template Method // *Journal of Porous Materials*. 2004. T. 11, № 4. C. 265-271.
72. Colombo P., Hellmann J.R. Ceramic Foams From Pre ceramic Polymers // *Materials Research Innovations*. 2002. T. 6, № 5-6. C. 260-272.
73. Colombo P., Bernardo E. Macro- and Micro-Cellular Porous Ceramics From Pre ceramic Polymers // *Composites Science and Technology*. 2003. T. 63, № 16. C. 2353-2359.
74. Cima M.J., Meeting A.C.S. Forming Science and Technology for Ceramics. American Ceramic Society, 1992.
75. Frisch K., Wood L., Messina P. Method of Preparing Porous Ceramic Structures by Firing a Polyurethane Foam That is Impregnated with Inorganic Material // *Book Method of Preparing Porous Ceramic Structures by Firing a Polyurethane Foam That is Impregnated with Inorganic Material* / Editor, 1974.

76. Du Z.P., Bilbao-Montoya M.P., Binks B.P., Dickinson E. [*u dp.*] Outstanding Stability of Particle-Stabilized Bubbles // *Langmuir*. 2003. T. 19, № 8. C. 3106-3108.
77. Dickinson E., Ettelaie R., Kostakis T., Murray B.S. Factors Controlling the Formation and Stability of Air Bubbles Stabilized by Partially Hydrophobic Silica Nanoparticles // *Langmuir*. 2004. T. 20, № 20. C. 8517-8525.
78. Binks B.P., Horozov T.S. Aqueous Foams Stabilized Solely by Silica Nanoparticles // *Angewandte Chemie-International Edition*. 2005. T. 44, № 24. C. 3722-3725.
79. Gonzenbach U.T., Studart A.R., Tervoort E., Gauckler L.J. Stabilization of Foams with Inorganic Colloidal Particles // *Langmuir*. 2006. T. 22, № 26. C. 10983-10988.
80. Jones A.C., Arns C.H., Sheppard A.P., Hutmacher D.W. [*u dp.*] Assessment of Bone Ingrowth Into Porous Biomaterials Using Micro-CT // *Biomaterials*. 2007. T. 28, № 15. C. 2491-2504.
81. Hollister S.J. Porous Scaffold Design for Tissue Engineering // *Nat Mater*. 2005. T. 4, № 7. C. 518-524.
82. Holman R.K., Cima M.J., Uhlund S.A., Sachs E. Spreading and Infiltration of Inkjet-Printed Polymer Solution Droplets on a Porous Substrate // *Journal of Colloid and Interface Science*. 2002. T. 249, № 2. C. 432-440.
83. Will J., Melcher R., Treul C., Travitzky N. [*u dp.*] Porous ceramic bone scaffolds for vascularized bone tissue regeneration // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2008. T. 19, № 8. C. 2781-2790.
84. Curodeau A., Sachs E., Caldarise S. Design and Fabrication of Cast Orthopedic Implants with Freeform Surface Textures From 3-D Printed Ceramic Shell // *Journal of Biomedical Materials Research*. 2000. T. 53, № 5. C. 525-535.
85. Leukers B., Gülkan H., Irsen S., Milz S. [*u dp.*] Hydroxyapatite Scaffolds for Bone Tissue Engineering Made by 3D Printing // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2005. T. 16, № 12. C. 1121-1124.
86. Darling A.L., Sun W. 3D Microtomographic Characterization of Precision Extruded Poly- ϵ -Caprolactone Scaffolds // *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2004. T. 70B, № 2. C. 311-317.
87. Zein I., Hutmacher D.W., Tan K.C., Teoh S.H. Fused Deposition Modeling of Novel Scaffold Architectures for Tissue Engineering Applications // *Biomaterials*. 2002. T. 23, № 4. C. 1169-1185.
88. Schantz J.T., Brandwood A., Hutmacher D.W., Khor H.L. [*u dp.*] Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Progenitor Cells in Computer Designed Fibrin-Polymer-Ceramic Scaffolds Manufactured by Fused Deposition Modeling // *J Mater Sci Mater Med*. 2005. T. 16, № 9. C. 807-819.
89. Kalita S.J., Bose S., Hosick H.L., Bandyopadhyay A. Development of controlled porosity polymer-ceramic composite scaffolds via fused deposition modeling // *Materials Science and Engineering: C*. 2003. T. 23, № 5. C. 611-620.
90. Yang S., Leong K.F., Du Z., Chua C.K. The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part II. Rapid prototyping techniques // *Tissue Eng*. 2002. T. 8, № 1. C. 1-11.
91. Choi J.-W., Wicker R., Lee S.-H., Choi K.-H. [*u dp.*] Fabrication of 3D Biocompatible/Biodegradable Micro-Scaffolds Using Dynamic Mask Projection Microstereolithography // *Journal of Materials Processing Technology*. 2009. T. 209, № 15–16. C. 5494-5503.

