

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА
ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

ПРЕОБРАЖЕНСКИЙ ИЛЬЯ ИВАНОВИЧ

**Материалы для регенерации костной ткани на основе фосфатов магния-натрия:
керамика и наполненные гидрогели**

1.4.15 – Химия твердого тела

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Научный руководитель:
кандидат химических наук
Путляев Валерий Иванович

Москва – 2024

Термины и сокращения

АФК – аморфный фосфат кальция

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

ГАП – гидроксиапатит, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

ДТА – дифференциальный термический анализ

ДМСО – диметилсульфоксид, $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$

ПАВ – поверхностноактивное вещество

ПЭГ – полиэтиленгликоль

ПЭГДА – полиэтиленгликоль-диакрилат с молекулярной массой $M_w=575$ Да

ПЭГМА – полиэтиленгликоль-монометакрилат с молекулярной массой $M_w=350$ Да

РСВ – равновесное содержание воды

РСМА – рентгеноспектральный микроанализ

РФА – рентгенофазовый анализ

РЭМ – растровая электронная микроскопия

СН – степень набухания

ТГ – термогравиметрический анализ

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

УФ – ультрафиолет

ФИ – фотоинициатор

CAD – computer aided design, система автоматизированного проектирования с использованием компьютерных систем

DLP – digital light processing, метод цифровой проекции

In vitro – методика испытания объектов, когда эксперименты проводят в искусственных условиях, вне организма или естественной среды

In vivo – методика испытания объектов, когда эксперименты проводят внутри живого организма

I819 – фотоинициатор Irgacure[®]819

M2P2 – пирофосфат магния, $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$

M3P2 – ортофосфат магния, $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$

MNP – фосфат магния-натрия, MgNaPO_4

M4NP3 – тетрамагнийнатриевый фосфат, $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$

SBF – simulated body fluid, модельная среда, имитирующая жидкости организма

SLA – stereolithography, метод стереолитографии

Содержание:

Введение	6
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	13
1.1 Виды биоматериалов и основные требования, предъявляемые к ним	13
1.1.1 Состав натуральной костной ткани	13
1.1.2 Использование биоматериалов для лечения дефектов костной ткани	15
1.1.3 Поколения биоматериалов	18
1.2. Основные аспекты бионеорганической химии магния и их роль в создания новых биоматериалов для регенерации кости	19
1.2.1 Роль магния в организме человека	19
1.2.2 Разработка биоматериалов на основе магния.....	25
1.2.3 Резорбция биоматериалов, содержащих магний.....	34
1.2.4 Структура и свойства фосфатов магния	38
1.3. Создание композиционных материалов на основе гидрогелей, наполненных фосфатами.....	44
1.3.1 Применение гидрогелей в качестве биоматериалов	44
1.3.2 Свойства гидрогелей.....	47
1.3.3 Применение 3D-печати для создания новых биоматериалов на основе гидрогелей	51
1.3.4 Композиционные материалы на основе гидрогелей, наполненных фосфатами...62	
1.4. Выводы из литературного обзора	66
2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	68
2.1 Подготовка образцов	68
2.1.1 Синтез фосфатов магния	68
2.1.2 Получение керамики.....	70
2.1.3 Синтез гидрогелей на основе производных ПЭГ.....	70
2.1.4 Наполнение гидрогелей неорганическим наполнителем	72
2.1.5 Исследование стабильности порошков фосфатов магния в гидрогелях	72
2.1.6 Получение гидрогелей и композитов на их основе методом стереолитографической 3D-печати в варианте DLP.....	72
2.2 Методы исследования образцов	75
2.2.1 Качественный и количественный рентгенофазовый анализ.....	75
2.2.2 Растровая электронная микроскопия	75
2.2.3 Рентгеноспектральный микроанализ	76
2.2.4 Термогравиметрический и дифференциально-термический анализы	76

2.2.5 Дилатометрические измерения	76
3.2.6 Масс-спектрометрия с термической ионизацией.....	77
3.2.7 Инфракрасная спектроскопия	77
2.2.8 Определение распределения частиц порошков по размерам	77
2.2.9 Определение относительной плотности и усадки керамических образцов	78
2.2.10 Определение степени набухания	78
2.2.11 Исследование резорбции гидрогелей, композитов и керамики в модельной среде	79
2.2.12 Термодинамическая оценка растворимости	79
2.2.13 Кинетика резорбции керамических гранул	80
2.2.14 Механические испытания керамических материалов	80
2.2.15 Исследование вязкоупругих свойств гидрогелей методом ротационной реометрии.....	81
2.2.16 Механические испытания гидрогелей на дюрометре.....	81
2.2.17 Определение критической энергии полимеризации и глубины полимеризации.....	82
2.2.18 Оптическая микроскопия	82
2.2.19 Определение цитотоксичности материала на основе МТТ-теста	82
2.2.20 Исследование адгезии и роста клеток на поверхности керамических материалов	83
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	84
3.1 Синтез фосфатов магния	84
3.1.1 Получение пирофосфата, $Mg_2P_2O_7$, и ортофосфата магния, $Mg_3(PO_4)_2$	84
3.3 Синтез и полиморфизм фосфата магния-натрия, $MgNaPO_4$	87
3.1.3 Синтез и полиморфизм тетрамагнийнатриевого фосфата, $Mg_4Na(PO_4)_3$	94
3.1.4 Уточнение параметров кристаллической решётки и структуры фосфатов магния-натрия	98
3.2 Исследование фазовых отношений в двойной системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$	99
3.3 Керамические материалы на основе фосфатов магния и фосфатов магния-натрия .	106
3.3.1 Керамика на основе ортофосфата магния $Mg_3(PO_4)_2$	106
3.3.2 Получение керамических материалов на основе фосфатов магния-натрия.....	109
3.3.3 Получение керамических материалов в системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$	116
3.4 Исследование кинетики растворения керамики в модельной среде.....	120
3.4.1 Резорбция керамических гранул.....	121
3.4.2 Резорбция спечённой керамики	129
3.5 Механические испытания керамических материалов	133

3.6 Биологические испытания <i>in vitro</i>	137
3.7 Гидрогели с различным соотношением мономеров ПЭГМА и ПЭГДА	140
3.7.1 Обоснование выбора компонентов.....	140
3.7.2 Выбор фотоинициатора	141
3.7.3 Исследование механических свойств гидрогелей.....	142
3.7.4 Исследование процесса набухания гидрогелей	145
3.7.5 Исследование кинетики растворения гидрогелей на основе смеси мономеров ПЭГМА и ПЭГДА	149
3.7.6 Микроструктура и поведение при нагревании гидрогелей на основе смеси мономеров	152
3.8 Получение композитов на основе гидрогелей, наполненных фосфатами магния	154
3.8.1 Гранулометрический анализ порошков фосфатов магния.....	154
3.8.2 Стабильность фосфатов магния внутри мономеров и заполимеризованных гидрогелей.....	156
3.8.3 Свойства композиционных материалов на основе гидрогелей, наполненных фосфатами магния.....	160
3.9 Получение трёхмерных структур с использованием метода стереолитографической 3D-печати.....	167
Заключение.....	174
Список литературы.....	176
Приложение 1.....	196
Приложение 2.....	197
Приложение 3.....	198
Приложение 4.....	199
Приложение 5.....	200
Приложение 6.....	201
Благодарности.....	202

Введение

Костная ткань характеризуется способностью к самовосстановлению, тем не менее, при значительных размерах костных дефектов необходимо использование специальных материалов для стимулирования процесса её регенерации. Спрос на синтетические материалы для замещения костной ткани постоянно растёт, что объясняется ростом населения и большим количеством операций, однако существующие биоматериалы полностью не удовлетворяют всем предъявляемым к ним требованиям. Необходимость создания новых биоматериалов обусловлена также малым числом отечественных разработок, что приводит к высокой стоимости и увеличивает время лечения пациентов. Для создания новых биоматериалов необходимо решить сложный комплекс материаловедческих и инженерных задач, включающий в себя синтез, нахождение подходящих условий формирования керамики и композитов с заданной макро- и микроструктурой, исследование их физико-химических и биологических свойств. В связи с тем, что основной неорганической фазой костной ткани является гидроксиапатит (ГАП, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), активно ведут работы по созданию биокерамики, биоцементов и композиционных материалов на основе фосфатов кальция. Состав современных коммерческих биосовместимых керамических имплантатов включает в себя, в основном, ГАП и трикальцийфосфат (ТКФ, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Однако использование таких имплантатов сопряжено с недостатками, заключающимися в недостаточной растворимости фаз на основе фосфатов кальция, отсутствием эластичных свойств, сложностях при лечении труднодоступных костных дефектов, в результате чего поиск новых биоматериалов является актуальным. Основное направление исследований заключается в поиске новых материалов для лечения дефектов костной ткани, характеризующихся более высокой степенью резорбции в среде организма по сравнению с фосфатами кальция, такими как ГАП и ТКФ.

Биоматериалы на основе фосфатов магния могут быть рассмотрены в качестве альтернативы традиционно применяемым фосфатам кальция, и являются перспективными материалами для костных имплантатов, благодаря способности к резорбции в условиях организма, хорошей биосовместимости и высокой прочности. Кроме того, магний является важным биологическим элементом. Ионы магния непосредственно участвуют во многих биологических механизмах; они играют важную роль в регуляции ионных каналов, стабилизации ДНК, активации ферментов, стимуляции роста и пролиферации клеток. Биокерамика на основе фосфатов магния характеризуется большей растворимостью (резорбируемостью) по сравнению с фосфатами кальция за счёт большего энтальпийного вклада в гидратацию катиона, что открывает перспективы для

создания новых материалов для регенерации костной ткани. Как и фосфаты кальция, фосфаты магния могут включать в свою кристаллическую структуру другие катионы, такие как Na^+ и K^+ , что позволяет модифицировать их физико-химические свойства.

В качестве полимерной фазы при создании композитов возможно применение гидрогелей, которые обладают рядом преимуществ при создании биоматериалов: они характеризуются высокой универсальностью благодаря тому, что их химические и физические свойства можно изменять для создания имплантата, наиболее подходящего для конкретного применения. Гидрогели представляют собой набухшие вязкоупругие полимерные сетки, которые характеризуются физическими свойствами, схожими с таковыми у естественных тканей. Способность гидрогелей поглощать и удерживать воду обусловлена их гидрофильной природой, и позволяет решить проблему плотного заполнения дефекта при лечении. Гидрогели из полиэтиленгликоля (ПЭГ) являются перспективными материалами для многих биомедицинских применений, благодаря их биосовместимости, неиммуногенности и устойчивости к адсорбции белков. Но гидрогели характеризуются низкими прочностными свойствами, что можно решить при наполнении гидрогелей неорганической фазой, например, фосфатами магния. За счёт создания композиционных материалов, наполненных фосфатами магния, возможно устранение недостатков гидрогелей, повышение биоактивности и изменение свойств при варьировании содержания неорганического наполнителя.

Важным преимуществом гидрогелей, как представителей полимерных материалов, является возможность создания имплантатов со сложной макропористой архитектурой посредством аддитивных технологий при использовании мономеров с определёнными функциональными группами, такими как, например, акрилатные. Изменение параметров фотополимеризации и состава открывает множество возможностей для корректировки физико-химических и механических свойств гидрогелей. В основе получения гидрогелей из производных ПЭГ, таких как ПЭГ-диакрилат (ПЭГДА) и ПЭГ-метакрилат (ПЭГМА), лежит реакция фотополимеризации, в результате чего возможно применение стереолитографического метода 3D-печати. Использование смеси мономеров перспективно с точки зрения изменения свойств биоматериала, включая способность к набуханию, биодеструкцию и прочность.

Таким образом, целью данной работы является установление закономерностей формирования и разработка керамических и композиционных материалов для регенерации костной ткани на основе магнийсодержащих фосфатов, обладающих большей резорбируемостью по сравнению с кальцийфосфатными материалами. Рассматриваемые в рамках данной работы фосфаты магния относятся, в частности, к

двухкомпонентной системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$, которая является малоизученной и не позволяет сделать однозначных заключений относительно условий синтеза и полиморфизма фосфатов магния-натрия. Создание резорбируемой биокерамики на их основе сдерживается недостатком сведений о закономерностях спекания составов из данной системы. Использование наполненных ПЭГ-акрилатных гидрогелей позволяет сохранить резорбционные свойства фосфатов магния, при этом улучшить эластичные (вязкоупругие свойства), необходимые для плотного заполнения костного дефекта. Для придания имплантату osteoconductive свойств, задаваемых специфической макропористой архитектурой, удачной оказывается совместимость акрилатных гидрогелей с технологией стереолитографической 3D печати.

Для достижения поставленной в работе цели были сформулированы следующие

задачи:

- 1) Разработка методик синтеза порошков ортофосфата магния, $Mg_3(PO_4)_2$, и магний-натриевых фосфатов, $MgNaPO_4$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$, а также пирофосфата магния, $Mg_2P_2O_7$, приемлемых для изготовления керамических и композиционных имплантатов методами стереолитографической 3D печати;
- 2) Исследование фазовых отношений в двойной системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$ и описание фазовых превращений соединений этой системы;
- 3) Изучение влияния условий спекания на плотность, микроструктуру и механические свойства керамических материалов на основе фосфатов магния-натрия $MgNaPO_4$, $Mg_4Na(PO_4)_3$ и составов системы $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$;
- 4) Исследование резорбируемости керамических материалов на основе составов системы $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$ и пирофосфата магния, $Mg_2P_2O_7$;
- 5) Исследование влияния наполнителя на механические свойства композиционных материалов на основе гидрогелей и их поведение в модельных растворах;
- 6) Определение основных параметров стереолитографической 3D-печати и состава фотосуспензии с мономерами ПЭГМА и ПЭГДА для получения макропористых osteoconductive конструкций из биоконкомпозитов на основе гидрогелей, наполненных фосфатами магния, с заданной архитектурой;
- 7) Проведение клеточных экспериментов для оценки полученных материалов на предмет цитотоксичности.

Научная новизна заключается в следующих аспектах работы:

- С использованием комплекса физико-химических методов было проведено исследование фазовых отношений в двойной системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$, которая характеризуется наличием двух перитектически плавящихся соединений – $MgNaPO_4$ (983°C) и

$Mg_4Na(PO_4)_3$ (1140°C).

- Впервые изучено спекание и проведена характеристика микроструктуры керамики на основе магний-натриевых фосфатов. Наибольшие значения прочности наблюдаются для керамики на основе тетрамагнийнатриевого фосфата, $Mg_4Na(PO_4)_3$, что связано с лучшим уплотнением керамики.
- Показано, что прочностные свойства керамических материалов в двухкомпонентной системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$ определяются в значительной мере характером фазовых переходов в фосфатах магния-натрия. Значительные объёмные эффекты полиморфных превращений $MgNaPO_4$ вызывают растрескивание керамики.
- Впервые проведено исследование кинетики растворения фосфатов магния и магний-натриевых фосфатов при $pH = 5$ (в растворах лимонной кислоты) для моделирования процесса резорбции *in vitro*. На основе экспериментальных данных выведен ряд растворимости исследованных фосфатов; показано, что исследованные материалы на основе фосфатов магния являются цитосовместимыми.
- Изучена зависимость физико-химических свойств (способность к набуханию и резорбции, механические свойства) гидрогелей из ПЭГМА и ПЭГДА и композитов на их основе от состава (концентрации фотоинициатора, соотношения мономеров, доли и типа наполнителя) для выявления условий стереолитографической 3D печати макропористых композитов заданной архитектуры. Изучены кинетика набухания и резорбции гидрогелей и показана возможность управления этими процессами за счёт использования смеси мономеров и наполнения фосфатами магния.

Практическая значимость описывается в следующих пунктах:

- Определены условия изготовления макропористой резорбируемой керамики на основе фосфатов магния и магний-натриевых фосфатов с относительной плотностью более 85%.
- Описаны составы фотоотверждаемых суспензий (соотношение мономеров, количество фотоинициатора, воды и наполнителя) и основные параметры стереолитографической печати (фоточувствительность, критическая энергия полимеризации) для формирования композитных имплантатов на основе гидрогелей, наполненных фосфатами магния, со структурой «гибрид».
- Предложено соотношение мономеров ПЭГМА/ПЭГДА с улучшенной способностью к набуханию и резорбции в модельной среде лимонной кислоты по сравнению с гидрогелями на основе ПЭГДА.
- Полученные впервые прототипы имплантатов на основе фосфатов магния и магний-натриевых фосфатов обладают достаточным уровнем резорбции, не вызывают острого цитотоксического воздействия и могут быть рекомендованы для дальнейших медико-

биологических исследований *in vivo* в качестве резорбируемых остеозамещающих имплантатов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Фазовые отношения в двухкомпонентной системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$ характеризуются наличием двух перитектически плавящихся соединений $MgNaPO_4$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$, полиморфные превращения которых имеют определяющее значение для создания керамических материалов и синтеза фосфатов магния-натрия.
2. Спекание керамики на основе фосфатов магния-натрия, а также смесей $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$ следует проводить при температурах в диапазоне 800 - 1000°C. Увеличение температуры спекания от 900 до 1000°C ведёт к увеличению прочности на сжатие для всех составов; наибольшие значения прочности для керамики на основе $Mg_4Na(PO_4)_3$ связаны с отсутствием фазовых превращений с большим объёмным эффектом.
3. Керамические материалы на основе фосфатов магния и магний-натриевых фосфатов обладают практически постоянной скоростью растворения в модельной среде (растворе лимонной кислоты) при pH=5, что позволяет их рекомендовать в качестве резорбируемых материалов. В ряду растворимости исследованных фосфатов магния, выведенном на основании экспериментальных данных и термодинамических расчётов, наибольшей растворимостью обладает пирофосфат магния, что определяет его перспективность как резорбируемого наполнителя композитных имплантатов.
4. Материалы на основе фосфатов магния не оказывают острого цитотоксичного воздействия на клетки остеобластов, поддерживают пролиферацию клеток и могут быть рекомендованы к использованию в качестве керамических матриц при создании материалов для тканевой инженерии.
5. Использование смеси мономеров ПЭГМА/ПЭГДА улучшает способность соответствующих гидрогелей к набуханию, их резорбируемость в модельной среде лимонной кислоты и эластичность по сравнению с гидрогелями на основе ПЭГДА.
6. Установленные в работе параметры стереолитографической печати были использованы для изготовления прототипов композитных имплантатов на основе гидрогелей из смеси мономеров ПЭГМА/ПЭГДА, наполненных $Mg_2P_2O_7$, со структурой «гиرويد», которые продемонстрировали незначительное изменение пористости после набухания и могут быть рекомендованы для дальнейших медико-биологических испытаний.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы опубликованы в 33 печатных работах, в том числе в 9 статьях в реферируемых российских и зарубежных журналах, рекомендованных перечнем ВАК, а также были представлены на 24 различных российских и международных конференциях:

2024 год: XIII International conference on chemistry for young scientists «Mendeleev 2024» (Санкт-Петербург, Россия), XIII Всероссийская конференция с международным участием «Химия твёрдого тела и функциональные материалы» (Санкт-Петербург, Россия), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2024» (Москва, Россия), XIV Конференция молодых учёных по общей и неорганической химии (Москва, Россия).

2023 год: Международная научно-техническая конференция молодых учёных «Инновационные материалы и технологии» (Минск, Беларусь), XXI Всероссийская конференция молодых учёных «Актуальные проблемы неорганической химии» (Красновидово, Россия), Современные тенденции развития функциональных материалов (Сочи, Россия), XIII Конференция молодых учёных по общей и неорганической химии (Москва, Россия), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2023» (Москва, Россия), XX Российская конференция с международным участием «Физико-химия и технология неорганических материалов» (Москва, Россия).

2022 год: Международная научно-практическая конференция «Перспективные технологии и материалы» (Севастополь, Россия), XVI Всероссийская научно-техническая конференция «Научно-практические проблемы в области химии и химических технологий» (Апатиты, Россия), VII Всероссийская конференция с международным участием «Техническая химия. От теории к практике» (Урал, Россия), XXI Всероссийская конференция молодых учёных «Актуальные проблемы неорганической химии: синхротронные и нейтронные методы в химии современных материалов» (Красновидово, Россия), Современные тенденции развития функциональных материалов (Сочи, Россия), XIX Российская конференция с международным участием «Физико-химия и технология неорганических материалов» (Москва, Россия), XII Конференция молодых учёных по общей и неорганической химии (Москва, Россия), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022» (Москва, Россия).

2021 год: XII International conference on chemistry for young scientists «Mendeleev 2021» (Санкт-Петербург, Россия), Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2021» (Москва, Россия), Современные тенденции развития функциональных материалов (Сочи, Россия), XX Всероссийская конференция молодых учёных «Актуальные проблемы неорганической химии: материалы с функционально активной поверхностью» (Красновидово, Россия).

2020 год: Young ceramists additive manufacturing forum (Берлин, Германия), Шестой междисциплинарный научный форум с международным участием «Новые материалы и

перспективные технологии» (Москва, Россия).

Кроме того, результаты работы были использованы при выполнении грантов «Наука-XXI», Умник-2021, где автор был руководителем проектов, а также проектов фонда РФФ № 22-19-00219, №19-19-00587, №17-79-20427.

Личный вклад автора. В основу работы положены результаты научных исследований, проведённых непосредственно автором в период с 2020 по 2024 гг. в лаборатории неорганического материаловедения кафедры неорганической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Автором проведён поиск и анализ литературных данных, самостоятельно проведены синтезы и исследования физико-химических свойств материалов, включая самостоятельную работу на приборах (растровом электронном микроскопе, оптическом микроскопе, титраторе), 3D-печать методом стереолитографии, анализ и обработку экспериментальных данных. Автор самостоятельно представлял устные и стендовые доклады на международных и всероссийских научных конференциях, а также занимался подготовкой публикаций по теме диссертации. Во всех опубликованных работах вклад автора был определяющим.

Ряд исследований был проведён совместно с сотрудниками следующих подразделений МГУ им. М.В. Ломоносова: синхронный термический анализ (к.х.н. Шаталова Т.Б., кафедра неорганической химии МГУ), рентгенофазовый анализ (к.х.н. Филиппова Т.В., кафедра неорганической химии МГУ; д.х.н. Дейнеко Д.В., к.х.н. Титков В.В., кафедра химической технологии МГУ), прочностные испытания (к.х.н. Филиппов Я.Ю., НИИ Механики МГУ), ИК-спектроскопия (к.х.н. Колесник И.В., кафедра неорганической химии МГУ), биологические испытания *in vitro* (Мурашко А.М., факультет наук о материалах МГУ). Автор принимал непосредственное участие в обработке, анализе и интерпретации полученных данных.

Достоверность полученных результатов обеспечивается использованием комплекса различных современных методов физико-химического анализа и воспроизводимостью экспериментальных данных, внутренней непротиворечивостью, а также отсутствием расходимости с литературными данными. Структурные данные фосфатов магния-натрия депонированы в базе данных JCPDS (ICDD).

Объём и структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, заключения, списка цитируемой литературы и приложений, и изложена на 202 страницах машинописного текста, содержит 117 рисунков, 19 таблиц и 6 приложений. Список литературы включает 227 наименований.

1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Виды биоматериалов и основные требования, предъявляемые к ним

1.1.1 Состав натуральной костной ткани

В состав скелета человека входят два вида соединительных тканей: костная и хрящевая. Костную ткань можно охарактеризовать как соединительную минерализованную ткань со сложным составом и структурой, основные функции которой заключаются в поддержке и защите мягких тканей и запасании в организме кальция и фосфора. Костная ткань состоит из двух частей, а именно кортикальной и губчатой или трабекулярной. Костная ткань содержит как органическую (преимущественно коллагеновые волокна I типа), так и неорганическую составляющую (в основном фосфаты кальция). Молекулы коллагена состоят из скрученных полипептидных нитей. Органическая компонента костной ткани сообщает кости эластичность и прочность при растяжении, в то время как неорганическая компонента обеспечивает прочностные свойства при сжатии. Основной структурной единицей костной ткани, которая определяет прочностные свойства, является остеон – цилиндрическая единица, составленная из костных пластин, называемых ламелями. Внешняя поверхность кости покрыта надкостницей, которая прикреплена к костной ткани пучками коллагеновых волокон. Существует различие в составе кортикальной и губчатой костной ткани: в кортикальной ткани доля неорганических компонентов составляет 70%, органического матрикса – 20%, а воды – 10%; в губчатой ткани наблюдается более высокое содержание органического матрикса (50%), меньшее – неорганической фазы (40%) и такое же количество воды (10%).

Три типа клеток, а именно – остеобласты, остеоциты и остеокласты, образуют единый костной организм, обеспечивают развитие и обновление костной ткани. Остеобласты, локализуясь на поверхностях костной ткани, играют ключевую роль в её формировании. Они синтезируют, секретируют и минерализуют костный матрикс, а также вырабатывают специфические белковые факторы, регулирующие остеогенез. Остеоциты, представляющие собой дифференцированные остеобласты, интегрированы в костную матрицу. Они сообщаются с остеобластами и другими клетками, играя важную роль в поддержании минерального гомеостаза костной ткани. Остеоциты отвечают за метаболизм минеральных веществ в костной ткани, адаптируя его к механическим нагрузкам и деформациям. Третий тип клеток, остеокласты – многоядерные клетки, ответственны за резорбцию костной ткани за счёт секреции различных веществ. В

результате совместных действий описанных выше типов клеток происходит рост и ремоделирование (обновление) костной ткани [1].

Фосфаты кальция являются основным неорганическим компонентом, присутствующем в организме человека, поскольку они составляют большую часть неорганической матрицы костной ткани (≈ 65 масс.% по отношению к общей массе костной ткани) и зубов (≈ 97 масс.% эмали, ≈ 70 масс.% дентина) [2]. В костной ткани фосфаты кальция присутствуют в виде наноразмерных кристаллов нестехиометрического гидроксиапатита (ГАП, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) с дефицитом кальция и содержащего карбонат-ионы, рост которых ограничен мягкой матрицей, состоящей из волокон коллагена фибрилл I типа (рис. 1.1) [3]. Размер нанокристаллов ГАП составляет около 65 нм. Состав зубов аналогичен таковому костной ткани, за исключением эмали, состав которой характеризуется более высоким содержанием неорганических веществ и наличием призматических кристаллов ГАП больших размеров. Кроме костной ткани и зубов, кристаллы фосфатов кальция содержатся во многих других местах, таких как очаги патологической кальцификации (зубные камни, мочевые и слюнные камни, отложения в синовиальной жидкости и кальцификации сердца) [4]. Помимо кристаллических форм, в биологических организмах содержатся также аморфные фосфаты кальция и магния [5].

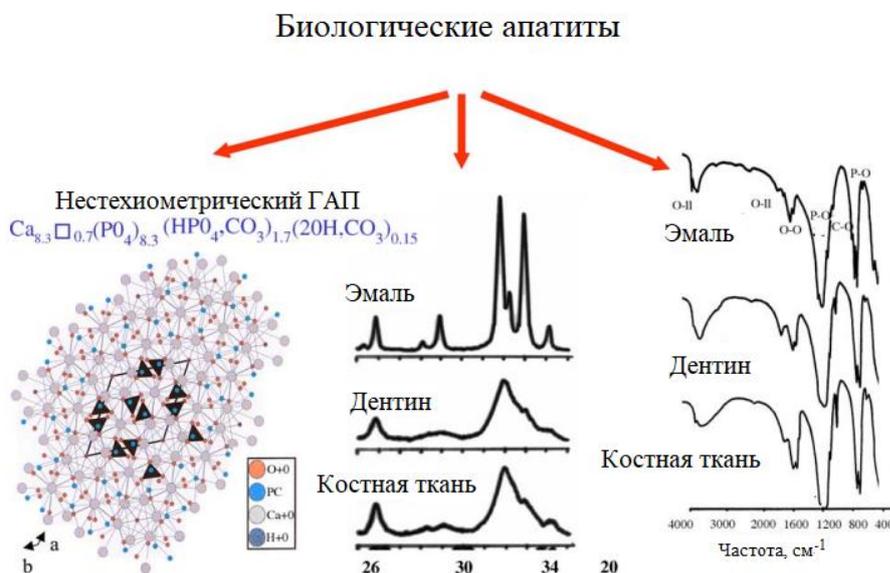


Рис. 1.1 Кристаллическая структура карбонат-замещённого гидроксиапатита, дифрактограммы и ИК-спектры эмали, дентина и костной ткани [3].

В настоящее время не существует универсальных решений для лечения дефектов костной ткани. Несмотря на многочисленные попытки создать материал, имитирующий костную ткань, до сих пор не удалось разработать совершенный имплантат, обладающий

одновременно высокой прочностью и биологической совместимостью, сопоставимыми с естественной костной тканью. Решением этой проблемы может стать индивидуальный подход к выбору биоматериалов под конкретный случай лечения.

1.1.2 Использование биоматериалов для лечения дефектов костной ткани

Несмотря на то, что костная ткань способна к физиологическому ремоделированию и самовосстановлению, при образовании дефектов значительных размеров для достижения полного восстановления её целостности требуется применение биоматериалов, предназначенных для регенерации костной ткани [6]. Ежегодно во всём мире проводят 2.8 миллиона операций по восстановлению дефектов костной ткани [7], и для лечения активно используют остеозамещающие биоматериалы – это материалы, предназначенные для замены/регенерации повреждённых участков кости. Для материалов имплантатов для восстановления костной ткани можно выделить две основные категории: не поддающиеся биологическому разложению материалы (к ним относят металлы и их сплавы, такие как титан, кобальт и сталь) и биоразлагаемые (резорбируемые) материалы. На протяжении более столетия металлические имплантаты, не подвергающиеся биологическому разложению, применяют для восстановления костной ткани. Однако, после процесса лечения или при необходимости замены, такие имплантаты требуют повторного хирургического вмешательства [8]. В настоящее время металлические имплантаты являются безальтернативным методом лечения обширных дефектов костной ткани. Тем не менее, длительное присутствие таких имплантатов в организме может вызывать аллергические реакции и воспаления. Наиболее перспективным подходом является применение биоразлагаемых материалов, использование которых позволит избежать необходимости повторных хирургических операций. Такие материалы способны рассасываться (деградировать) в организме человека, постепенно замещаясь собственной костной тканью.

По происхождению можно выделить биологические (т.е. природные, в частности, полученные из живых организмов) и синтетические (полученные искусственно) биоматериалы. Биоматериалы биологического происхождения могут быть аутогенными (донором является пациент), аллогенными (донором является другой человек) и ксеногенными (донором является животное). Для заживления дефектов костной ткани возможно использование аутогенных имплантатов, которые получают из костной ткани пациента, и, благодаря этому, они не вызывают иммунного отторжения [9]. Однако такие имплантаты являются ограниченными по размеру и могут вызвать риск осложнений из-за

возникновения дополнительных травм [10]. Аллогенный имплантат, полученный от донора, является альтернативой аутогенному, и его можно получить из относительно широкого спектра источников, и он не имеет ограничений по размеру. Однако, такие имплантаты характеризуются недостатками, связанными с иммунным отторжением естественной ткани после имплантации и с возможностью возникновения риска инфекции и передачи заболевания [11]. Ксеногенные материалы характеризуются низким остеогенным потенциалом и могут быть использованы только в роли каркаса (скаффолда), на котором может формироваться новая костная ткань. Стоит отметить, что описанные выше имплантаты вводят инвазивным путём, что делает их восприимчивыми к возможной инфекции, отторжению и передаче заболеваний. Высокая стоимость и уникальность трансплантатов является ещё одним из факторов, ограничивающих их использование в медицинских приложениях.

Другим подходом к лечению дефектов костной ткани является использование искусственных биоматериалов [12]. Выбор синтетических материалов для лечения дефектов костной ткани более разнообразен, чем биологических, поэтому разработка имплантатов из искусственных материалов для восстановления костной ткани стала важным направлением современной тканевой инженерии.

При создании новых остеозамещающих биоматериалов к ним предъявляют ряд требований:

- Хорошая биосовместимость, включая гистосовместимость и совместимость с кровью. Это требование можно обеспечить путём подбора химического и фазового состава биоматериала, близкого по составу к натуральной костной ткани и содержащего биологические элементы.
- Биоактивность. Это свойство заключается в способности материала стимулировать образование натуральной костной ткани. Термин «биоактивный материал» относится к такому материалу, который при помещении в организм человека взаимодействует с окружающей тканью, образуя связь между тканями и материалом, вызывая специфическую биологическую реакцию на границе раздела.
- Достаточная механическая прочность, чтобы не происходило разрушение материала во время операции и в период реабилитации. Однако стоит отметить, что слишком высокая прочность (как, например, у титановых имплантатов) вызывает повышенную нагрузку на границе раздела костной ткани и имплантата, что впоследствии приведёт к разгрузке и резорбции кости. Механические свойства имплантата должны быть схожими с таковыми у костной ткани.

- Остеокондуктивные свойства, т.е. определённая проницаемость для обеспечения прорастания натуральной костной ткани в имплантат и протекания через него потоков физиологически активных веществ. Биоматериал при обеспечении остеокондуктивных свойств способен к адгезии и связыванию остеогенных клеток. В настоящее время для достижения заданной пористости биоматериалов преимущественно применяют аддитивные технологии.
- Остеоиндуктивность, которая характеризуется способностью биологически активных компонентов имплантата, посредством цепочки биохимических процессов, стимулировать превращение малодифференцированных клеток в остеобласты или хондроциты из прилегающих некостных тканей на его поверхности.
- Соответствие внешнего контура костного имплантата анатомической структуре дефекта, что позволит минимизировать объём необходимой резекции костной ткани [13].
- Поверхность с определённым рельефом, который нужен для адгезии и пролиферации клеток, а также формирования новой костной ткани [14].
- Биодegradируемость, которая заключается в растворении биоматериалов при их нахождении в среде организма. Как правило термин биодegradируемость применяют для полимерных материалов, а для неорганических используют термин биорезорбируемость.

Обычно на вышеупомянутые свойства влияет ряд факторов, включая состав материала и его структуру, методы синтеза целевых фаз, процессы формования и консолидации сформованной заготовки. Вследствие химического сходства с минеральной фазой костной ткани химический состав разрабатываемых синтетических биоматериалов часто включает в себя фосфаты кальция. Большинство коммерчески доступных керамических имплантатов основаны на ГАП или трикальцийфосфате (ТКФ, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) [15, 16]. Низкая растворимость спечённых фосфатов кальция приводит к плохой резорбции материала, поэтому остатки имплантатов на основе фосфатов кальция могут годами оставаться в месте имплантации [17].

Растворимость кальцийфосфатных биоматериалов коррелирует с отношением Ca/P : чем больше отношение Ca/P , тем менее растворимым является фосфат кальция. По составу биоматериалы на основе ГАП наиболее схожи с натуральной костной тканью, но ГАП имеет самое высокое соотношение Ca/P (≈ 1.67) по сравнению с другими фосфатами кальция, и, потому, является наименее растворимым. Растворимость ГАП в водной среде составляет 0.0134 ммоль/л [18]. Возможным решением проблемы низкой растворимости является использование протонированных (кислых) фосфатов кальция, но и они часто

характеризуются недостаточной скоростью резорбции из-за образования малорастворимых фаз при инконгруэнтном растворении, что замедляет регенерацию костной ткани [19]. Значительная потребность в остеозамещающих биоматериалах и вышеупомянутые ограничения уже существующих имплантатов побуждают проводить разработки новых костных имплантатов с биологическими и физико-химическими свойствами, подходящими для реализации регенеративного подхода.

1.1.3 Поколения биоматериалов

Биоматериалы можно классифицировать по поколениям. К первому поколению относят биоинертные материалы, такие как титан, алюминий и полиэтилен. Ко второму поколению принадлежат биологически активные и биоразлагаемые материалы, основанные на фосфатах кальция. К третьему поколению относят материалы, предназначенные для стимулирования клеток на молекулярном уровне, в качестве которых используют разлагаемые полимеры [20].

При создании биоматериалов первого поколения основным требованием была минимизация токсичности при обеспечении прочности, сравнимой с заменяемым участком. Однако, материалы первого поколения имели ряд недостатков: они не растворялись в организме, не обладали биоактивностью и вызывали образование фиброзной капсулы вокруг имплантата, что приводило к его изоляции от окружающих тканей.

Второе поколение биоматериалов включает в себя биорезорбируемые и биоактивные материалы. Эти материалы способны обеспечивать интеграцию имплантата с костной тканью при нахождении в организме, постепенно растворяясь при этом. Кроме того, они предотвращают образование фиброзной капсулы. Важно отметить, что к материалам второго поколения также относят металлы и сплавы первого поколения, подвергнутые модификации поверхности биоактивным компонентом (обычно в роли него выступает ГАП или ТКФ).

Третье поколение биоматериалов включает использование растворимых белковых факторов (факторы роста, гормоны и химические вещества), нерастворимых факторов (молекулы внеклеточного матрикса, биоматериалы со специфическими механическими и структурными свойствами) или использование внешних воздействий (механическая нагрузка, сжатие, напряжение сдвига, циклическое растяжение, использование проводящих полимеров) [21]. Разработка биоматериалов третьего поколения направлена на стимулирование специфического ответа клеток организма на молекулярном уровне, что

позволит инициировать процесс восстановления собственной костной ткани. Использование материалов третьего поколения может открыть новые области применения, но такие имплантаты не предназначены для полной замены материалов предыдущих поколений.

Следует отметить, исходя из анализа развития биоматериалов, что современным подходом для получения имплантата является создание не просто однофазного материала с определённым химическим составом, а композита, включающего как неорганическую, так и органическую составляющую.

В настоящее время не существует универсальных решений для лечения дефектов костной ткани, что связано с большим количеством требований и ограниченной эффективностью предложенных вариантов лечения. Самым перспективным вариантом является разработка такого биоматериала, который со временем будет рассасываться и может быть заменён собственными регенерированными биологическими тканями организма, что называется регенеративным подходом [22]. Важным фактором является скорость растворения биоматериала, что можно регулировать за счёт его химического состава.

1.2. Основные аспекты бионеорганической химии магния и их роль в создании новых биоматериалов для регенерации кости

1.2.1 Роль магния в организме человека

За последние несколько лет наблюдается увеличение числа работ, рассматривающих использование фосфатов магния для применения в биомедицинской области, в частности, для регенерации костной ткани. Интерес к их применению связан с важными биологическими функциями магния, который является четвёртым по распространённости металлом у млекопитающих после натрия, калия и кальция, и вторым по распространённости внутриклеточным катионом [23]. По сравнению с соседними металлами в периодической таблице элементов катион Mg^{2+} имеет относительно маленький ионный радиус (0.86 \AA по сравнению с 1.14 \AA для Ca^{2+}), но более высокую по абсолютной величине энтальпию гидратации (-1922 кДж/моль для иона Mg^{2+} относительно -1592 кДж/моль для Ca^{2+}). Ион магния имеет две заметные гидратные оболочки, и радиус сольватированного иона больше, чем у других катионов (Ca^{2+} , Na^+ и K^+). Ион магния обычно координируется с 6-7 молекулами H_2O в ближайшем окружении (рис. 1.2), в то время как сильносвязанная гидратная оболочка, например, ионов кальция и бария содержит меньшее число молекул воды; это приводит к более медленной кинетике

обмена лигандами у катиона магния по сравнению с ионами других металлов. Катион магния, как жёсткая кислота, характеризуется высоким сродством к жёстким основаниям – кислородсодержащим лигандам, таким как вода, карбонаты, сульфаты и фосфаты. Гидроксид магния является более слабым основанием по сравнению с гидроксидом кальция, и создает поэтому менее щёлочную среду при гидролизе соответствующих солей, что является важным фактором при выделении этих ионов в биологических жидкостях для преодоления алкалоза.

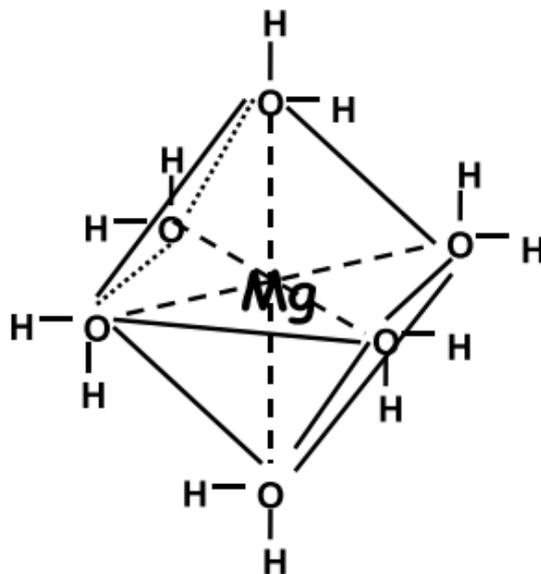


Рис. 1.2 Ион магния в октаэдрической координации с шестью молекулами воды [23].

Внутри клеток млекопитающих магний выполняет ряд функций: он регулирует активность кальциевых и натриевых ионных каналов, стабилизирует ДНК, выступает в качестве кофактора для многих ферментов и стимулирует процессы роста и пролиферации клеток [24]. В связи с этим, применение фосфатов магния в медицине представляет собой перспективное направление благодаря трём основным причинам:

- 1) магний может заменить кальций в неорганических солях (минералах) организма из-за их определённого химического сходства [25];
- 2) присутствие ионов Mg^{2+} в минералах костной ткани и жидкостях организма может влиять на ионный обмен, процессы образования и минерализации костной ткани, стимулируя процессы роста и ремоделирования кости [26];
- 3) фосфаты магния имеют более высокую растворимость, чем фосфаты кальция, за счёт большего вклада гидратации катиона в процесс растворения фосфата.