92. Heule M., Vuillemin S., Gauckler L.J. Powder-Based Ceramic Meso- and Microscale Fabrication Processes // *Advanced Materials*. 2003. T. 15, № 15. C. 1237-1245.
93. Melchels F.P.W., Feijen J., Grijpma D.W. A Review on Stereolithography and its Applications in Biomedical Engineering // *Biomaterials*. 2010. T. 31, № 24. C. 6121-6130.
94. Leong K.F., Cheah C.M., Chua C.K. Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs // *Biomaterials*. 2003. T. 24, № 13. C. 2363-2378.
95. Tan K.H., Chua C.K., Leong K.F., Naing M.W. [u òp.] Fabrication and characterization of three-dimensional poly(ether- ether- ketone)/-hydroxyapatite biocomposite scaffolds using laser sintering // *Proc Inst Mech Eng H*. 2005. T. 219, № 3. C. 183-194.
96. Williams J.M., Adewunmi A., Schek R.M., Flanagan C.L. [u òp.] Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering // *Biomaterials*. 2005. T. 26, № 23. C. 4817-4827.
97. Sachs E.M., Haggerty J.S., Cima M.J., Williams P.A. Three-dimensional printing techniques // *Book Three-dimensional printing techniques / EditorGoogle Patents*, 1994.
98. Butscher A., Bohner M., Doebelin N., Galea L. [u òp.] Moisture Based Three-Dimensional Printing of Calcium Phosphate Structures for Scaffold Engineering // *Acta Biomater*. 2013. T. 9, № 2. C. 5369-5378.
99. Crump S.S. Apparatus and Method for Creating Three-Dimensional Objects // *Book Apparatus and Method for Creating Three-Dimensional Objects / EditorGoogle Patents*, 1992.
100. Michna S., Wu W., Lewis J.A. Concentrated hydroxyapatite inks for direct-write assembly of 3-D periodic scaffolds // *Biomaterials*. 2005. T. 26, № 28. C. 5632-5639.
101. Miranda P., Pajares A., Guiberteau F. Finite element modeling as a tool for predicting the fracture behavior of robocast scaffolds // *Acta Biomaterialia*. 2008. T. 4, № 6. C. 1715-1724.
102. Miranda P., Pajares A., Saiz E., Tomsia A.P. [u òp.] Mechanical properties of calcium phosphate scaffolds fabricated by robocasting // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2008. T. 85A, № 1. C. 218-227.
103. Drummer D., Cifuentes-Cuéllar S., Rietzel D. Suitability of PLA/TCP for Fused Deposition Modeling // *Rapid Prototyping Journal*. 2012. T. 18, № 6. C. 500-507.
104. Tomeckova V., Halloran J.W. Flow behavior of polymerizable ceramic suspensions as function of ceramic volume fraction and temperature // *Journal of the European Ceramic Society*. 2011. T. 31, № 14. C. 2535-2542.
105. De Hazan Y., Heinecke J., Weber A., Graule T. High Solids Loading Ceramic Colloidal Dispersions in UV Curable Media via Comb-Polyelectrolyte Surfactants // *J Colloid Interface Sci*. 2009. T. 337, № 1. C. 66-74.
106. Hinczewski C., Corbel S., Chartier T. Stereolithography for the fabrication of ceramic three- dimensional parts // *Rapid Prototyping Journal*. 1998. T. 4, № 3. C. 104-111.
107. Griffith M.L., Halloran J.W. Ultraviolet Curing of Highly Loaded Ceramic Suspensions for Stereolithography of Ceramics // *SFF Symposium / Под ред. Marcus H.L., Beaman J.J., Barlow J.W. и др. Austin Texas*, 1994. C. 396-403.
108. Jacobs P.F., Reid D.T., Computer, SME. A.S.A.o. *Rapid Prototyping & Manufacturing: Fundamentals of Stereolithography*. Society of Manufacturing Engineers, 1992.
109. Sun C., Zhang X. The influences of the material properties on ceramic micro-stereolithography // *Sensors and Actuators A: Physical*. 2002. T. 101, № 3. C. 364-370.

110. Tomeckova V., Halloran J.W. Predictive models for the photopolymerization of ceramic suspensions // *Journal of the European Ceramic Society*. 2010. T. 30, № 14. C. 2833-2840.
111. Bendsoe M.P., Sigmund O. *Topology Optimization: Theory, Methods and Applications*. Springer, 2003.
112. Maquet P., Wolff J., Furlong R. *The Law of Bone Remodelling*. Springer Berlin Heidelberg, 2011.
113. Whitaker S. Flow in porous media I: A theoretical derivation of Darcy's law // *Transport in Porous Media*. 1986. T. 1, № 1. C. 3-25.
114. Katz A.J., Thompson A.H. Quantitative prediction of permeability in porous rock // *Physical Review B*. 1986. T. 34, № 11. C. 8179-8181.
115. Archie G.E. The Electrical Resistivity Log as an Aid in Determining Some Reservoir Characteristics // *Transactions of the AIME*. 1942.10.2118/942054-G.
116. Евдокимов П.В., Соин А.В., Г. В.А. Синтез и исследование сульфатзамещенного гидроксипатита // *Альтернативная энергетика и экология* 2007. Т. 45, № 1. С. 77-81.
117. Kokubo T., Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? // *Biomaterials*. 2006. T. 27, № 15. C. 2907-2915.
118. Fallon M.D. Alteration in the pH of osteoclast resorbing fluid reflects changes in bone degradative activity // *Calcif. Tissue Int.* 36, 1984. C. 458.
119. Baron R., Neff L., Louvard D., Courtoy P.J. Cell-mediated extracellular acidification and bone resorption: evidence for a low pH in resorbing lacunae and localization of a 100-kD lysosomal membrane protein at the osteoclast ruffled border // *J Cell Biol.* 1985. T. 101, № 6. C. 2210-2222.
120. Cretin A. Histochemical contribution to the study of bone construction and destruction // *Presse Med.* 1951. T. 59, № 60. C. 1240-1242.
121. Bermudez O., Boltong M.G., Driessens F.C.M., Ginebra M.P. [*in op.*] CHLORIDE-CONTAINING AND ALKALI-CONTAINING CALCIUM PHOSPHATES AS BASIC MATERIALS TO PREPARE CALCIUM-PHOSPHATE CEMENTS // *Biomaterials*. 1994. T. 15, № 12. C. 1019-1023.
122. Chung F.H. Quantitative Interpretation of X-Ray-Diffraction Patterns of Mixtures. 1. Matrix-Flushing Method for Quantitative Multicomponent Analysis // *Journal of Applied Crystallography*. 1974. T. 7, № DEC1. C. 519-525.
123. Evans A.G., Charles E.A. Fracture Toughness Determinations by Indentation // *Journal of the American Ceramic Society*. 1976. T. 59, № 7-8. C. 371-372.
124. Flora N.J., Yoder C.H., Jenkins H.D.B. Lattice energies of apatites and the estimation of $\Delta H_f^\circ(\text{PO}_4^{3-}, \text{g})$ // *Inorganic Chemistry*. 2004. T. 43, № 7. C. 2340-2345.
125. Marcus Y. THE HYDRATION ENTROPIES OF IONS AND THEIR EFFECTS ON THE STRUCTURE OF WATER // *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions I*. 1986. T. 82. C. 233-242.
126. Marcus Y. THE THERMODYNAMICS OF SOLVATION OF IONS .2. THE ENTHALPY OF HYDRATION AT 298.15-K // *Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions I*. 1987. T. 83. C. 339-349.
127. Jenkins H.D.B. Thermodynamics of the relationship between lattice energy and lattice enthalpy // *Journal of Chemical Education*. 2005. T. 82, № 6. C. 950-952.
128. Glasser L., Jenkins H.D.B. Lattice energies and unit cell volumes of complex ionic solids // *Journal of the American Chemical Society*. 2000. T. 122, № 4. C. 632-638.