В организме человека магний в основном содержится в костной и мягких тканях (≈ 24 г магния в среднем на 70 кг взрослого человека, что в 42 раза меньше, чем кальция)

(рис. 1.3, табл. 1.1) [27]. Несмотря на низкое содержание в твёрдых тканях (0.44 масс.% в эмали, 1.23 масс.% в дентине и 0.72 масс.% в костной ткани), ионы Mg^{2+} играют важную роль в образовании ГАП и в минерализации твёрдых тканей. Более половины Mg^{2+} содержится в костной ткани, и его количество уменьшается с возрастом [28]. Концентрация магния в сыворотке крови варьируется: обычно она колеблется от 0.75 до 0.95 ммоль/л [29]. Внутри клеток катионы магния в основном содержатся в комплексах Mg-АТФазы, связанных с митохондриями. Концентрация магния в отличие от концентрации кальция и натрия не регулируется специфическими гормонами, а регулируется через желудочно-кишечный тракт и почки [30]. Избыток ионов Mg^{2+} не приводит к нарушению работы организма, так как ионы Mg^{2+} транспортируются через систему кровообращения и быстро выводятся с мочой, не вызывая побочных эффектов. В отношении образования костной ткани магний характеризуется остеоиндуктивными свойствами [31]. В клеточных исследованиях цитосовместимость и положительные эффекты магнийфосфатных материалов на пролиферацию клеток часто проявлялись для клеток остеогенной линии, таких как остеобластоподобная клеточная линия мыши МС3Т3-Е.



Рис. 1.3 Присутствие магния в различных биомолекулах и частях клеток.

Недостаток магния в организме может привести к различным проблемам со здоровьем, включая снижение костной массы, замедление роста костной ткани, развитие остеопороза и повышенную ломкость скелета [32]. Суточная потребность в магнии составляет приблизительно 400 мг. Роль магния в процессе образования новой костной

ткани заключается в способствовании адгезии и росту остеобластных клеток. Взаимодействие между остеобластами и поверхностью биоматериала, в первую очередь, происходит за счёт мембранно-связанных рецепторов адгезии, принадлежащих к семейству интегринов [33]. В работе [34] исследовали зависимость метаболической активности клеток остеогенной линии от концентрации магния, и было показано, что наблюдались хорошие пролиферация и дифференцировка клеток при высоких концентрациях Mg^{2+} .

Магний заметно влияет на активность остеобластов и остеокластов [35], которые являются основными регуляторами костного гомеостаза. Добавление 10 мМ магния в клеточные культуры стромальных клеток костного мозга человека и дифференцированных остеобластов усиливает минерализацию внеклеточного матрикса за счёт увеличения выработки коллагена и фактора роста эндотелия сосудов (VGEF) [36]. Использование магния в имплантатах улучшает лечение переломов у лабораторных животных, способствуя выработке кальцитонин-ассоциированного пептида [37]. Магний поддерживает достаточный запас пиримидина и пиримидиновых нуклеотидов, которые необходимы для синтеза ДНК и РНК, и действует как физиологический регулятор роста клеток [38]. Внутриклеточный магний связывается с ядром, рибосомами, клеточными макромолекулами, которые находятся в клеточном цитозоле. Таким образом, избыток катионов магния, по сравнению с наиболее распространённым катионом кальция, имеет преимущества в смысле активизации целого ряда биологических процессов.

Табл. 1.1 Общее распределение магния в организме человека [29].

Место	Процент от общего числа	Содержание Mg, мг
Костная ткань	53	12720
Мышечная ткань	27	6480
Мягкие ткани	19.2	4608
Эритроцит	0.5	120
Сыворотка крови	0.3	72
Итого	100	24000

Было найдено, что в зубной эмали присутствует аморфный слой с толщиной ≈ 2 нм фосфата кальция, замещённого Mg [39, 40]. С помощью атомно-зондовой томографии было показано, что в зубах мыши содержится магний Mg^{2+} в количестве 0.2-0.5 масс.% и концентрируется на границах зёрен (рис. 1.4) [41]. В работе [42] исследовали превращение аморфного фосфата кальция (АФК) в ГАП при различных концентрациях ионов Mg^{2+} .

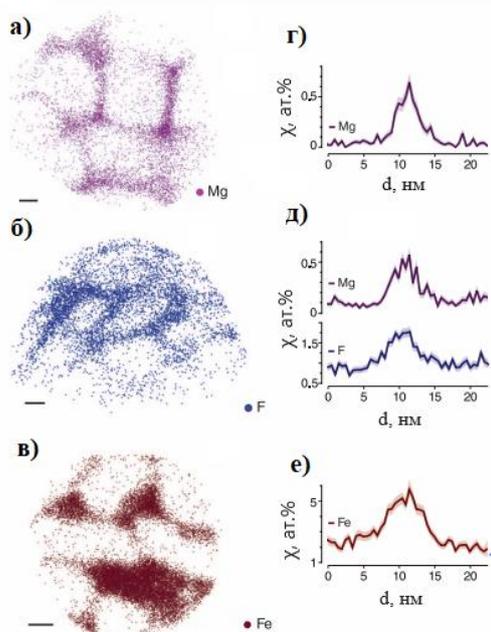


Рис. 1.4 Атомно-зондовая томография и профили распределения размера частиц зуба мыши: а) Mg ($^{24}\text{Mg}^{2+}$), б) положения ионов F ($^{40}\text{Ca}^{19}\text{F}^+$) в эмали зуба мыши, обработанной фтором, в) Fe ($^{56}\text{Fe}^{2+}$). Шкалы равны 10 нм [41].

совершенство кристаллов, зарождение и кинетику их роста. По мнению авторов, стабилизирующее действие происходит за счёт замещения ионов Mg^{2+} на Ca^{2+} в кристаллах и последующих механических деформациях, что препятствует зарождению ГАП. В некоторых условиях аморфный фосфат кальция, синтезированный в присутствии магния, может характеризоваться высокой стабильностью: например, аморфная фаза может сохраняться до 145 дней при $\text{pH}=10$, $T=32.5^\circ\text{C}$ и соотношении $\text{Mg}/\text{Ca}=0.25$ [46]. Наличие ионов магния может снизить термодинамическую движущую силу для зарождения АФК и фазового превращения в ГАП [47].

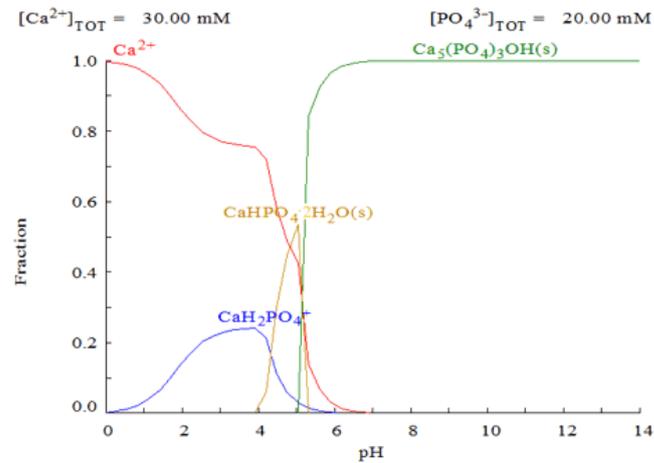
С точки зрения химических свойств наблюдается определенное диагональное сходство магния с литием. Магний в отличие от кальция характеризуется большей способностью проявлять комплексообразующие свойства, образовывать кристаллогидраты солей и прочную кристаллическую структуру с фосфат-ионами. Однако, более отрицательные значения свободной энергии гидратации магниевого катиона приводят к лучшей растворимости магниевых солей в сравнении с аналогичными кальциевыми.

Авторы сообщают, что увеличение соотношения Mg/Ca с 0 до 0.04 приводит к увеличению периода индукции в 9 раз при 26°C , в 4 раза при 37.5°C и в 7 раз при 48°C , при поддержании во всех экспериментах $\text{pH}=8$. Авторы пришли к выводу, что присутствие ионов Mg^{2+} снижает растворимость АФК, в то время как другие авторы [43] приписали этот эффект к способности Mg^{2+} по сравнению с Ca^{2+} образовывать с фосфатом более сильный комплекс. Ионы Mg^{2+} могут замедлять превращение аморфного фосфата кальция из начальной быстро осаждающейся сферической аморфной формы в флокулярную форму [44]. В другом исследовании [45] было найдено, что магний не влияет на образование АФК, но продлевает в четыре раза период индукции ГАП; кроме того, присутствие магния оказывает сильное влияние на морфологию и

При анализе ионных форм магния и кальция в растворе, содержащем PO_4^{3-} (рис. 1.5), полученных в программе MEDUSA/HYDRA, можно отметить большее количество твёрдых фаз, кристаллизующихся из раствора. Следует отметить, что, по-видимому, ионные и гетерогенные равновесия для магнийфосфатных растворов изучены не настолько досконально, как для кальцийфосфатных (так, в диапазоне $\text{pH}=8-11$ на рис.1.5б согласно расчётам на основе имеющихся констант равновесий присутствует фаза безводного тримагнийфосфата; в действительности, в этом интервале могут кристаллизоваться различные кристаллогидраты тримагнийфосфата и, вероятно, основные фосфаты магния). Аналогичные равновесия для магнийфосфатных растворов сдвинуты вправо, в сторону более высоких значений pH , по сравнению с кальцийфосфатными растворами. Особо стоит отметить, что в случае раствора, содержащего магний, не образуется плохо растворимая апатитная фаза; её место занимают более растворимые кристаллогидраты ортофосфата магния и, вероятно, гидратированные основные фосфаты магния типа $\text{Mg}_2\text{PO}_4\text{OH}\cdot n\text{H}_2\text{O}$, а в сильнощелочной области – плохо растворимый гидроксид магния.

Важным является вопрос о влиянии высоких концентраций магния на организм при резорбции биоматериалов на основе магния. В процессе растворения имплантата ионы магния будут попадать в биологические жидкости, в частности, в плазму крови. В здоровом организме в плазме крови концентрация магния находится в диапазоне от 1.5 до 3.0 мМ. При значительном превышении содержания магния выше указанной концентрации возникает гипермагниемия, которая сопровождается нарушением работы нейромышечной системы и увеличением времени сокращения сердечной мышцы (при пятикратном превышении допустимой концентрации) [48]. Небольшое превышение концентрации до 5 мМ приводит к брадикардии. Однако следует отметить, что магний легко выводится из организма естественным путём, и при растворении биокерамических материалов из-за сравнительно невысокой скорости растворения будет выделяться малое количество ионов магния, которое не приведёт к нарушению работы организма. Пониженная концентрация магния в организме приводит к гипомагниемии, заключающейся в увеличении хрупкости костной ткани, ишемической болезни сердца, гипертонии, сердечной недостаточности и другим.

а)



б)

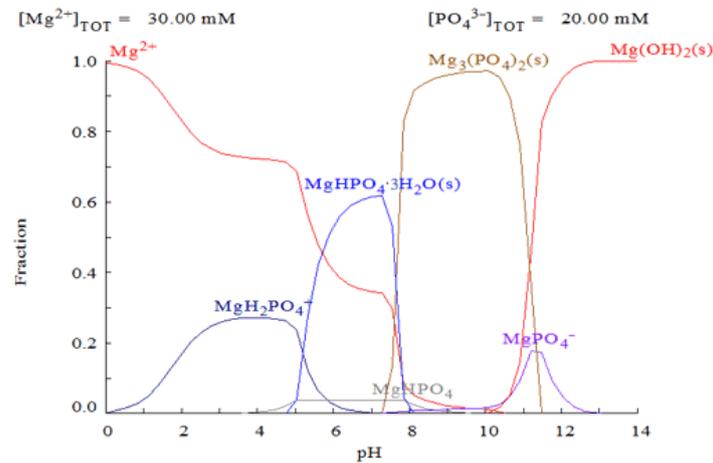


Рис. 1.5 Ионные формы и твёрдые фазы магния и кальция в растворе с PO_4^{3-} в зависимости от pH.

Таким образом, магний не только играет важную роль в функционировании человеческого организма, но и его включение в биокерамику и биокompозиты способно оказать существенное влияние на их взаимосвязь с костной тканью, что, в свою очередь, может способствовать более эффективной регенерации.

1.2.2 Разработка биоматериалов на основе магния

1.2.2.1 Сплавы на основе магния

Интерес к созданию имплантатов на основе магния и его сплавов обусловлен их высокими значениями удельной прочности и модуля Юнга, способностью к разложению в

естественных условиях, а также хорошей биосовместимостью. Значения модуля Юнга для магния и его сплавов являются близкими к таковым для костной ткани (около 45 ГПа относительно 15-30 ГПа), что позволяет снизить экранирование механических напряжений при передаче нагрузки на границе раздела костная ткань/имплантат [49]. Плотность сплавов на основе магния составляет около 1.79 г/см³, что является близким значением к плотности человеческой костной ткани (1.75 г/см³). Кроме того, пластичность, жёсткость и возможность обработки поверхности сплавов Mg являются дополнительными преимуществами [50]. Механические и физические свойства биоматериалов в сравнении со свойствами костной ткани представлены в табл. 1.2. Магниевого сплавы, в основном, содержат смесь магния с алюминием, цинком, марганцем, и другими элементами. Традиционно применяют титан и сталь, но несмотря на их высокие значения механической прочности такие материалы обладают гораздо более высоким модулем Юнга, чем у натуральной костной ткани. Более высокая прочность и жёсткость будет вызывать резорбцию костной ткани на границе раздела имплантат/костная ткань. С другой стороны, биополимеры, включая поли(L-молочную кислоту), а также биокерамика, включающая ГАП и ТКФ, характеризуются слишком низкой механической прочностью.

Табл. 1.2. Механические свойства натуральной костной ткани, металлических сплавов, биокерамики и полимеров [51].

Материал	Плотность, г/см ³	Модуль Юнга, ГПа	Прочность на сжатие, МПа
Кортикальная костная ткань	1.8-2.1	7-20	130-180
Сплавы Mg	1.8-2.0	35-45	100-200
Сплавы Ti	4.2-4.5	110-120	750-1110
Сталь 316L	8.0	193	190
ГАП	3.1	80-110	0.03-0.3
ТКФ	2.2-3.1	24-39	2-3.5
Поли(L-молочная кислота)	1.2-1.3	1.4-2.8	41.4-55.2

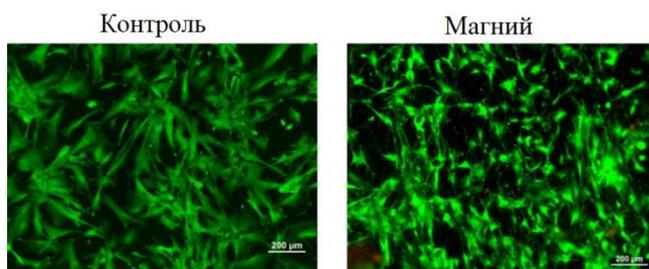


Рис. 1.6 Изображения с флуоресцентного микроскопа с 20 кратным увеличением после окрашивания первичных предosteобластов, культивируемых на образцах сплавов Mg в течение 13 дней, где жизнеспособные клетки помечены зелёным, а мёртвые клетки – красным. В качестве контроля использовали полистирол [53].

способствует заживлению и формированию новой костной ткани. Важно отметить, что при деструкции сплавов магния основной продукт разложения, ион магния, не проявляет явной токсичности для окружающих тканей организма (рис. 1.6) [53].

Магниевого сплавы можно применять в качестве устройств для фиксации костной ткани, которые в основном включают винт, штифт и пластину, для поддержки и направления роста во время восстановления костной ткани. Некоторые устройства на основе сплавов магния для фиксации костной ткани представлены на рис. 1.7. Традиционно применяемое устройство для фиксации костной ткани, изготовленное из стали марки 316L или сплава Ti, характеризуется гораздо большим модулем Юнга, чем у натуральной костной ткани, что приводит к низкому уровню напряжения в течение длительного периода.

Существует вероятность возникновения во время имплантации бактериальной инфекции, что может привести к неполному восстановлению костной ткани. Для предотвращения бактериальной инфекции часто используют длительный приём антибиотиков, но при этом подходе возникает бактериальная резистентность [54]. Было показано, что при использовании биоматериалов на основе магния локальная щелочная среда, вызванная выделением ионов Mg^{2+} , может снизить адгезию бактерий [55]. Ионы Mg проявляют антибактериальный эффект в отношении *S.epidermidis* и *E.coli*. Антибактериальный эффект в основном обусловлен повышением осмотического давления вокруг бактериальных клеток за счёт ионов магния. В этой связи разработка имплантатов

Ещё одним преимуществом сплавов на основе магния является способность их полного разложения *in vivo* [52]. Костные имплантаты на основе Mg обеспечивают стабильную механическую поддержку на ранней стадии имплантации и постепенно разрушаются с восстановлением натуральной костной ткани. Нагрузка на костную ткань в месте перелома постепенно увеличивается, и происходит стимуляция стресса на физиологическом уровне, что

на основе магния с антимикробными свойствами для восстановления костной ткани имеет определённые перспективы.



Рис. 1.7 Устройства для фиксации костной ткани на основе сплавов магния и пример применения при лечении дефекта костной ткани [51].

Основными недостатками имплантатов на основе сплавов магния являются слишком большая скорость их деструкции, а также выделение большого количества водорода при их растворении в организме за счёт окисления магния до катиона Mg^{2+} и восстановления водорода.

1.2.2.2 Цементы на основе фосфатов магния

В качестве биоматериалов для лечения дефектов костной ткани были предложены цементы на основе фосфатов магния. Преимуществами использования фосфатных биоцементов является их биосовместимость, простота придания формы и заполнения дефектов, возможность неинвазивного инъекционного применения. Кроме того, при использовании цементов на основе фосфатов магния не происходит выделения водорода, как при использовании сплавов на основе магния, и они поддерживают стимуляцию ферментов и пролиферацию клеток, контроль ионных каналов [56].

Как правило, магниифосфатные цементы получают взаимодействием твёрдого оксида магния (или фосфата магния) с кислым фосфатом, что приводит к растворению оксида (фосфата) магния в растворе. Растворённые катионы затем вступают в реакцию с фосфат-анионами, образуя аморфный гель [57]. По мере протекания основной реакции схватывания цемента происходит увеличение вязкости цементной пасты и кристаллизация основной цементной фазы.

Исходными компонентами для получения цементов на основе фосфатов магния являются керамический порошок MgO или ортофосфат магния, $Mg_3(PO_4)_2$, реагирующий с водорастворимыми одно- или двухзамещёнными фосфатными солями аммония, калия или натрия [58]. Взаимодействие исходных компонентов, в основном, приводит к образованию фаз ньюберита ($MgHPO_4 \cdot 3H_2O$) или струвита ($MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$) [59]. Преимуществами цементов на основе фосфатов магния является их высокая скорость резорбции (логарифм произведения растворимости $-\lg(K_s)$ при 25°C для струвита лежит в диапазоне 9.9-13.4, для ньюберита – 5.5-5.8). Цементы на основе фосфатов магния характеризуются более высокой прочностью на сжатие по сравнению с апатитовыми кальцийфосфатными цементами и приемлемым для клинического применения временем схватывания от 8 до 15 минут [60]. На реакцию схватывания фосфатных цементов оказывает влияние выбор исходной фосфатной соли [60]: использование дигидрофосфата натрия приводит к меньшему экзотермическому эффекту в процессе схватывания по сравнению с использованием дигидрофосфата аммония. Более того, при проведении термического анализа экзотермический пик был отмечен через более короткое время (через 5 мин для соли натрия и через 12 минут для соли аммония), что связано с более быстрой реакцией схватывания.

В исследовании [61] было показано, что активность остеобластов была выше на цементах из брушита ($CaHPO_4 \cdot 2H_2O$) и струвита ($NH_4MgPO_4 \cdot 6H_2O$), чем на цементах из ГАП с дефицитом кальция ($Ca_9(PO_4)_5HPO_4OH$). Авторы показали, что остеобласты, культивированные на фосфате магния и цементах на основе струвита, характеризовались более высокой выживаемостью и клеточной активностью. Экспрессия белка на цементах из брушита была самой высокой, однако количество пролиферирующих клеток в течение 9-дневного периода инкубации было ниже, чем на струвитных цементах. Струвитные цементы, содержащие ионы аммония, затвердевали при нейтральных значениях pH окружающего раствора.

Введение в состав магнифосфатного цемента монокальцийфосфата, $Ca(H_2PO_4)_2$, позволяет регулировать время схватывания в пределах от 8 до 25 минут [62]. Прочность на сжатие полученного цемента по истечению 48 часов после затворения составляла 39 МПа. На основе результатов эксперимента по цитотоксичности и оценке растворения в модельной среде было показано, что цементы характеризовались биосовместимостью и подвергались разложению в среде, приближенной к условиям в организме. Были получены композитные цементы на основе фосфатов магния с добавлением силиката кальция, характеризующиеся высокой прочностью и биоактивностью, для лечения дефектов костной ткани [63]. Прочность на сжатие цемента с добавлением 25 масс.%

силиката кальция составляла 112 МПа. Была показана способность цементов стимулировать пролиферацию клеток. Магнийфосфатные цементы подвергаются резорбции в модельной среде, имитирующей жидкости организма (SBF – simulated body fluid), что было показано по увеличению количества трещин и разрушению образцов при увеличении времени выдерживания от 14 до 30 дней (рис. 1.8) [64].

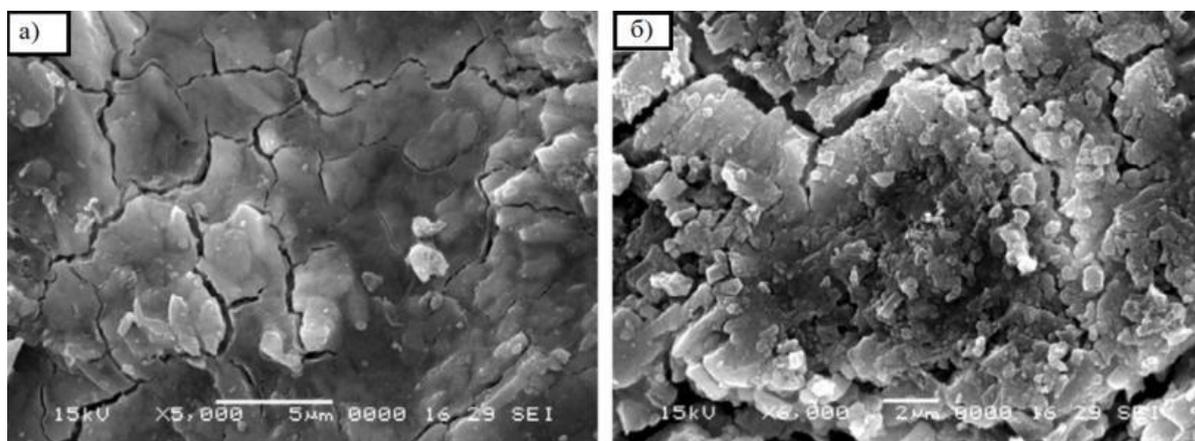


Рис. 1.8 Микрофотографии образцов инъекционного цемента на основе фосфатов магния после выдерживания в модельной среде в течение 14 (а) и 30 (б) дней [64].

Несмотря на вышеописанные достижения в получении магнийфосфатных биоцементов, их применение ограничивают недостатки, связанные с недостаточной скоростью биодеструкции, низкими значениями прочности по сравнению с натуральной костной тканью [65], отсутствием макропор, что ограничивает рост новообразованной костной ткани, и, в ряде случаев, слишком большим временем схватывания.

1.2.2.3 Скаффолды на основе магния

Помимо устройств для фиксации костной ткани, материалы на основе магния можно использовать в инженерии костной ткани для изготовления пористых матриц – скаффолдов (рис. 1.9) [66]. С определенной долей условности, инженерия костной ткани заключается в введении остеобластов, стромальных клеток костного мозга или хондроцитов в скаффолд, который характеризуется хорошей биосовместимостью и может постепенно разрушаться в организме человека [67]. Роль таких скаффолдов заключается в организации трёхмерного пространства для адгезии и роста клеток. Скаффолды, наполненные клетками, вводятся в место костного дефекта, и затем постепенно подвергаются деструкции *in vivo*, в то время как новая ткань за счёт пролиферации клеток и связного порового пространства прорастает в скаффолды.

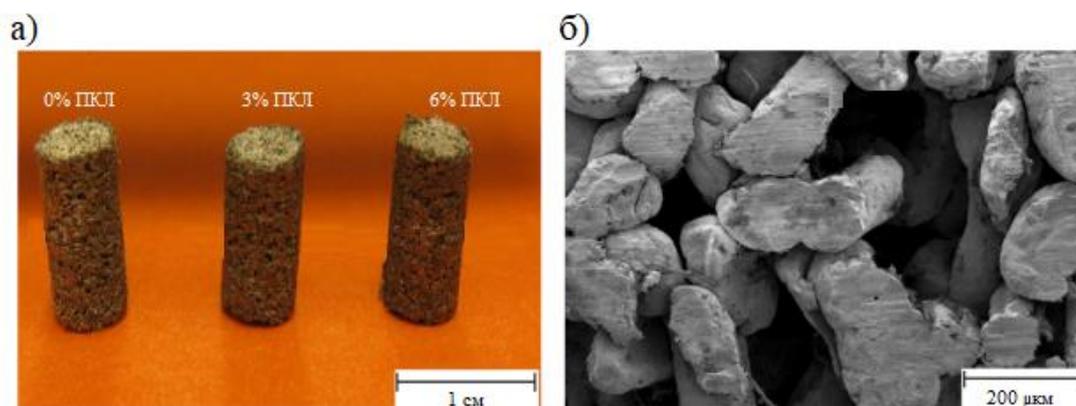


Рис. 1.9 Внешний вид скаффолдов на основе магния с добавлением поликапролактона (ПКЛ) (а) и РЭМ-изображения скаффолда на основе магния (б) [66].

Скаффолд для инженерии костной ткани должен иметь проницаемость, определяемую размером и долей пор, аналогичную естественной костной ткани. При условии поддержания достаточной механической прочности для этого необходима высокая пористость и взаимосвязанная структура пор, поскольку такая среда благоприятна для переноса питательных веществ. Такую пористость можно придать материалу при использовании аддитивных технологий путём подбора нужной архитектуры. За счёт использования полимерной фазы и введения в неё минерального фосфатного наполнителя можно управлять биомеханическими свойствами скаффолда.

В работе [68] авторы получили магнийсодержащие скаффолды с различной пористостью методом пенообразования. Полученные скаффолды характеризовались механической прочностью сравнимой с таковой для губчатой костной ткани. Когда пористость составляла 35% при среднем диаметре пор 250 мкм, модуль Юнга и механическая прочность составляли 1.8 ГПа и 18 МПа, соответственно. Был успешно получен скаффолд с использованием метода репликации шаблона и проведена оценка его деструкции [69]. Магнийсодержащий скаффолд со сферическими порами характеризовался более высокой скоростью деструкции по сравнению со скаффолдами с нерегулярными порами. Интересна возможность создания костного имплантата на основе магния с системой контролируемого высвобождения лекарственных средств. Физиологически-активные препараты, такие как остеоиндуцирующие факторы, трудно непосредственно включать в магниевые имплантаты, но возможно их введение в состав покрытия на поверхности имплантата. Авторы [70] получили полимерные покрытия на имплантате из магния, наполненные противовоспалительным препаратом. Были получены пористые скаффолды с макропористой архитектурой типа «алмаз» с помощью

аддитивных технологий [71]. Разработанные скаффолды характеризовались хорошими прочностными свойствами и скоростью деструкции с потерей объёма около 20% после выдерживания их в течение 4 недель в физиологическом растворе, имитирующем межтканевую жидкость организма.

1.2.2.4 Керамика на основе фосфатов магния

Существует много исследований по разработке керамических материалов на основе фосфатов кальция, в отличие от керамики на основе фосфатов магния, которую изучали гораздо меньше. Магний содержится в минерале костной ткани и за счёт своих биохимических свойств может смещать равновесие в процессе ремоделирования костной ткани в сторону остеосинтеза, т.е. стимулируя образование нативной костной ткани, что является необходимым свойством именно в регенеративном подходе. Авторы работы [72] разработали керамику на основе $Mg_3(PO_4)_2$, полученного из смеси MgO и $(NH_4)H_2PO_4$. Максимальная плотность керамики наблюдалась при спекании при температуре $1025^\circ C$ и равнялась 96.51% (рис. 1.10). Было показано, что при введении в состав керамики серебра, которое обычно используют как электродный материал, не происходило взаимодействия между компонентами и образования новых фаз.

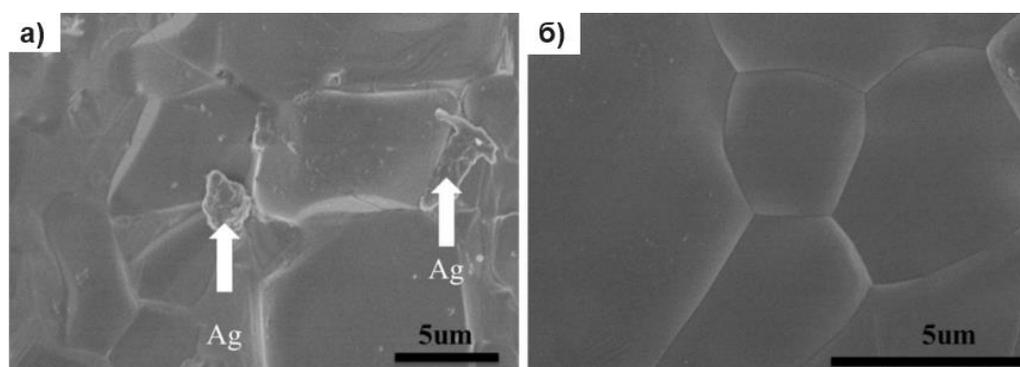


Рис. 1.10 РЭМ-изображения $Mg_3(PO_4)_2$ с добавлением 30 масс.% серебра Ag, спечённого при $950^\circ C$ в течение 4 часов, и $Mg_3(PO_4)_2$, спечённого при $1025^\circ C$ в течение 2 часов [72].

В литературе представлено достаточно много работ по керамике на основе магний-замещённым фосфатам кальция. Введение магния в состав биокерамических материалов на основе фосфатов кальция, таких как ГАП и ТКФ, позволяет увеличить растворимость соответствующих фосфатов кальция. Присутствие ионов магния приводит к замедлению зарождения и роста кристаллов ГАП в процессе биологической минерализации путём блокирования активных центров роста за счёт адсорбции ионов Mg^{2+} на поверхности

кристаллов [73]. В кристаллической структуре ГАП возможно замещение кальция на магний только до 10 ат.%. Кроме того, степень кристалличности Mg-замещённого ГАП снижается с увеличением содержания Mg^{2+} [74]. Замена Mg^{2+} на Ca^{2+} вызывает уменьшение параметров решётки ГАП [75]. ГАП, легированный Mg, характеризуется повышенной растворимостью по сравнению со стехиометрическим ГАП, что может быть связано с большей энергией гидратации катиона магния. С увеличением содержания Mg наблюдается уменьшение объёма элементарной ячейки ГАП, в частности, сжатие вдоль оси *c*. При содержании до 40 масс.% Mg в составе фосфата кальция значительное искажение кристаллической решётки приводит к стабилизации аморфного фосфата кальция [76].

В работе [77] изучали керамику на основе ТКФ с легированием магнием (1 масс.%) и цинком (0.3 масс.%). При фазовом анализе полученных соединений было показано, что происходит замедленное фазовое превращение из β в α -ТКФ, и чистая фаза β -ТКФ была получена для ТКФ, легированного Mg, после спекания при 1250°C. Добавление Mg улучшило поведение уплотнения ТКФ. Кроме того, за счёт введения магния происходило улучшение прочностных характеристик: прочность на сжатие увеличилась с 24 МПа до 77 МПа после легирования Mg и Zn. При проведении биологических исследований было показано, что присутствие Mg стабилизирует границу раздела между клетками и материалом, а также улучшает прикрепление клеток и их рост. Таким образом, было показано, что легирование ТКФ Mg и Zn играет значительную роль в улучшении механических свойств и взаимодействии клеток с керамикой.

Легирование ТКФ магнием приводит к стабилизации β -полиморфной модификации [78]: керамические гранулы содержали только β -модификацию при использовании порошка, легированного Mg в количестве 5 масс.%, в то время как при использовании нелегированного ТКФ было отмечено наличие α -модификации (рис. 1.11). Присутствие магния в решётке ТКФ сильно влияет на кинетику фазового перехода $\beta \rightleftharpoons \alpha$ и способствует спонтанному переходу $\alpha \rightarrow \beta$ при быстром охлаждении или замедляет переход $\beta \rightarrow \alpha$ при нагревании биокерамики [79]. Была показана возможность за счёт введения магния осуществлять переход $\alpha \rightarrow \beta$ в спечённых гранулах ТКФ при обжиге при температуре 850°C.

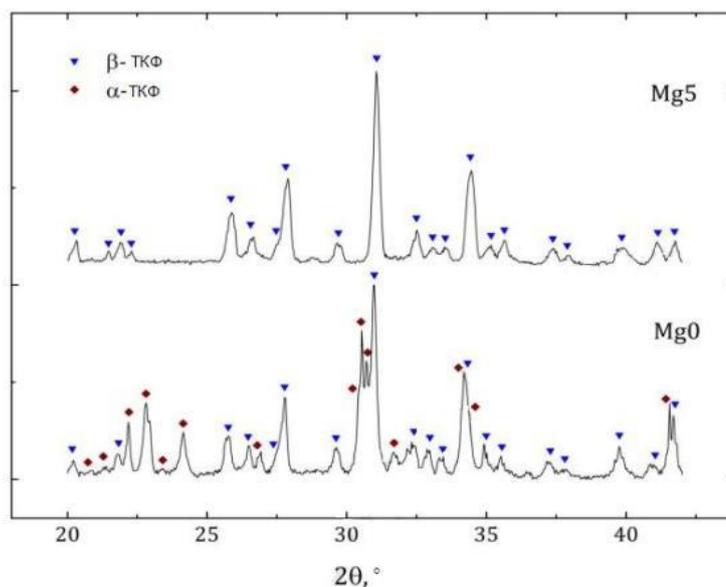


Рис. 1.11 Дифрактограммы образцов ТКФ без введения магния (Mg0) и с добавлением 5 масс.% магния (Mg5) после спекания [78].

Кроме использования фосфатов магния, пористая керамика была получена на основе оксида магния, MgO, и оксида циркония, ZrO₂, взятых в различных соотношениях, которая характеризуется высокой остеоиндуктивной способностью, что было показано при анализе адгезии и морфологии клеток на поверхности материалов [80]. Пористость полученной керамики составляла от 30 до 37%. На основе механических испытаний было показано, что модуль Юнга увеличивался при большем содержании MgO: модуль Юнга для керамики на основе оксида циркония составлял 175 ГПа, для керамики на основе оксида магния – 301 ГПа.

Таким образом, несмотря на большой интерес в плане легирования биокерамики на основе фосфатов кальция магнием, в литературе наблюдается малое количество работ по созданию биокерамики из фосфатов магния, что делает актуальным изучение и разработку новых керамических материалов на их основе.

1.2.3 Резорбция биоматериалов, содержащих магний

При использовании слабодеградируемых в биологической среде материалов (таких как титан и его сплавы, ГАП) может потребоваться повторная операция для удаления их остатков. В современной медицине делается акцент на регенеративном подходе, который позволяет избежать ревизии и полностью реконструировать костную ткань *in vivo*. Процесс резорбции имплантата запускается процессами пассивного растворения, а также клетками-остеокластами. Использование протонированных фосфатов кальция позволяет

повысить скорость растворения имплантатов, однако фазовые изменения часто происходят *in vivo* в результате реакции растворения-повторного осаждения, которая приводит к образованию фаз с более низкой растворимостью, что замедляет деструкцию и, следовательно, кинетику регенерации костной ткани [81]. Материалы на основе фосфатов магния можно рассматривать в качестве альтернативы малорастворимым фосфатам кальция. Их преимуществами являются высокая растворимость в условиях *in vivo* и тот факт, что ион Mg^{2+} является мощным ингибитором роста кристаллов ГАП, тем самым подавляя нежелательную кристаллизацию малорастворимого апатита *in vivo*.

Восстановление костной ткани в области дефекта можно разделить на три этапа: начальный (воспаление), восстановление целостности ткани и ремоделирование. Костный имплантат необходим для обеспечения достаточной поддержки и защиты места дефекта от вторичного повреждения. На третьем этапе повреждённую костную ткань необходимо постепенно стимулировать увеличивающейся нагрузкой для восстановления её несущей функции. Период воспаления длится около недели, а период восстановления – от 3 до 6 месяцев [82]. Чтобы соответствовать скорости восстановления костной ткани, скорость резорбции костных имплантатов не должна быть слишком быстрой или слишком медленной и должна составлять около 0.2-0.5 мм в год [83].

Деструкцию низкотемпературной биокерамики можно описать двумя механизмами. По первому механизму, разложение путём химического растворения произойдет только в том случае, если произведение растворимости керамики в несколько раз превышает соответствующие концентрации ионов в окружающей жидкости организма. Это возможно для вторичных, протонированных фосфатов кальция, таких как монетит ($CaHPO_4$) и брушит ($CaHPO_4 \cdot 2H_2O$) [84]. Во втором случае, деструкция биокерамики возможна при ремоделировании костной ткани остеокластами [85]. Локальная кислая среда, которая формируется протонными насосами этих клеток, приводит к повышенной растворимости керамического материала. Второй механизм деструкции зависит от активности остеокластов на границе раздела керамики и окружающей костной ткани.

При проведении исследований *in vivo* было показано, что сплавы Mg характеризуются слишком быстрой скоростью растворения для восстановления костной ткани (рис. 1.12), однако деструкция *in vivo* происходит медленнее, чем в условиях *in vitro* [86].

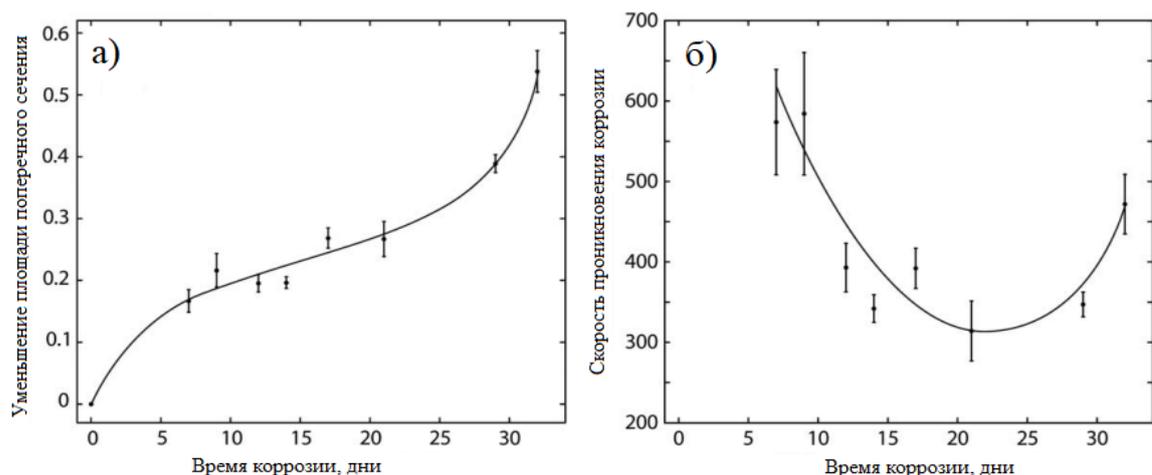
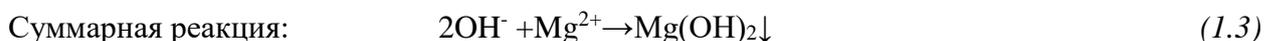
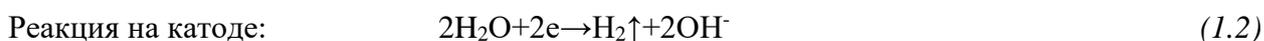


Рис. 1.12 Измеренное уменьшение площади поперечного сечения (а) и рассчитанные скорости проникновения коррозии (б) образцов на основе магния, подвергшихся коррозии *in vivo* [86].

Быстрая деструкция сплавов Mg связана с его электрохимическими свойствами. С точки зрения электрохимической кинетики, сплавы Mg характеризуются сильной электроотрицательностью и подвержены коррозии в физиологической среде, содержащей большое количество хлорид-ионов. Слишком быстрая деструкция костного имплантата на основе сплавов Mg не только приводит к преждевременной потере механической целостности, но и к накоплению водорода, что вызывает появление подкожного отёка и щелочной среде в месте имплантации [87].

Процесс деструкции сплавов Mg *in vivo* происходит за счёт электрохимической коррозии, включающей стадии анодного растворения и катодного восстановления металла Mg, согласно реакциям (1.1-1.3) [88]:



После контакта с жидкостью организма магний окисляется до катиона Mg^{2+} (уравнение 1.1), в результате чего электроны участвуют в реакции катодного восстановления (уравнение 1.2), которая приводит к образованию водорода. В процессе реакции происходит локальное повышение значений pH за счёт образования гидроксид-аниона. Такое локальное повышение pH инициирует реакцию образования $\text{Mg}(\text{OH})_2$ и конкурирующую с ней реакцию осаждения ГАП, причём термодинамически более

стабильной фазой является ГАП (произведение растворимости для $Mg(OH)_2$ составляет $8.9 \cdot 10^{-12}$, а для ГАП – 10^{-117}). Однако осаждение кристаллической фазы ГАП происходит только в областях с низкой концентрацией магния. В основном, описанные реакции проходят на поверхности магниевое имплантата. В жидкости организма растворяется большое количество ионов кислорода, белков и электролитов, таких как хлорид- и гидроксид-ионы, и в таких условиях Mg подвергается коррозии, что приводит к миграции ионов с поверхности металла в окружающую жидкость организма. Слой $Mg(OH)_2$ осаждается на поверхности Mg после коррозии (уравнение 1.3) и может быть растворен хлорид-ионами [89]. Поэтому Mg и его сплавы обычно характеризуются высокой скоростью коррозии в физиологической среде.

На скорость деструкции сплавов Mg существенно влияет форма коррозии, которую можно подразделить на точечную и поверхностную коррозию. Точечная коррозия – это локальная коррозия, которая связана с разрушением пассивной плёнки на поверхности магния, и она зависит от примесей и агрессивных сред (таких как содержащие хлорид-ионы) [90]. Тем не менее, слишком высокая скорость деструкции обычно приводит к преждевременному разрушению механической целостности и локальному накоплению водорода, что на данное время ограничивает клиническое применение сплавов на основе Mg для восстановления костной ткани.

Керамические и цементные биоматериалы на основе фосфатов магния также подвержены растворению в среде организма (рис. 1.13) [91]. Было показано, что брушит и фосфаты магния (струвит и ньюберит) не только химически растворяется в физиологической среде, но и претерпевают значительные изменения фазового состава. На скорость деструкции растворимых соединений фосфатов кальция и магния влияют новообразованные гидратные фазы в структурах имплантатов. Ньюберит ($MgHPO_4 \cdot 3H_2O$) и каттит ($Mg_3(PO_4)_2 \cdot 22H_2O$) характеризовались хорошей биосовместимостью, обусловленной адгезией и дифференцировкой остеобластов.

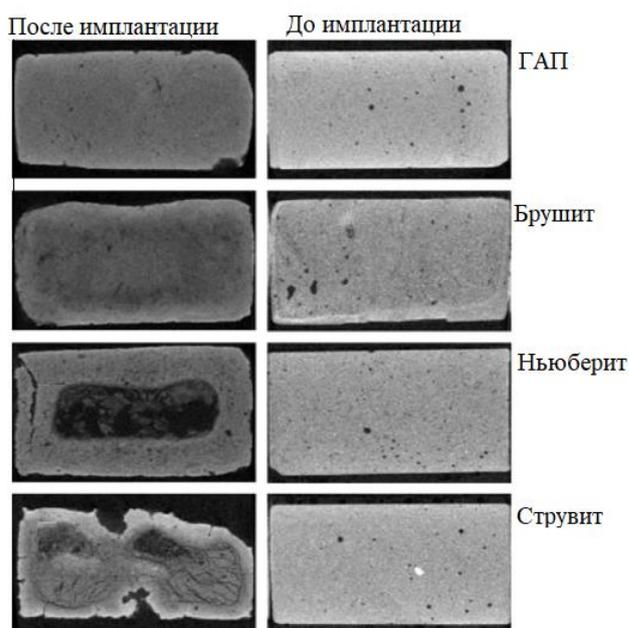


Рис. 1.13 Микротомография образцов на основе цементов до (справа) и после (слева) 15 месяцев имплантации [91].

Таким образом, биоматериалы на основе фосфатов магния имеют значительный потенциал достижения больших скоростей деструкции в среде организма по сравнению с фосфатами кальция, что может обеспечить регенеративный подход в инженерии костной ткани. При этом слишком высокая скорость деструкции имплантата может быть скорректирована за счёт использования другого менее резорбируемого компонента в составе биоматериалов.

1.2.4 Структура и свойства фосфатов магния

1.2.4.1 Системы на основе фосфатов и оксидов магния

Системы на основе фосфатов магния, в отличие от систем для фосфатов кальция, были довольно мало изучены в литературе. Кроме брушита и октакальциевого фосфата (ОКФ, $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), другие соединения фосфатов кальция не имеют в своих структурах кристаллизационной воды, тогда как большинство фосфатов магния гидратируются при низкой температуре. Фосфаты магния, содержащие гидратационную воду ($\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ с $x=4, 2, 0$; $\text{MgHPO}_4 \cdot y\text{H}_2\text{O}$ с $y=3,7$; и $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot z\text{H}_2\text{O}$ с $z=8, 22$), могут быть синтезированы путём осаждения в водных растворах [92]. Фазовые отношения между этими гидратированными фазами были изучены в работе [93], где было показано, что за исключением ньюберита ($\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), большинство фосфатов магния обладают инконгруэнтной растворимостью. Ньюберит образует невариантную систему с $\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ в кислых растворах, и при увеличении рН растворимость уменьшается на несколько порядков. Высокотемпературное прокалывание может привести к

превращению фаз фосфатов магния, содержащих гидратационную воду, либо в пиррофосфат магния ($Mg_2P_2O_7$), либо в ортофосфат магния ($Mg_3(PO_4)_2$) [94]. Температура термообработки была $850^\circ C$, выдержка составляла 6 часов. Как и в соединениях на основе фосфатов кальция, соединения в системе фосфатов магния могут включать другие катионы, такие как NH_4^+ , Na^+ и K^+ , для получения новых материалов с изменёнными физико-химическими свойствами [95].

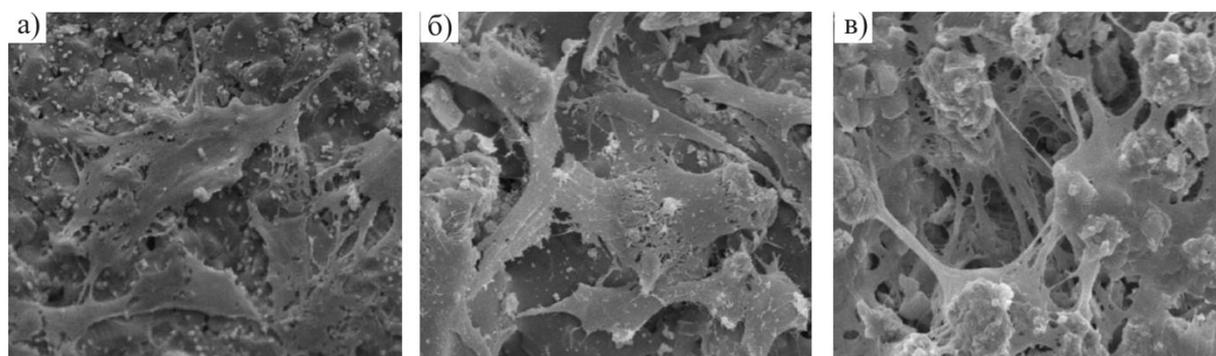


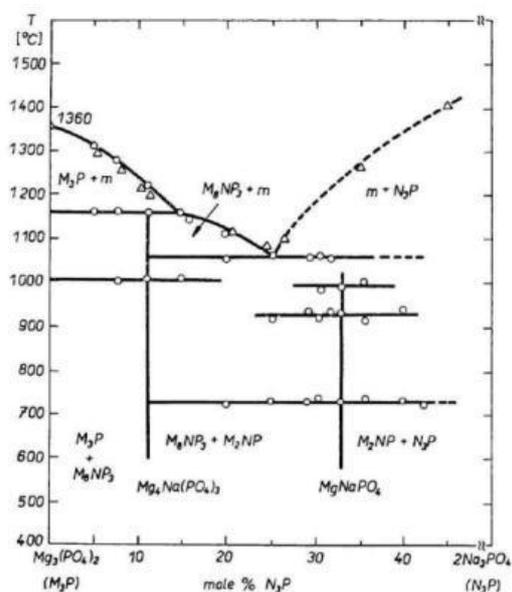
Рис. 1.14 РЭМ-микрофотографии культивирования клеток на керамике в течение 7 дней: а) монтичеллит, б) акерманит и в) мервинит [96].

В системе $MgO-CaO-SiO_2$ возможно получение биокерамических материалов, не оказывающих цитотоксичного воздействия с относительной плотностью более 90% [96]. В составе биокерамики варьировалось содержание MgO . Было показано, что содержание MgO определяет механические и биологические характеристики биокерамики в исследуемой системе, в то время как содержание SiO_2 не оказывало сильного влияния на пролиферацию клеток. На основе механических испытаний было показано, что модуль Юнга и прочность на изгиб увеличивались при большем содержании MgO , в то время как способность к образованию апатита в модельной среде, имитирующей жидкости организма, и пролиферация клеток остеобластов снижались. Было показано прикрепление и распластывание клеток остеобластов на исследуемых керамических материалах на основе монтичеллита ($CaMgSiO_4$), акерманита ($Ca_2MgSi_2O_7$) и мервинита ($Ca_3MgSi_2O_8$) (рис. 1.14). В работе [97] исследовали процесс кристаллизации с помощью термического анализа и поляризационного микроскопа стеклокерамики в системе $MgO-CaO-SiO_2$. Состав стеклокерамических материалов включал волластонит ($Ca_3(Si_3O_9)$) и диопсид ($CaMg(Si_2O_6)$). Увеличение соотношения диопсида привело к увеличению химической стойкости. Почти все графики ДТА содержали эндотермический пик в диапазоне температур $697-785^\circ C$ и экзотермический пик в диапазоне $902-907^\circ C$. Эндотермическая реакция связана с увеличением объёма из-за изменения структуры стекла, а

экзотермическая реакция обусловлена кристаллизацией и сопровождается уменьшением свободной энергии.

В литературе обнаружилось несколько работ, где была изучена фазовая диаграмма $Mg_3(PO_4)_2 - Na_3PO_4$. В одной работе [98] (рис. 1.15) диаграмма была построена на основе результатов ДТА и высокотемпературной микроскопии. Температуры изотермических реакций в системе определяли по максимуму пика ДТА-сигнала, а температура ликвидуса по пересечению экстраполяции базовой линии и касательной в точке перегиба нисходящей части пика. Соединение $MgNaPO_4$ претерпевает по крайней мере четыре фазовых перехода.

а)



б)

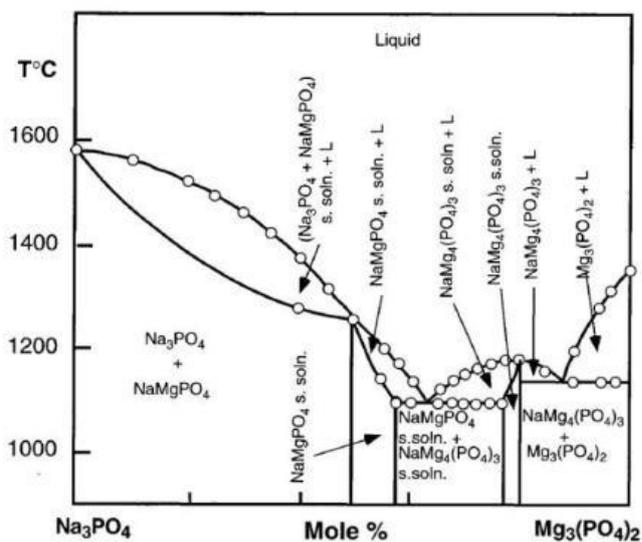


Рис. 1.15 Фазовые диаграммы системы $Mg_3(PO_4)_2 - Na_3PO_4$, взятые из работы а) [98] и б) [99, 100].

В работах Устьянцева и соавторов [99, 100] было проведено исследование фазовой диаграммы $Mg_3(PO_4)_2 - Na_3PO_4$. Следует отметить указанные авторами достаточно широкие области гомогенности у фосфатов магния-натрия, в отличие от работы [98], однако в работах не обозначены границы фазовых областей, соответствующие фазовым переходам данных соединений.

Подводя небольшие итоги, можно отметить три работы, где затрагивалась исследуемая система, однако все они плохо согласуются друг с другом, что делает актуальным установление фазовых отношений в системе $Mg_3(PO_4)_2 - MgNaPO_4$, а также изучение количества и типов фазовых переходов его компонентов и промежуточных соединений.

Таким образом, соединения на основе фосфатов магния могут проявлять сопоставимую эффективность с кальцийфосфатными аналогами, при этом обладая дополнительными преимуществами, такими как повышенная скорость деструкции в организме и способность к стимулированию остеосинтеза. Несмотря на это, в сравнении с хорошо изученными материалами на основе фосфатов кальция, системы на основе фосфатов магния всё ещё нуждаются в тщательном изучении. В следующих главах будут рассмотрены соединения фосфатов магния и магний-натриевых фосфатов.

1.2.4.2 Ортофосфат магния $Mg_3(PO_4)_2$

Для ортофосфата магния, $Mg_3(PO_4)_2$, характерно наличие трёх полиморфных модификаций (I, II, III). Первая модификация, $Mg_3(PO_4)_2$ -I (фаррингонит), была найдена в метеоритах. Вторая и третья модификации могут быть получены из первой при высоких давлениях и температурах [101]. Было обнаружено присутствие $Mg_3(PO_4)_2$ в составе мочевых камней, что обуславливает его хорошую биосовместимость [102].

Кристаллические структуры $Mg_3(PO_4)_2$ -I и $Mg_3(PO_4)_2$ -II принадлежат к пространственной группе $P2_1/n$ [103]. Кристаллическая структура фаррингонита показана на рис. 1.16 [104]. Элементарная ячейка $Mg_3(PO_4)_2$ -I состоит из одного катиона искажённого шестикоординационного $Mg(2)$ и двух различных пятикоординационных $Mg(1)$.

Благодаря своим особым физическим и химическим свойствам $Mg_3(PO_4)_2$ -I был предметом многих исследований. Было показано, что порошок $Mg_3(PO_4)_2$ -I подходит для 3D-печати имплантатов: в работе [105] были синтезированы порошки $Mg_3(PO_4)_2$ для 3D-печати при обжиге смеси $MgHPO_4 \cdot 3H_2O$ и $Mg(OH)_2$ при $1100^\circ C$ в течение 6 часов. Наиболее подходящие для печати свойства порошка были получены при времени измельчения 60 мин и добавлении 1% гидроксипропилметилцеллюлозы. Последующее упрочнение после печати повысило прочность на сжатие до 10 МПа для струвита и до 35 МПа для ньюберита.

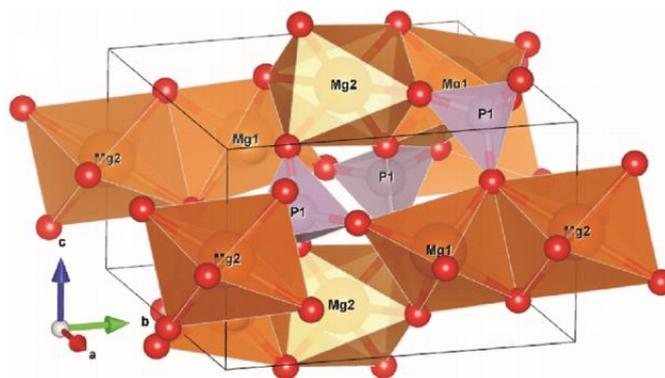


Рис. 1.16 Структура $Mg_3(PO_4)_2$ -I (фаррингонит) [104].

В литературе есть работы по изучению систем, содержащих $Mg_3(PO_4)_2$. В работе [106] исследовали систему $Ca_3(PO_4)_2$ – $Mg_3(PO_4)_2$ с помощью термического, рентгеновского анализов и микроскопии (рис. 1.17). Было обнаружено новое соединение $Ca_3Mg_3(PO_4)_4$ при температуре ниже $1175^\circ C$, а также показано, что включение магния в структуру ТКФ ведёт к стабилизации решётки.

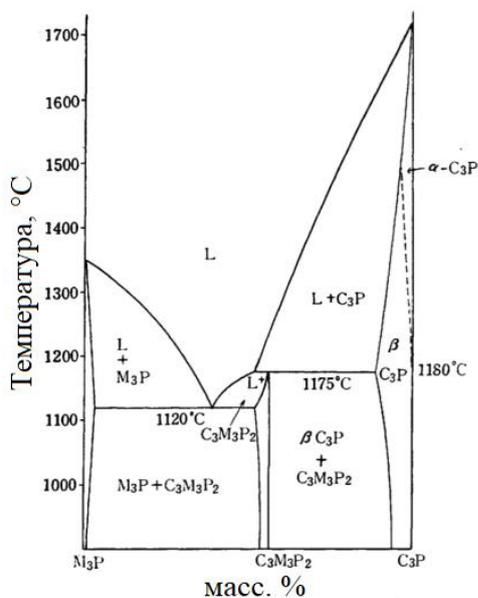


Рис. 1.17 Фазовая диаграмма бинарной системы $Mg_3(PO_4)_2$ – $Ca_3(PO_4)_2$ [106].

1.2.4.3 Фосфат магния-натрия $MgNaPO_4$

В литературе присутствует мало сведений относительно изучения фазы фосфата магния-натрия, $MgNaPO_4$. В работе [107] было показано, что соединение $MgNaPO_4$ имеет две полиморфные модификации: α и β . При проведении термического анализа соединения $MgNaPO_4$ в диапазоне температур от 27 до $900^\circ C$ было показано наличие одного

эндотермического эффекта на нагрев и одного экзотермического эффекта на охлаждение. Эти эффекты авторы относят к обратимому, но кинетически затруднённому фазовому переходу MgNaPO_4 при 417°C . Это было подтверждено данными высокотемпературной рентгеновской дифракции, причём выше температуры примерно 927°C наблюдается разложение соединения. Поскольку после охлаждения не наблюдалось рефлексов, отнесённых к α модификации, авторы отнесли рефлексы к продуктам разложения. В полученном порошке можно было идентифицировать только $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$. Термический анализ также был затруднён после нагрева выше 927°C . В работе [108] был проведён термический анализ MgNaPO_4 при температурах от 500°C до 1000°C , и кривая ДТА содержала 6 тепловых эффектов. Это может быть связано с большим количеством полиморфных превращений или прохождением химических реакций при нагревании. Однако авторы считают, что рассматриваемая фаза характеризуется одним полиморфным превращением при 590°C , в то время как остальные термические эффекты связаны с реакциями разложения. Получение MgNaPO_4 производили твердофазным методом из смеси ортофосфата натрия и ортофосфата магния, но в работе не было приведено данных относительно состава синтезированного продукта.

В целом, литературные данные касательно синтеза и полиморфизма фосфата магния-натрия противоречивы, неизвестно точное количество полиморфных модификаций и остаются неизвестными температуры полиморфных превращений.

1.2.4.4 Тетрамагнийнатриевый фосфат $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$

Фаза тетрамагнийнатриевого фосфата, $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$, может быть рассмотрена как промежуточное соединение в обогащённой $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ части системы $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2\text{--Na}_3\text{PO}_4$ [108]. В литературе [109] есть данные, что фаза плавится инконгруэнтно при 1180°C и содержит одну полиморфную модификацию, однако эти данные разнятся. Полиморфизм $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ был исследован авторами [106], которые обнаружили, что тетрамагнийнатриевый фосфат кристаллизуется в орторомбической системе, но авторы не приписали представленные параметры ни высокой, ни низкой температурным модификациям. Таким образом, данные относительно полиморфных превращений и плавления тетрамагнийнатриевого фосфата являются неполными, и требуют дальнейших изучения и проверки.

Методы получения $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ основаны на твердофазных реакциях до 1000°C , способов получения раствором методом в литературе найдено не было.

1.3. Создание композиционных материалов на основе гидрогелей, наполненных фосфатами

1.3.1 Применение гидрогелей в качестве биоматериалов

1.3.1.1 Определение гидрогелей

Ещё одним из возможных подходов для создания биоматериалов является использование различных полимеров, в том числе гидрогелей. Поскольку костная ткань является композиционным материалом, то для создания биоматериалов активно рассматривают композиты, включающие как неорганическую, так и органическую фазу. Гидрогели привлекают интерес для применения их в современной медицине, благодаря ряду свойств – гидрофильности и способности к набуханию, вязкоупругому поведению, диффузионной проницаемости. Полимерные сетки могут состоять из гомополимеров или сополимеров, а их структурная и физическая целостность обусловлена наличием перекрёстных связей, которые могут иметь физическую или химическую природу.

Наиболее часто гидрогели определяют как сшитые сетки гидрофильных полимеров, которые способны набухать в водной среде [110]. Процесс набухания, при котором пористый материал самопроизвольно увеличивается за счёт поглощения жидкости, позволит обеспечить плотное прилегание биоматериала к стенкам дефекта. Постоянно растущий набор мономеров расширяет диапазон свойств и области применения создаваемых на их основе гидрогелей. Поскольку структура и свойства гидрогелей довольно близки к таковым для многих тканей человеческого организма, эти полимеры активно применяют в различных областях современной биологии и медицины. Так, гидрогели нашли применение в таких областях, как тканевая инженерия, создание биосенсоров [111], доставка лекарств [112], разработка биоразлагаемых скаффолдов для лечения дефектов костной ткани [113] (рис. 1.18).

Управление и контроль степени сшивки, набухания, а также размера и формы имплантата за счёт аддитивных технологий позволяют обеспечить индивидуальный подход к лечению пациентов, что делает гидрогели перспективными с точки зрения создания биоматериалов для лечения дефектов костной ткани.



Рис. 1.18 Иллюстрация применения гидрогеля для создания самовосстанавливающегося после механической нагрузки скаффолда, который может быть использован как датчик движения [113].

1.3.1.2 Классификации гидрогелей

Классификация гидрогелей в зависимости от используемых мономеров и физических свойств

Гидрогелей можно разделить на две категории по типу используемых мономеров: природные и синтетические. Природные полимеры определяют как вещества, присутствующие в природе или получаемые из растительных или животных источников. Гидрогели на основе таких полимеров (коллагена, фибрина, гиалуроновой кислоты) являются неотъемлемой частью внеклеточной структуры тканей млекопитающих, что обуславливает их высокую биосовместимость, низкую цитотоксичность, поддержку адгезии и пролиферации клеток, а также содействие регенерации ряда тканей организма, в том числе костной. Тем не менее, из-за недостаточной механической прочности такие гидрогели применимы лишь для восстановления костной ткани при небольших дефектах.

Синтетические полимеры представляют собой искусственно синтезированные соединения. Они составляют обширную группу веществ, используемых при разработке biomaterialов, и получают их путём синтеза с использованием биоразлагаемых полимеров, таких как полиэтиленгликоль (ПЭГ), поливиниловый спирт, полиакриламид, полимолочная кислота и её сополимеры и других [114]. Гидрогели на основе синтетических полимеров обладают преимуществами, заключающимися в возможности регулирования механических свойств, набухания и времени деструкции.

Согласно другой классификации, гидрогели подразделяют на неионные, ионные (анионные, катионные и амфолитные), а также гидрофильные и гидрофобные. Неионные гидрогели, такие как поли(N-винилпирролидон) и ПЭГ, набухают в водной среде за счёт взаимодействия воды и полимера. Набухание катионных гидрогелей зависит от значений pH водной среды, поскольку кислотность среды влияет на степень диссоциации ионных

цепей. Катионные гидрогели характеризуются высокими значениями набухания в кислых средах при их цепной диссоциации. Аналогично, анионные гидрогели больше диссоциируют в средах с более высокими значениями pH и, следовательно, проявляют более высокие значения набухания в нейтральных растворах.

В зависимости от свойств и используемых мономеров гидрогели могут найти применения в различных областях медицины (рис. 1.19).

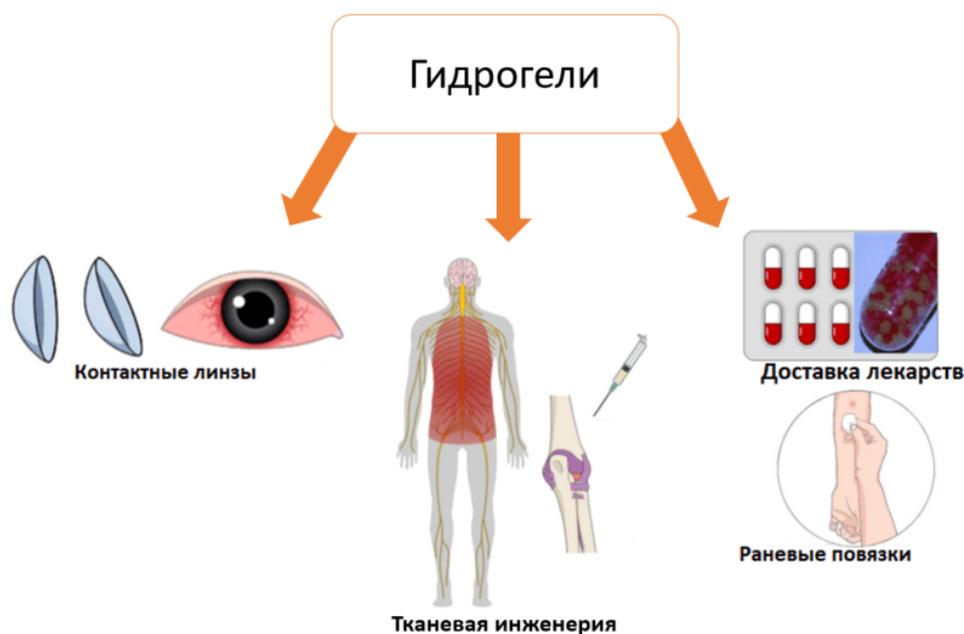


Рис. 1.19 Области применения гидрогелей.

Классификация гидрогелей по способам получения

Гидрогели по способам получения можно разделить на две группы: а) физически сшитые и б) химически сшитые гидрогели [115].

Физически сшитые гидрогели получают при образовании полимерной сетки с помощью слабых нековалентных связей, в то время как химически сшитые гидрогели характеризуются большей стабильностью и более высокими прочностными свойствами. Преимущества физических методов сшивания гидрогелей по сравнению с химическими заключаются в относительной простоте и отсутствии необходимости использования сшивающих агентов в процессе синтеза. Физически сшитые гидрогели не растворяются в воде из-за физических взаимодействий между полимерными цепями. Их применяют в пищевых, фармацевтических и биомедицинских областях, где нежелательным является использование сшивающих агентов [116]. В литературе физические способы получения гидрогелей делят на замораживание-оттаивание [117], образование стереокомплексов

[118], ионные взаимодействия [119, 120], Н-связывание [121], теплоиницируемую агрегацию [122]. Недостатком физических методов получения гидрогелей является ограниченная гибкость из-за трудности в управлении параметрами, такими как время гелеобразования и деструкции, размер пор сетки, в то время как при использовании химических методов синтеза эти параметры можно варьировать.

Химически сшитые гидрогели получают путём образования полимерных сеток с ковалентными связями, и они не подвергаются растворению пока ковалентные точки сшивки не будут расщеплены. Химические методы включают в себя химическое сшивание [123], прививание [124], радикальную полимеризацию [125], реакцию конденсации [126], ферментативную реакцию [127] и сшивание при использовании высокоэнергетического излучения [128].

Таким образом, химические методы получения гидрогелей перспективны вследствие возможности контролирования процесса синтеза и получения более устойчивых к внешним условиям гидрогелей. Кроме того, химическое сшивание приводит к образованию полимерных сеток с относительно высокой механической прочностью.

1.3.2 Свойства гидрогелей

1.3.2.1 Биодеструкция гидрогелей

Важным свойством гидрогелей является их способность к деструкции, которая влияет на плотность связей и биомеханику гидрогелей. Деструкция гидрогелей может вызвать ухудшение их механических свойств, следовательно, скорость деструкции гидрогеля должна быть равна скорости образования новой костной ткани. Данную характеристику можно изменять в зависимости от состава материала и кинетики деструкции.

В последнее время биоразлагаемые гидрогели получили широкое распространение для применения в различных биомедицинских областях, поскольку такие гидрогели могут быть использованы для реализации регенеративного подхода и обеспечивают механическую поддержку и физиологическую среду, благоприятную для стволовых клеток [129]. Способность гидрогелей к деструкции характеризуют путём измерения механических свойств [130], молекулярной массы или потери массы гидрогеля [131].

Биополимерные материалы подвергаются деструкции *in vivo*, в основном, при протекании ферментативных или гидролитических процессов. Например, гидрогели на основе хитозана подвергаются деструкции в присутствии таких ферментов, как лизоцим и хитиназа [132]. В работе [133] исследовали процесс деструкции гидрогелей на основе

хитозана с разными степенями ацетилирования, и гидрогели со степенью ацетилирования 31.7 продемонстрировали полное разложение менее чем за 65 часов. Независимо от степени ацетилирования гидрогели характеризовались высокопористой морфологией.

1.3.2.2 Механические свойства гидрогелей

Гидрогели характеризуются относительно невысокими значениями модуля упругости, что приводит к тому, что измерение и интерпретация механических данных имеет ряд трудностей: 1) может быть затруднено закрепление образцов для тестирования; 2) модуль упругости большинства гидрогелей составляет порядка килопаскалей (кПа), а на большинстве оборудований для механических испытаний можно проводить измерения в диапазоне от мегапаскалей (МПа) до гигапаскалей (ГПа); 3) поскольку гидрогели являются многофазными материалами, состоящими из пористой твёрдой фазы с жидкой фазой растворителя (воды), описание механических процессов отличается от описания для твёрдых полимеров, и необходима дополнительная обработка данных.

При механических испытаниях гидрогелей применяют основные методы и устройства, используемые для полимерных материалов. Так, возможно применение метода вдавливания при использовании инденторов, когда зонд известной геометрии приводят в контакт с поверхностью материала, вдавливают в материал и снова вытягивают [134].

При испытании материалов на растяжение и на неограниченное сжатие данные о перемещении–нагрузке ($F-x$) преобразуют в данные о напряжении–деформации ($\sigma-\epsilon$), и на основе полученных данных определяют модуль Юнга (E) и прочность на разрушение. Типичные испытания проводят с фиксированной скоростью до разрушения образца (рис. 1.20а) [135]. Также образец могут подвергать смещению (расширение при постоянной нагрузке или фиксированном напряжении) и релаксации (уменьшение нагрузки при фиксированных деформации или напряжении) (Рис. 1.20б).

Механические испытания с синусоидальной нагрузкой проводят с использованием реометров, и в результате испытаний получают частотную развертку (рис. 1.20в), где синусоидальное колебание имеет фиксированную (и обычно довольно малую) деформацию при изменении частоты колебаний. При использовании реологии получают эластичную (G') и вязкую (G'') компоненты комплексного модуля сдвига (G^*) в зависимости от частоты [136].

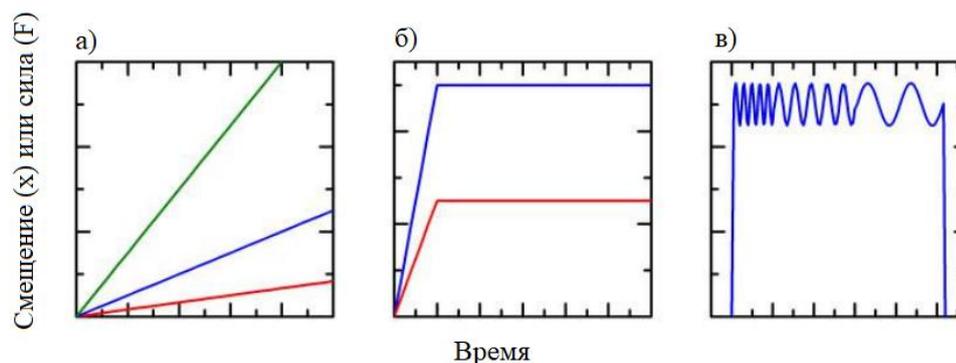


Рис. 1.20 Типы механических испытаний: зависимости принудительного перемещения ($x-t$) или действия силы ($F-t$) при фиксированной скорости нагрузки (а), статической ползучести или релаксации при фиксированной силе или перемещении (б) и синусоидальной нагрузки при переменной частоте (в) от времени [135].

1.3.2.3 Набухание гидрогелей

Важной особенностью гидрогелей является их способность к набуханию. Гидрогели являются сетчатыми гидрофильными полимерными материалами, которые могут содержать большое количество воды без растворения. Благодаря большому содержанию воды, гидрогели являются биосовместимыми, и могут быть синтезированы с содержанием воды, близким к таковому в биологических тканях (70%) или значительно превышающим его (до 99%) [137]. Гидрофильные полимеры без сшивания называются гидрозолями, когда они растворяются в водном растворе. Гидрозоли характеризуются свойствами жидкости, а гидрогели – свойствами твёрдого вещества.

Гидрогели, синтезированные на основе таких полимеров как полиакриловая кислота, поли(N-изопропилакриламид) и поли(N,N-диметилакриламид), могут изменять способность к набуханию, которое можно описать как изотропное изменение объёма (рис. 1.21), при изменении таких параметров как значения рН, концентрация соли, ионная сила, температура, электрическое поле и облучение светом [138].

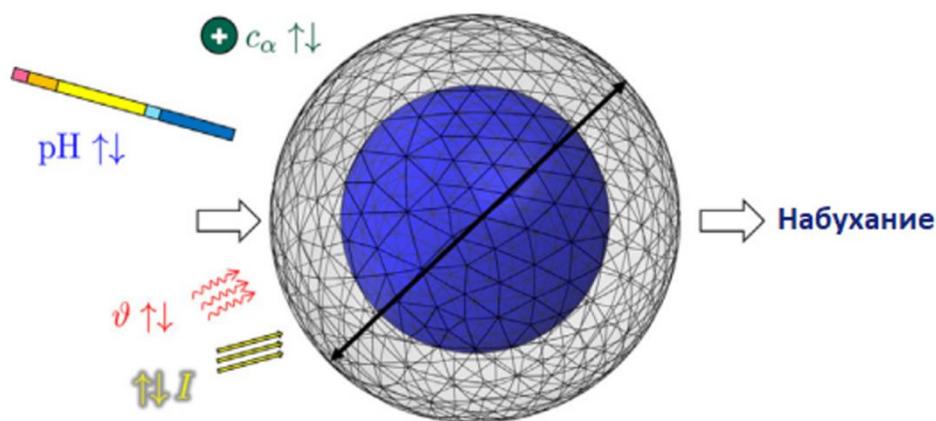


Рис. 1.21 Изменение условий внешней среды, которые могут быть использованы для изменения способности гидрогелей к набуханию [139].

Высокое содержание воды в гидрогелях облегчает процессы диффузии и является преимуществом при использовании гидрогелей в биомедицинских целях, таких как инкапсуляция клеток, доставка лекарств. Однако при набухании гидрогелей происходит ухудшение механических свойств гидрогелей, и это нужно учитывать при создании новых биоматериалов. Авторы [140] проводили измерение упругих свойств гидрогелей на основе полиакриламида с разным количеством сшивающего агента в процессе их набухания. В результате исследования была показана зависимость между механическими свойствами гидрогелей и набуханием: наиболее жёсткие ($G' = 4530$ Па) гели характеризовались незначительными изменениями модуля упругости с течением времени, в то время как мягкие гели ($G' = 260$ Па) характеризовались снижением значений модуля упругости на 33.7 и 33.3% между 0-м и 1-м днями набухания.

Для предотвращения чрезмерного набухания гидрогелей можно использовать несколько способов: 1) включение сжимающегося компонента для предотвращения набухания [141]; 2) использование мономеров с разным количеством функциональных групп; 3) наполнение гидрогелей неорганической фазой. В работе [142] разработаны гидрогели на основе ПЭГ, которые были сополимеризованы с N-акрилоилглицинамидом для улучшения механических свойств при набухании. Полимерные сетки на основе ПЭГ характеризовались высоким содержанием воды и эластичностью, а второй компонент, N-акрилоилглицинамид, уменьшал способность гидрогелей к набуханию за счёт образования двойной сетки водородных связей, которая придаёт сильное сопротивление при механической нагрузке и ведёт к диссипации энергии. Полученный гидрогель характеризовался более высоким содержанием воды, чем большинство жёстких

гидрогелей, способностью к растяжению и восстановлению в максимально набухшем состоянии (рис. 1.22).

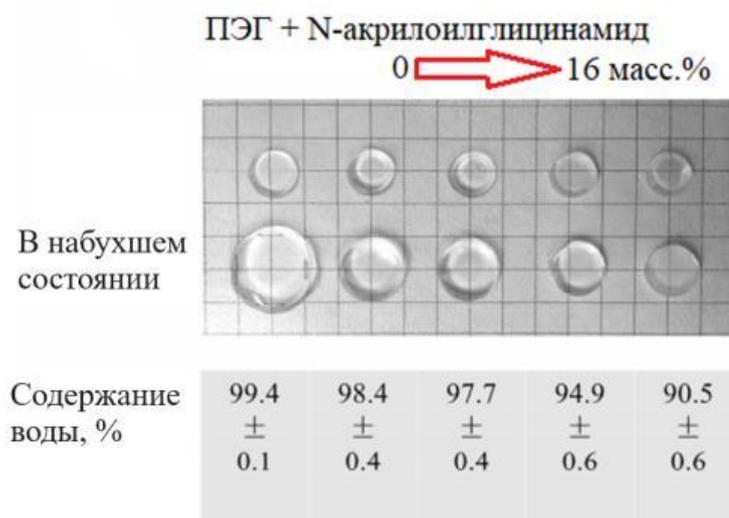


Рис. 1.22 Набухание и содержание воды гидрогелей на основе ПЭГ с добавлением N-акрилоилглицинамида [142].

В работе [143] были получены гидрогели на основе ПЭГ, характеризующиеся в набухшем состоянии высокой эластичностью и упругостью. При проведении испытаний на растяжение было показано, что гидрогели после набухания можно было обратимо сжимать и растягивать, и они характеризовались наличием упругости даже при большой деформации (700% деформация при растяжении и 95% деформация при сжатии). Предполагается, что такие механические характеристики были получены благодаря гибкой структуре гидрогеля и высокой гидрофильности полимерной сетки.

1.3.3 Применение 3D-печати для создания новых биоматериалов на основе гидрогелей

1.3.3.1 Использование аддитивных технологий для создания биоматериалов

Аддитивные технологии позволяют быстро создавать детали и конструкции сложной формы из различных материалов. Такие технологии, например, 3D-печать, позволяет создавать уникальные изделия из металлов, керамики или полимеров без использования пресс-форм и механической обработки. За последние двадцать лет технология трёхмерной печати достигла существенного прогресса и нашла широкое применение в различных сферах науки и техники, таких как медицина, аэрокосмическая промышленность и пищевое производство [144, 145].

Технологию 3D-печати активно применяют для создания изделий для имплантации, особенно в тканевой инженерии и регенеративной медицине. При создании изделий для имплантации к материалам предъявляются достаточно жёсткие требования: имплантация не должна сопровождаться тяжелыми воспалительными реакциями, что контролируется биосовместимостью изделия; макроструктура имплантата, обеспечивающая адгезию клеток и прорастание новой ткани, должна характеризоваться высокой пористостью. По этой причине, методы 3D печати играют важную роль в создании новых биоматериалов для регенерации костной ткани [146]. Меняя микроструктуру имплантата, можно варьировать его жёсткость и влиять на взаимодействие клеток с материалом. Для проявления отклика в биохимических процессах используют белковые структуры, которые часто являются дорогостоящими, излишне лабильными и потенциально иммуногенными. В качестве альтернативы этому возможно использование механического воздействия для дифференцировки клеток. Управление жёсткостью имплантата для клеточной дифференцировки – достаточно эффективное средство для создания бесшовных тканевых границ между минерализованной костной тканью и более мягкими тканями, такими как, например, хрящи, связки и сухожилия [147]. По сравнению с другими методами получения пористых структур, аддитивные технологии имеют преимущество точного контроля пористой структуры. Сочетая технологии CAD (от англ. computer aided design) и компьютерной томографии, возможно легко реализовать настройку костных имплантатов для разных пациентов, или под конкретные размеры и формы дефекта, тем самым обеспечивая индивидуальный подход к лечению.

Создание на 3D-принтере модели имплантата для медицинского применения включает в себя несколько этапов: 1) идентификацию целевой анатомической области тканевого дефекта, для этого, в основном, используют томографические исследования; 2) компьютерное проектирование макропористой структуры (архитектуры) имплантата и придание модели имплантата внешней формы согласно томографической визуализации; 3) выбор материала имплантата и подходящего для него метода трёхмерной печати; 4) 3D-печать модели имплантата (конструкции) и её последующая обработка (если требуется, например удаление полимера при 3D-печати керамики; замена растворителя; дополнительные реакции сшивки). При завершении процесса моделирования архитектуры проводят разбивку модели на тонкие слои, изображение которых отправляют на 3D-принтер для послойного воспроизведения компьютерной модели, что приводит к получению изделия с заданной макроструктурой.

Варьирование условий 3D-печати позволяет регулировать свойства материала, используемого для создания печатной конструкции. Так, например, более мягкие материалы, необходимые для регенерации тканей, могут быть получены в процессе печати путём регулирования процесса полимеризации исходных мономеров [148]. В ходе клинических испытаний было показано, что костные имплантаты, изготовленные с помощью 3D-печати, не претерпевают быстрой потери прочности, не вызывают воспалительных реакций при имплантации, пористая архитектура изделий позволяет обеспечить прорастание костной ткани [149]. Таким образом, аддитивные технологии играют важную роль в различных медицинских направлениях.

1.3.3.2 Получение гидрогелей методами 3D-печати

1.3.3.2.1 Стереолитография

Среди всех методов трёхмерной печати стереолитографическая 3D-печать (стереолитография) занимает особое место, поскольку характеризуется высокой разрешающей способностью (минимальным размером воспроизводимой при печати детали исходной модели). В основе стереолитографического метода лежит локальная фотополимеризация раствора мономера или суспензии в случае получения композитов под действием УФ-излучения (для двухфотонной литографии обычно используется излучение в диапазоне длин волн 600-700 нм). Латеральное (в плоскости xy) разрешение двухфотонной стереолитографии достигает нескольких десятков нм, а разрешение проекционной литографии – 50 мкм. Полимеризацию суспензий осуществляют воздействием сфокусированного лазерного пучка (SLA-модификация стереолитографии, от англ. Stereolithography) или засветки всего поверхностного слоя через динамическую маску (проекционная литография или DLP-модификация, от англ. Digital Light Processing). Динамическая маска, создающая изображение засвечиваемого слоя модели, реализуется с помощью проектора с жидкокристаллическим экраном или стандартного проектора для презентаций с DMDTM-системой микрзеркал. DLP-стереолитография характеризуется более низким разрешением по сравнению с SLA-модификацией, однако за счёт меньшей длительности процесса печати и более простой конструкции чаще используется на практике.

Существует несколько различных методов стереолитографии, включая SLA, DLP, а также специализированные методы, такие как двухфотонная полимеризация (Two-photon stereolithography, TPP) или непрерывное производство жидкостных интерфейсов (Continuous liquid interface production, CLIP), облучение с помощью фотомаски с

жидкокристаллическим дисплеем (Liquid crystal display, LCD). Сравнительный анализ методов стереолитографии приведён в табл. 1.3 [150].

Табл. 1.3 Сравнительный анализ методов стереолитографии

Метод стереолитографии	Латеральное разрешение, мкм	Скорость печати, мм/ч	Максимальный размер печати, мм
SLA	6–140	14	27–750
TPP	0.4	-	100 × 100 × 3
DLP	33–120	25–150	45–230
CLIP	50–100	500	80–320
LCD	50–100	20–60	55–160

Важным параметром для печати является вязкость. Как правило, самые высокие значения вязкости, которые могут быть использованы в стереолитографии, составляют примерно 5 Па·с [151, 152]. В случае использования растворителей возможно проведение печати из суспензий на основе высоковязких мономеров. В этом случае отверждённый материал сжимается при экстракции растворителя. Эта усадка является изотропной, и её можно учитывать при проектировании материала. Длину полимерной цепи можно регулировать путём варьирования иницирующих условий полимеризации (природы и концентрации фотоинициатора, интенсивности света).