129. Ozawa T. A NEW METHOD OF ANALYZING THERMOGRAVIMETRIC DATA // Bulletin of the Chemical Society of Japan. 1965. Т. 38, № 11. С. 1881-+.
130. Flynn J.H., Wall L.A. A Quick Direct Method for Determination of Activation Energy from Thermogravimetric Data // Journal of Polymer Science Part B-Polymer Letters. 1966. Т. 4, № 5PB. С. 323-&.
131. Vyazovkin S. Model-free kinetics - Staying free of multiplying entities without necessity // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. 2006. Т. 83, № 1. С. 45-51.
132. Fiquet G., Richet P., Montagnac G. High-Temperature Thermal Expansion of Lime, Periclase, Corundum and Spinel // Physics and Chemistry of Minerals. 1999. Т. 27, № 2. С. 103-111.
133. Millet J.M., Sassoulas R., Sebaoun A. Solid Reversible Solid Transitions in the CaO-Na₂O-P₂O₅ System - The Ca₃(PO₄)₂-CaNaPO₄ Subsystem // Journal of Thermal Analysis. 1983. Т. 28, № 1. С. 131-146.
134. Celotti G., Landi E. A Misunderstood Member of the Nagelschmidite Family Unveiled: Structure of Ca₅Na₂(PO₄)₄ from X-ray Powder Diffraction Data // Journal of the European Ceramic Society. 2003. Т. 23, № 6. С. 851-858.
135. Миркин Л.И. М.: Наука, Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм.
136. Крестов Г.А. Термодинамика ионных процессов в растворах. Л.: Химия, 1984.
137. Сеницына О.В., Вересов А.Г., Ковалева Е.С., Коленько Ю.В. [и др.] Получение гидроксиапатита гидролизом α- Ca₃(PO₄)₂ // Известия Академии наук. Серия химическая 2005. № 1. С. 1-8.
138. Thomson W. LXIII. On the division of space with minimum partitional area // Philosophical Magazine Series 5. 1887. Т. 24, № 151. С. 503-514.