В основе процесса стереолитографии лежит реакция фотополимеризации, важными параметрами которой являются критическая энергия полимеризации, которая может быть определена по формуле (1.4):

$$E_c = E_0 \exp\left(-\frac{C_d}{D_p}\right) \quad (1.4)$$

где E_0 – доза облучения на поверхности, C_d – глубина полимеризации, D_p – фоточувствительность, определяемая по формуле (1.5):

$$D_p = 1/(2.3\epsilon[I]) \quad (1.5)$$

где $[I]$ -концентрации фотоинициатора, ϵ -коэффициент молярной экстинкции [153].

Процесс инициации начинается, когда фотоинициатор (ФИ) поглощает фотон (реакция 1.6), затем расщепляется с образованием активных радикалов ($R\bullet$), которые могут диффундировать и вступать в реакцию с мономером (M) с образованием реакционноспособного мономера, согласно следующим уравнениям 1.7 и 1.8 [154]:

$$h\nu = E_{\text{фотон}} \quad (1.6)$$



где h -постоянная Планка, ν - частота излучения, ФИ – фотоинициатор, М-мономер, $\text{R}\cdot$ - активный радикал.

Мономеры определённых классов, такие как акрилаты, малемиды, виниловые эфиры, акриламиды, fumarаты, вступают в реакцию радикальной фотополимеризации [155]. Её преимуществами являются низкие энергетические затраты, возможность проведения реакции полимеризации при комнатной или физиологической температурах, возможность контроля процесса. Тем не менее, фотоактивация полимеризации в 3D-печати имеет несколько ограничений, в том числе: ингибирование полимеризации молекулярным кислородом, возникновение неоднородностей внутри полимера при случайной цепной полимеризации, в результате которой возникают неоднородности внутри полимера, что приводит к отклонению структуры от заданной. Процесс радикальной фотополимеризации можно представить общей схемой, где $\text{R}=\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ (рис. 1.23):

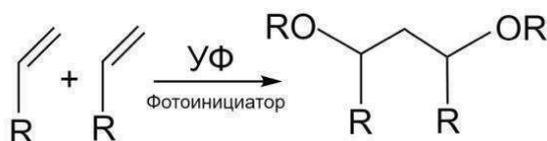


Рис. 1.23 Схема реакции радикальной фотополимеризации.

Использование исходных высокореакционноспособных мономерных акрилатов позволяет добиться высокой производительности стереолитографической печати. Интерес к таким мономерам, прежде всего, связан с их свойствами –

биосовместимостью, гидрофильностью и способностью к деструкции в биологической среде. Одним из недостатков акрилатных мономеров является значительная усадка полимерных продуктов на их основе во время печати, способная вызвать деформацию конструкции относительно исходной модели. Дополнительной проблемой является чувствительность этих мономеров к кислороду, поскольку его участие в реакции радикальной фотополимеризации приводит к ингибированию процесса.

Гидрогели на основе ПЭГ привлекают интерес в качестве потенциальных кандидатов для создания новых биоматериалов, что обуславливается их биосовместимостью и способностью к деструкции в биологической среде [156]. При помощи стереолитографической 3D-печати были получены пористые конструкции на основе ПЭГ-диакрилата (ПЭГДА), наполненного нановолокнами целлюлозы, и для

получения аэрогидрогеля использовали сублимационную сушку. Изготовленные макропористые конструкции характеризовались заданным упругим модулем и высокой пористостью (около 90%), отсутствием цитотоксичного воздействия и высокой жизнеспособностью клеток фибробластов, высеянных на поверхность конструкций [157]. Включение нановолокна целлюлозы в композитные макропористые конструкции позволило достичь целостности структурной формы и механической прочности. Благодаря подходящим механическим свойствам и биосовместимости подобный материал возможно применять для 3D-культивирования клеток.

В работе [158] был синтезирован ПЭГ-со-депсипептид с включенными в структуру пептидными и сложноэфирными (в том числе метакрилатными) группами и использован в стереолитографической 3D-печати. Основное назначение депсипептидных блоков состояло в улучшении биодegradируемости геля. Авторами было показано, что, варьируя мощность излучения в процессе стереолитографической печати, можно регулировать некоторые свойства гидрогелей без изменения их состава, такие как способность к набуханию, скорость биодеструкции и механические параметры. При увеличении времени воздействия излучения в процессе стереолитографической печати со 100 до 160 секунд жёсткость напечатанных изделий увеличивалась более, чем в 10 раз. В работе [159] была описана печать на основе pH-чувствительных и антимикробных гидрогелей с микрометровым уровнем разрешения конструкций. В их состав входила смесь дифункциональных диметакрилатов ПЭГ с длиной цепи этиленгликоля от 2 до 14 единиц и акриловая кислота в качестве монофункционального мономера. Благодаря наличию в составе смеси акриловой кислоты, объём гидрогелей варьировали при изменении pH, причём степень набухания зависела от её содержания. Также было улучшено разрешение печати за счёт использования УФ-поглотителя, в качестве которого использовали Судан-I, и напечатаны структуры, точно соответствующие компьютерным моделям.

Перспективным вариантом получения гидрогелей для целей регенеративной медицины является использование метакрилоил желатина [160]. Гидрогели на основе этого мономера, способствующие формированию трёхмерной клеточной сетки внутри созданной 3D-конструкции, могут быть получены с помощью реакции радикальной фотополимеризации (рис. 1.24).

Ограниченное число мономеров и высокая стоимость используемых принтеров являются определённым препятствием для более широкого применения метода стереолитографической 3D-печати. Тем не менее, несмотря на недостатки, этот метод позволяет улучшать свойства изделий, и они могут быть использованы не только как

прототипы имплантатов, но и как основа для создания конструкций для тканевой инженерии.

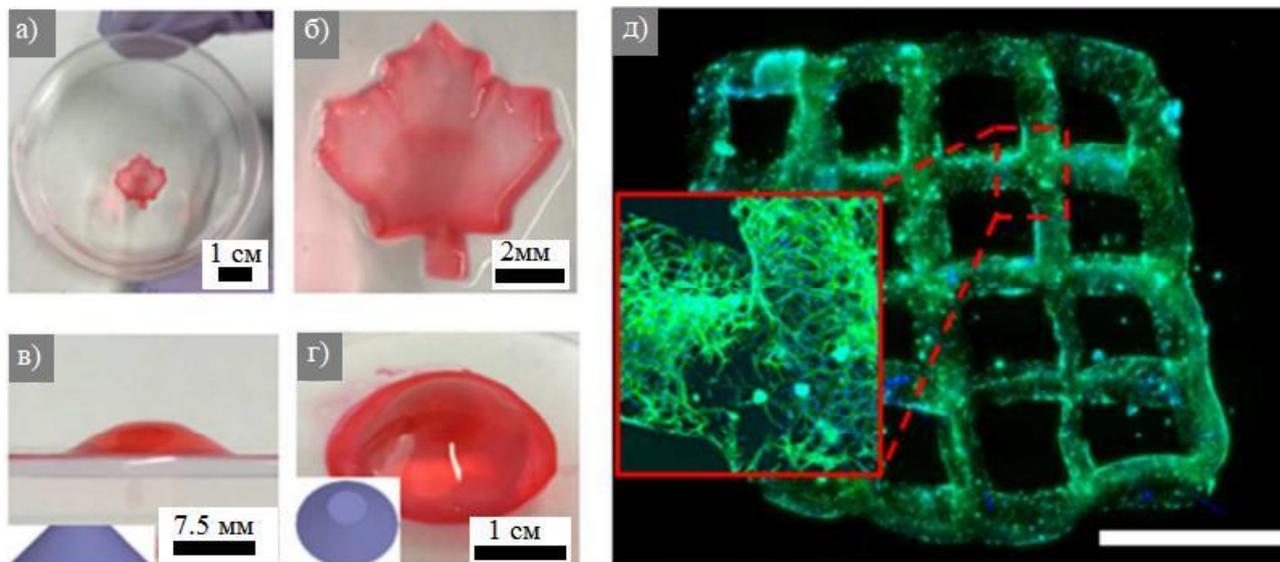


Рис. 1.24 Конструкции из гидрогелей на основе метакрилоила желатина: а и б) кленовые листья; в и г) усеченная конусообразная структура, вид сбоку (в) и сверху (г); д) гидрогель с остеогенными клетками [160].

1.3.3.2.2 Экструзионная 3D-печать

Процесс экструзионной 3D-печати основан на воспроизведении компьютерной модели путём экструзии (вытеснения) вязкоупругого материала из фильеры (сопла) (рис. 1.25). Положение экструдированного материала определяют либо за счёт перемещения сопла над столиком, либо перемещением столика под соплом. Трёхмерные конструкции создают путём непрерывного нанесения материала слой за слоем [161]. Для успешного построения 3D-конструкции необходимо, чтобы формирование каждого предыдущего слоя было полностью завершено до начала формирования следующего. В этом случае, реологические характеристики (вязкость и скорость сдвига) полимерного материала будут критически влиять на качество получаемого изделия. При скорости сдвига менее 1000 с^{-1} вязкость материала, пригодного для печати, должна составлять $0.1-10^3 \text{ Па}\cdot\text{с}$ [162, 163].

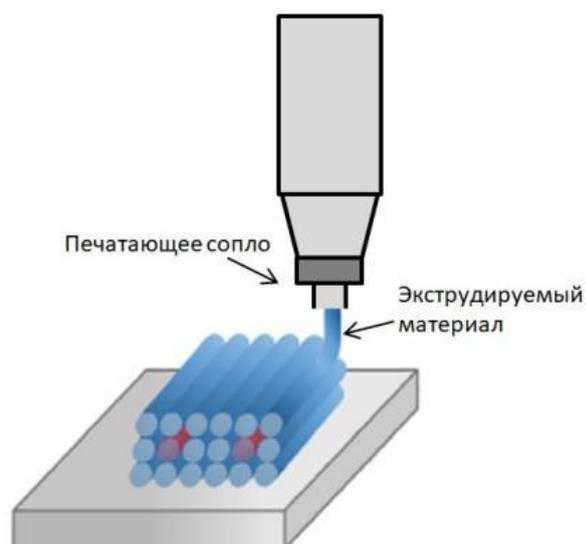


Рис. 1.25 Послойное получение конструкции в процессе экструзионной 3D-печати.

Сшивание материала в процессе экструзии может происходить за счёт образования химических связей (ковалентные, водородные, ионные взаимодействия), а также физических взаимодействий (электростатические, диполь-дипольные и т.д.) [164]. Для получения конструкций на основе гидрогелей посредством экструзионной 3D-печати используют различные полимеры. Так, целлюлоза может быть использована при разработке различных функциональных материалов, и существует возможность получения конструкций из гидрогелей на её основе в процессе экструзионной печати при комнатной температуре [165]. Авторы осуществляли контролируемый процесс экструзионной 3D-печати вязким раствором целлюлозы в диметилсульфоксиде (ДМСО) и гидроксидтетрабутиламмоние, реологическое поведение которых обеспечивало послойное нанесение и сохранение формы в процессе печати, с гелеобразованием при комнатной температуре на воздухе при введении сшивающего агента (рис. 1.26). После экструзии растворитель заменяли деионизированной водой; для улучшения механических свойств и набухания после 3D-печати была проведена обработка гидрогеля сшивающим агентом (N,N'-метиленабисакриламидом) путём выдерживания гидрогеля в растворе сшивающего агента с ДМСО. Улучшение механических свойств гидрогеля связано с образованием водородных связей между карбонильными группами сшивающего агента и гидроксильными группами целлюлозы. При добавлении 0.8 масс.% сшивающего агента авторам удалось получить гидрогель, способный поглощать 28 г/г воды относительно собственного веса и имеющий прочность на сжатие 96 кПа.

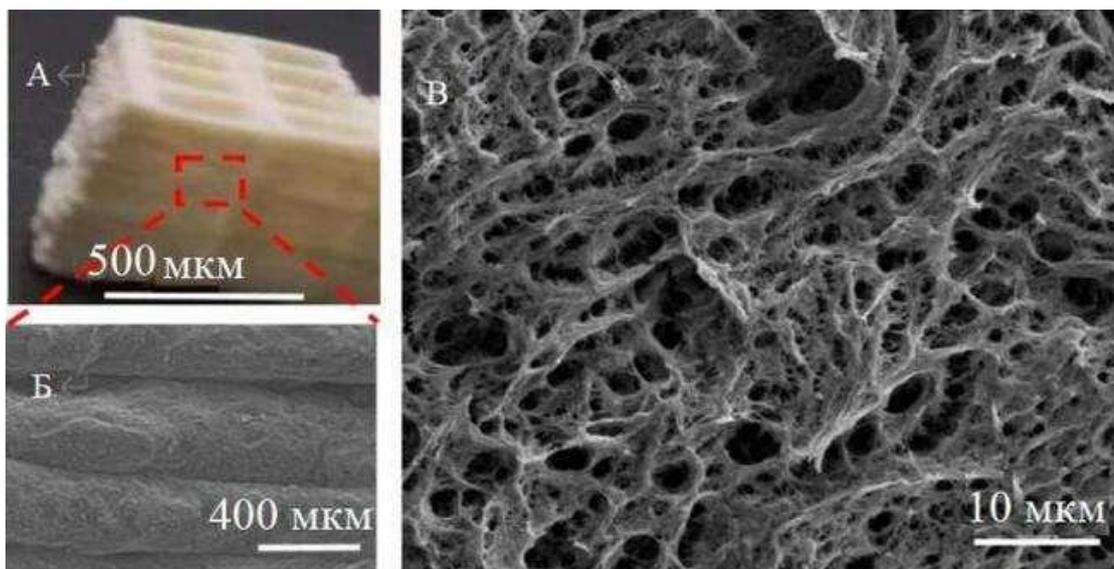


Рис. 1.26 Изображение конструкции на основе целлюлозы, напечатанной на экструзионном 3D-принтере: а) послойная печать, б) морфология поверхностных слоёв, в) поперечное сечение конструкции [165].

В работе [166] показана возможность получения конструкций из гидрогелей на основе карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ)-хитозангликоля методом экструзионной 3D-печати. Ионные взаимодействия и реакция Шиффа при окислении КМЦ периодатом натрия с получением альдегида и образованием иминовой связи между альдегидной группой и аминогруппой хитозангликоля приводили к сшивке гидрогелей. Полученные таким образом гидрогели являются биосовместимыми, что было показано при проведении теста на цитотоксичность. Созданные с использованием 3D-печати конструкции на основе гидрогелей толщиной в два и пять слоёв характеризовались высокой стабильностью в фосфатном физиологическом буферном растворе, при их выдерживании в течение 1 часа под УФ-излучением и после автоклавирования. Такая стабильность может быть объяснена образованием иминовой связи и ионным взаимодействием между катионными и анионными боковыми цепями полимера.

Активно применяют иотропные гели на основе альгината, получаемые сшивкой многозарядными ионами; существуют, однако, трудности экструзионной печати из-за низких значений модуля сдвига этих гелей. В работе [167] показана возможность управления реологическими свойствами таких соединений за счёт добавления оксида графена. Известно, что время сшивания и количество сшивающего агента играют решающую роль в модуляции механических свойств 3D-напечатанных изделий [168]. Гидрогели на основе альгината с добавлением 5 масс.% лапонита проявляли оптимальные механические свойства, пригодные для экструзионной 3D-печати, что было показано при

определении вязкости и точки текучести [169]. Поскольку механические свойства макропористых конструкций, созданных при помощи 3D-печати, определяют поведение прикрепленных к ним слабодифференцированных клеток, необходим подбор модуля упругости гидрогеля в соответствии с предполагаемым применением (уровнем жёсткости регенерируемой ткани).

Трёхмерные конструкции из гидрогелей находят применение в регенеративной медицине при реконструкции поврежденной костной ткани. Однако в большинстве случаев гидрогели проявляют низкие прочностные свойства и недостаточную жёсткость. Для улучшения механических свойств композитов на основе гидрогелей в работе [170] разработали гидрогель, полученный из биodeградируемой термопластичной полимолочной кислоты в сочетании с фотоотверждаемым желатином и наполненный биоактивными наночастицами золота, с последующей печатью конструкций для тканевой инженерии. После экструзионной 3D-печати изделий на основе полимолочной кислоты фотоотверждаемый желатин вводили в напечатанную конструкцию и подвергали УФ-облучению. За счёт подбора состава композитов авторам удалось улучшить прочностные характеристики и получить композит с модулем сжатия, близким к таковому для костной ткани челюсти человека. Исследование морфологии и остеогенной дифференцировки стволовых клеток человека, инкапсулированных в желатиновый гидрогель, показало хорошую биосовместимость геля, поддерживающего жизнеспособность клеток, и их распластывание на поверхности конструкций, созданных с использованием 3D-печати гидрогеля. За счёт улучшенных механических свойств и биосовместимости созданные гидрогели могут быть использованы при регенерации костной ткани.

1.3.3.2.3 Биопринтинг гидрогелей

Изготовление макропористых конструкций с последующим включением в них клеток различного типа может быть эффективным подходом при регенерации костной ткани [171], однако могут возникнуть проблемы при восстановлении гетерогенных тканей из-за сложности точного размещения таких клеток в определённых частях конструкции, ограниченной плотности клеток, и недостаточной васкуляризации. Биопечать позволяет создавать конструкции для тканевой инженерии путём точного размещения клеток в одновременно создаваемой макропористой структуре [172]. Отличительной особенностью биопечати является предварительное наполнение материала клетками перед процессом печати. Гидрогели являются перспективными материалами для биопечати, поскольку они позволяют поддерживать жизнеспособность инкапсулированных клеток и

имеют подходящие механические свойства для получения структурно стабильных и проницаемых трёхмерных конструкций и облегчают проведение процесса экструзии [173]. Для биопечати часто используют экструзионные 3D-принтеры, в частности, для заполнения готовых форм с целью создания анатомических структур. Такие устройства позволяют создавать макропористые изделия, наполненные клетками, клеточными агрегатами (сфероидами), или микроносители с клеточным посевом [174].

В работе [175] с использованием экструзионной 3D-печати были получены конструкции на основе биodeградируемого, фотополимеризуемого и термочувствительного гидрогеля на основе триблочного сополимера А–В–А, где А – поли(Н-(2-гидроксипропил)метакриламид), частично модифицированный метакрилатными группами, и В – ПЭГ. Гель был синтезирован термической полимеризацией с образованием дополнительных поперечных связей при фотополимеризации метакрилатных групп. Такие продукты характеризуются сходными с природными полимерами механическими свойствами, при их использовании возможно послойное нанесение и формирование стабильных конструкций высотой не менее 0.6 см. Полученные конструкции имели воспроизводимую пористость вдоль вертикальной оси печати и способность поддерживать жизнедеятельность инкапсулированных клеток. В работе [176] с использованием биопечати были получены трёхмерные конструкции для использования в качестве макропористых конструкций при регенерации хряща, которые изготавливали путём послойного нанесения поликапролактона (ПКП) и гидрогеля на основе альгината с инкапсулированными клетками (рис. 1.27).

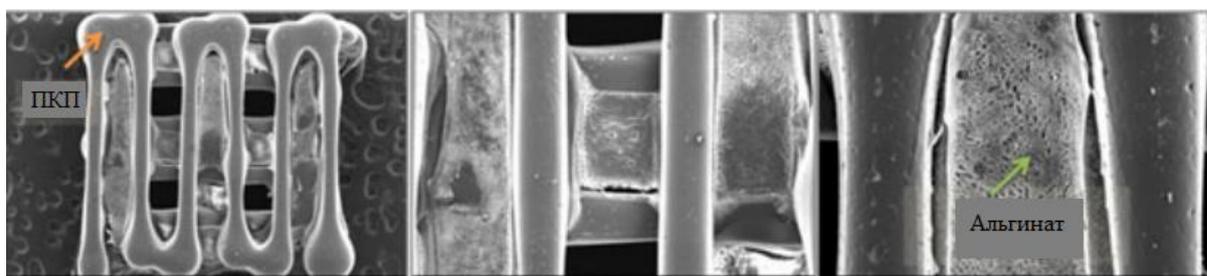


Рис. 1.27 Пористый гибридный скаффолд на основе поликапролактона (ПКП)-альгината, полученный при использовании биопечати [176].

В случае использования биопечати возможно достижение высокого латерального разрешения. Так, авторам [177] удалось достичь разрешения 50 мкм при печати с ковалентной сшивкой конструкций из гидрогелей на основе ПЭГ с клеточными гликозаминогликанами, добавление которых позволяет контролировать внеклеточный матрикс, в частности, выделение из нерастворимых молекул белков [178]. Использование

ковалентной сшивки позволяет избежать присутствия потенциально токсичных фотоинициаторов, УФ-облучения, а также достичь разрешения печати, приближающегося к размерам отдельных клеток (≈ 50 мкм). Было показано, что в полученных конструкциях наблюдаются градиенты пространственного распределения компонентов.

1.3.4 Композиционные материалы на основе гидрогелей, наполненных фосфатами

Гидрогели обладают множеством преимуществ для тканевой инженерии и доставки клеток, включая способность к деградации в биологической среде, биосовместимость и возможность изменения их свойств. Однако гидрогели характеризуются плохими механическими свойствами, из-за чего их нельзя применять для лечения обширных дефектов, где необходимы высокие значения прочности имплантата. Слишком высокая скорость деградации гидрогелей также может ограничить их дальнейшее применение в тканевой инженерии. При использовании синтетических полимеров клетки мало взаимодействуют с материалом, но адгезия клеток облегчается за счёт адсорбции белков на поверхности пор. Для повышения биоактивности фотосуспензий в костной инженерии можно создавать композитные материалы, содержащие фосфаты.

Создание композитов на основе гидрогелей является перспективным подходом для сочетания различных функций и свойств гидрогеля, которые отличаются от исходных свойств. В настоящее время предложен широкий набор армирующих материалов для создания композитов на основе гидрогелей. В случае композитной системы гидрогель-гидрогель взаимодействие между полимерными сетками формирует механическое зацепление гидрогелей, которое сильно влияет на реологию гидрогеля, скорость деградации, проницаемость и механические свойства [179]. В композитах с неорганическими наполнителями минеральная фаза взаимодействует с матрицей гидрогеля посредством ван-дер-ваальсовых сил, дипольных взаимодействий и водородных связей [180]. Эти взаимодействия приводят к сильной адгезии матрицы гидрогеля к поверхности неорганической фазы; изменение механических свойств композита зависит от размера, формы и доли неорганических частиц, а также соотношения объёмов взаимодействующих и не взаимодействующих полимерных сеток [181]. Введение в полимер функциональных групп и образование ковалентных связей на границе раздела фаз улучшают адгезию, энергия межфазной границы в таком случае составляет от 40 до 400 кДж/ моль, т. е. намного выше, чем в исходном, немодифицированном варианте (8-16 кДж/ моль) [180]. Таким образом, наполнение и

химическая модификация гидрогеля позволяют достичь существенное повышение механической прочности композитной системы.

Включение микро- или наночастиц в гидрогель широко используют для улучшения механических и биологических свойств гидрогелевых композитов, что объясняется простотой процесса наполнения, их низкой стоимостью и изотропному упрочняющему поведению [182]. Композит на основе гидрогелей, армированный малыми частицами, часто формируют в процессе *ex situ*, когда предварительно полученные частицы диспергируют в суспензии, которые затем используют для 3D-печати (рис. 1.28а). Большинство композитов на основе гидрогелей, наполненных неорганическими частицами, изготавливают с использованием этого подхода. Существует широкий набор микро/наночастиц, таких как углеродные, полимерные, керамические и металлические, которые могут быть включены в состав гидрогелей для получения композитов с улучшенными свойствами.

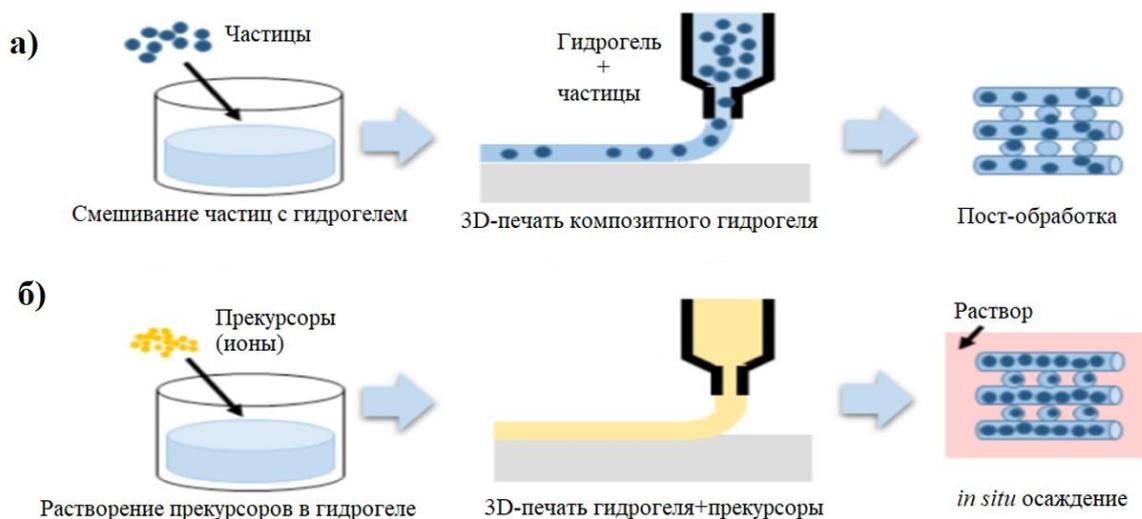


Рис. 1.28 Схема подходов *ex-situ* (а) и *in-situ* (б) для получения композитов на основе гидрогелей, армированных частицами [185].

В работе [183] были синтезированы гибридные гидрогели на основе полиакриламида и целлюлозы, характеризующиеся высокой прочностью, вязкостью и способностью к восстановлению после механических нагрузок. Разработанные гибридные гели характеризовались механическими свойствами, пригодными для их использования в качестве материалов для восстановления костной ткани и хрящей. В работе [184] для наполнения и армирования гидрогелей на основе альгината в качестве наполнителя использовали фосфаты кальция с размером частиц в диапазоне 106-212 мкм. Полученные композиты на основе гидрогелей, армированных частицами фосфатов кальция, были

использованы в качестве имплантатов при лечении костных дефектов и в качестве остеоиндуктивных костных наполнителей.

В работе [186] авторы исследовали гидрогели на основе смеси желатина и альгината, армированные наночастицами ГАП. Была проведена печать спиралевидных слоёв композитов гидрогель/ГАП для определения минимального расстояния между нитями до того, как произойдет слияние соседних слоёв (рис. 1.29а). При исследовании композитов с содержанием неорганической фазы 0, 8 и 16 масс.% слияние соседних слоёв наблюдалось при расстоянии между ними 500 мкм, и слияния не происходило при расстоянии 1 мм. При более высоком содержании наполнителя и, следовательно, более высокой вязкости гидрогеля печатные слои, как правило, становились более неоднородными, и наблюдалось скопление гидрогеля в углах материала. Полученные гидрогели, армированные наночастицами, характеризовались улучшенными механическими и биологическими свойствами по сравнению с ненаполненными гидрогелями. При добавлении 8 масс.% наночастиц ГАП модуль Юнга был значительно увеличен, однако изменение концентраций наноГАП от 0 до 4% не привело к значительному улучшению механических свойств (рис. 1.29б).

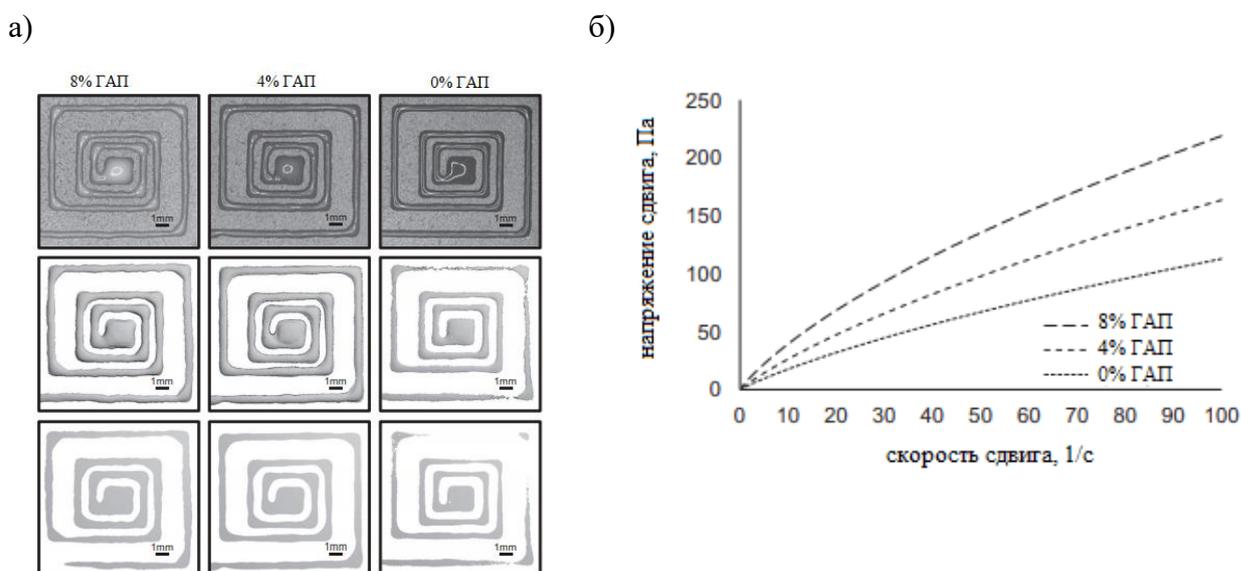


Рис. 1.29 Получение композиционных материалов на основе гидрогелей, наполненных наночастицами ГАП: а) Слои из гидрогелей, наполненных разными количествами ГАП: изображения напечатанных слоёв сверху и трёхмерный анализ композитов вдоль среза в плоскости x–y; б) График значений напряжения сдвига для ненаполненных гидрогелей и композитов с добавлением 4 и 8 масс.% ГАП [186].

В работе [187] исследовали возможность экструзионной печати композитов на основе желатина, наполненного ТКФ. В процессе печати в работе изменяли давление экструзии, в то время как другие условия были постоянными. По мере увеличения количества β -ТКФ было необходимо более высокое давление для получения однородных слоёв, что объясняется зависимостью давления, необходимого при экструзии материала, от таких свойств, как вязкость, упругость, которые увеличивается при большем содержании наполнителя. Конструкции на основе композитов, изготовленные в процессе экструзионной 3D-печати при оптимальном давлении, имели толщину слоёв 500 мкм.

Включение частиц в гидрогели во время и/или после 3D-печати позволяет достичь равномерного распределения наполнителя и высоких степеней наполнения (рис. 1.28б). При включении частиц наполнителя также происходит увеличение вязкости суспензии, что затрудняет процесс печати. В работе [188] авторы получили композиты гидрогель/фосфаты кальция при печати конструкции и последующем осаждении наночастиц фосфатов кальция из раствора хлорида кальция и фосфорной кислоты. Основными фазами, которые наблюдали после осаждения, были пирофосфат кальция, $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$, и ТКФ. Композиты на основе гидрогелей характеризовались однородным распределением наполнителя и более высокими значениями прочности по сравнению с ненаполненными гидрогелями. Улучшение прочностных свойств наблюдалось при увеличении доли наполнителя до 40 масс.%. Введение неорганической фазы также может быть использовано для предотвращения чрезмерного набухания гидрогелей [189]. Таким образом, создание композитов, наполненных фосфатами кальция, позволяет компенсировать некоторый недостаток гидрогелей, связанный с низкими прочностными свойствами и низкой биоактивностью.

1.4. Выводы из литературного обзора

Традиционно используемые керамические материалы для лечения дефектов костной ткани на основе фосфатов кальция, таких как ГАП и ТКФ, характеризуются низкой резорбируемостью, из-за чего остаются осколки внутри новообразованной костной ткани, и более низкими значениями прочностных свойств, чем у костной ткани. В связи с этим можно предложить следующие альтернативы:

1. Керамика на основе фосфатов магния характеризуется способностью к регенерации костной ткани и рядом преимуществ по сравнению с традиционно применяемыми фосфатами кальция, однако в литературе наблюдается малое количество работ по изучению систем и биоматериалов на основе фосфатов магния, что делает актуальным исследование биокерамики и композитов на их основе.
2. Керамические материалы в бинарной системе $Mg_3(PO_4)_2 - Na_3PO_4$ могут представлять интерес для дальнейшего получения биоматериалов из-за возможности изменения степени резорбции за счёт введения иона натрия и изменения их физико-химических свойств. Однако данная система мало изучалась ранее, и полученные результаты изучения системы не были опубликованы в общедоступных источниках.
3. Соединения фосфатов магния-натрия, такие как фосфат магния-натрия, $MgNaPO_4$, и тетрамагнийнатриевый фосфат, $Mg_4Na(PO_4)_3$, могут иметь полиморфные превращения, которые в последующем могут повлиять на получение керамических материалов, но работ по их исследованию мало, однако данные соединения могут быть перспективны для получения биокерамических материалов.
4. В качестве полимерной фазы для создания композиционных материалов возможно применение гидрогелей, которые позволят достичь ряд преимуществ: это эластичные свойства, возможность изменения свойств, набухания и возможность применения методов 3D-печати. В качестве мономеров перспективно применение акрилатных производных ПЭГ, которые характеризуются биосовместимостью.
5. Аддитивные технологии, в частности 3D-печать, позволяют создать уникальную платформу для компьютерного проектирования и изготовления изделий и конструкций сложной формы, включая создание имплантатов для тканевой инженерии и регенеративной медицины. Использование гидрогелей для создания конструкций тканевой инженерии методами аддитивных технологий имеет ряд преимуществ: настраиваемые механические свойства, диффузионные характеристики, биосовместимость. Гидрогели на основе акрилатных производных ПЭГ могут быть

использованы в стереолитографической печати, которая характеризуется высоким разрешением печати.

б. Использование композитов, наполненных фосфатами, позволяет компенсировать недостаток гидрогелей, связанный с низкой прочностью, и получить материалы и конструкции с улучшенными механическими и биологическими свойствами.

Таким образом, при разработке резорбируемых имплантатов на основе фосфатов магния в бинарной системе $Mg_3(PO_4)_2 - Na_3PO_4$ важными и нерешёнными задачами являются: 1) Определение условий синтеза ортофосфата магния, $Mg_3(PO_4)_2$, и фосфатов магния-натрия, $MgNaPO_4$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$; изучение полиморфизма магниевых фосфатов; исследование фазовых отношений компонентов бинарной системы $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4NaPO_4$; 2) получение керамических материалов в указанной системе, исследование влияния температуры на процесс спекания; 3) оценка резорбируемости керамических гранул на основе фосфатов магния-натрия и смесей $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$, а также спечённой керамики в модельной среде; 4) исследование влияния соотношения мономеров и введения неорганического наполнителя на свойства гидрогелей и композиционных материалов; 5) определение параметров стереолитографической 3D-печати для получения трёхмерных конструкций на основе гидрогелей, наполненных фосфатами магния.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Подготовка образцов

2.1.1 Синтез фосфатов магния

Синтез пирофосфата магния

Для получения пирофосфата магния, $Mg_2P_2O_7$ (M2P2), сначала готовили струвит (гексагидрат фосфата магния-аммония, $NH_4MgPO_4 \cdot 6H_2O$) путём осаждения из водных растворов солей [190]. В синтезе использовали $(NH_4)_2HPO_4$ (х.ч.) и $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (х.ч.). К приготовленному 0.15 М раствору $(NH_4)_2HPO_4$ при постоянном перемешивании на магнитной мешалке приливали 0.5 М раствор $MgCl_2$. После чего суспензию оставляли перемешиваться в течение одного или двух часов при комнатной температуре. Синтез струвита проводили по реакции (2.1):



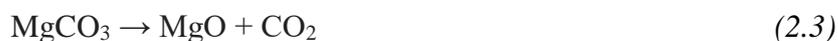
После одного или двух часов перемешивания осадок отделяли декантацией и фильтровали на воронке Бюхнера. Полученный осадок сушили либо на воздухе в течение нескольких дней, либо в сушильном шкафу при температурах 30-40°C в течение 1 дня. Пирофосфат магния получали термическим разложением при 1100°C в течение 6 часов струвита по реакции (2.2):



Полученный продукт перетирали в ступке для получения порошка и исследовали на РФА для подтверждения фазового состава после каждого синтеза.

Синтез ортофосфата магния

Для синтеза ортофосфата магния, $Mg_3(PO_4)_2$ (M3P2), использовали MgO и $Mg_2P_2O_7$ (полученный согласно предыдущему пункту). Оксид магния, MgO , получали при обжиге карбоната магния, $MgCO_3$ (х.ч.), при 600°C в течение 3 часов по реакции (2.3):



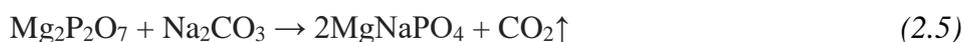
Получение ортофосфата магния проводили с использованием метода механоактивации. Синтез происходил при обжиге гомогенизированной смеси MgO и $Mg_2P_2O_7$ по реакции (2.4). Рассчитанные навески исходных порошков помещали в барабан, сделанный из стабилизированного диоксида циркония, и проводили гомогенизацию и механическую активацию частиц смеси в шаровой мельнице планетарного типа Pulverisette (Fritsch, Германия) в течение 15 минут при скорости вращения 500 об/мин. Для помола использовали шары из диоксида циркония с диаметром 1 мм, соотношение массы порошка к массе шаров при помолу составляло 1:10. В качестве жидкой среды использовали ацетон ($(CH_3)_2CO$, х.ч.) для увеличения эффективности

помола и гомогенизации. После сушки на воздухе продукт подвергали термообработке при температуре 1100°C в течение 12 часов. После обжига его перемалывали в ступке или в шаровой мельнице планетарного типа и просеивали через полиэфирное сито Saatilene HiTech™ с размером ячеек 220 мкм для дезагрегации полученной смеси и получения однородных по размеру частиц порошка.



Синтез фосфата магния-натрия

Исходными реагентами для получения фосфата магния-натрия, MgNaPO_4 (MNP), были пирофосфат магния, ранее синтезированный, и карбонат натрия, Na_2CO_3 (х.ч.). Синтез осуществляли твердофазным методом по реакции (2.5):



Взятые в стехиометрическом количестве исходные навески помещали в барабан из стабилизированного диоксида циркония для помола смеси в шаровой мельнице планетарного типа Pulverisette (Fritsch, Германия) с использованием циркониевых шаров с диаметром 1 мм (соотношение массы порошка к массе шаров было равно 1:10). Время помола составляло 15 минут при скорости вращения 500 об/мин. Ацетон использовали для обеспечения большей эффективности помола в жидкой среде. Полученный порошок сушили на воздухе, и затем проводили серию обжигов в муфельной печи Nabertherm (Германия) в интервале температур от 500 до 1000°C с различными временами выдержки для поиска подходящих условий синтеза.

Синтез тетрамагнийнатриевого фосфата

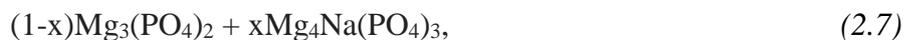
Для получения твердофазным методом тетрамагнийнатриевого фосфата, $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ (M4NP3), использовали фосфат магния-натрия и ортофосфат магния, синтезированные в работе. Синтез $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ проводили согласно реакции (2.6):



После расчёта нужного количества исходных компонентов производили помол для механохимической активации и гомогенизации смеси в шаровой мельнице планетарного типа Pulverisette (Fritsch, Германия). Для синтеза использовали циркониевые шары с диаметром 1 мм, соотношение массы порошка к массе шаров составляло 1:10. После сушки на воздухе полученного порошка проводили обжиги в интервале температур от 900 до 1100°C с временем термообработки от 5 до 10 часов для проведения твердофазного синтеза. По результатам РФА выбирали наиболее подходящий вариант термообработки, исходя из чистоты полученного продукта.

Синтез смесей $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$

Для исследования фазовых отношений в системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$ и получения керамических материалов использовали порошки на основе смесей $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$. Расчёт смесей производили по схеме (2.7):



где $x=0.15-0.75$

Исходные порошки смешивали и проводили помол на шаровой мельнице, которую использовали для получения исходных порошков. В качестве среды для помола был выбран ацетон. После этого производили сушку на воздухе. Для улучшения контакта между компонентами гомогенизированные порошки прессовали в таблетки с диаметром 6 мм. Затем производили обжиг при $800^\circ C$ в течение 48 часов. Температура термообработки была выбрана экспериментально из-за отсутствия фазовых изменений.

2.1.2 Получение керамики

Для получения керамики синтезированные порошки фосфатов магния измельчали в агатовой ступке, после чего получали таблетки на основе порошков массой около 0.2 г при одноосном прессовании на ручном прессе Carver C (США) без использования пластификатора, давление прессования составляло ≈ 7 МПа. Затем полученные таблетки обжигали в муфельной печи в диапазоне температур $800-1250^\circ C$ в течение различного времени при скорости нагрева $5^\circ C/мин$, охлаждение производили печью.

2.1.3 Синтез гидрогелей на основе производных ПЭГ

В этой работе были использованы гидрогели на основе производных ПЭГ, в частности ПЭГ-диакрилат (ПЭГДА) (Sigma Aldrich, Германия) с молекулярной массой $M_w=575$ Да и ПЭГ-метакрилат (ПЭГМА) (Sigma Aldrich, Германия) с молекулярной массой $M_w=350$ Да, которые являются жидкостями при комнатной температуре и имеют хорошую растворимость в воде [191]. Гидрогели на основе ПЭГМА были желеобразными после полимеризации, а гидрогели на основе ПЭГДА напоминали стекло по своим механическим свойствам и внешнему виду. Выбор состава фотосуспензии был основан на биосовместимости компонентов и возможности применения DLP 3D-печати с высоким латеральным разрешением.

Синтез гидрогелей на основе производных ПЭГ был проведён при реакции радикальной фотополимеризации. Для синтеза использовали мономеры ПЭГМА и ПЭГДА, дистиллированную воду и фотоинициатор на основе фенилбис(2,4,6-триметилбензоил) фосфин оксида Irgacure[®] 819 (BASF, Германия). Структурные формулы

мономеров и фотоинициатора представлены на рис. 2.1. После добавления компонентов в ёмкости производили перемешивание на магнитной мешалке в течение 10 минут, для предотвращения попадания искусственного и дневного света ёмкости оборачивали в фольгу, затем проводили фотополимеризацию под УФ-лампой бытового назначения (длина волны – 365 нм, мощность – 36 Вт (4 лампы по 9 Вт)). Для предотвращения подтекания суспензии образцы помещали на предметное стекло или в стеклянную чашку Петри. Схема процесса фотополимеризации для ПЭГДА приведена на рис. 2.2.

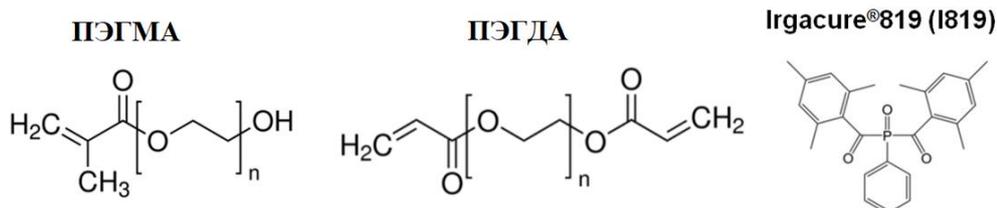


Рис. 2.1 Структурные формулы акрилатных производных ПЭГ (ПЭГМА и ПЭГДА) и фотоинициатора Irgacure[®]819, используемых в работе.

Для различных составов гидрогелей и композитов использовали следующие обозначения:

ПЭГМА производные метакрилата ПЭГ - концентрация (0.1-1 масс.%) и обозначение фотоинициатора (I819 - Irgacure[®]819) – концентрация (0-100 масс.%) и обозначение наполняемого порошка фосфата магния.

ПЭГДА производные диакрилата ПЭГ - концентрация (0.1-1 масс.%) и обозначение фотоинициатора (I819 - Irgacure[®]819) – концентрация (0-100 масс.%) и обозначение наполняемого порошка фосфата магния.

30/70 ПЭГМА/ПЭГДА мономеры взяты в соотношении 30% ПЭГМА и 70% ПЭГДА относительно массы мономеров.

Пример: 30/70 ПЭГМА/ПЭГДА + 1% I819 + 50% М2Р2

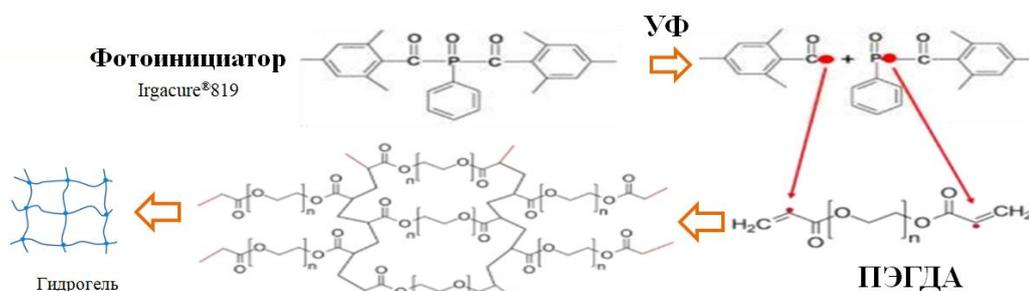


Рис. 2.2 Схема фотополимеризации ПЭГДА под действием фотоинициатора Irgacure[®]819.

2.1.4 Наполнение гидрогелей неорганическим наполнителем

Для наполнения гидрогелей и получения органонеорганических композитов использовали порошки фосфатов магния. Перед наполнением производили помол в ступке или на шаровой мельнице замешиваемых порошков для уменьшения размера частиц и достижения большей степени наполнения. Затем порошки приготовленных фосфатов магния замешивали в фотосуспензии, содержащие мономер и фотоинициатор, в непрозрачных ёмкостях для предотвращения фотополимеризации при дневном и искусственном освещении на магнитной мешалке в течение 5 минут или на планетарном миксере SpeedMixer DAC 150 (Hauschild & Co KG, Германия) с добавлением мелющих тел ($d=1$ мм) в соотношении массы порошка к массе мелющих тел = 1:5.

2.1.5 Исследование стабильности порошков фосфатов магния в гидрогелях

Для исследования стабильности порошков фосфатов магния в мономерах и в запolyмеризованных гидрогелях было проведено выдерживание синтезированных порошков в мономере при постоянном перемешивании и в гидрогелях. Через сроки от 1 до 21 дней исследовали состав порошков и композитов методами РФА и РСМА (производили оценку соотношения Mg/P). Гидрогели перетирали в ступке или вырезали таблетки для последующего анализа на РФА и РСМА.

2.1.6 Получение гидрогелей и композитов на их основе методом стереолитографической 3D-печати в варианте DLP

Для получения конструкций на основе композитов из гидрогелей со смоделированной архитектурой был использован метод 3D-печати, а именно стереолитография в версии DLP, с использованием 3D-принтера Ember (Autodesk, США) (рис. 2.3). Спектр излучения принтера имеет нормальное распределение с максимумом при 405 нм. Мощность излучения светодиодов была установлена в светодиодных блоках от 0 до 255 в настройках конфигурации принтера. Мощность излучения измеряли с помощью радиометра UV Light Meter Model 222 (G&R Labs, США).

Схема стереолитографической 3D-печати для получения материалов с заданной архитектурой представлена на рис. 2.4. В начале процесса необходимо создание трёхмерной модели, после чего осуществляли её разбивку на слои, поскольку печать идёт послойно, после чего проводили стереолитографическую печать.

При больших степенях наполнения гидрогелей возникали проблемы, связанные с седиментацией частиц. В данной работе для предотвращения оседания частиц

использовали ПАВ Disperbyk–180 (США) в количестве от 0.5 до 1 масс.% от массы фотосуспензии. Состав фотосуспензии включал:

- 1) Смесь мономеров ПЭГМА и ПЭГДА, взятых в различных соотношениях;
- 2) Фотоинициатор Irgacure®819;
- 3) Керамический наполнитель на основе порошков фосфатов магния;
- 4) ПАВ Disperbyk–180.



Рис. 2.3 Схема проведения исследования.

В ходе работы использовали измененную конструкцию принтера (уменьшенная печатная платформа и ванна для фотосуспензии для уменьшения минимально необходимого количества печатного материала), схема установки для DLP-принтера показана на рис. 2.5. В конце процесса фотополимеризации образцы промывали водой и сушили в потоке воздуха для удаления непрореагировавших компонентов фотосуспензии. В качестве оптимальной структуры для получения биоматериалов с соответствующей проницаемостью и жёсткостью была выбрана структура гироид со смоделированной пористостью 70% [192]. Фотосуспензии для печати хранили в непрозрачных полиэтиленовых баночках для предотвращения воздействия УФ-излучения при дневном и искусственном освещении.

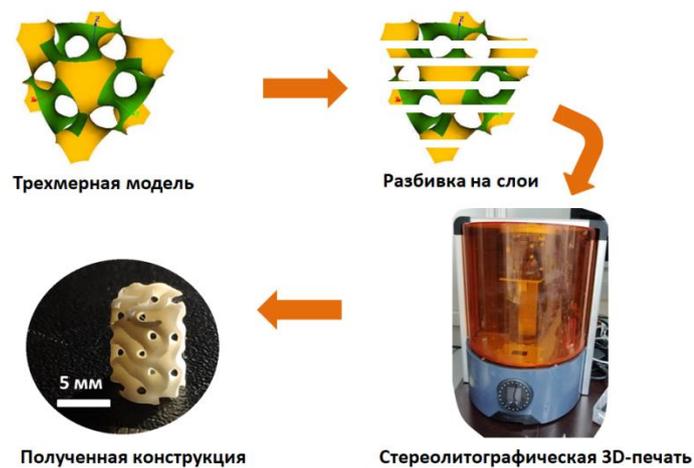


Рис. 2.4 Процесс создания конструкции со сложной архитектурой при использовании стереолитографического метода 3D-печати.

В процессе стереолитографической печати для получения материалов с заданной архитектурой использовали следующие параметры печати:

- 1) Разрешение проецируемого изображения – 100 мкм;
- 2) Толщина одного полимеризуемого слоя – 200 мкм;
- 3) Время засветки 1 слоя – от 2 до 4 секунд.

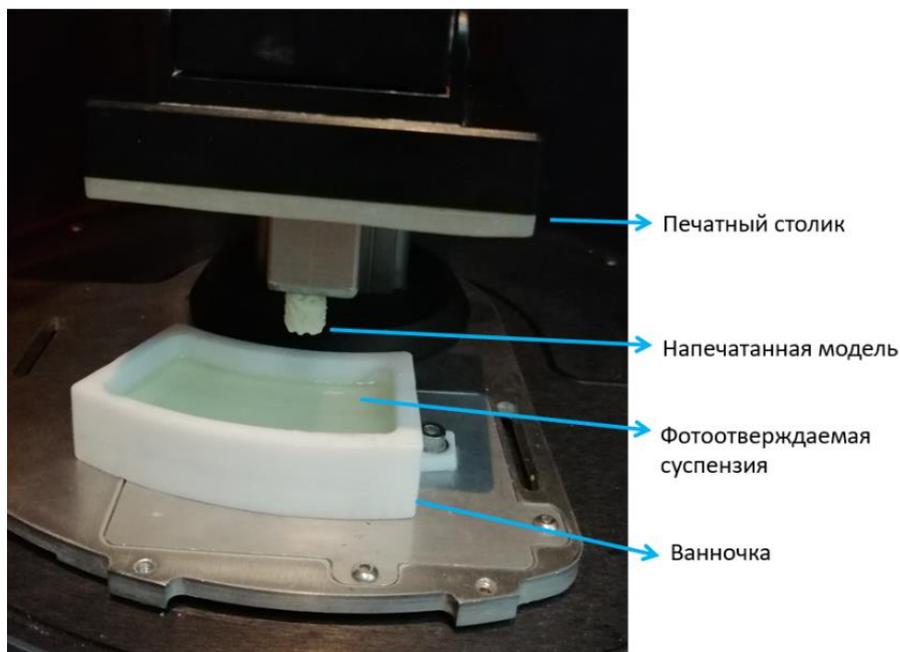


Рис. 2.5 Измененная конструкция 3D-принтера для уменьшения минимального количества фотосуспензии в процессе печати.

2.2 Методы исследования образцов

2.2.1 Качественный и количественный рентгенофазовый анализ

Для проведения качественного и количественного рентгенофазового анализа полученных порошков фосфатов магния и наполненных гидрогелей использовали рентгеновский дифрактометр Rigaku D/Max2500 с вращающимся анодом (Япония) и ARL X'TRA (геометрия Брэгга-Брентано, сцинтилляционный детектор, Thermo Fisher Scientific, США) с использованием $\text{CuK}\alpha$ -излучения ($\lambda=1.5418 \text{ \AA}$). Параметры съёмки: интервал углов по $2\theta=2-70^\circ$, шаг по $2\theta=0.02^\circ$, скорость регистрации спектров – $5^\circ/\text{мин}$. Съёмку проводили в кварцевых кюветах без усредняющего вращения. Для закрепления порошковых образцов использовали растворитель (ацетон (х.ч.)). Качественный анализ полученных рентгенограмм проводили с помощью программы WinXPow (база данных ICDD PDF-2 и PDF-4). Наполненные гидрогели анализировали в виде порошков и в виде таблеток. Определение параметров элементарной ячейки производили методом Le Bail, [193], уточнение кристаллических структур для $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$, MgNaPO_4 и $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ проводили методом Ритвельда с использованием программного обеспечения JANA2006. Фон был уточнён с помощью полинома шестого порядка. Профиль пика был уточнён с помощью модифицированной функции псевдо-Войта.

Количественный анализ состава порошковых смесей проводили с использованием корундового числа (I/I_c) по методу Чанга [194]. Корундовые числа (Reference Intensity Ratio, RIR) равны отношению интенсивностей 100% линий вещества и корунда, $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$, в смеси, которая содержит по 50% каждого компонента. Метод заключается в вычислении весовой доли соединения по формуле (2.8):

$$w_a = \frac{I_{iA} / \left(\frac{I}{I_c(A)} \cdot I_{iA}^{\text{rel}} \right)}{\sum_k I_{jK} / \left(\frac{I}{I_c(K)} \cdot I_{jK}^{\text{rel}} \right)} \quad (2.8)$$

где I_{iA} – измеренная интенсивность для i рефлекса фазы А, I_{jA}^{rel} – относительная интенсивность рефлекса фазы А в базе данных, $I/I_c(A)$ – корундовое число для фазы А, I_{jK} , I_{jK}^{rel} , $I/I_c(K)$ – величины измеренной интенсивности и корундовых чисел для всех компонентов исследуемой смеси. Корундовые числа брали для $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2=1.54$; для $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3=0.57$.

2.2.2 Растровая электронная микроскопия

Для исследования микроструктуры полученных порошков фосфатов магния, керамики, гидрогелей и композитов гидрогель/фосфат магния использовали растровый электронный микроскоп с автоэмиссионным источником LEO SUPRA 50VP (Carl Zeiss,

Германия). Образцы наклеивали на медную подложку при помощи проводящего углеродного скотча, в некоторых случаях проводили напыление образцов 15-20 нм слоем хрома или меди для предотвращения зарядки образцов [195] (напылительная установка Quorum Technologies QT-150T ES, Великобритания). Ускоряющее напряжение электронной пушки составляло 2-21 кВ. Изображения получали во вторичных электронах при увеличениях до 50000х при использовании детектора типа SE2. Съёмку проводили со скола и с поверхности основания гидрогелей и керамики.

2.2.3 Рентгеноспектральный микроанализ

Для оценки области гомогенности в фосфатах магния и соотношения Mg/P в наполненных гидрогелях использовали рентгеноспектральный микроанализ (РСМА), который проводили на растровом электронном микроскопе LEO SUPRA 50VP (Carl Zeiss, Германия), оснащённом энергодисперсионным спектрометром INCA Energy 300 (Oxford Instruments, Великобритания). Ускоряющее напряжение составляло 21 кВ. Съёмку вели с поверхности и со скола образцов, наклеенных на углеродный скотч на подложку. Для каждого образца производили обзорную съёмку с 3-6 областей. Для оценки достоверности полученных результатов был построен градуировочный график зависимости получаемых значений соотношений Mg/P в результате анализа от соотношений Mg/P в однофазных порошках известного состава.

2.2.4 Термогравиметрический и дифференциально-термический анализы

Для оценки поведения материалов при нагревании и исследования фазовых отношений в системе использовали дифференциально-термический (ДТА) и термогравиметрический (ТГ) анализы, которые проводили с использованием синхронного термоанализатора STA 409 PC Luxx (Netzsch, Германия). Исследования проводили в интервале температуре от 25°C до 1400°C со скоростью нагрева 5°C/мин в воздушной атмосфере. Для измерения использовали алундовые тигли. Для этого изначально готовили таблетки из исследуемых составов порошков фосфатов магния и обжигали при 800°C в течение 48 часов, затем образцы перетирали в агатовой ступке, и для анализа брали навески около 150-250 мг. Гидрогели перетирали в ступке и использовали для анализа без дополнительной термообработки.

2.2.5 Дилатометрические измерения

Для измерения линейной усадки спрессованных образцов использовали дилатометрический анализ. Для исследования образцов методом дилатометрии готовили

таблетки с диаметром $d=8$ мм и высотой около 0.2 мм с использованием ручного пресса. Исследования проводили в политермическом режиме до температуры 1100°C со скоростью нагрева 5°/мин в горизонтальном dilatометре DIL 402 C (Netzsch, Германия). Изотермические исследования проводили аналогичным образом с выдержкой в течение 10 часов при различных температурах.

3.2.6 Масс-спектрометрия с термической ионизацией

Исследование состава газовой смеси, образующейся при разложении образцов гидрогелей на основе смеси мономеров, содержащих воду и без воды в исходном составе, проводили при помощи квадрупольного масс-спектрометра QMS 403C Aëolos (NETZSCH, Германия), совмещенного с термоанализатором NETZSCH STA 409 PC Luxx. Для анализа использовали измельчённые в ступке образцы гидрогелей без дополнительной термообработки. Масс-спектры записывали для массовых чисел $m/z=2$ (H_2), $m/z=28$ ($[CO]^+$), $m/z=18$ (H_2O), $m/z=44$ ($[CO_2]^+$), $m/z=16$ ($[O]^+$).

3.2.7 Инфракрасная спектроскопия

ИК-спектроскопию проводили на ИК-спектрофотометре Spectrum One (Perkin-Elmer, США) в диапазоне 520-4000 cm^{-1} с шагом сканирования 1 cm^{-1} в режиме пропускания с использованием стандартной методики с прессованием таблеток образца с KBr. В качестве образцов для исследования использовали порошки фосфатов магния-натрия и перетёртые композиты гидрогель/фосфат магния. Описание спектров проводили с использованием литературных данных [196]. Дальнейшую обработку спектров проводили в программе Origin.

2.2.8 Определение распределения частиц порошков по размерам

Распределение частиц порошков по размерам проводили методом динамического рассеяния света на лазерном анализаторе частиц Analysette-22 (Fritsch, Германия) в диапазоне 0.1-170 мкм. Для этого изначально проводили помол исследуемых порошков и последующее пропускание их через сито для отсеивания фракции больше 200 мкм. Проводили диспергирование порошка в воде ультразвуком, после чего распределение частиц по размеру рассчитывали при помощи специальной программы из частотного распределения доплеровского смещения лазерного луча.

2.2.9 Определение относительной плотности и усадки керамических образцов

Для измерения относительной плотности образцов, измеряли массу и геометрические размеры с помощью микрометра (ширина, высота, толщина) керамики до и после обжига. Относительную плотность рассчитывали по формуле (2.9):

$$\rho_{\text{отн}} = \frac{m}{a \cdot b \cdot c \cdot \rho_{\text{т}}} \cdot 100\% \quad (2.9)$$

где m – масса образца, г; a , b , c – линейные размеры образца, см; $\rho_{\text{т}}$ – теоретическая кристаллографическая плотность, г/см³.

Линейную усадку образцов после обжига при различных температурах определяли по формуле (2.10):

$$Y = \frac{L_1 - L_2}{L_2} \cdot 100\%, \quad (2.10)$$

где Y – линейная усадка материала; L_1 – линейные размеры до обжига, см; L_2 – линейные размеры после обжига, см.

2.2.10 Определение степени набухания

Для измерения набухания использовали гравиметрический метод: после фотополимеризации гидрогели цилиндрической формы высушивали и помещали в среду набухания, а именно в дистиллированную воду; далее измеряли массу и геометрические размеры образцов через промежутки времени от 30 минут до 7 дней. Перед измерением массы набухших гидрогелей образцы протирали фильтровальной бумагой для удаления лишней влаги.

Для описания процесса набухания использовали величины степени набухания (СН), равновесного содержания воды (РСВ) и относительного изменения массы после набухания (Δm), рассчитанные по формулам (2.11-2.13):

$$\text{СН} = \frac{m_{\text{н}} - m_{\text{с}}}{m_{\text{с}}}, \quad (2.11)$$

$$\text{РСВ} = \frac{m_{\text{н}} - m_{\text{с}}}{m_{\text{н}}}, \quad (2.12)$$

$$\Delta m = \frac{m_{\text{н}} - m_{\text{т}}}{m_{\text{т}}}, \quad (2.13)$$

где СН – степень набухания, РСВ – равновесное содержание воды, $m_{\text{н}}$ – масса геля в набухом состоянии, $m_{\text{с}}$ – начальная масса геля, Δm – относительное изменение массы после набухания, $m_{\text{т}}$ – текущая масса геля после набухания.

2.2.11 Исследование резорбции гидрогелей, композитов и керамики в модельной среде

Для исследования кинетики резорбции гидрогелей, композитов и керамики на основе фосфатов магния в модельной среде, образцы помещали в приготовленный 0.1 М раствор лимонной кислоты, и после промежутков времени от 1 дня до 5 месяцев измеряли массу образцов, лишние капли воды удаляли фильтровальной бумагой. Параллельно проводили измерения набухания гидрогелей для корректировки изменения массы. В качестве начальной массы считали массу гидрогеля в максимально набухшем состоянии, после чего измеряли изменение массы при резорбции по уравнению (2.14):

$$\Delta m = \frac{m_s - m_t}{m_s} * 100\%, \quad (2.14)$$

где Δm – относительное изменение массы после резорбции, m_s – масса гидрогеля в максимально набухшем состоянии, m_t – масса гидрогеля в измеряемый интервал времени.

2.2.12 Термодинамическая оценка растворимости

Расчёт энергии Гиббса растворения индивидуальных фаз $Mg_3(PO_4)_2$, $MgNaPO_4$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$ проводили согласно термодинамическим моделям для энергии и энтропии решётки по Глассеру и Дженкинсу [197] и энтальпии и энтропии гидратации ионов по Маркусу [198]. Для расчёта мольного объёма решётки использовали кристаллографические данные из ICDD PDF-2. Расчёт проводили согласно уравнениям (2.15-2.17) для оценки термодинамической растворимости:

$$\Delta G^{\circ}_{298(\text{раств})} = \Delta H^{\circ}_{298(\text{раств})} - 298\Delta S^{\circ}_{298(\text{раств})} \quad (2.15)$$

$$\Delta S^{\circ}_{298(\text{раств})} = \Delta S^{\circ}_{298(\text{реш})} + \Delta S^{\circ}_{298(\text{гидр})} \quad (2.16)$$

$$\Delta H^{\circ}_{298(\text{раств})} = \Delta H^{\circ}_{298(\text{реш})} + \Delta H^{\circ}_{298(\text{гидр})} \quad (2.17)$$

где $\Delta G^{\circ}_{298(\text{раств})}$, $\Delta S^{\circ}_{298(\text{раств})}$, $\Delta H^{\circ}_{298(\text{раств})}$ – энергия Гиббса, энтропия и энтальпия растворения, соответственно, согласно [197]; $\Delta S^{\circ}_{298(\text{реш})}$ и $\Delta S^{\circ}_{298(\text{гидр})}$ – энтропия решётки, необходимая для разрушения вещества до газообразных продуктов, и энтропия гидратации; $\Delta H^{\circ}_{298(\text{реш})}$ и $\Delta H^{\circ}_{298(\text{гидр})}$ – энтальпии для разрушения кристаллической решётки и гидратации, соответственно.

Абсолютная энтропия исследуемого фосфата была рассчитана по уравнению Дженкинса и Глассера (2.18):

$$\Delta S^{\circ}_{298(\text{фазы})} = 1262V_m + 13 \quad (2.18)$$

где V_m – мольный объём формульной единицы фазы в нм^3 .

Энтальпия кристаллической решётки была рассчитана из энергии (потенциальной энергии) кристаллической решетки фазы $U_{\text{реш}}$ (уравнение 2.19):

$$\Delta H^{\circ}_{298(\text{реш})} = U_{\text{реш}} + \sum S_i(c_i/2 - 2) RT \quad (2.19)$$

где s_i – число ионов сорта i в формульной единице, $s_i = 3$ для моноатомного иона, 5 для линейного иона и 6 для произвольного многоатомного иона, R – газовая постоянная, T – температура в К.

Энергию (потенциальную энергию) кристаллической решётки $U_{\text{реш}}$ в кДж/моль рассчитывали исходя из обобщенного уравнения Капустинского (2.20):

$$U_{\text{реш}} = A \cdot I \cdot (2I/V_m)^{1/3} (P/L), \quad (2.20)$$

где $A=121.39$ кДж/моль (переводной коэффициент, включающая в себя константу Маделунга), $I = (1/2)\sum z_i^2 n_i$ – аналог ионной силы для сложной решётки, составленной из n_i ионов с зарядом z_i ; P – фактор, учитывающий отталкивание сближенных ионов, L – фактор, учитывающий плотность заполнения ионами элементарной ячейки.

Для вычисления ионных и гетерогенных равновесий в растворах использовали программу MEDUSA/HYDRA.

2.2.13 Кинетика резорбции керамических гранул

Кинетику резорбции керамических гранул фосфатов изучали на титраторе Excellence T-50 (Mettler-Toledo) при прикапывании приготовленного 0.025 М раствора лимонной кислоты до достижения заданного значения рН. Для этого изначально готовили таблетки с диаметром 6 мм на основе исследуемых составов фосфатов магния посредством прессования, масса навески составляла 0.2 г. После чего проводили обжиг полученных образцов при 800°C в течение 10 часов. Полученные после обжига образцы измельчали в ступке, и керамические гранулы просеивали через полиэфирное сито Saatilene HiTech™ с размером ячеек 220 мкм для получения однородных по размеру частиц. Исследование проводили около 1 дня и прекращали, когда объём добавляемой лимонной кислоты и значения рН становились неизменными, а также когда не оставалось керамических гранул в растворе, что оценивали по его мутности. В данной работе для ускорения процесса резорбции задавали значения рН=5. Значение температуры поддерживали равным 25°C на термостате Polystat.

2.2.14 Механические испытания керамических материалов

Для измерения прочности на сжатие готовили цилиндры на основе керамических материалов на ручном прессе. Образцы для испытаний имели диаметр 8 мм и высоту 16 мм. Эксперименты проводили на испытательной установке ИМЕХ-БИО разработки НИИ Механики МГУ. Нагружение составляло до 10000 Н и регулировалось с помощью электромеханического привода. Измерение усилия нагружения и деформации образца осуществляли с помощью тензометрической станции и разработанного программного

обеспечения. Блок управления установкой обеспечивает деформирование образца с постоянной скоростью в диапазоне от 2 мкм/с до 64 мкм/с. Усилие нагружение в диапазоне от 250 Н до 10000 Н обеспечивали блоком управления с точностью в пределах 1%. Шаг при измерении силы составлял 0.6 Н. Датчик перемещения обеспечивал измерение деформации образца в диапазоне 0-5 мм с шагом 0.31 мкм.

2.2.15 Исследование вязкоупругих свойств гидрогелей методом ротационной реометрии

Вязкоупругие свойства (упругий и вязкий компоненты модуля сдвига, тангенс угла потерь) определяли с помощью ротационного реометра Physica MCR 501 (Anton Paar, Австрия) в геометрии плоскость-плоскость (измерительная ячейка PP25/TG) на цилиндрических образцах $d=25$ мм с различной толщиной. Измерительный зазор подбирали в каждом конкретном измерении опытным путём, исходя из размеров образца и значений нормальной силы, действующей со стороны образца на сенсор при его зажиме.

Измерения проводили при комнатной температуре в сухом состоянии. Значение коэффициента потерь δ определяли из уравнения (2.21):

$$\tan\delta = \frac{G''}{G'} \quad (2.21)$$

где G' и G'' – модули хранения (упругая составляющая) и потерь (вязкая составляющая) соответственно.

2.2.16 Механические испытания гидрогелей на дюрометре

Твёрдость гидрогелей определяли с помощью дюрометра Шора типа А (Восток, Россия) для мягких материалов в соответствии со стандартом ISO 7619-1-2004. Согласно этой шкале, измеряемая величина соответствует силе, рассчитанной по формуле (2.22):

$$F = 550 + 75HA, \quad (2.22)$$

где F – прилагаемая сила, мН; HA – твёрдость, определённая по дюрометру типа А.

Исследование проводили путём вдавливания иглы в гладкую поверхность гидрогелей в сухом состоянии и после набухания в течение 7 дней (рис. 2.6). Для измерения использовали по 5 участков с одного образца. За максимальное напряжение принимали усилие, при котором начиналось растрескивание или разрушение гидрогеля.

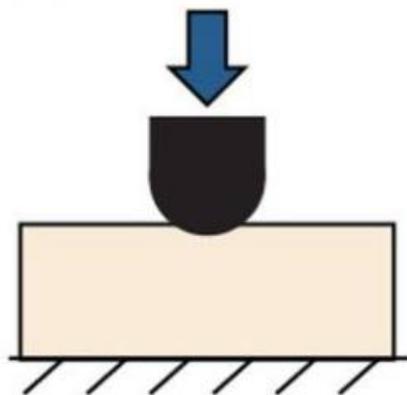


Рис. 2.6 Определение механических свойств гидрогелей на дюрометре Шора типа А.

2.2.17 Определение критической энергии полимеризации и глубины полимеризации

Для нахождения параметров 3D-печати были определены критическая энергия полимеризации и фоточувствительность суспензий согласно уравнению Джейкобса (2.23):

$$C_d = D_p \ln\left(\frac{E}{E_c}\right) \quad (2.23)$$

где C_d – глубина полимеризации, D_p – фоточувствительность, E – доза излучения, E_c – критическая энергия полимеризации.

Строили калибровочную зависимость глубины полимеризации от дозы излучения. Для этого в ванночку для фотополимеризации заливали фотосуспензию мономеров, фотоинициатора и в некоторых случаях порошка фосфата магния. Дозу излучения варьировали путём изменения времени засветки массивов кругов, мощность излучения светодиодов составляла 22-23 мВт/см². В результате эксперимента получали набор цилиндрических образцов разной толщины.

Для определения толщины заполимеризованного образца использовали штангенциркуль и оптическую микроскопию (погрешность 0.005 мм).

2.2.18 Оптическая микроскопия

Для исследования напечатанных на 3D-принтере структур использовали оптический микроскоп Eclipse 600pol (Nikon, Япония) в обычном освещении. Увеличение составляло от $\times 100$ до $\times 1000$. Перед съёмкой проводили чистку образцов потоком воздуха для удаления инородных частиц.

2.2.19 Определение цитотоксичности материала на основе МТТ-теста

Для проведения исследования цитотоксичности материалов образцы были помещены в лунки 24-луночного планшета для культивирования клеток (площадь лунки

1.9 см²). Образцы керамики были стерилизованы в сухожаровом шкафу при температуре 180°C в течение 1 часа. Приготовление вытяжек проводили с соблюдением асептики в течение 3 суток при 37°C. Соотношение массы экстрагируемых материалов и объёма модельной среды составляло 0.2 г образца/мл. Далее при необходимости рН вытяжек доводили до 7.4, используя 1 М раствор NaOH. В качестве положительного контроля в среду культивирования добавляли 10% раствора диметилсульфоксида (ДМСО).

Исследование материалов на цитотоксичность проводили с применением 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, растворимого в ДМСО. Количество восстановленного формазана определяли по оптической плотности растворов на фотометре Model 680 (BIO-RAD, США) при длине волны 540 нм. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Origin, стандартное отклонение от среднего значения принимали за ошибку.

2.2.20 Исследование адгезии и роста клеток на поверхности керамических материалов

Для исследования методом прямого контакта после окончания культивирования проводили оценку морфологии клеток пульпы зуба человека на поверхности исследуемых материалов и определение их жизнеспособности. Для определения жизнеспособности клеток использовали метод флуоресцентного окрашивания клеток SYTO 9 и иодидом пропидия. Флуоресцентный краситель SYTO 9 в режиме исследования $\lambda_{\text{возб}}=450-490$ нм, $\lambda_{\text{эмисс}}=515-565$ нм окрашивает в зелёный цвет ДНК и РНК живых и мёртвых клеток. Интеркалирующий реагент иодид пропидия в режиме исследования $\lambda_{\text{возб}}=546$ нм, $\lambda_{\text{эмисс}}=575-640$ нм окрашивает в красный цвет ядра погибших клеток. В качестве положительного контроля в среду культивирования добавляли 10% раствора ДМСО. Микрофотографию клеток исследовали с помощью инвертированного люминесцентного микроскопа Axiovert 200 (Carl Zeiss, Германия). Клетки подсчитывали по полученным изображениям с помощью программы ImageJ.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Синтез фосфатов магния

При подготовке данной главы использованы публикации автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М. В. Ломоносова, частично отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Preobrazhenskiy I.I., Deyneko D.V., Titkov V.V., Murashko A.M., Putlyaev V.I. Study of magnesium-sodium double phosphates ceramic for bone treatment // **Ceramics International** – 2023, 49 (17), 29064-29073. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.06.182>

Преображенский И.И., Путляев В.И. Синтез и фазовые превращения соединений системы $Mg_4Na(PO_4)_3 - Mg_3(PO_4)_2$ в качестве перспективных фаз для изготовления биокерамики // **Неорганические материалы** – 2022, 59(4), 367-373. <https://doi.org/10.31857/S0002337X22030125>

Преображенский И.И., Филиппов Я.Ю., Евдокимов П.В., Путляев В.И. (2023). Экспериментальное изучение двойной системы $Mg_3(PO_4)_2-Mg_4Na(PO_4)_3$ // **Неорганические материалы** – 2023, 59(5), 521-528. <https://doi.org/10.31857/S0002337X23050147>

Преображенский И.И., Путляев В.И. Синтез и фазовые превращения двойного фосфата магния-натрия // **Труды Кольского научного центра РАН.** – 2022, 6, 204–207. <https://doi.org/10.37614/2307-5252.2022.3.6.035>

Кроме того, результаты, приведённые в данной главе, являются частью отчета по гранту РФФИ №19-19-00587.

3.1.1 Получение пирофосфата, $Mg_2P_2O_7$, и ортофосфата магния, $Mg_3(PO_4)_2$

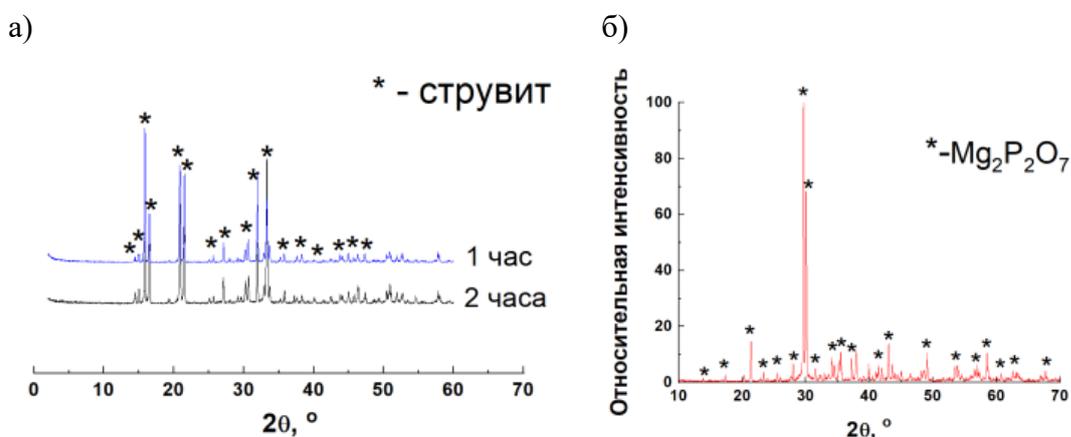
В данной работе в качестве исходных фаз для получения керамики и наполнения композитов на основе гидрогелей использовали фосфаты магния. Применение именно фосфатов магния для создания разлагаемых в биологической среде имплантатов объясняется рядом преимуществ:

- 1) Большая резорбируемость фосфатов магния по сравнению с фосфатами кальция, которая обусловлена большим энтальпийным вкладом в гидратацию катиона и тем, что ион магния лучше гидратируется по сравнению с ионом кальция;
- 2) Магний может заменить кальций в минералах организма из-за их химического сходства;
- 3) Ион магния способен положительно влиять на дифференцировку клеток, стимулируя образование натуральной костной ткани, что важно при создании материала в регенеративном подходе;
- 4) При деструкции имплантатов на основе фосфатов магния будут наблюдаться подходящие значения pH, стимулируя образование кристаллического фосфата кальция из аморфного фосфата кальция (АФК) за счёт локального повышения концентрации

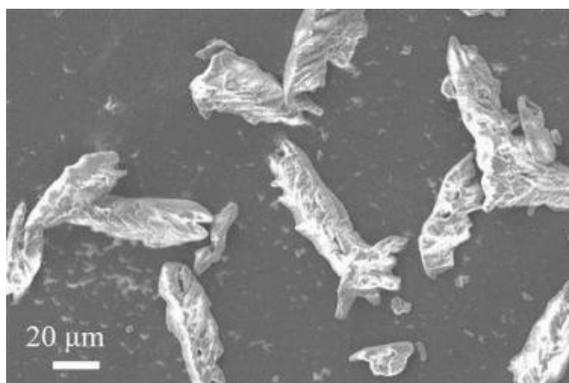
ионов магния, что приведёт к постепенной замене имплантата на натуральную костную ткань;

- 5) Присутствие ионов Mg^{2+} в минералах костной ткани и жидкости организма может влиять на минеральный обмен, процессы образования и кристаллизации костной ткани, смещая равновесие в сторону образования нативной костной ткани, в то время как большое количество ионов кальция, высвобождающихся при деструкции материала, может негативно влиять на организм [199].

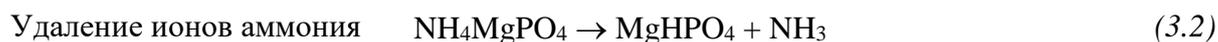
Первой стадией синтеза пирофосфата магния является получение растворным методом струвита, $NH_4MgPO_4 \cdot 6H_2O$, осаждением из растворов хлорида магния и гидрофосфата аммония. Метод химического осаждения из растворов является удобным методом с точки зрения простоты и возможности контроля морфологии кристаллов. Однако возможным недостатком могут быть примеси, связанные с включением различных ионов в кристаллическую решётку в водных растворах. Согласно фазовому анализу, в результате синтеза был получен однофазный струвит без наличия примесей (рис. 3.1а, PDF-2, №15-762). Микроструктура струвита после сушки характеризуется удлинёнными кристаллами шириной ~ 25 мкм и длиной ~ 250 мкм (рис. 3.1в).



в) Рис. 3.1 Дифрактограммы порошков струвита (а), $NH_4MgPO_4 \cdot 6H_2O$, с временем синтеза 1 и 2 часа (PDF-2, №15-762) и пирофосфата магния (б), $Mg_2P_2O_7$ (PDF-2, №72-19), в) микроструктура струвита после сушки.



После прокаливания струвита при 1100°C в течение 6 часов происходит образование пирофосфата магния, который характеризовался отсутствием примесей (рис. 3.1б, PDF-2, №72-19). Образование пирофосфата магния проходит через три стадии разложения струвита, включающие дегидратацию, удаление ионов аммония и поликонденсацию аниона в ньюберите, $MgHPO_4$, по реакциям 3.1-3.3 [200]:



Для синтеза ортофосфата магния использовали смеси на основе синтезированных пирофосфата магния и оксида магния. После термообработки гомогенизированной смеси при 1100°C в течение 12 часов происходит образование однофазного ортофосфата магния, согласно данным РФА (PDF-2, №35-134) (рис. 3.2). Описанные методы получения пирофосфата и ортофосфата магния были выбраны в связи с отсутствием побочных продуктов и простотой их осуществления.

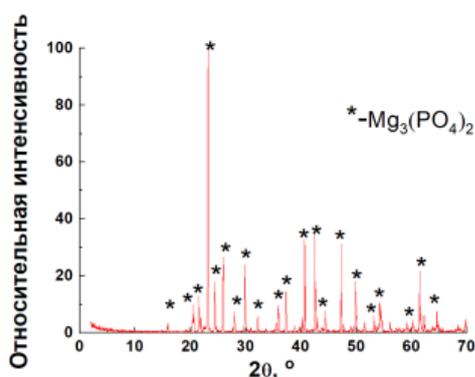
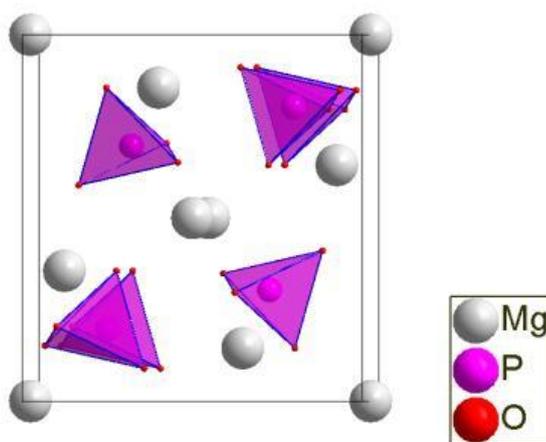


Рис. 3.2 Дифрактограмма порошка ортофосфата магния, $Mg_3(PO_4)_2$, (PDF-2, №35-134).

Параметры кристаллической решётки, уточнённые по методу Ритвельда, и построенная структура ортофосфата магния приведены в табл. 3.1 и рис. 3.3. Ортофосфат магния кристаллизуется в моноклинной сингонии, пространственная группа $P2_1/n$. В приложениях 1 и 2 приведены кристаллографические данные, условия уточнения структуры и межатомные расстояния для ортофосфата магния, которые близки к приведённым в литературе [101].

Табл. 3.1 Параметры кристаллической решётки $Mg_3(PO_4)_3$

Пространственная группа	$a, \text{Å}$	$b, \text{Å}$	$c, \text{Å}$	$V, \text{Å}^3$	$\beta, ^\circ$
$P2_1/n$	7.599(2)	8.231(1)	5.076(9)	316.77(9)	94.084(3)

Рис. 3.3 Кристаллическая структура $Mg_3(PO_4)_3$.

3.3 Синтез и полиморфизм фосфата магния-натрия, $MgNaPO_4$

Промежуточной фазой для получения тетрамагнийнатриевого фосфата, $Mg_4Na(PO_4)_3$ (M4NP3), в данной работе являлся фосфат магния-натрия, $MgNaPO_4$ (MNP). В работе исследовали синтез фосфата магния-натрия из Na_2CO_3 и $Mg_2P_2O_7$, причём данное соединение, согласно литературе, не удавалось получить однофазным [100]. Возможными причинами неудач могли быть слишком высокие температуры проведения твердофазного синтеза (1000°C), при которых авторы наблюдали примесные пики, отнесённые к продуктам разложения. В случае применения синтезов из раствора происходит образование крупных кристаллогидратов фосфата магния-натрия [201], однако в растворе также присутствовали примеси, и не удавалось осадить однофазный образец, что не подходит для получения его в большом количестве в качестве прекурсора для изготовления соответствующей керамики и наполнения гидрогелей. Гомогенную смесь исходных реагентов, взятых в стехиометрическом соотношении, полученную на планетарной мельнице, обжигали в муфельной печи в диапазоне температур от 500 до 1000°C в течение 10 часов для поиска подходящих условий синтеза (рис. 3.4). Время обжига было выбрано 10 часов, что, согласно опыту предыдущих работ, является достаточным для протекания твердофазного синтеза.