7. Приложения

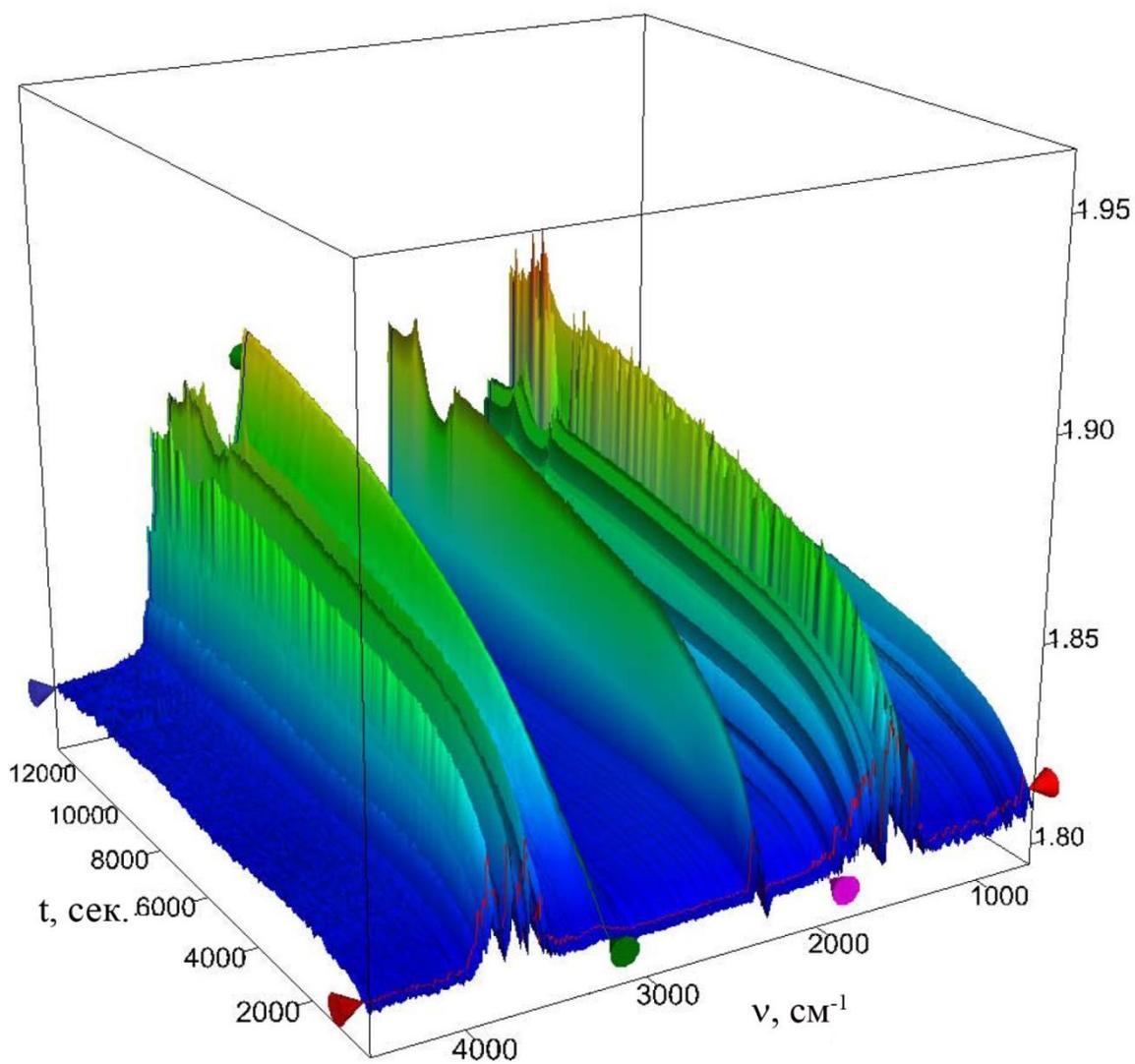


Рис. 1. Данные ИК- спектроскопии выделяющихся газов в ходе ТГ- экспериментов для образца CaNaPO_4 , полученного по реакции (4.2).

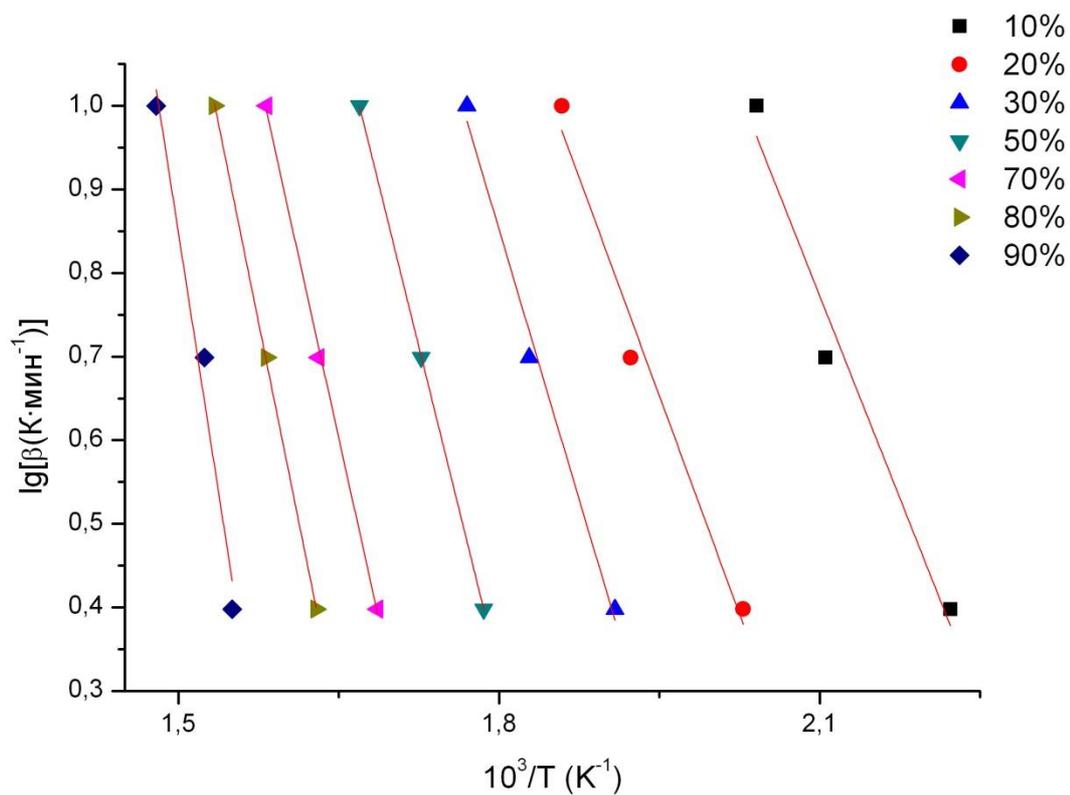


Рис. 2. Данные для расчета E_a по методу Озавы-Флинна-Уолла.