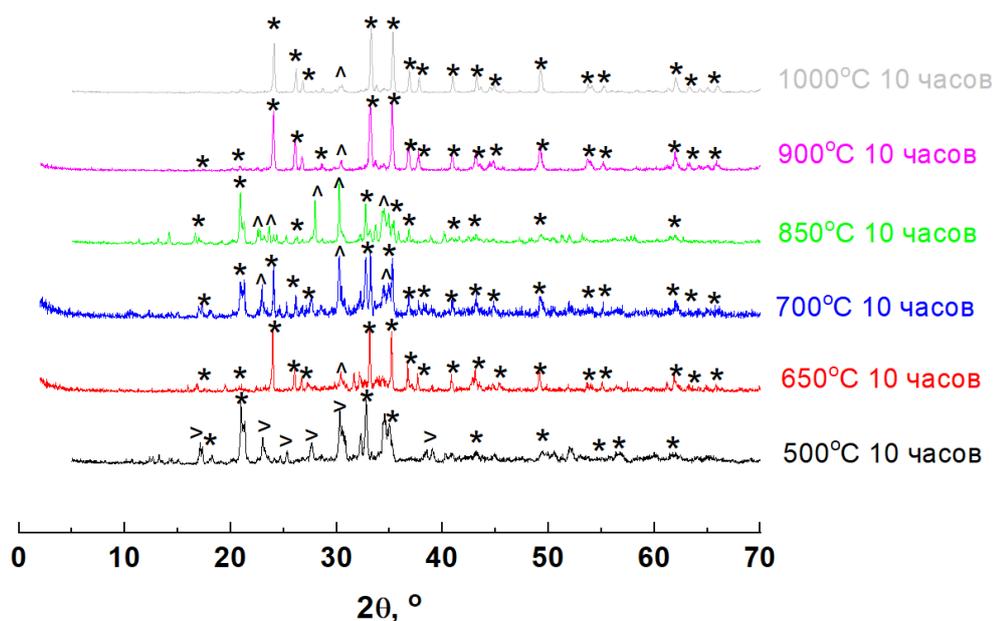
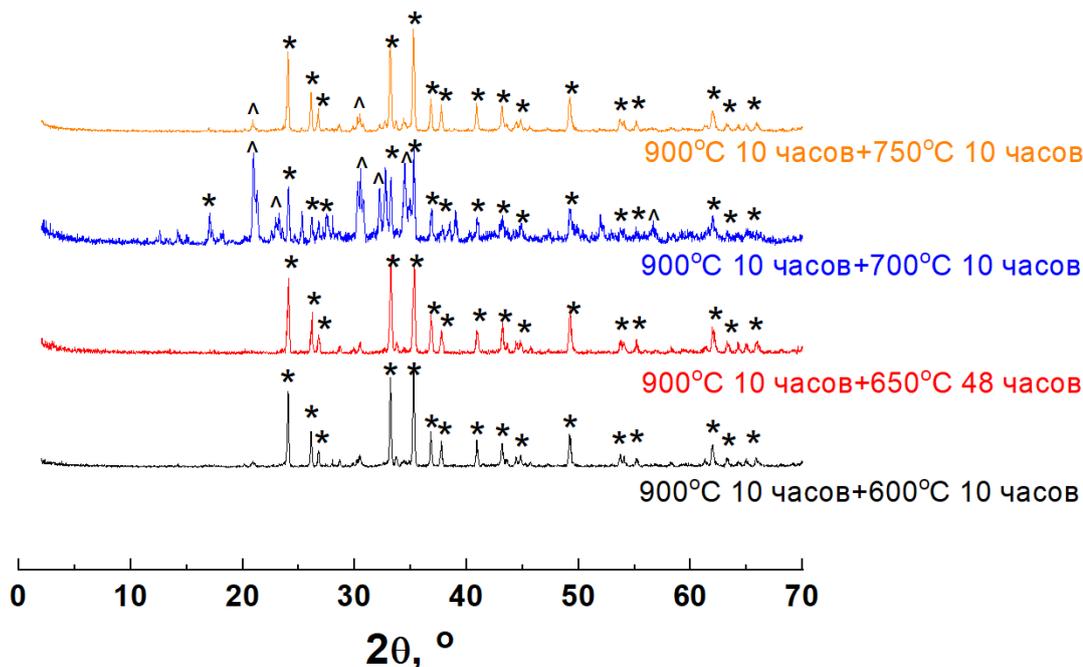


Рис. 3.4 Дифрактограммы порошков на основе смеси $Mg_2P_2O_7$ и Na_2CO_3 , обожжённых при различных температурах. * помечены пики, отнесённые к $MgNaPO_4$ (PDF-2, №32-1119), ^ - $MgNaPO_4$ (PDF-2, №32-1121), > - $Mg_2P_2O_7$ (PDF-2, №72-19).

Для получения активных к дальнейшему спеканию порошков наиболее оптимальными являются более низкие температуры и меньшие продолжительности синтеза. Согласно полученным данным РФА в случае одностадийного обжига наиболее подходящей температурой является $900^\circ C$, однако были отмечены рефлексы другой полиморфной модификации (PDF-2, №32-1121), которую можно обозначить как γ -MNP. Причем количество примесной фазы γ -MNP увеличивается при повышении температуры обжига, что может быть связано с термической неустойчивостью соединения и его полиморфным переходом при температурах больше $900^\circ C$. Следует отметить, что малое количество примесей образуется при обжиге при $650^\circ C$, однако количество примесных рефлексов γ -MNP при значениях 2θ 30 - 35° больше, по сравнению с образцом после обжига при $900^\circ C$. При обжиге при температуре $500^\circ C$ наблюдается наличие пиков, отнесённых к пирофосфату магния, что свидетельствует о неполноте протекания твердофазной реакции.

С целью уменьшения количества примеси, связанной с γ -MNP, проводили изучение других режимов обжига при $900^\circ C$ с последующим дополнительным обжигом для получения нужной полиморфной модификации (рис. 3.5).

a)



б)

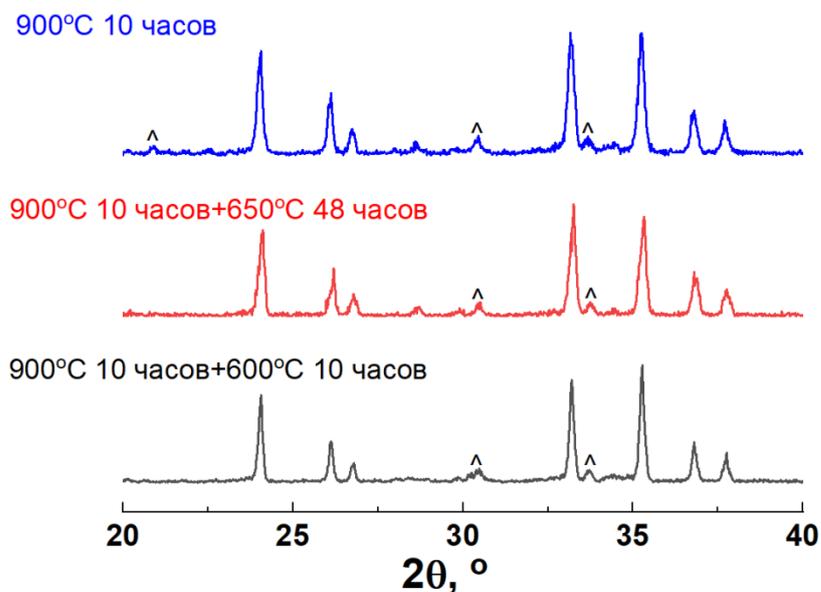


Рис. 3.5 Дифрактограммы порошков на основе смеси $Mg_2P_2O_7$ и Na_2CO_3 , обожжённых при температуре $900^\circ C$ с дополнительным обжигом при различных температурах. * помечены пики, отнесённые к $MgNaPO_4$ (PDF-2, №32-1119), ^ - $MgNaPO_4$ (PDF-2, №32-1121) (а) и сравнение режимов обжига при $900^\circ C$ с и без дополнительного обжига (б).

Наименьшее количество примеси γ -MNP наблюдается в случае дополнительного обжига при $600^\circ C$ в течение 10 часов. Увеличение времени второго обжига при $650^\circ C$ до 48 часов не ведёт к значительным изменениям в фазовом составе. При увеличении температуры дополнительного обжига до 700 и $750^\circ C$ наблюдается увеличение

содержания примесной фазы, особенно в случае 700°C, что может быть связано с превышением температуры полиморфного перехода, в результате чего данные температуры следует избегать при синтезе MNP. На рис. 3.5б приведено сравнение режимов обжига при 900°C без и с дополнительным обжигом. Для образцов, термообработанных при двухстадийном режиме наблюдается уменьшение интенсивности рефлекса примесной фазы γ -MNP при значениях $2\theta = 31$ и 34° . В табл. 3.2 приведено соотношение интенсивностей примесных рефлексов относительно наиболее интенсивного ближайшего рефлекса соединения α -MgNaPO₄ при значении $2\theta = 36^\circ$. Таким образом, использование дополнительного обжига при 600°C позволяет уменьшить интенсивность примесной фазы.

Табл. 3.2 Соотношение интенсивностей для образца MgNaPO₄, термообработанного при различных режимах

Режим термообработки	$I_{\gamma\text{-MNP}}(2\theta=31)/I_{\alpha\text{-MNP}}(2\theta=36)$	$I_{\gamma\text{-MNP}}(2\theta=34)/I_{\alpha\text{-MNP}}(2\theta=36)$
900°C 10 часов	0.17	0.17
900°C 10 часов + 650°C 48 часов	0.15	0.15
900°C 10 часов + 600°C 10 часов	0.12	0.11

Для изучения полиморфизма MNP использовали термический анализ и дилатометрию (рис. 3.6, 3.7). Температуру переходов определяли по началу теплового эффекта при нагревании.

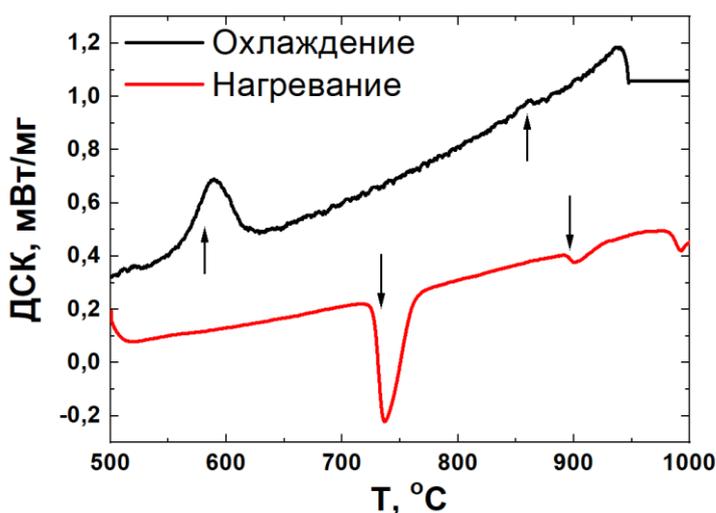


Рис. 3.6 Результаты ДСК-анализа для MgNaPO₄.

По результатам термического анализа можно выделить два эндотермических эффекта при нагревании: при 727°C (максимум эндо-эффекта при 735°C) и 893°C (максимум эндо-эффекта при 901°C), что связано с полиморфными переходами фосфата магния-натрия. Переход соединения в другие полиморфные модификации может объяснить невозможность синтеза чистой фазы при температурах выше 900°C и при дополнительном обжиге при 700°C. По значительному переохлаждению при 727°C можно предположить, что этот переход является заторможенным реконструктивным переходом, что будет вести к положительному изменению объёма и к возможному растрескиванию материала при изготовлении керамики. Большие значения изменения объёма в процессе нагревания могут негативно повлиять на свойства полученной керамики, вызывая её растрескивание. Второй эффект при 893°C характеризуется малым переохлаждением, что может свидетельствовать о переходе типа упорядочения. Результаты дилатометрии представлены на рис. 3.7.

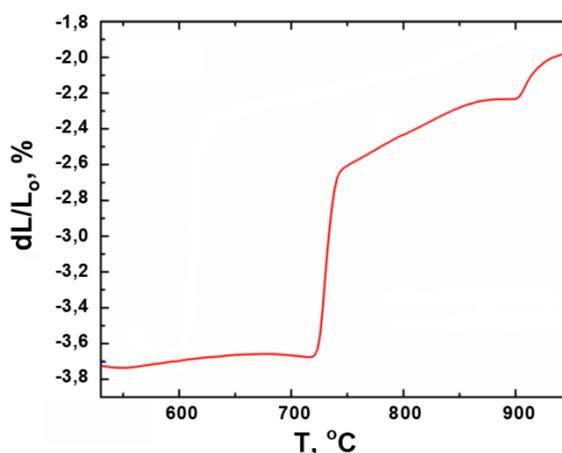


Рис. 3.7 Результаты дилатометрии при нагревании для MgNaPO₄.

Полученные данные дилатометрии для фосфата магния-натрия коррелируют с данными термического анализа: наблюдается изменение объёма фазы при нагревании при температурах 722 и 902°C, что связано с фазовыми переходами первого рода, причём при температуре 722°C изменение $\Delta V/V = 3 \cdot \Delta L/L$ составляет 3,1%, что может повлиять на дальнейшее получение керамических материалов из-за возможного растрескивания. При температуре 902°C изменение $\Delta V/V$ составляет 0,7%.

Данные ИК-спектроскопии для MNP, термообработанного при 900°C с дополнительным обжигом 600°C и при режиме, при котором наблюдается образование

наибольшего количества примесной фазы γ -MNP (900°C с дополнительным обжигом 700°C), представлены на рис. 3.8.

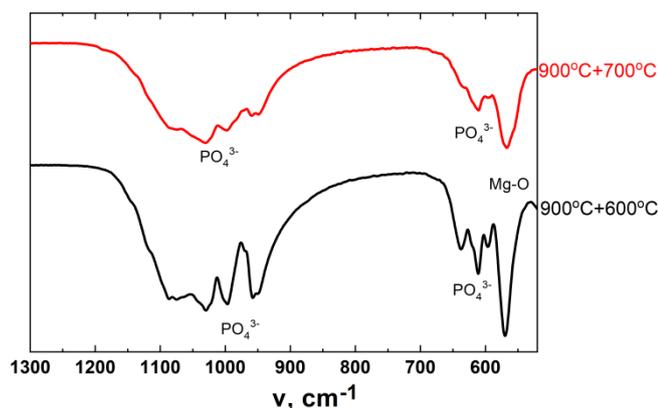


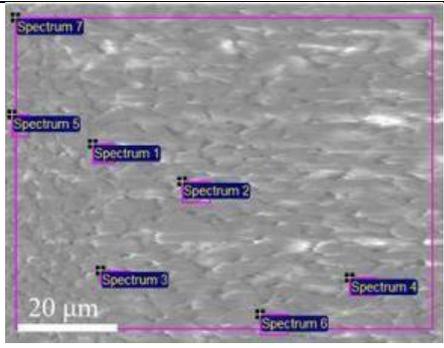
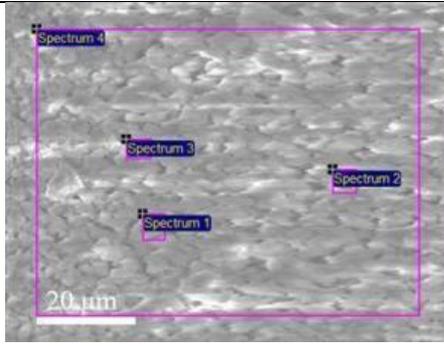
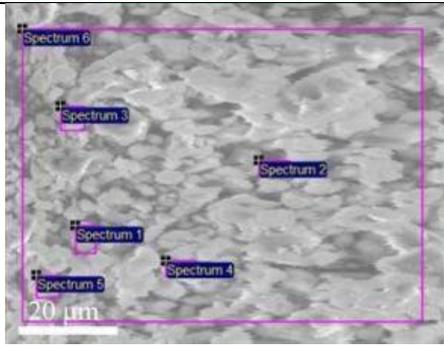
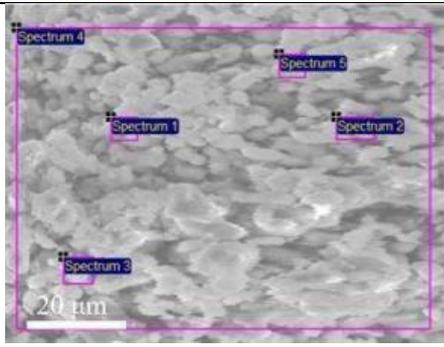
Рис. 3.8 ИК-спектры для порошков MgNaPO_4 , термообработанных при различных режимах обжига.

Полоса поглощения при 565 см^{-1} может быть отнесена к колебаниям связей Mg-O [202]. В области высоких частот в диапазоне от 990 см^{-1} колебания относятся к группам PO_4^{3-} [203]. Следует отметить образование более размытых пиков фосфатных групп в случае образца, термообработанного при режиме $900^\circ\text{C} + 700^\circ\text{C}$, что может быть связано с присутствием примесной полиморфной модификации γ -MNP. Отсутствие заметных полос при 1400 см^{-1} и 875 см^{-1} подтверждает отсутствие карбонатных групп, которые могли бы возникнуть в результате пробоподготовки или хранения образцов.

Для выявления возможных областей нестехиометрии фазы MNP, образцы, полученные при режиме термообработки $900^\circ\text{C} + 600^\circ\text{C}$, и при $900^\circ\text{C} + 700^\circ\text{C}$, при котором наблюдается наибольшее количество примесной фазы γ -MNP, исследовали методом рентгеноспектрального микроанализа на соотношение магния к натрию и фосфору (табл. 3.3).

В случае анализа образца без наличия примесей γ -MNP, термообработанного при 900°C с дополнительным обжигом при 600°C в течение 10 часов, наблюдаются значения Mg к Na и (Mg+Na) к P близкие к единице, т.е. соответствующие стехиометрическим значениям. Для образца, термообработанного при режиме, согласно которому наблюдается максимальное количество примесной фазы γ -MNP, значения Mg к Na и (Mg+Na) к P также практически не отличаются от стехиометрических, что не позволяет говорить о заметной области нестехиометрии для данной фазы при указанных температурах термообработки.

Табл. 3.3 РСМА-анализ керамических образцов на основе $MgNaPO_4$, термообработанных при различных режимах.

Режим термообработки	РЭМ участка	Среднее значение Mg/Na	Среднее значение (Mg+Na)/P
900°C + 600°C (область 1)		1.1	1.1
900°C + 600°C (область 2)		1.1	1.0
900°C + 700°C (область 1)		1.2	1.1
900°C + 700°C (область 2)		1.2	1.2

Таким образом, в результате работы удалось найти наиболее подходящие условия синтеза фосфата магния-натрия при 900°C с дальнейшим дополнительным обжигом при 600°C в течение 10 часов. Вследствие того, что фаза MNP имеет несколько полиморфных превращений, то можно предположить, что использовать это соединение для получения

керамики на основе такой фазы малоперспективно, поскольку изменение объёма в процессе нагревания/охлаждения приведёт к образованию трещин в результате полиморфных переходов.

3.1.3 Синтез и полиморфизм тетрамагнийнатриевого фосфата, $Mg_4Na(PO_4)_3$

В процессе работы был проведён поиск условий синтеза фазы M_4NP_3 из смеси MNP и $Mg_3(PO_4)_2$, взятых в стехиометрическом соотношении. Наиболее подходящей температурой термообработки является 1100°C с выдержкой 10 часов, при которой получается однофазный образец (рис. 3.9). При меньшем времени выдержки наблюдается наличие рефлексов, характерных для исходных веществ, т.е. MNP и $Mg_3(PO_4)_2$, что связано с неполным протеканием твердофазной реакции. При температурах ниже 1100°C также наблюдается присутствие пиков исходных компонентов.

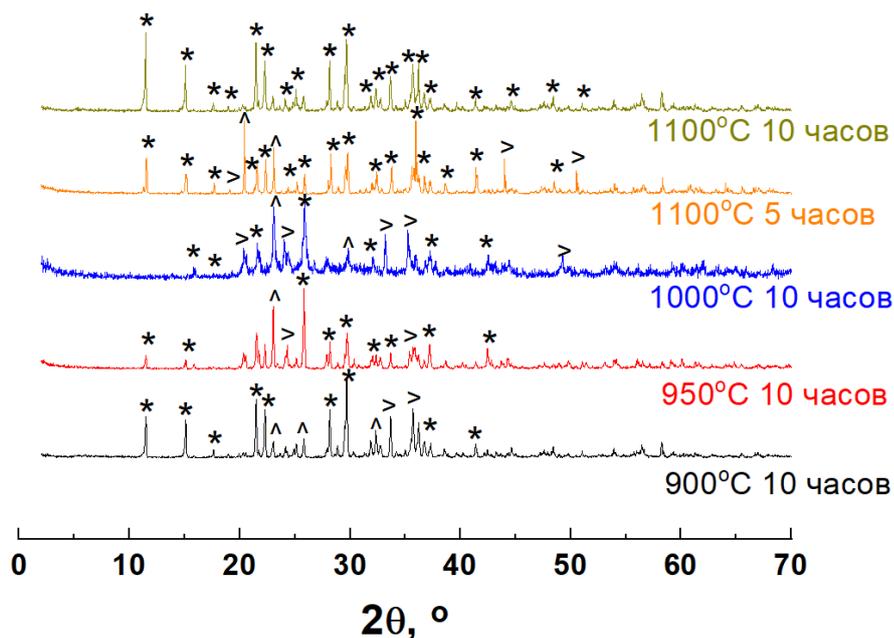


Рис. 3.9 Дифрактограммы порошков на основе смеси $MgNaPO_4$ и $Mg_3(PO_4)_2$, обожжённых при разных температурах. * помечены пики, отнесённые к $Mg_4Na(PO_4)_3$ (PDF-2, №34-671), > - $MgNaPO_4$ (PDF-2, №32-1121), ^ - $Mg_3(PO_4)_2$ (PDF-2, №35-134).

В литературе практически нет данных касательно полиморфизма тетрамагнийнатриевого фосфата, $Mg_4Na(PO_4)_3$. Согласно работе [106], тетрамагнийнатриевый фосфат плавится инконгруэнтно при температуре 1165°C с образованием $Mg_3(PO_4)_2$ и расплава, при этом наблюдается полиморфный переход при

1005°C. Согласно данным термического анализа (рис. 3.10) для Mg_4NP_3 характерно наличие экзо-эффекта при $T=1015^\circ C$ (максимум экзо-эффекта при $1025^\circ C$) при охлаждении и эндо-эффекта при $T=1113^\circ C$ (максимум эндо-эффекта при $1141^\circ C$) в случае нагревания, что можно связать с инконгруэнтным плавлением соединения. Согласно приведенным данным термического анализа, наблюдается небольшой эффект на кривой ДСК при температуре $820^\circ C$ (рис. 3.10б), что можно отнести к возможному полиморфному переходу.

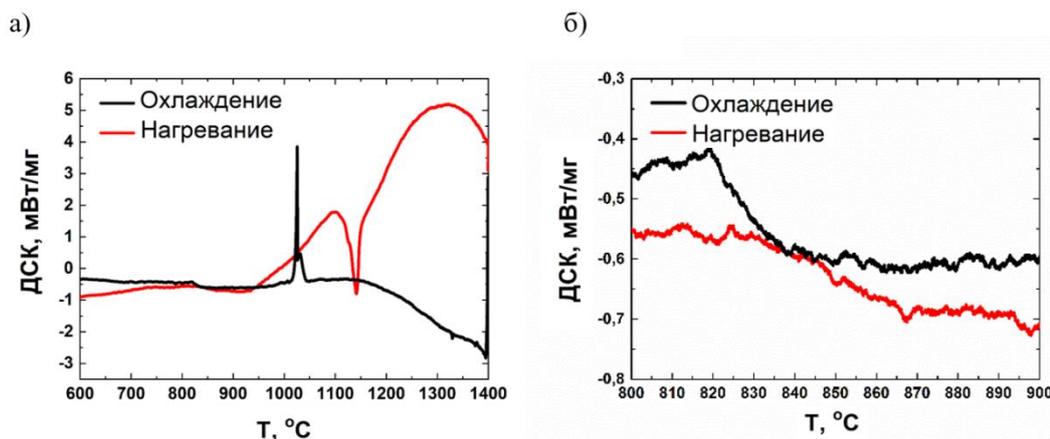


Рис. 3.10 Результаты ДСК анализа для $Mg_4Na(PO_4)_3$ (а). б) Тепловой эффект в диапазоне температур $800-900^\circ C$.

Результаты дилатометрии для M_4NP_3 представлены на рис. 3.11. На кривой усадки образца M_4NP_3 можно отметить уменьшение линейных размеров свыше температур $900^\circ C$, что можно связать с процессом уплотнения спрессованной таблетки. Следует отметить, что соединение M_4NP_3 является ионным проводником, способным проводить ионы натрия, поэтому описанная специфика усадки может быть связана с нарастанием диффузионной подвижности катионов натрия в ионном проводнике. Таким образом, ввиду отсутствия заметного скачка объёма и выраженного пика на кривой ДСК мы относим особенность при $820^\circ C$ не к фазовому переходу первого рода, а, скорее, к изменению ионной проводимости и уплотнению при спекании порошка. Следует отметить, что отсутствие полиморфного превращения первого рода с большим изменением объёма является преимуществом данного соединения при изготовлении керамики, поскольку при дальнейшем процессе спекания не будет происходить растрескивания керамики из-за изменения объёма.

В работе были установлены наличие фазового перехода для MNP при 700 и $900^\circ C$ с изменениями объёма 3.1 и 0.7% , соответственно, и тепловой эффект для M_4NP_3 при

820°C с изменением объёма около 0.1% и разложение фазы M4NP3 при температурах больших, чем 1040°C, что позволяет скорректировать разрозненные в литературе данные касательно полиморфизма MNP и M4NP3.

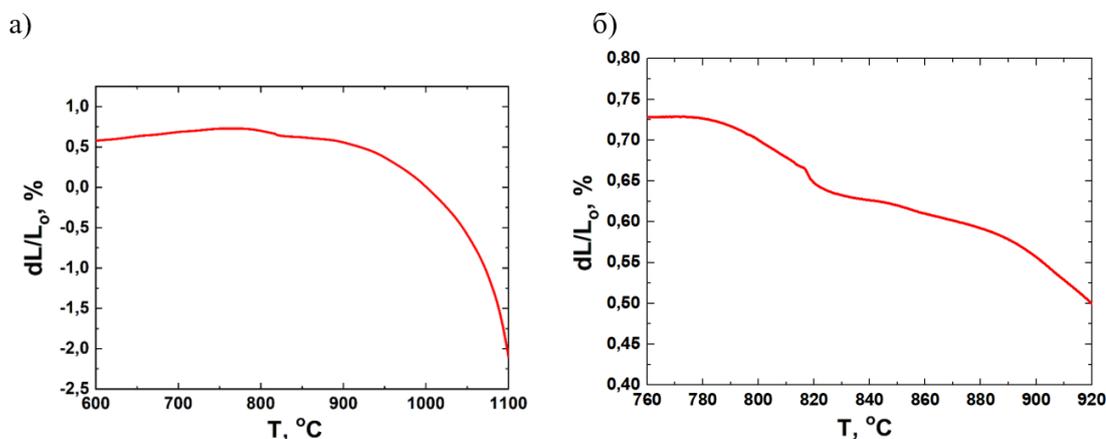


Рис. 3.11 Результаты дилатометрии при нагревании для $Mg_4Na(PO_4)_3$ (а).

б) Термический эффект в диапазоне температур 800-900°C.

ИК-спектр для M4NP3 (рис. 3.12) характеризуется наличием характерных полос для колебаний связей Mg-O, полосы поглощения фосфатной группы расположены в диапазоне $1200-900\text{ см}^{-1}$ и 670 см^{-1} [204]. Три пика поглощения при 1146 , 1068 и 1012 см^{-1} являются характерными для колебаний связи P-O. Кроме того, пик поглощения при 943 см^{-1} может быть также отнесён к связи P-O [204]. Следует отметить, что для колебаний при $\sim 565\text{ см}^{-1}$ наблюдается наложение близких полос Mg-O и P-O-P в PO_4 .

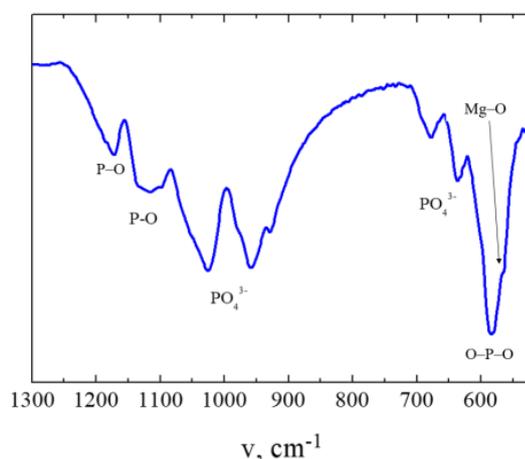


Рис. 3.12 ИК-спектр для порошка $Mg_4Na(PO_4)_3$.

Для характеристики морфологии частиц синтезированные порошки фосфатов магния исследовали методом РЭМ (рис. 3.13). Микроструктура порошка пирофосфата магния характеризуется частицами неправильной формы, что можно связать с процессами его получения из струвита, которые включают обезвоживание и удаление аммиака. Частицы MNP имеют слоистую морфологию, в то время как для фазы M4NP3 характерно образование частиц неправильной формы. С целью дальнейшего наполнения гидрогелей фосфатами магния была проведена оценка размера частиц по данным РЭМ. Значения размера частиц для синтезированных порошков на основе данных РЭМ приведены в табл. 3.4.

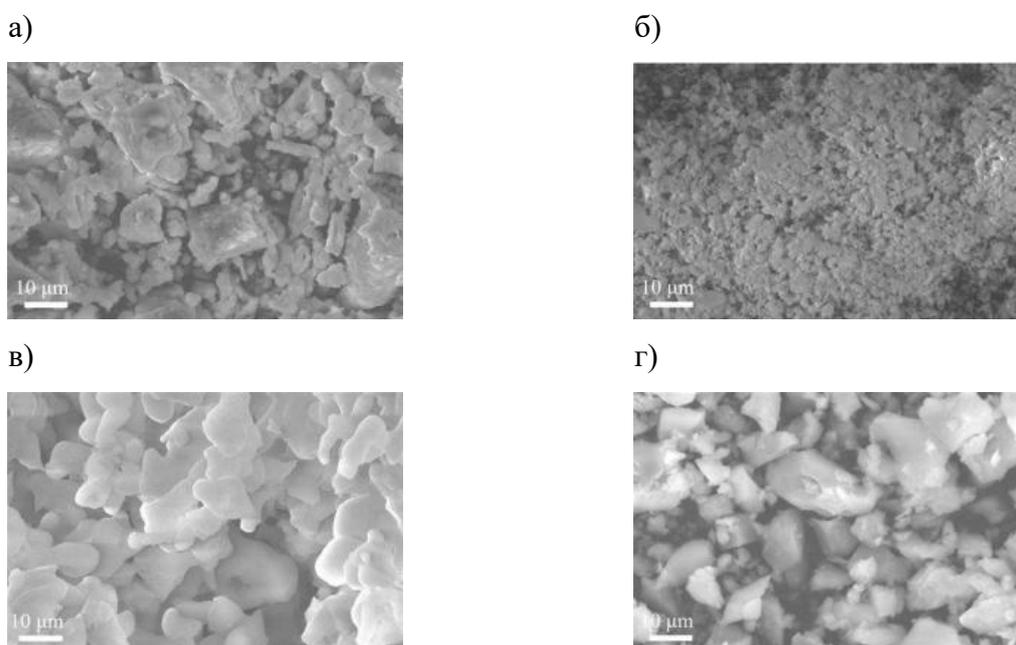


Рис. 3.13 Микроструктура синтезированных порошков без термической обработки на основе: а) $Mg_2P_2O_7$, б) $Mg_3(PO_4)_2$, в) $MgNaPO_4$, г) $Mg_4Na(PO_4)_3$.

Табл. 3.4 Размер частиц порошков фосфатов магния по данным РЭМ

Название соединения	Размер частиц по данным РЭМ, мкм
M2P2	15 ± 4
M3P2	12 ± 3
MNP	20 ± 3
M4NP3	18 ± 4

Согласно полученным данным (табл. 3.4), наиболее перспективными для наполнения композиционных материалов на основе гидрогелей являются порошки пирофосфата и ортофосфата магния, что связано с их более мелким размером частиц, кроме того, следует учесть наличие полиморфизма.

3.1.4 Уточнение параметров кристаллической решётки и структуры фосфатов магния-натрия

Для уточнения параметров кристаллической решётки и построения структур магний-натриевых фосфатов использовали метод Ритвельда. Дифрактограммы исходных порошков представлены на рис. 3.14. В литературе известны структуры магний-натриевых фосфатов, но из-за большого количества полиморфных превращений и возможного наличия в образцах примесной фазы γ -MNP в дополнение к уточнению параметров кристаллической решётки было проведено построение кристаллических структур магний-натриевых фосфатов. Для исследования использовали образцы MNP, термообработанные при двухстадийных режимах обжига $900^{\circ}\text{C} + 600^{\circ}\text{C}$ и $900^{\circ}\text{C} + 700^{\circ}\text{C}$, а также M_4NP_3 (табл. 3.5). Изучение изменения параметров решётки позволит оценить возможное изменение объёмов при изготовлении керамики на основе магний-натриевых фосфатов и влияние полиморфных превращений на изменение объёма структуры. Как было найдено ранее, наиболее подходящими условиями для получения MNP являются температуры обжига 900°C и 600°C , в то время как при обжиге при температурах 900°C и 700°C происходит образование образца, характеризующимся наибольшим количеством примесной фазы γ -MNP. Следует отметить, что в работе не удалось получить однофазный образец высокотемпературной полиморфной модификации γ -MNP, и в базе данных ICDD PDF-2 нет информации касательно симметрии и параметров решётки высокотемпературной полиморфной модификации, поэтому уточнение структуры для неё не проводили. При комнатной температуре невозможна стабилизация высокотемпературной модификации, и наибольшее содержание γ -MNP наблюдается при двухстадийной термообработке при 900°C и 700°C . Кристаллографические данные, параметры уточнения и межатомные расстояния для фосфатов магния-натрия приведены в приложениях 1 и 2.

Разница в объёмах и параметрах кристаллической решётки для MNP ($900^{\circ}\text{C} + 600^{\circ}\text{C}$) и MNP ($900^{\circ}\text{C} + 700^{\circ}\text{C}$) составляет примерно 1%. В связи со столь незначительным изменением, мы полагаем, что это не связано с нестехиометрией этой фазы. Структурные

модели кристаллических структур MgNaPO_4 , термообработанного при температурном режиме $900^\circ\text{C} + 600^\circ\text{C}$, и $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ приведены на рис. 3.14. Тетраэдрами обозначены связи P-O. Для MgNaPO_4 и $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ характерна орторомбическая сингония. Для дальнейшего получения керамики был использован образец MgNaPO_4 ($900^\circ\text{C} + 600^\circ\text{C}$).

Табл. 3.5 Параметры кристаллической решётки магний-натриевых фосфатов

Состав	Пространственная группа	$a, \text{Å}$	$b, \text{Å}$	$c, \text{Å}$	$V, \text{Å}^3$
MgNaPO_4 ($900^\circ\text{C} + 600^\circ\text{C}$)	$P2_12_12_1$	8.818(3)	15.235(6)	6.821(2)	916.37(8)
MgNaPO_4 ($900^\circ\text{C} + 700^\circ\text{C}$)	$P2_12_12_1$	8.828(1)	15.255(2)	6.872(1)	925.60(3)
$\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$	$Pnma$	9.778(3)	6.322(9)	15.366(2)	950.04(6)

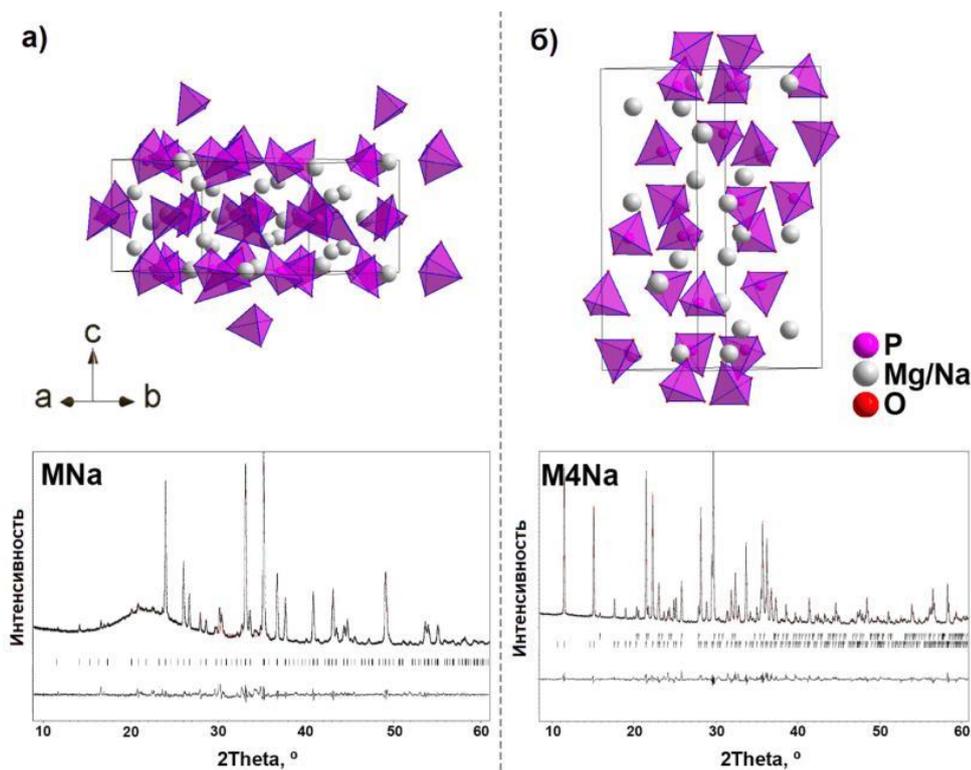


Рис. 3.14 Кристаллические структуры а) MgNaPO_4 и б) $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ и им соответствующие дифрактограммы.

3.2 Исследование фазовых отношений в двойной системе $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 - \text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$

При подготовке данной главы использованы публикации автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М. В. Ломоносова, частично отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Преображенский И.И., Путляев В.И. Синтез и фазовые превращения соединений системы $Mg_4Na(PO_4)_3 - Mg_3(PO_4)_2$ в качестве перспективных фаз для изготовления биокерамики // **Неорганические материалы** – 2022, 59(4), 367-373. <https://doi.org/10.31857/S0002337X22030125>

Преображенский И.И., Филиппов Я.Ю., Евдокимов П.В., Путляев В.И. (2023). Экспериментальное изучение двойной системы $Mg_3(PO_4)_2-Mg_4Na(PO_4)_3$ // **Неорганические материалы** – 2023, 59(5), 521-528. <https://doi.org/10.31857/S0002337X23050147>

Кроме того, результаты, приведённые в данной главе, являются частью отчета по гранту РФФ №22-19-00219.

Из литературного обзора можно сделать вывод, что система $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$ является малоисследованной и содержит несогласованности относительно температур фазовых переходов. В литературе есть попытки построения фазовой диаграммы $Mg_3(PO_4)_2 - Na_3PO_4$ на основе результатов ДТА и высокотемпературной микроскопии [98-100]. Данная фазовая диаграмма является недостроенной; также существуют разногласия по поводу количества полиморфных модификаций магний-натриевых фосфатов. Включение натрия в состав биокерамики позволит варьировать растворимость, кроме того, натрий является важным биологическим элементом [205]. С точки зрения создания биокерамики и наполнения гидрогелей, интересна левая, богатая фосфатом магния, часть диаграммы, поскольку слишком большое содержание натрия в составе может привести к более высоким значениям pH, что будет негативно сказываться на цитосовместимости имплантата.

Для исследования фазовых отношений и установления границ фазовых полей в двойной системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$ с целью дальнейшего получения биоматериалов исследовали спрессованные для лучшего контакта смеси на основе МЗР2 и М4НР3, термообработанные при 800°C в течение 2 дней (рис. 3.15). Температурный диапазон исследования был выбран от 800°C до 1400°C. Смеси на основе $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$, взятые в различных массовых соотношениях (от $x=0.15$ до $x=0.75$) готовили с шагом коэффициента $x=0.15$ в соотношении смесей $(1-x)Mg_3(PO_4)_2 + xMg_4Na(PO_4)_3$ и исследовали методами рентгенофазового и термического анализов. При использовании РФА можно показать изменение фазового состава образцов при изменении соотношения Mg/Na. РФА образцов проводили при их обжиге до заданной температуры и охлаждении до комнатной температуры, которое осуществлялось печью. Температуру эффектов определяли по линии нагрева и охлаждения.

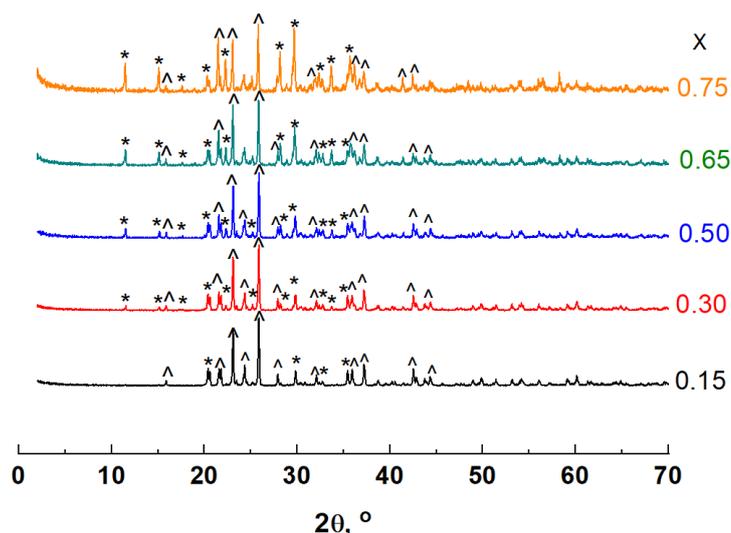


Рис. 3.15 Дифрактограммы образцов на основе смесей $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ и $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ с различным коэффициентом x в соотношении смесей $(1-x)\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ после обжига при температуре 800°C в течение 2 дней. * помечены пики, отнесённые к $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ (PDF-2, №34-671), ^ - $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ (PDF-2, №33-878).

Согласно данным РФА (рис. 3.15), при обжиге смесей при 800°C основными фазами являются М4NP3 и ортофосфат магния, причём при увеличении коэффициента x происходит увеличение содержания фазы М4NP3, что особенно видно для характерных рефлексов при 10 и 16° по 2θ . Массовая доля для М4NP3, рассчитанная по методу Чанга, увеличивается с 18% для $x=0.15$ до 71% для $x=0.75$, что является близкими значениями к расчётным. Таким образом, при обжиге при 800°C не происходит взаимодействия между компонентами и образования новых фаз, что позволяет использовать образцы для дальнейшего термического анализа. При исследовании образцов на основе смесей М4NP3 и МЗР2 с использованием ДСК наблюдаются до двух тепловых эффектов (рис. 3.16).

Температуры тепловых эффектов приведены в табл. 3.6. Температуру определяли по началу эффекта. Для всех образцов наблюдаются экзо-эффекты при охлаждении при температурах $1072-1160^\circ\text{C}$. Образование узких эффектов, наблюдающихся для всех составов при нагревании, позволяет сделать вывод о высокой скорости фазового перехода.

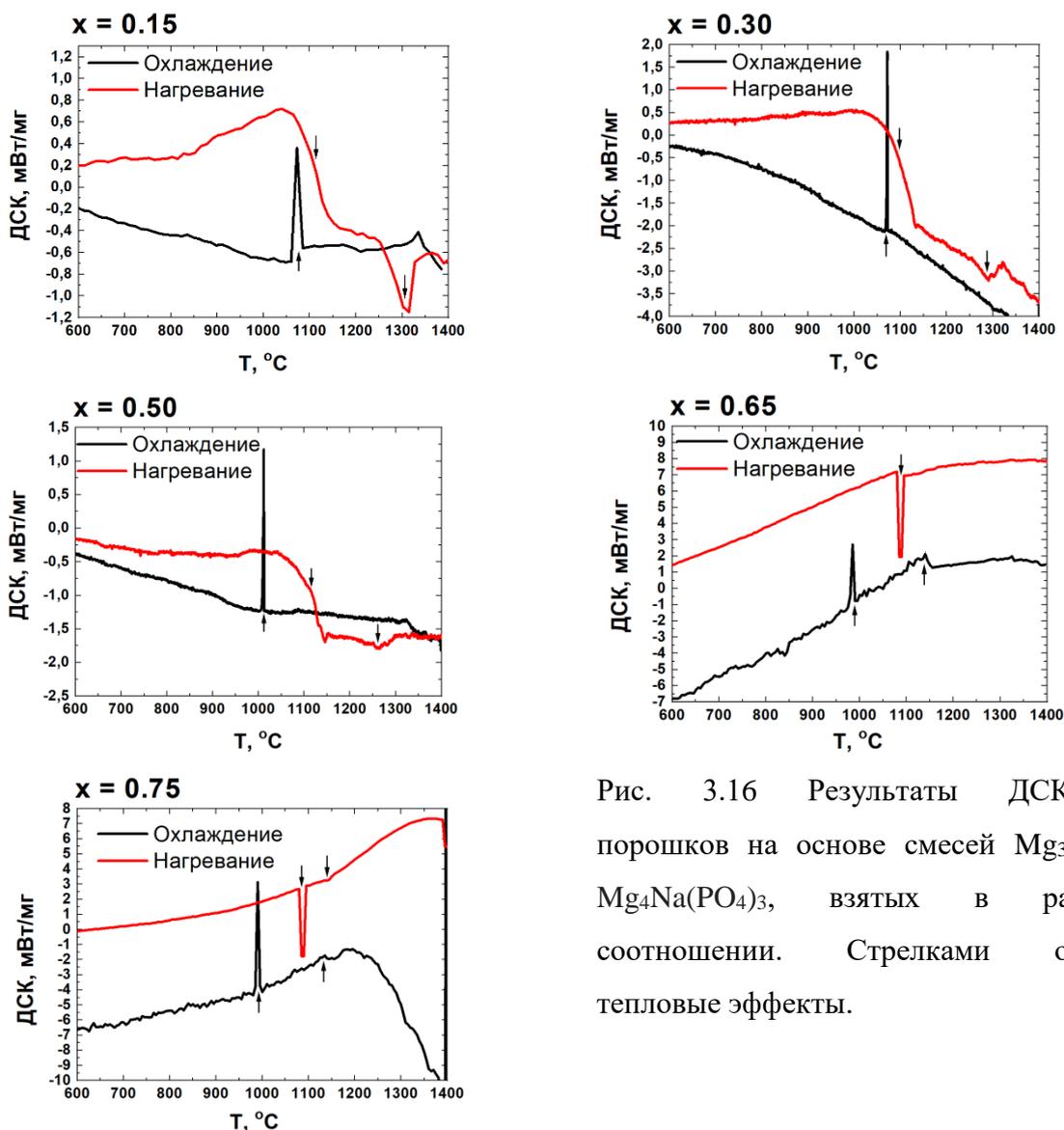


Рис. 3.16 Результаты ДСК-анализа порошков на основе смесей $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$, взятых в различном соотношении. Стрелками отмечены тепловые эффекты.

Температуры фазовых превращений были нанесены на график «температура-состав» для характеристики фазовых отношений в системе (рис. 3.17). Полученные значения позволяют сделать оценку границ фазовых полей в исследуемой системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$. В случае M4NP3 при 820 °С нанесена пунктирная линия на схеме фазовых отношений, так как тепловой эффект при этой температуре мы не относим к фазовому переходу первого рода вследствие малого изменения объема по данным dilatometрии и слабо выраженному тепловому эффекту на ДСК. Проводили обжиг исследуемых образцов при температурах тепловых эффектов согласно термическому анализу (рис. 3.18, табл. 3.6). При анализе фазового состава смесей при обжиге до температуры рефлекса наблюдается переход в однофазный ортофосфат магния.

Табл. 3.6 Температуры тепловых эффектов образцов на основе смесей $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$ по результатам термического анализа.

Название соединения	Т эффекта при нагревании, °С	Т эффекта при охлаждении, °С
MNP	727	605
	893	860
M4NP3	820	815
	1141	1025
x=0.15	1052	1050
	1315	
x=0.30	1068	1066
	1290	
x=0.50	1053	1012
	1261	
x=0.65	1080	990
		1160
x=0.75	1080	990
	1145	1135

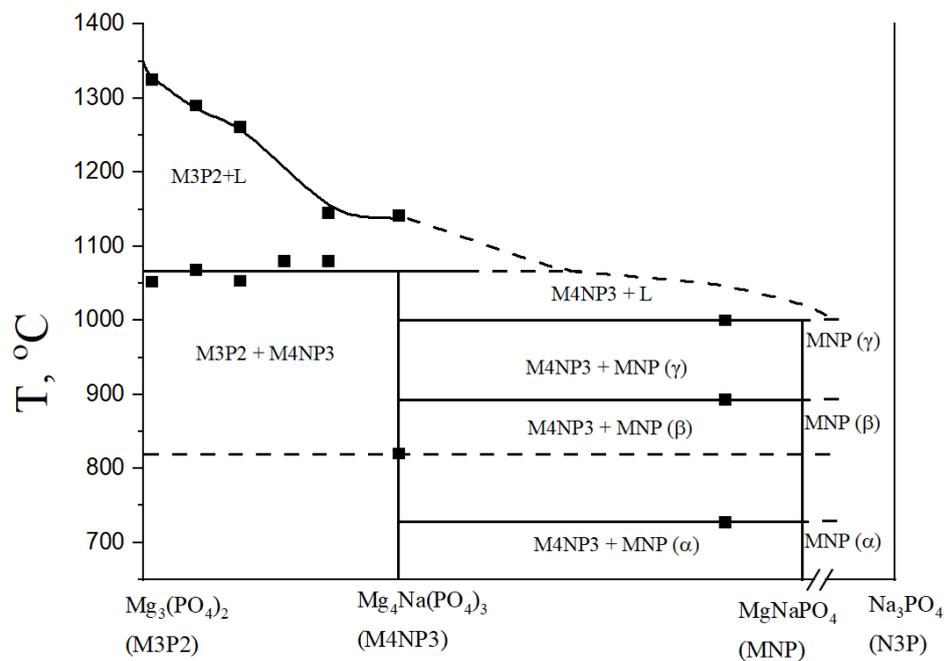


Рис. 3.17 Схема фазовых отношений по результатам ДСК.

После обжига до температуры эффекта наблюдается образование фазы ортофосфата магния, так как в данной области фазовой диаграммы стабильным является именно это соединение. Это можно связать с инконгруэнтным плавлением Mg_4NaP_3 с образованием ортофосфата магния. Таким образом, установлено, что выше температур 1100°C в смесях Mg_3P_2 и Mg_4NaP_3 при $x=0.15-0.75$ образуется ортофосфат магния. С точки зрения изготовления керамики оптимальные температуры обжига следует искать ниже 1100°C , поскольку при повышении температуры будет наблюдаться образование однофазного материала. На основе полученных данных можно сформировать качественную картину фазовых отношений при температурах до 1400°C , которая согласуется с данными РФА для всех составов, а именно то, что никаких других фаз, кроме $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$ при данных температурах не появляется. Следовательно, любая керамика в исследуемой системе будет представлять собой композит, составленный из этих фаз. Можно спрогнозировать, что и способность к растворению будет определяться растворимостью составляющих композит фаз.

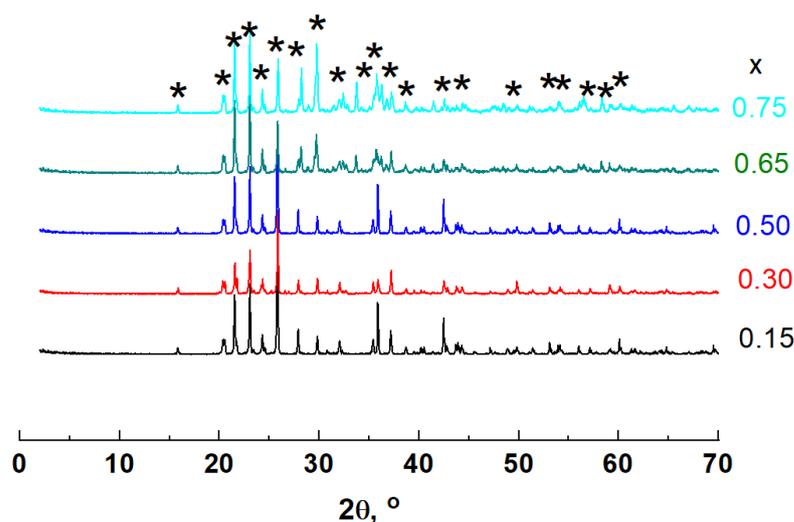
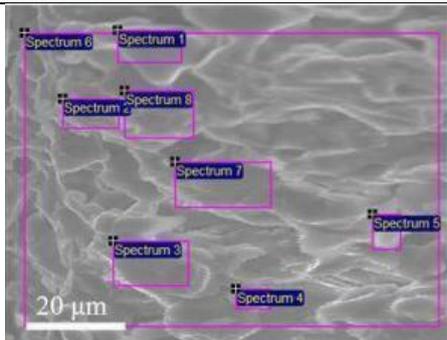
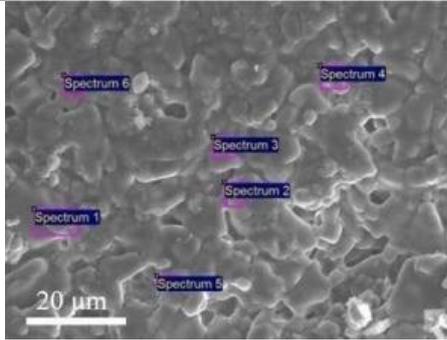
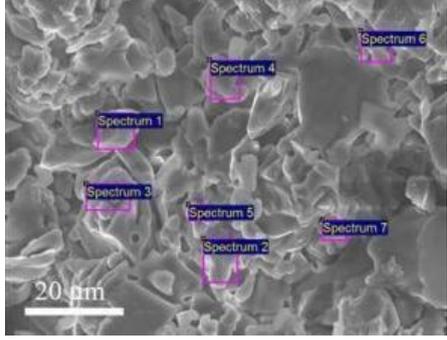


Рис. 3.18 Дифрактограммы образцов порошков на основе смесей $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$ с разным коэффициентом x (от 0.15 до 0.75) в соотношении смесей $(1-x)Mg_3(PO_4)_2 + xMg_4Na(PO_4)_3$ после обжига до температуры: 1052°C (для $x=0.15, 0.30, 0.50$) и 1080°C (для $x=0.65, 0.75$). * отмечены пики, отнесённые к $Mg_3(PO_4)_2$ (PDF-2, №33-878).

Для исследования фазовых отношений на наличие области гомогенности образцы исследовали методом РСМА на соотношение магния к фосфору, значения брали в атомных процентах (табл. 3.7). Зонд (пятно электронного луча) был выбран так, чтобы находиться в центре анализируемого зерна.

Поскольку полученная керамика является бифазной, то микроструктура представлена зёрнами МЗР2 и М4NP3, и анализ проводили при оценке соотношения магния к натрию у каждого зерна керамики, спечённой при 1000°C. Рассчитанные значения Mg/Na для соотношений М4NP3/МЗР2 30/70, 50/50 и 70/30 являются 11.0, 7.0 и 5.3, соответственно; значения Mg/P: 1.4, 1.4 и 1.3, соответственно. При увеличении соотношения М4NP3/МЗР2 наблюдается тенденция увеличения соотношения магния к натрию для зёрен М4NP3, а также увеличение содержания натрия для зёрен МЗР2. В широком диапазоне составов наблюдается хорошее соответствие между наблюдаемыми и ожидаемыми значениями Mg/Na. РСМА-анализ подтверждает равномерное распределение элементов Mg, Na и P в полученной керамике.

Табл. 3.7 РСМА-анализ керамических образцов на основе смесей $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$ после термообработки при 1000°C.

Соотношение М4NP3/МЗР2	РЭМ участка	Зерна МЗР2. Среднее содержание Na, ат. %	Коэффициент x
30/70		1.1	0.31-0.36
50/50		1.7	0.46-0.51
70/30		2.3	0.71-0.75

Таким образом, результаты работы о наличии и характере фазовых переходов фосфатов магния-натрия, исследование границ фазовых полей в двойной системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$ имеют важное значение при дальнейшем получении керамических материалов на основе фосфатов магния-натрия, поскольку на основе проведённого исследования можно выяснить причины образования определённой микроструктуры и наличие изменения объёма при фазовых переходах первого рода, которые могут вызвать растрескивание керамических материалов. Причём трещины могут влиять как на прочность керамического материала, снижая максимальное напряжение при деформации, так и на его резорбцию. Знание температур тепловых эффектов фазовых переходов позволяет сделать вывод о способности материала к закалке, так как в случае быстрых переходов невозможно провести закалку высокотемпературной фазы, а также важно выяснение процессов, протекающих при нагреве материала, что влияет на получение керамики.

3.3 Керамические материалы на основе фосфатов магния и фосфатов магния-натрия

При подготовке данной главы использованы публикации автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М. В. Ломоносова, частично отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Preobrazhenskiy I.I., Deyneko D.V., Titkov V.V., Murashko A.M., Putlyaev V.I. Study of magnesium-sodium double phosphates ceramic for bone treatment // **Ceramics International** – 2023, 49 (17), 29064-29073. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.06.182>

Preobrazhenskiy I.I., Putlyaev V.I. Ceramics based on double magnesium–sodium phosphates for bone regeneration // **Mendeleev Communications**, 33(4), 531-533. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2023.06.029>

Преображенский И.И., Путляев В.И. Синтез и фазовые превращения соединений системы $Mg_4Na(PO_4)_3 - Mg_3(PO_4)_2$ в качестве перспективных фаз для изготовления биокерамики // **Неорганические материалы** – 2022, 59(4), 367-373. <https://doi.org/10.31857/S0002337X22030125>

Преображенский И.И., Филиппов Я.Ю., Евдокимов П.В., Путляев В.И. (2023). Экспериментальное изучение двойной системы $Mg_3(PO_4)_2-Mg_4Na(PO_4)_3$ // **Неорганические материалы** – 2023, 59(5), 521-528. <https://doi.org/10.31857/S0002337X23050147>.

Кроме того, результаты, приведённые в данной главе, являются частью отчета по гранту РФФ №22-19-00219.

3.3.1 Керамика на основе ортофосфата магния $Mg_3(PO_4)_2$

В работе было проведено исследование возможности получения керамики на основе ортофосфата магния, $Mg_3(PO_4)_2$. Формованными образцами для получения

биокерамики являлись таблетки диаметром 6 и 8 мм. Спекание проводили в изотермическом режиме, температуры спекания были выбраны в диапазоне 800-1250°C, длительность спекания составляла 10 часов. Измеренные значения относительной плотности и линейной усадки приведены на рис. 3.19 и табл. 3.8. Характерный вид кривых дилатометрии приведён на рис. 3.20.

Данные измерения плотности образцов, полученные методом гидростатического взвешивания, говорят о значительном её росте в температурном диапазоне 900-1000°C, который замедляется при повышении температуры до 1150°C, после чего выходит на плато. Полученные данные хорошо согласуются с результатами дилатометрических измерений и позволяют предположить, что температура 1150°C может быть оптимальной с точки зрения получения плотной керамики в изотермическом режиме.

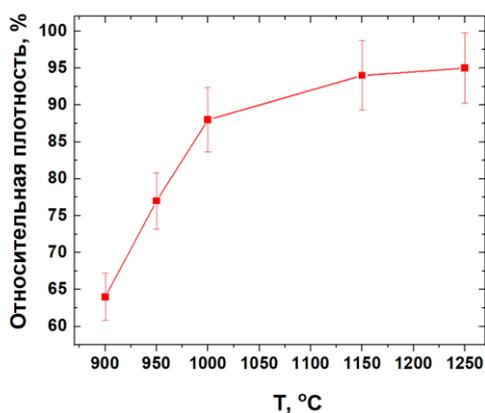


Рис. 3.19 Значения относительной плотности для керамики на основе $Mg_3(PO_4)_2$ после термообработки при различных температурах.

Табл. 3.8 Линейная усадка керамики на основе $Mg_3(PO_4)_2$

Температура термообработки, °C	Усадка, %
900	0.2 ± 0.05
950	2.0 ± 0.4
1000	2.2 ± 0.5
1150	7.6 ± 0.9
1250	10.3 ± 1.2

Значения линейной усадки, полученные на основе данных дилатометрии, занесены в табл. 3.8. Как видно из хода кривых дилатометрии, спекание при 900°C происходит неинтенсивно, и наблюдаются малые значения усадки (0.2%). Наиболее интенсивно процесс спекания протекает при температурах 1000 и 1150°C, при которых происходит увеличение усадки и относительной плотности керамики. РЭМ-изображения сколов образцов полученной керамики представлены на рис. 3.21.

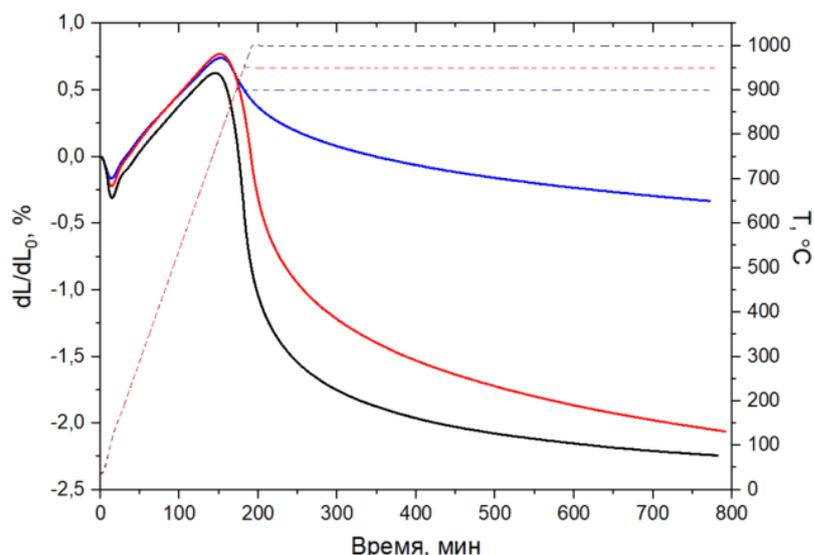


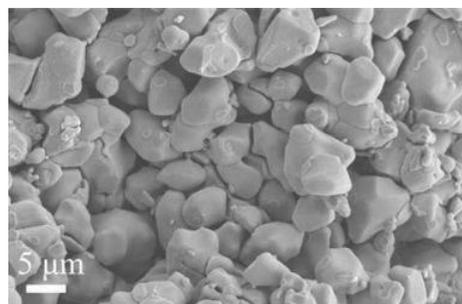
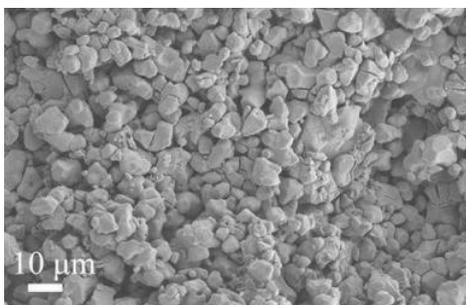
Рис. 3.20 Результаты дилатометрии при изотермической выдержке в течение 10 часов при 900, 950 и 1000°C для $Mg_3(PO_4)_2$.

Микроструктура керамики, термообработанной при 800 и 900°C, характеризуется наличием слабосвязанных частиц исходных порошков, что свидетельствует о необходимости повышения температуры спекания для получения плотной керамики. По данным РЭМ при температуре 900°C не наблюдается образования заметных перешейков между отдельными частицами порошка, что говорит об отсутствии процессов спекания. При 1000°C хорошо заметны процессы припекания отдельных частиц, однако, присутствуют поры. Температура 1150°C интересна с точки зрения формирования достаточно плотной микроструктуры без заметного увеличения среднего размера зёрен. Увеличение температуры термообработки до 1250°C не позволяет окончательно избавиться от присутствия пор, а лишь приводит к их вмуровыванию в объём зёрен, размер которых значительно возрос по сравнению с более низкими температурами спекания.

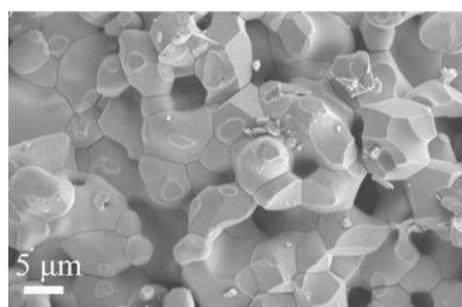
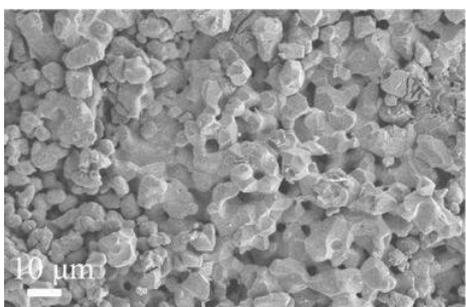
Образцы, спечённые при 1250°C, имеют следы коробления, происходило искажение геометрических размеров спечённой керамики. Можно сделать вывод, что температура 1250°C слишком высока для получения керамики на основе $Mg_3(PO_4)_2$, поскольку скорость рекристаллизации преобладает над скоростью уплотнения. При спекании керамики при температуре 1150°C наблюдается отсутствие следов расплава, а плотность, рассчитанная по усадке, равна 94.9% от теоретической, однако наблюдается остаточная пористость на границах зёрен. Из этого следует предположить, что такую керамику нужно спекать при температурах не более 1150°C. Стоит отметить, что при температуре термообработки 1000°C наблюдается образование однородной

микроструктуры. Полученные данные позволяют сделать вывод, что температуры 1000 и 1150°C являются предпочтительными для получения плотной керамики выбранного состава.

T=900°C



T=1000°C



T=1150°C

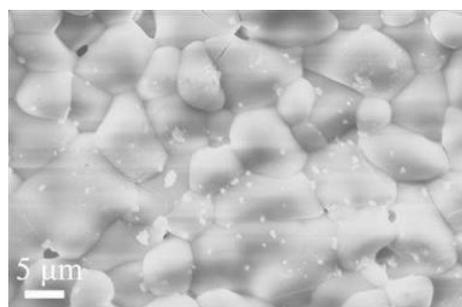
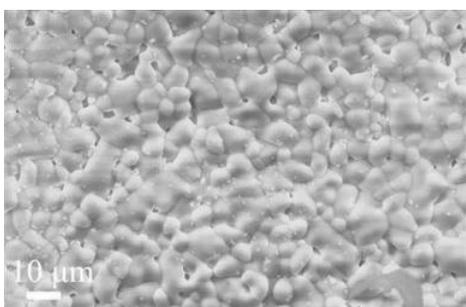


Рис. 3.21 Микрофотографии скола керамики на основе Mg₃(PO₄)₂, спечённой при различных температурах.

3.3.2 Получение керамических материалов на основе фосфатов магния-натрия

В работе исследовали возможность получения керамических материалов на основе магний-натриевых фосфатов. Температуры спекания были выбраны 800, 900 и 1000°C, поскольку в литературе нет данных о спекании этих фаз и оптимальные температуры для обжига неизвестны. Температуры спекания выше 900°C для фазы MNP позволят оценить наличие трещин из-за полиморфного превращения при этих температурах. Для

исследования изменения фазового состава после спекания использовали РФА (рис. 3.22, 3.23). Керамический образец на основе MNP, термообработанный при 800°C, не содержит примесей, отнесённых к другим полиморфным модификациям, в то время как увеличение температуры спекания до 900°C ведёт к появлению примесной полиморфной модификации.

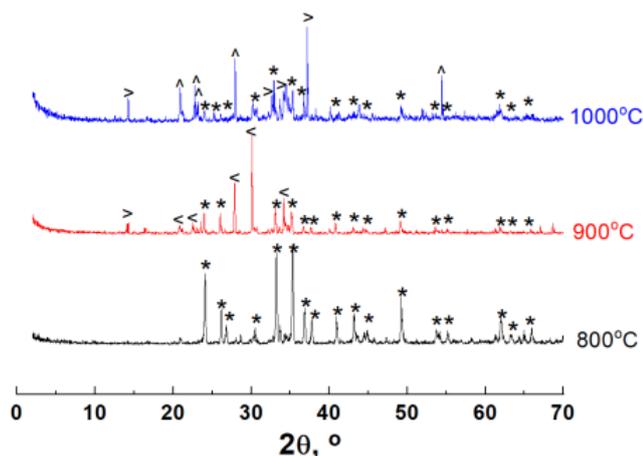


Рис. 3.22 Дифрактограммы керамических образцов на основе MgNaPO_4 , спечённых при различных температурах. * отмечены пики, отнесённые к MgNaPO_4 (PDF-2, №32-1119), < - MgNaPO_4 (PDF-2, №32-1121), ^ - Na_3PO_4 (PDF-2, №32-1442), > - $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ (PDF-2, №34-671).

Исходя из полученных данных можно предположить, что высокотемпературной модификацией является фаза MNP (PDF-2, №32-1121), поскольку интенсивность её рефлексов при увеличении температуры возрастает. При спекании при 1000°C происходит разложение соединения MNP с образованием тетрамагнийнатриевого фосфата и ортофосфата натрия, Na_3PO_4 . Возможная реакция разложения представлена в уравнении 3.4:



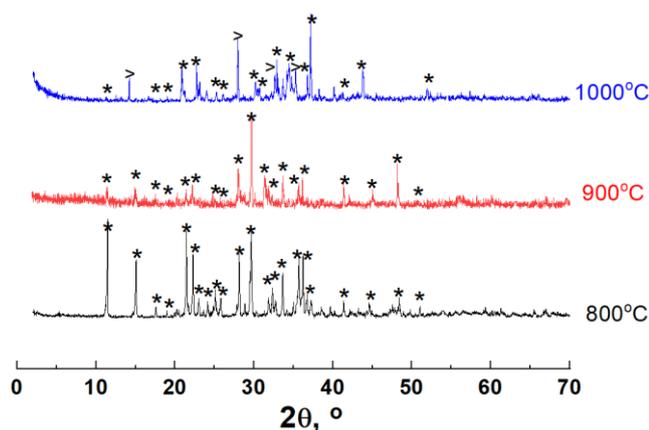


Рис. 3.23 Дифрактограммы керамических образцов на основе $Mg_4Na(PO_4)_3$, спечённых при различных температурах. * отмечены пики, отнесённые к $Mg_4Na(PO_4)_3$ (PDF-2, №34-671), > - $Mg_3(PO_4)_2$ (PDF-2, №35-134).

Образцы керамики на основе M_4NP_3 содержат рефлексы, отнесённые к фазе M_4NP_3 (PDF-2, №34-671). При повышении температуры наблюдается уменьшение интенсивности некоторых рефлексов. Также при термообработке при $1000^\circ C$ отмечено образование пиков, отнесённых к M_3P_2 , что можно связать с возможным плавлением образца и разложением до M_3P_2 . Значения относительной плотности полученной керамики на основе MNP и M_4NP_3 представлены на рис. 3.24, значения усадки полученной керамики приведены в табл. 3.9.

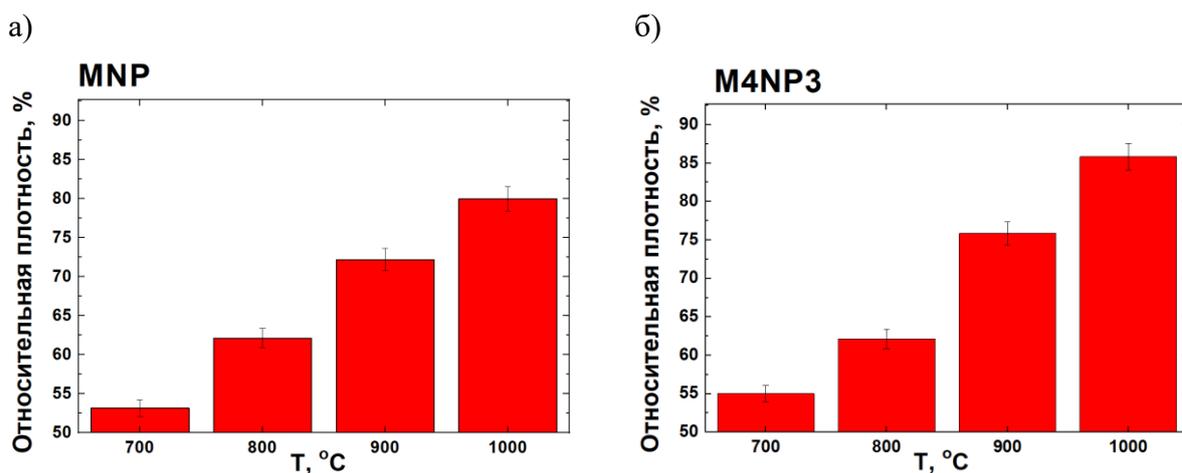


Рис. 3.24 Значения относительной плотности для керамики на основе $MgNaPO_4$ (а) и $Mg_4Na(PO_4)_3$ (б) до и после термообработки при 800 , 900 и $1000^\circ C$.

Для керамических материалов на основе фосфатов магния-натрия с ростом температуры обжига значения относительной плотности и усадки увеличиваются. При

обжиге при температуре 1000°C наблюдаются наибольшие значения относительной плотности (82% MNP и 85% для M4NP3). Образцы $Mg_4Na(PO_4)_3$, спечённые при 800°C, характеризуются хрупкостью и малой прочностью, что позволяет сделать вывод, что для получения плотной керамики необходимо повышать температуру обжига.

Табл. 3.9 Усадка керамики на основе магний-натриевых фосфатов

Температура обжига, °C	Усадка, %	
	$MgNaPO_4$	$Mg_4Na(PO_4)_3$
800	3.6 ± 0.3	2.9 ± 0.2
900	7.3 ± 0.7	6.8 ± 0.5
1000	11.2 ± 0.8	10.1 ± 0.7

Значения усадки также увеличиваются при повышении температуры спекания: при обжиге при 900°C для керамики на основе $MgNaPO_4$ значения усадки составляют 11%, а на основе $Mg_4Na(PO_4)_3$ – 10%. Полученные значения усадки не превышают значения усадки керамических материалов на основе ГАП и ТКФ, и являются приемлемыми для дальнейшего получения биокерамических материалов, поскольку после спекания не будет наблюдаться сильное изменение формы керамики. Изменение микроstructures керамических материалов на основе магний-натриевых фосфатов представлены на рис. 3.25-3.27, а также в приложении 3.

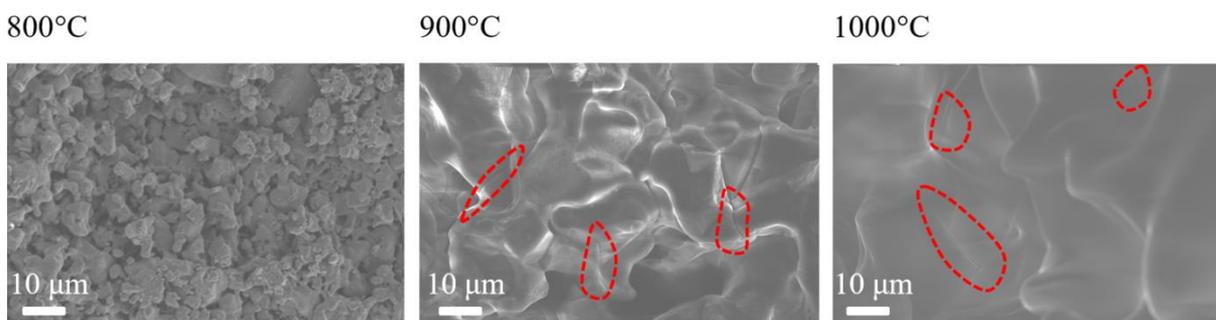


Рис. 3.25 Изменение микроstructures керамических образцов на основе $MgNaPO_4$, спечённых при различных температурах. Красными линиями показано образование трещин.

В случае температуры обжига 900°C и 1000°C наблюдается образование трещин в керамике, что связано с объёмным изменением при фазовом переходе фазы MNP при

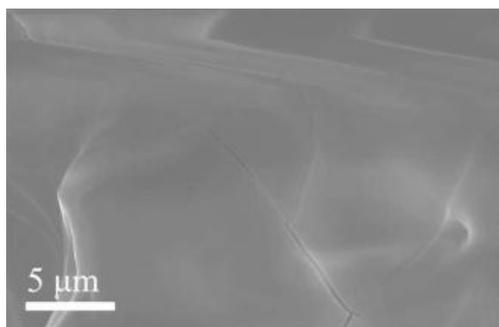


Рис. 3.26 Микроструктура керамического образца на основе MgNaPO_4 , спечённого при температуре 1000°C в течение 10 часов.

температуре 900°C (рис. 3.26). Видны следы расплава, поскольку скорость рекристаллизации больше, чем скорость уплотнения при данных температурах.

Наиболее подходящей температурой обжига для фазы MNP является 800°C , поскольку она ниже температуры фазового перехода и при ней отсутствуют трещины в материале. Микроструктура керамики на основе $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$, термообработанной при температурах 800 , 900 и 1000°C , представлена на рис. 3.27. В случае обжига M4NP3 при

температуре 1000°C образуется плотная монолитная структура, состоящая из частиц M4NP3, однако видно образование трещин, что может быть связано с близостью режима обжига с температурой разложения M4NP3. При термообработке при 800°C наблюдается образование слабосвязанных частиц, образцы легко ломались при ручном воздействии, что позволяет сделать вывод, что такой температуры недостаточно для спекания керамики.

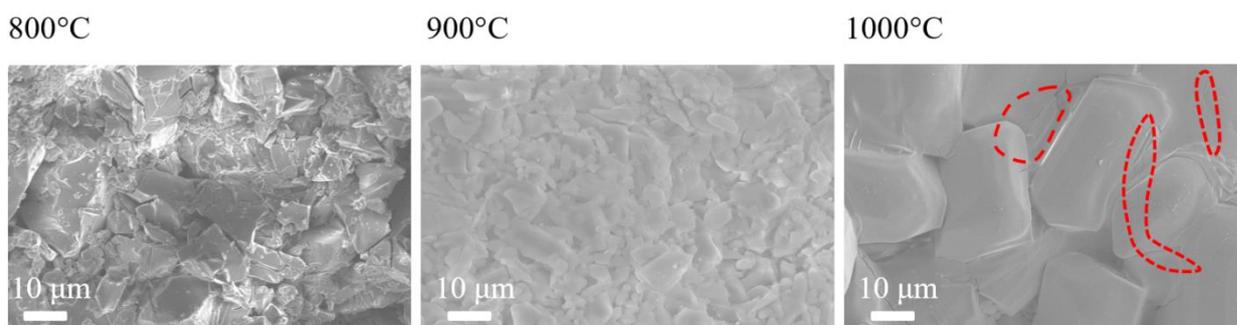
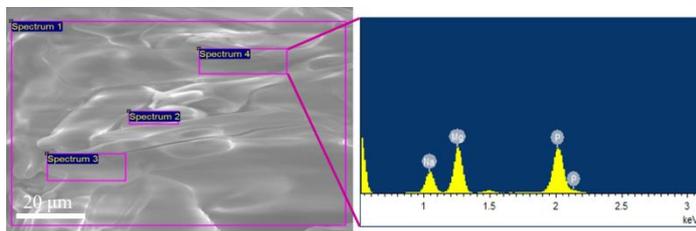


Рис. 3.27 Изменение микроструктуры керамических образцов на основе $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$, спечённых при различных температурах. Красными линиями показано образование трещин.

Наиболее подходящей температурой обжига является 900°C , при которой можно получить плотный керамический материал. При подготовке сколов образцы оказывали высокое сопротивление излому. Для оценки области гомогенности и распределения элементов с использованием метода РСМА исследовали соотношение Mg к P в

керамических образцах на основе фосфатов магния-натрия, спечённых при 1000°C в течение 10 часов (рис. 3.28-3.30).

а) MNP



б) M4NP3

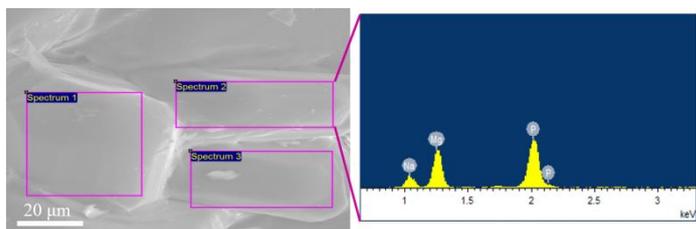


Рис. 3.28 Области, исследованные методом РСМА, и спектры элементов для керамических образцов на основе MgNaPO_4 (а) и $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ (б), спечённых при 1000°C в течение 10 часов.

Измеренные значения соотношений Mg/Na и $(\text{Mg}+\text{Na})/\text{P}$ для различных областей MNP и M4NP3, представленных на рис. 3.28, выписаны в табл. 3.10. Соотношения для MNP составляют Mg к Na 1.2 ± 0.1 и $(\text{Mg}+\text{Na})$ к P 1.1 ± 0.1 , значения взяты в атомных процентах. Значения Mg к Na в керамическом образце MNP близки к стехиометрическим значениям. Для M4NP3 среднее значение соотношения Mg к Na составляет 3.5 ± 0.2 и $\text{Mg}+\text{Na}$ к P 1.0 ± 0.1 , которые близки к стехиометрическим значениям и коррелируют с данными РФА.

Табл. 3.10 Результаты РСМА-анализа для керамики на основе MgNaPO_4 и $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$

Область	Соотношение Mg/Na	Соотношение (Mg+Na)/P
MNP 1	1.2	1.2
MNP 2	1.2	1.1
MNP 3	1.3	1.1
M4NP3 1	3.3	0.9
M4NP3 2	3.4	1.0
M4NP3 3	3.7	1.2

Для оценки равномерности распределения элементов использовали картирование выделенной области (рис. 3.29). Время сбора спектра составляло 20 минут.

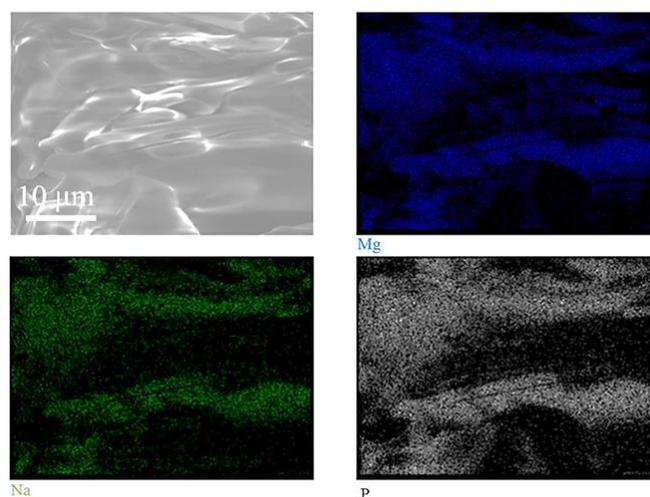


Рис. 3.29 Картирование по элементам Mg, Na и P керамического образца на основе MgNaPO_4 , спечённого при температуре 1000°C .

В результате проведения картирования области (рис. 3.29) было показано равномерное распределение элементов. Картирование области керамического образца M4NP3 представлено на рис. 3.30.