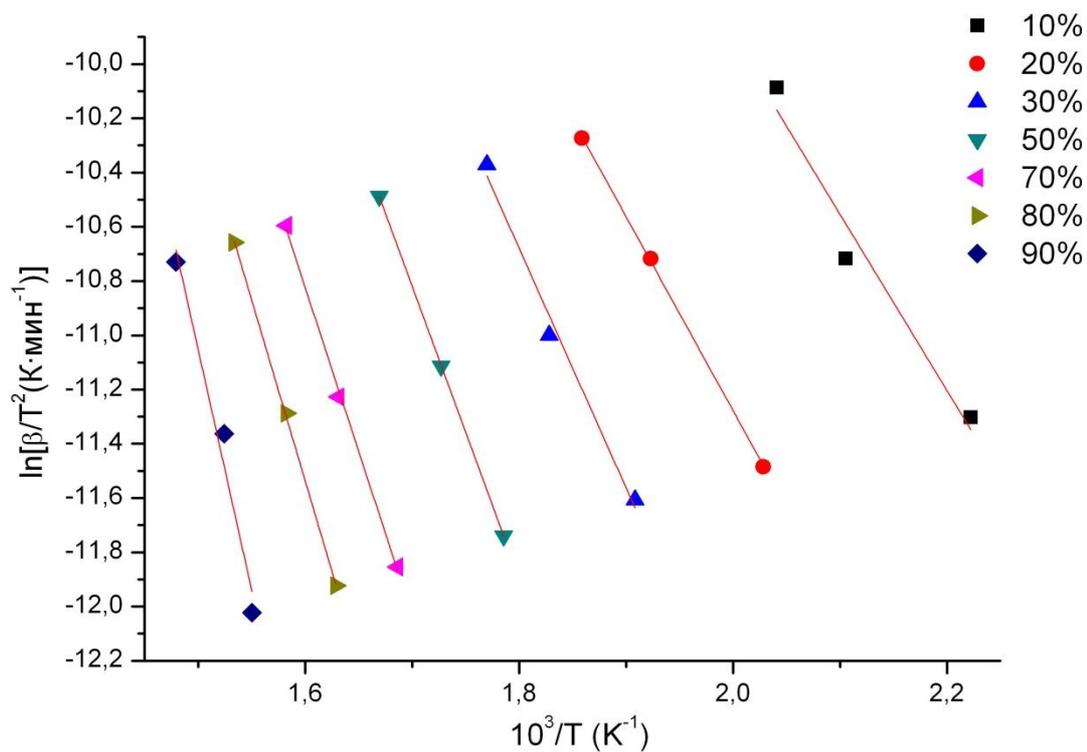


Рис. 3. Данные для расчета E_a по методу Вязовкина.

Таблица 1. Отношения фаз в образцах $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ полученных по реакции (4.1), после отжига $900^\circ\text{C}/6$ часов.

Состав	Количество, %			
	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	$\beta\text{-CaNaPO}_4$	“А”
x=0	100	0	0	0
x=0.05	100	0	0	0
x=0.1	100	0	0	0
x=0.143	95	5	0	0
x=0.2	88	5	7	0
x=0.25	86	2	12	0
x=0.5	60	0	34	6
x=0.6	42	4	41	13
x=0.7	15	0	46	39
x=0.8	0	4	60	36
x=0.9	0	4	79	17
x=1	0	0	100	0

Таблица 2. Отношения фаз в образцах $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ полученных по реакции (4.1), после отжига $900^\circ\text{C}/16$ часов.

Состав	Количество, %			
	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	$\beta\text{-CaNaPO}_4$	“А”
x=0	100	0	0	0
x=0.05	100	0	0	0
x=0.1	100	0	0	0
x=0.143	94	6	0	0
x=0.2	84	9	7	0
x=0.25	83	3	14	0
x=0.5	60	2	33	5
x=0.6	38	5	45	12
x=0.7	24	13	41	22
x=0.8	6	7	52	35
x=0.9	0	0	78	22
x=1	0	0	100	0

Таблица 3. Отношения фаз в образцах $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ полученных по реакции (4.1), после отжига $1000^\circ\text{C}/12$ часов.

Состав	Количество, %			
	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	$\beta\text{-CaNaPO}_4$	“А”
x=0.2	90	2	6	2
x=0.25	92	0	8	0
x=0.3	77	5	15	3
x=0.35	71	6	19	4
x=0.4	71	0	24	5
x=0.5	64	0	20	16
x=0.75	19	0	46	35

Таблица 4. Отношения фаз в образцах $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ полученных по реакции (4.1), после проведения ТГ экспериментов (1100°C , $5^\circ/\text{мин.}$)

Состав	Количество, %			
	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	$\beta\text{-CaNaPO}_4$	“А”
x=0	100	0	0	0
x=0.143	96	0	0	4
x=0.2	60	21	13	6
x=0.25	0	0	26	74
x=0.5	0	0	62	38
x=0.6	0	0	85	15

Таблица 5. Отношения фаз в образцах $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ полученных по реакции (4.2), после отжига $900^\circ\text{C}/20$ часов.

Состав	Количество, %			
	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$	$\beta\text{-CaNaPO}_4$	“А”
x=0	100	0	0	0
x=0.05	90	10	0	0
x=0.1	95	5	0	0
x=0.143	91	9	0	0
x=0.2	90	5	5	0
x=0.25	52	29	14	5
x=0.4	6	44	27	23
x=0.5	0	23	70	7
x=0.6	0	15	65	20
x=0.7	0	25	66	9
x=0.8	0	12	60	28
x=0.9	0	13	70	17
x=1	0	0	100	0

Таблица 6. Отношения фаз в образцах $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ полученных по реакции (4.2), после отжига $1000^\circ\text{C}/12$ часов.

Состав	Количество, %			
	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$	$\beta\text{-CaNaPO}_4$	“А”
x=0.15	100	0	0	0
x=0.2	100	0	0	0
x=0.25	88	4	8	0
x=0.35	72	9	19	0
x=0.4	68	3	23	6
x=0.5	38	15	25	22

Таблица 7. Отношения фаз в образцах $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ полученных по реакции (4.2), после проведения ТГ экспериментов (1100°C , $5^\circ/\text{мин.}$)

Состав	Количество, %			
	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$	$\beta\text{-CaNaPO}_4$	“А”
x=0.1	98	2	0	0
x=0.4	58	13	15	14
x=1	0	0	100	0

Таблица 8. Тепловые эффекты (эндотермические) проявляющиеся при дифференциальном термическом анализе образцов состава $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaNaPO}_4$.

Состав смесей	Температура эффекта, °С						
x=0.0	1183						1455
x=0.1	1108		1165		1316		
x=0.2	652	990	1145		1217	1284	1340
x=0.3	656	981	1142		1261	1285	
x=0.4	663	989	1085	1171		1222	
x=0.5	665	970	1105	1164			
x=0.6	668						
x=0.7	668	925					
x=0.8	667						
x=0.9	668						
x=1.0	680						

Таблица 9. Тепловые эффекты (эндотермические) проявляющиеся при дифференциальном термическом анализе образцов состава $(1-x)\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{CaKPO}_4$.

Состав смесей	Температура эффекта, °С			
x=0.0			1183	1455
x=0.1				1254 1261 1336
x=0.2	665		1233	1261 1329
x=0.3	664		1133	1234 1267
x=0.4	666		1139	1233
x=0.5	663		1122	1177
x=0.6	664		1124	1172
x=0.7	665		1083	
x=0.8	664		1069	
x=0.9	664		1005	
x=1.0	690			

Таблица 10. Сравнение данных полученных в эксперименте при T=1200°C с литературными и информацией из базы данных ICDD PDF-2. Образец Ca_(3-x)Na_{2x}(PO₄)₂ с x=0.4.

Данные РФА образца x=0.3, полученного при T=1200°C			Фаза "А", карточка # 11-236 базы ICDD PDF-2		Фаза "А", данные из литературы [50]			CaNaPO ₄ , карточка # 76-1456 базы ICDD PDF-2		
d[Å]	I	(hkl)	d[Å]	I	d[Å]	I	(hkl)	d[Å]	I	(hkl)
8,701	3	101			8,5	10	201			
7,259	3	102			7,03	10	202			
					5,7	10	203			
								5,4597	16	301
4,88	4	112	4,79	10	4,79	10	222			
								4,6596	8	011
3,980	60	203	3,892	80	3,892	70	403			
3,798	8	006						3,8436	53	311
								3,7988	33	302
			3,618	20	0,614	10	006			
3,487	15	211	3,445	40	3,447	40	421			
3,371	4	212	3,323	10	3,325	20	422			
3,072	8	107			3,145	10	423			
3,000	3	302			2,992	10	226			
			2,938	20	2,935	20	424			
2,943	100	206	2,845	100	2,846	100	406			
2,788	2	215						2,7463	100	611
					2,711	10	008			
								2,706	66	020
2,693	75	220	2,666	100	2,666	80	440			
								2,6595	83	013
<i>(продолжение таблицы 10.)</i>										
								2,6595	83	512
								2,6155	3	403

								2,6155	3	220
								2,5744	3	121
								2,5744	3	213
								2,515	1	221
					2,414	10	623			
2,331	3	400	2,33	20	2,338	10	408			
					2,31	10	800			
2,228	8	403	2,199	40	2,199	20	803			
								2,1172	8	422
								2,1172	8	620
								2,0892	1	404
			2,032	10	2,031	10	643			
								2,0145	31	123
								2,0145	31	314
					1,975	10	644			
			1,946	60	1,946	40	806			
								1,9218	40	622
								1,8994	10	912
								1,8994	10	604

Таблица 11. Сравнение данных полученных в эксперименте при $T=1200^{\circ}\text{C}$ с литературными и информацией из базы данных ICDD PDF-2 для $\alpha\text{-CaNaPO}_4$. Образец $\text{Ca}_{(3-x)}\text{Na}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ с $x=0.4$.

Данные РФА образца $x=0.4$, полученного при $T=1200^{\circ}\text{C}$			Фаза $\alpha\text{-CaNaPO}_4$, карточка # 74-1950 базы ICDD PDF-2		
$d[\text{\AA}]$	I	(hkl)	$d[\text{\AA}]$	I	(hkl)
3.983	58	101	3.8091	67	101
3.797	13	002	3.52	41	002
2.946	100	102	2.779	100	012
2.699	69	110	2.615	88	110
			2.347	4	003
2.336	2	200	2.265	3	200
2.232	7	201	2.156	14	201
			2.099	5	112
			2.084	6	013
1.988	28	202	1.904	20	202
1.895	6	004	1.76	1	004
1.756	2	104	1.746	9	113
1.718	1	211	1.663	1	211

Таблица 12. Сравнение данных полученных в эксперименте при $T=1250^{\circ}\text{C}$ с литературными и информацией из базы данных ICDD PDF-2 для $\alpha\text{-CaKPO}_4$. Образец $\text{Ca}_{(3-x)}\text{K}_{2x}(\text{PO}_4)_2$ с $x=0.4$.

Данные РФА образца $x=0.4$, полученного при $T=1200^{\circ}\text{C}$			Фаза $\alpha\text{-CaKPO}_4$, карточка # 74-1951 базы ICDD PDF-2		
$d[\text{\AA}]$	I	(hkl)	$d[\text{\AA}]$	I	(hkl)
4.043	50	101	4.078	10	101
3.840	22	002	3.8	1	002
2.987	100	102	2.987	100	012
2.744	60	110	2.79	87	110
			2.533	7	003
2.375	1	200	2.416	2	200
2.270	7	201	2.302	9	201
			2.244	10	013
2.019	20	202	2.039	20	202
1.918	5	004	1.900	1	004
			1.826	1	210
1.779	1	104	1.768	5	104

Таблица 13. Рентгенометрические данные для $\text{Ca}_8\text{K}_2(\text{PO}_4)_6$ при комнатной температуре (предполагаемая пространственная группа $P6_3/m$)

$d[\text{\AA}]$	I	(hkl)
7.2264	1.97	
6.3616	2.27	
5.2548	1.55	
5.1166	1.37	100
4.5585	1.88	
4.0583	5.23	022
3.9988	4.60	111

3.7883	20.78	004
3.7158	0.92	
3.4480	1.51	
3.4067	2.60	
3.3001	0.74	
3.2154	2.71	
3.1791	1.06	
3.1452	2.14	
2.9954	46.59	-115
2.9750	14.65	
2.9742	36.86	
2.9368	46.36	113
2.8515	2.20	
2.8171	1.92	
2.7653	100.00	-131
2.7454	40.66	-202
2.7144	4.32	130
2.6255	1.33	104
2.5957	2.03	123
2.5604	2.60	200
2.5366	2.79	114
2.4751	1.58	210
2.4277	0.65	
2.4032	2.04	040
2.3840	1.07	-222
2.3344	0.91	
2.3127	1.54	-107
2.2864	13.96	-224
2.2591	8.70	220
2.2184	1.23	
2.2010	1.90	-141
2.1017	1.76	
2.0376	6.57	-226
2.0299	24.04	-108
2.0000	8.61	230
1.9977	13.43	106
1.9786	0.99	