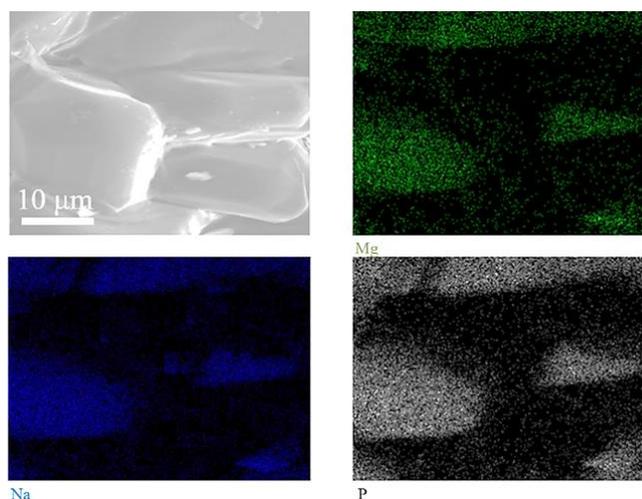


Рис. 3.30 Картирование по элементам Mg, Na и P керамического образца на основе $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$, спечённого при температуре 1000°C .

Таким образом, в работе удалось исследовать взаимосвязь между температурой термообработки, составом и микроструктурой керамики на основе магний-натриевых фосфатов. Был изучен процесс спекания керамических материалов: для керамики $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ спекание при 800°C происходит неинтенсивно и сопровождается плохим уплотнением, в результате чего невозможно получить плотную керамику с высокой прочностью. В то же время температура спекания 1000°C является слишком высокой из-за

того, что приводит к появлению трещин на поверхности керамических материалов. Спекание керамики на основе фосфата магния-натрия, $MgNaPO_4$, следует проводить при температуре $800^\circ C$, поскольку при этой температуре не наблюдается наличия трещин и изменения фазового состава.

3.3.3 Получение керамических материалов в системе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$

С точки зрения изготовления керамики было бы интересно рассмотреть смеси на основе $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$, поскольку при использовании компонентов с разной степенью резорбции можно изменять скорость растворения биокерамического материала. Кроме того, разработка бифазных композитов на основе МЗР2-М4НР3 приведёт к образованию мелкозернистой керамики, которая будет обладать большей прочностью. Для исследования изменения фазового состава образцов биокерамики на основе смесей М4НР3 и МЗР2 в соотношениях 30/70, 50/50 и 70/30 проводили РФА керамики после термообработки при температурах 800, 900 и $1000^\circ C$ (рис. 3.31). При более высоких температурах обжига, согласно проведённому в данной работе термическому анализу образцов смесей, происходит инконгруэнтное разложение М4НР3 с образованием МЗР2, в результате чего проводить обжиг при температурах больше $1000^\circ C$ является нецелесообразным.

При увеличении температуры обжига наблюдается увеличение разрешённости пиков, что хорошо видно для рефлекса при 12° по 2θ , характерного для М4НР3. С повышением температуры спекания дифракционные рефлексы становились резкими, а интенсивность рефлексов увеличивалась. Рефлексы были отнесены к фазам МЗР2 и М4НР3 на основе базы данных ICDD PDF-2 (для МЗР2 - 33-878, для М4НР3 - 34-671). При увеличении температуры обжига для образца М4НР3:МЗР2 30/70 наблюдается увеличение количества рефлексов, отнесённых к М4НР3. В процессе термообработки при выбранных температурах обжига не наблюдается образования новых фаз, что коррелирует с данными термического анализа. Можно предположить, что при более высоких температурах идёт более интенсивная реакция между компонентами, в результате чего интенсивность рефлексов отдельных фаз уменьшается.

Для получения керамики на основе исследуемых смесей фосфатов магния-натрия были выбраны следующие режимы обжига: 1) $800^\circ C/10$ часов, 2) $900^\circ C/10$ часов, 3) $1000^\circ C/10$ часов. Выбор таких температур связан с тем, что согласно литературным данным неясно, какие температуры будут оптимальными для получения плотной

керамики на основе рассматриваемых составов, а температуры выше 1000°C приведут к образованию однофазного МЗР2 и расплава, который будет попадать в пористый керамический образец, ускоряя процесс рекристаллизации, что не позволит получить плотные образцы керамики.

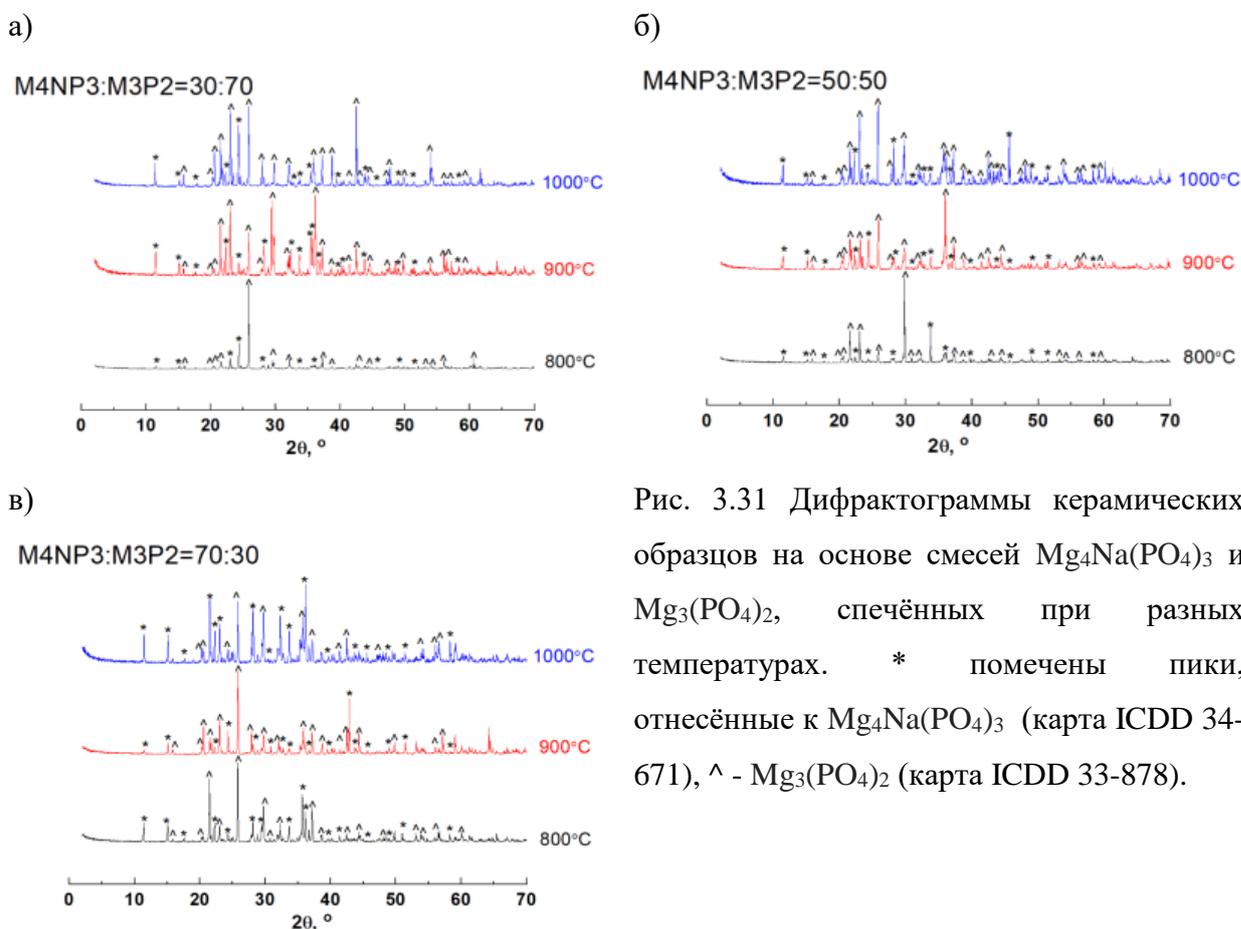


Рис. 3.31 Дифрактограммы керамических образцов на основе смесей $Mg_4Na(PO_4)_3$ и $Mg_3(PO_4)_2$, спечённых при разных температурах. * помечены пики, отнесённые к $Mg_4Na(PO_4)_3$ (карта ICDD 34-671), ^ - $Mg_3(PO_4)_2$ (карта ICDD 33-878).

В работе проводили анализ изменения относительной плотности и усадки образцов керамики с различным соотношением фаз М4NP3:МЗР2 (рис. 3.32) при различных температурах обжига. При увеличении содержания М4NP3 наблюдается увеличение относительной плотности образцов керамики, что можно связать с большей плотностью самого соединения относительно ортофосфата магния, а также с тем, что при уменьшении содержания натрия может ухудшаться процесс спекания из-за более низкой диффузионной подвижности магния по сравнению с натрием. При увеличении температуры спекания наблюдается увеличение плотности керамики, происходит рост зёрен и устранение пористости. При изготовлении керамического материала необходимо подобрать режим спекания (температура, длительность) для различных составов. Для поиска подходящих условий процесса спекания была проведена оценка усадки керамических образцов на основе смесей М4NP3/МЗР2. С увеличением температуры

обжига усадка керамики увеличивается, но не превышает значений 11%. Данные относительно усадки керамики приведены на рис. 3.32г.

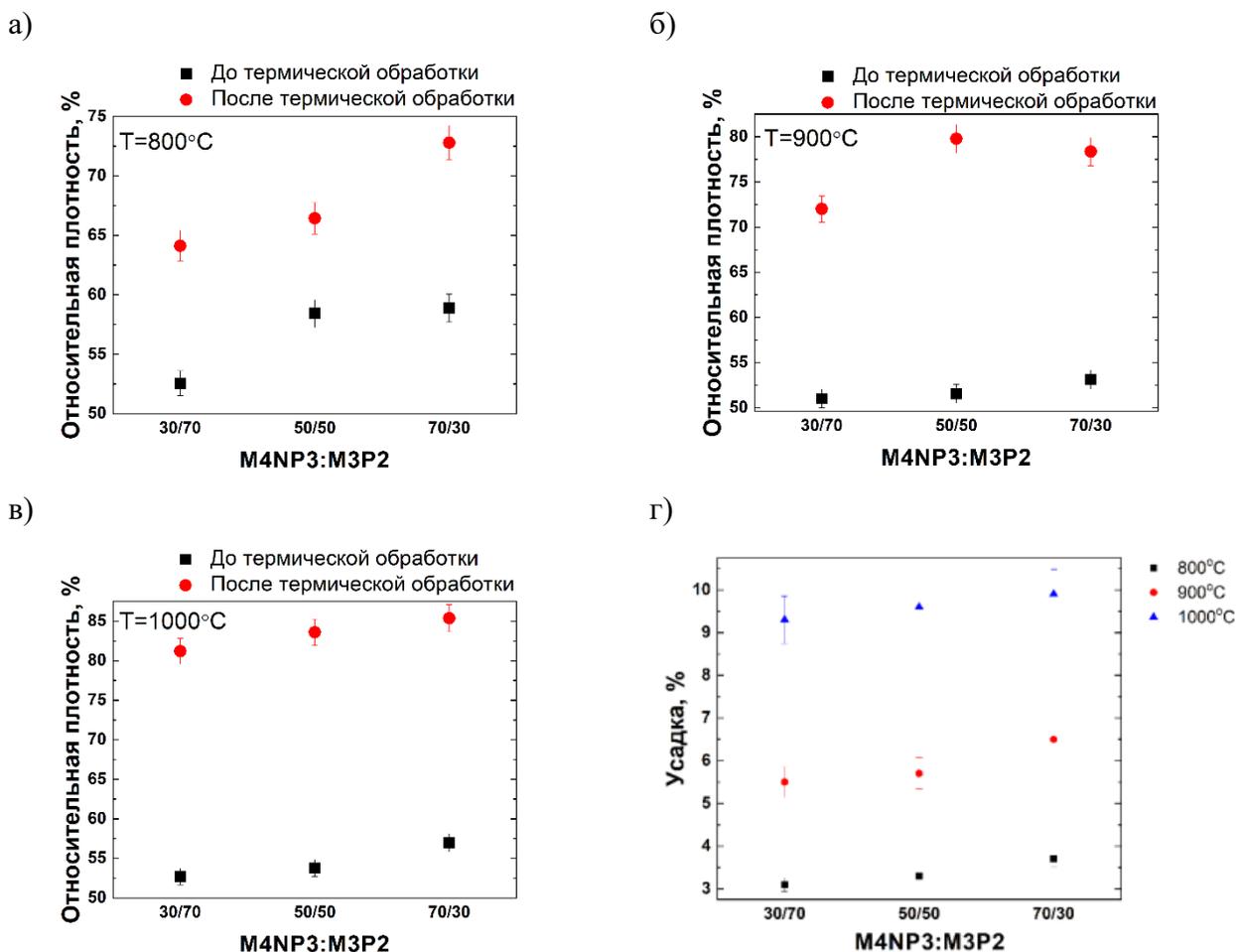


Рис. 3.32 Значения относительной плотности образцов керамики на основе смесей $Mg_4Na(PO_4)_3$ и $Mg_3(PO_4)_2$ до и после термообработки при температурах 800°C (а), 900°C (б) и 1000°C (в) и значения усадки (г) керамики на основе смесей $Mg_4Na(PO_4)_3$ и $Mg_3(PO_4)_2$, спечённых при 800, 900 и 1000°C.

РЭМ использовали для характеристики морфологии биокерамики в наномикронном масштабе, характеристики процесса спекания (рис. 3.33). Характеристики поверхности, такие как пористость поверхности, помогают регулировать пролиферацию клеток, прикрепление клеток и адсорбцию белка, поэтому их важно учитывать при создании биокерамики. Для исследования микроструктуры порошки на основе фосфатов магния и смесей M4NP3/M3P2 в соотношении 30/70, 50/50 и 70/30 были спрессованы в таблетки для дальнейшего спекания при различных температурах. Исследовали образцы керамики после спекания при температурах 800, 900 и 1000°C.

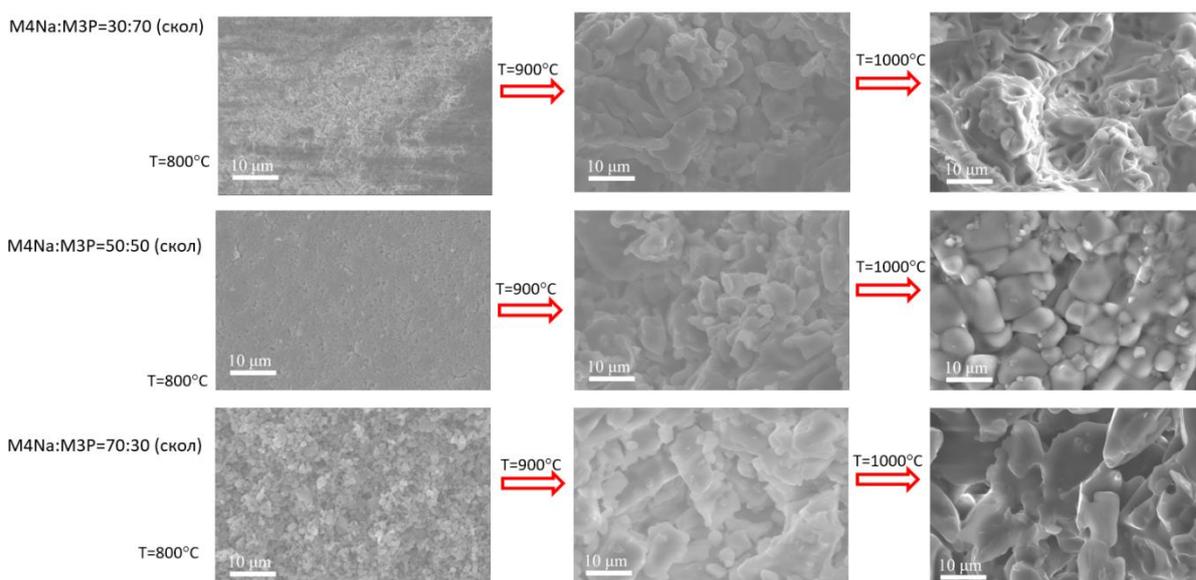


Рис. 3.33 Микрофотографии керамических образцов на основе смесей $Mg_4Na(PO_4)_3$ и $Mg_3(PO_4)_2$, спечённых при температурах 800, 900 и 1000°C.

Скол образца керамики, обожжённой при 800°C, характеризуется наличием слабосвязанных частиц, что можно связать с недостаточной температурой спекания, в результате чего не наблюдается достаточного сцепления между частицами. Керамика, спечённая при температуре 800°C, характеризуется низкими прочностными свойствами и легко ломалась при ручном воздействии. При анализе размера частиц можно выделить две моды: первая мода соответствует частицам исходного порошка (до 2 мкм), вторая мода – зёрна до 5 мкм. Присутствие частиц исходного порошка связано с неполнотой протекания процесса спекания, что объясняется малой температурой процесса. Таким образом, температуры спекания 800°C недостаточно для получения плотной керамики.

При увеличении температуры обжига до 900°C наблюдается рост зерна для всех составов, но образования плотной монолитной структуры не наблюдается, поскольку температуры 900°C для спекания плотной керамики ещё недостаточно, наблюдается также присутствие частиц исходного порошка. При увеличении температуры спекания до 1000°C повышается прочность, кроме того, материал становится прочнее при увеличении доли M_4NP_3 , что можно связать с более высокой плотностью фазы относительно второго компонента. При увеличении температуры обжига до 1000°C наблюдается рост зёрен в керамике, причём наибольший размер зёрен наблюдается в образце с соотношением $M_4NP_3:M_3P_2=70:30$. Во всех образцах были обнаружены плотно упакованные зёрна и различимые границы зёрен, что указывает на то, что все образцы, спечённые при подходящих температурах, хорошо уплотнены. Средний размер зёрен составляет от 3 до 6

мкм, что позволяет сделать вывод о получении керамики со средним размером зерна, так как условно принято считать, что зёрна керамики, имеющие размер более 10 мкм являются крупными, а размер около 1-2 мкм – мелкими. Причём в составе бифазной керамики не наблюдается образования микротрещин, как, например, в случае применения одной фазы M_4NP_3 . Добавление второй фазы также вызывает уменьшение размера зерна, что можно связать с различной кинетикой спекания фаз. Наиболее подходящим составом для спекания является керамика на основе смеси $M_4NP_3:M_3P_2$ с соотношением 50/50, которая характеризуется средним размером зерна, согласно данным микроскопии, и относительной плотностью более 80%. Преимуществом данной керамики является также и то, что наблюдается малое количество пор, и они образуются на границах зёрен, и такие поры могут быть удалены при дальнейшей оптимизации процесса спекания. Для образцов с соотношением $M_4NP_3:M_3P_2$ 30/70 наблюдаются оплавление зёрен керамики, образование между зёрнами застывшего расплава при температуре спекания 1000°C .

С помощью рентгеноспектрального микроанализа было показано равномерное распределение натрия в образцах керамики (красным цветом окрашены области, обогащенные натрием, зелёным – содержащие магний) (рис. 3.34).

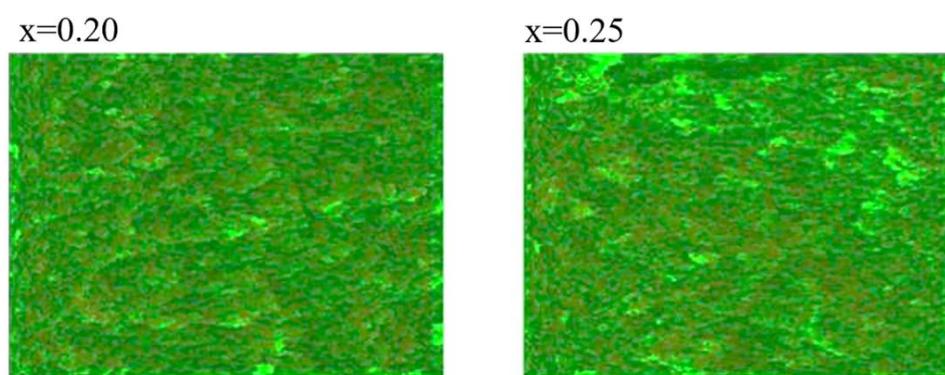


Рис. 3.34 Карты распределения элементов для образцов керамики с различным коэффициентом x и соотношением фаз $Mg_4Na(PO_4)_3$ и $Mg_3(PO_4)_2$.

3.4 Исследование кинетики растворения керамики в модельной среде

При подготовке данной главы использованы публикации автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М. В. Ломоносова, частично отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Preobrazhenskiy I.I., Deyneko D.V., Titkov V.V., Murashko A.M., Putlyaev V.I. Study of magnesium-sodium double phosphates ceramic for bone treatment // **Ceramics International** – 2023, 49 (17), 29064-29073. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.06.182>

Preobrazhenskiy I.I., Putlyayev V.I. Ceramics based on double magnesium–sodium phosphates for bone regeneration // **Mendeleev Communications**, 33(4), 531-533. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2023.06.029>

3.4.1 Резорбция керамических гранул

Разработка разлагаемых биоматериалов, способных индуцировать пролиферацию и дифференцировку остеобластов, является одной из основных целей тканевой инженерии. Исследования растворения биокерамических материалов в условиях, приближенных к условиям в организме, нужны для понимания всех процессов, необходимых для повышения биологической активности материалов. Обычно биоактивность материалов характеризуют при повторяющихся циклах растворения-осаждения с поверхности образца. Изучение такого процесса направлено на понимание поведения биоматериалов внутри организма, чтобы облегчить встраивание имплантата в натуральную костную ткань. Ионы Mg^{2+} , высвобождающиеся при растворении фосфатов магния, способствуют образованию аморфного фосфата кальция, который создает место для дальнейшего осаждения апатитов [206], тем самым стимулируя процесс образования натуральной костной ткани. В отличие от растворения магниевых сплавов *in vivo*, при котором образуется большое количество водорода и щелочная среда [207], растворение фосфатов магния приводит только к высвобождению биосовместимых ионов Mg^{2+} и PO_4^{2-} . Высокая степень растворения является важным требованием биоактивности, т.е. свойства биоматериалов к интенсификации остеоинтеграции. При малых скоростях биорезорбции (как, например, в случае с ГАП) материалы остаются замурованными внутри костной ткани и не высвобождают нужного количества ионов для стимулирования образования натуральной костной ткани. С точки зрения резорбции фосфатов магния значительная по своей абсолютной величине свободная энергия гидратации малого по размеру катиона магния должна обеспечивать хорошую растворимость соответствующих фосфатов в среде организма.

В работе была проведена оценка резорбируемости магниевых фосфатов на основании оценки термодинамики двух процессов: распада кристаллической решётки фазы на гидратированные ионы в воде, выраженной в рассчитанной свободной энергии Гиббса растворения по моделям для энергии и энтропии решётки по Глассеру и Дженкинсу и энтальпии и энтропии гидратации ионов по Маркусу, а также растворимости этих фосфатов в водном растворе лимонной кислоты. Расчёт свободной энергии Гиббса растворения проводили с допущением, что в водном растворе происходит полная диссоциация на составляющие магниевый фосфат ионы, в расчёте на 1 моль фосфат-

аниона (табл. 3.11). Было показано, что рассматриваемые в работе фосфаты магния характеризуются большей растворимостью, чем ГАП и ТКФ. Значительный вклад в растворимость фосфатов магния вносят большие значения энтальпии сольватации ввиду наличия магниевого иона, перекрывающего вклад его малого ионного радиуса.

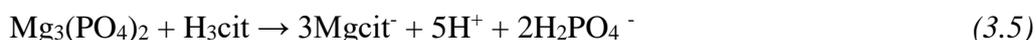
Исследование керамических гранул проводили при фиксированном значении pH, которое поддерживали автотитратором за счёт добавления лимонной кислоты в процессе эксперимента. Было выбрано значения pH = 5, поскольку это значение pH наблюдается при резорбции костной ткани в результате действия остеокластов [208], и также деструкция проходит в более быстром режиме, что позволяет сократить сроки эксперимента. Экспериментально установлено, что при поддержании pH = 4 растворение происходит слишком быстро, и не удаётся дифференцировать образцы различных составов. Выбор лимонной кислоты был обусловлен тем, что она выделяется при резорбции костной ткани при действии остеокластов, и растворимость биоматериалов в кислой среде позволяет смоделировать процесс растворения *in vitro* [209].

Табл. 3.11 Свободная энергия Гиббса растворения по моделям для энергии и энтропии решётки по Глассеру и Дженкинсу

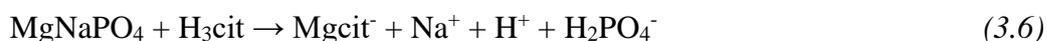
Соединение	Мольный объем V_m , нм ³	Энтальпия решётки ΔH°_{298} (реш), кДж/моль	Энтальпия гидратации ΔH°_{298} (гидр), кДж/моль	Энтальпия растворения ΔH°_{298} (раств), кДж/моль	Энтропия решётки ΔS°_{298} (реш), Дж/моль·К	Энтропия гидратации ΔS°_{298} (гидр), Дж/моль·К	Энтропия растворения ΔS°_{298} (раств), Дж/моль·К	Энергия Гиббса растворения ΔG°_{298} (раств), кДж/моль
ГАП	0.083	5792	-5722	69	458	-895	-437	198
β -ТКФ	0.084	5281	-5282	-1	384	-799	-415	124
$Mg_3(PO_4)_2$	0.079	5385	-5802	-417	372	-918	-545	-256
$MgNaPO_4$	0.077	4969	-5244	-275	-863	-410	-410	-153
$Mg_4Na(PO_4)_3$	0.079	5217	-5282	-43	371	-871	-500	-250

В работе для оценки процессов, которые будут происходить при распаде кристаллической решётки фосфатов магния на гидратируемые ионы, исследовали ионные равновесия в растворах. Расчёт ионных равновесий производили с учётом содержания катионов магния, натрия, фосфатных и цитратных анионов, поскольку кинетику деструкции исследовали в лимонной кислоте. На рис. 3.35 представлены рассчитанные ионные равновесия и преимущественные формы магния для исследуемых соединений фосфатов магния и магний-натриевых фосфатов при добавлении к ним лимонной кислоты при 25°C.

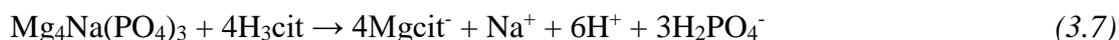
При анализе ионных равновесий можно сделать следующие выводы, что при увеличении концентрации лимонной кислоты преимущественная форма магния в растворе является $Mg(cit)$ в точке титрования, где $[Mg^{2+}]/[cit^{3-}]=1/1$ и $cit - C_3H_5O(COO)_3^{3-}$. Реакцию растворения ортофосфата магния в лимонной кислоте можно представить как (3.5):



В случае растворения фосфата магния-натрия в модельном растворе реакцию можно записать (3.6):



Для $Mg_4Na(PO_4)_3$ согласно диаграмме преимущественных форм существования фосфата магния-натрия при его полном растворении в лимонной кислоте будет происходить реакция (3.7):



При растворении выпадает менее растворимая фаза, то есть для фосфатов магния такой фазой является ньюберит и один из кристаллогидратов ортофосфата магния МЗР2. Растворение будет наблюдаться инконгруэнтное: состав раствора не совпадает с составом твёрдой фазы. Термодинамически же все фазы на основе фосфатов магния являются растворимыми, и в работе была впервые экспериментально изучена кинетика деструкции фосфатов магния в модельной среде. Результаты эксперимента резорбции керамических гранул в лимонной кислоте при $pH=5$ представлены на рис. 3.36-3.38. Для исследования сначала готовили керамические образцы в форме таблеток с температурой спекания 800°C, а затем их измельчали и просеивали через сито для получения порошка с однородным размером частиц. В процессе изготовления таблеток было замечено, что

пирофосфат магния трудно поддавался прессовке. При последующем увеличении давления происходила деформация и разрушение таблетки.

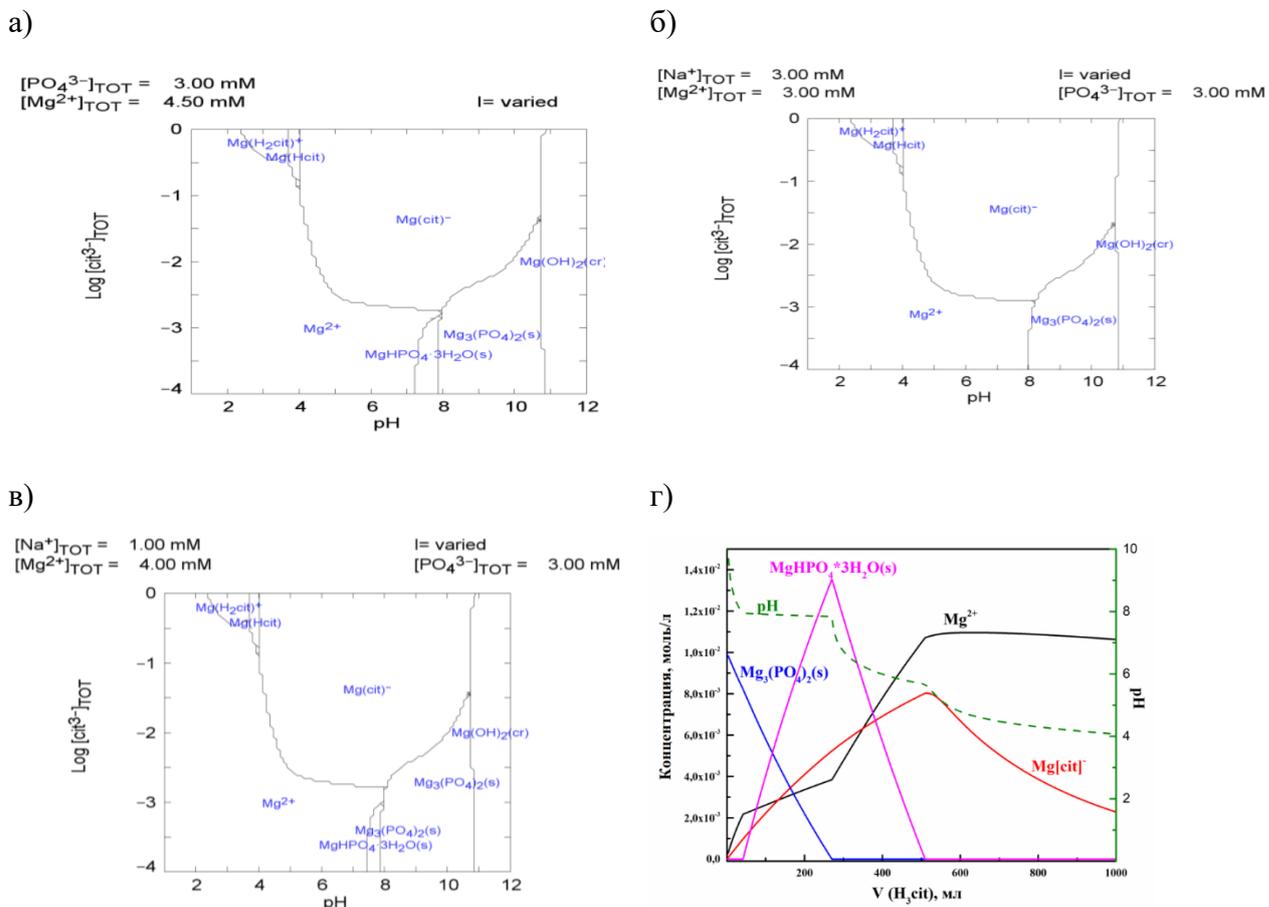
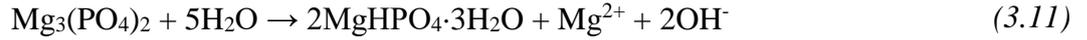


Рис. 3.35 Диаграммы преимущественных ионных и кристаллических форм магния в координатах логарифма общей концентрации цитрат-иона от pH для: а) $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$, б) MgNaPO_4 , в) $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$. г) Зависимость концентрации различных ионных форм магния при титровании $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ раствором лимонной кислоты.

При анализе кривых титрования для образца МНР можно выделить два скачка pH и горизонтальный участок при $\text{pH} \approx 7$ при добавлении керамических гранул к раствору, который соответствует гетерогенной 3-фазной системе: две твёрдые фазы – гидроцитрат магния и ортофосфат магния, а также фаза раствора (для 3-х компонентной системы это соответствует невариантному равновесию, отсюда понятно постоянство pH в этой области). При титровании МЗР2 лимонной кислотой можно видеть увеличение значений pH, что согласно диаграмме ионных форм связано с растворением ортофосфата магния, в результате чего происходит увеличение ионов магния, что приводит к образованию ньюберита ($\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) по реакции 3.11:



При титровании МЗР2 лимонной кислотой, согласно расчётам (рис. 3.35 г), происходит инконгруэнтное растворение с перекристаллизацией в ньюберит, который затем, растворяясь, переходит преимущественно либо в виде свободного иона магния, либо цитратного комплекса. В случае использования смесей М4НР3:МЗР2 наблюдаются схожие кривые титрования без заметных скачков рН.

Наибольшей скоростью резорбции характеризуются керамические гранулы на основе пирофосфата магния, М2Р2. Объём кислоты необходимый для растворения М2Р2, МЗР2, МНР, М4НР3 равен 0.53, 9.9, 8.3, 8.5 мл, соответственно. Причём для растворения МНР по сравнению с М4НР3 было необходимо больше времени. Наблюдается тенденция уменьшения степени резорбции при увеличении количества магния в порошках. При введении натрия в состав происходит увеличение степени резорбции, поскольку введение натрия ведёт к уменьшению энергии кристаллической решётки из-за разного ионного радиуса, тем самым уменьшая значение энергии, необходимой для разрушения кристаллической решётки (т.е. $\Delta S^{\circ}_{298(\text{реш})}$ и $\Delta H^{\circ}_{298(\text{реш})}$) [198].

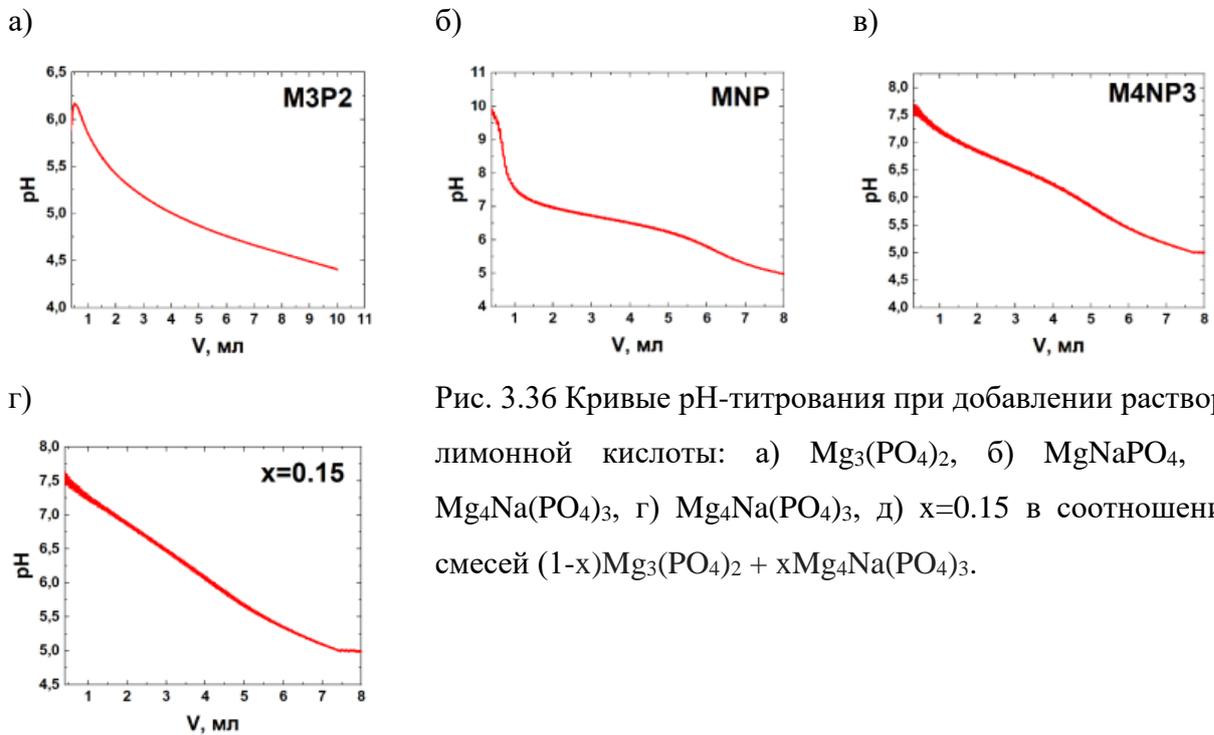


Рис. 3.36 Кривые рН-титрования при добавлении раствора лимонной кислоты: а) $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$, б) MgNaPO_4 , в) $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$, г) $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$, д) $x=0.15$ в соотношении смесей $(1-x)\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$.

Пирофосфат магния характеризуется наибольшей растворимостью, и при его добавлении к раствору наблюдается понижение значений рН до 4.3. С увеличением в

составе магния происходит увеличение рН: для ортофосфата магния значения рН равны 6. Наиболее близкие значения к физиологическому (7.4) рН продемонстрировали образцы на основе $M4NP3$, для которых значение рН равняется 7.5, что является несомненным преимуществом при их использовании в качестве биоматериалов. Так, если сравнить значения рН для фосфатов кальция, то для равновесия брушит-ГАП-раствор значения рН будут близкими к 4, вызывая цитотоксичное воздействие за счёт низких значений рН. Изменение рН трёхфазного равновесия (фосфат магния – ньюберит – раствор) в слабощелочную область можно связать с большей растворимостью керамики на основе фосфатов магния.

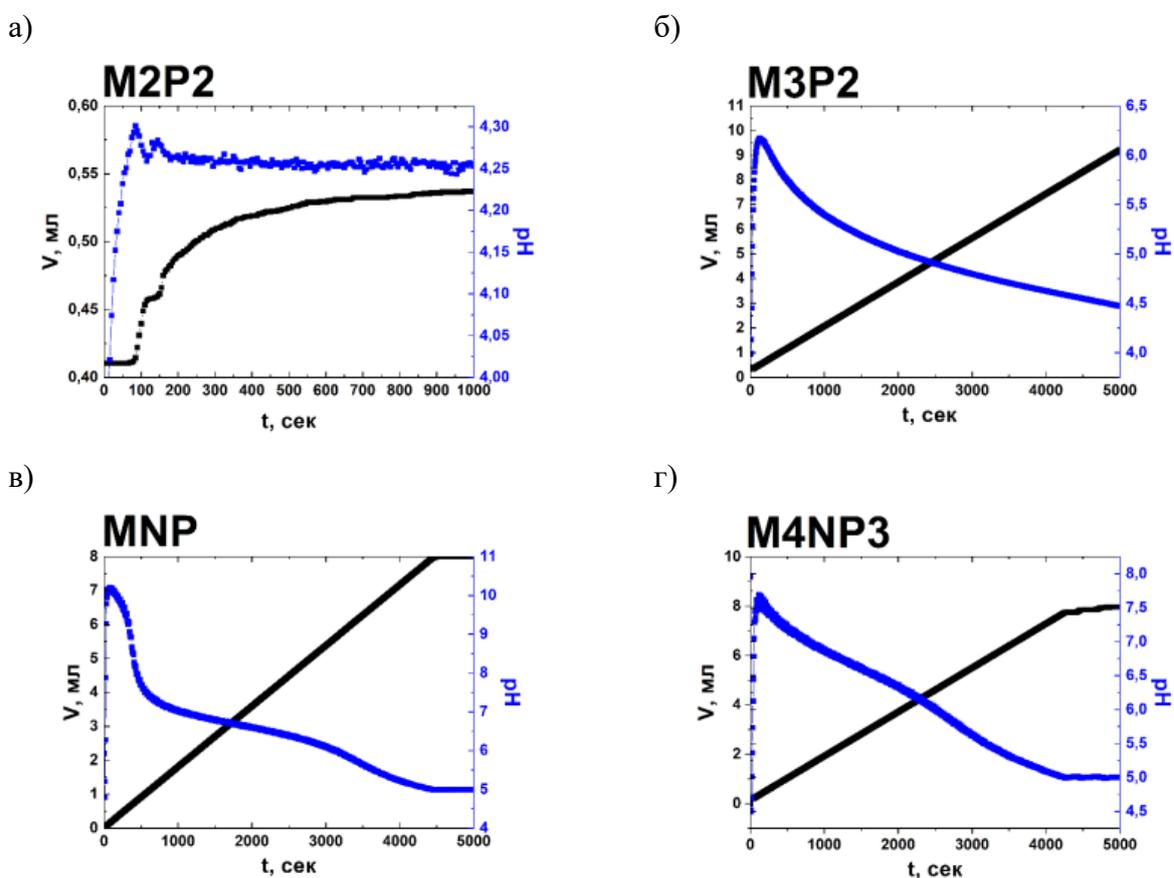
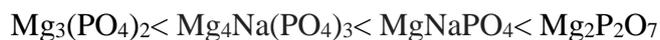


Рис. 3.37 Кинетика растворения керамических гранул на титраторе при добавлении раствора лимонной кислоты: а) $Mg_2P_2O_7$, б) $Mg_3(PO_4)_2$, в) $MgNaPO_4$, г) $Mg_4Na(PO_4)_3$.

Наблюдаемые слабощелочные значения рН по сравнению с фосфатами кальция можно связать с тем, что гидроксид магния является более сильным основанием, чем гидроксид кальция, вызывая тем самым более сильное связывание гидроксид-ионов. Таким образом, обобщая полученные экспериментальные результаты по исследованию

растворения фосфатов магния и магний-натриевых фосфатов в модельной среде можно вывести следующий ряд растворимости:



Наибольший интерес представляет бифазная керамика в системе $\text{M}_4\text{NP}_3:\text{M}_3\text{P}_2$, где за счёт изменения соотношения компонентов возможно варьирование растворимости и изменение свойств имплантата. Поскольку фосфаты магния-натрия являются сильно растворимыми, то при создании костного биоматериала оптимальным был бы состав, содержащий также и менее растворимую фазу, такую как, например, ортофосфат магния. При таком выборе состава менее растворимая фаза давала бы сплошной каркас, позволяющий выдерживать механические напряжения до образования новой натуральной костной ткани при резорбции имплантата. Кинетика растворения керамических гранул на основе смесей тетрамагнийнатриевого фосфата и ортофосфата магния в соотношении $\text{M}_4\text{NP}_3:\text{M}_3\text{P}_2$ 30/70, 40/60, 50/50 представлена на рис. 3.38.

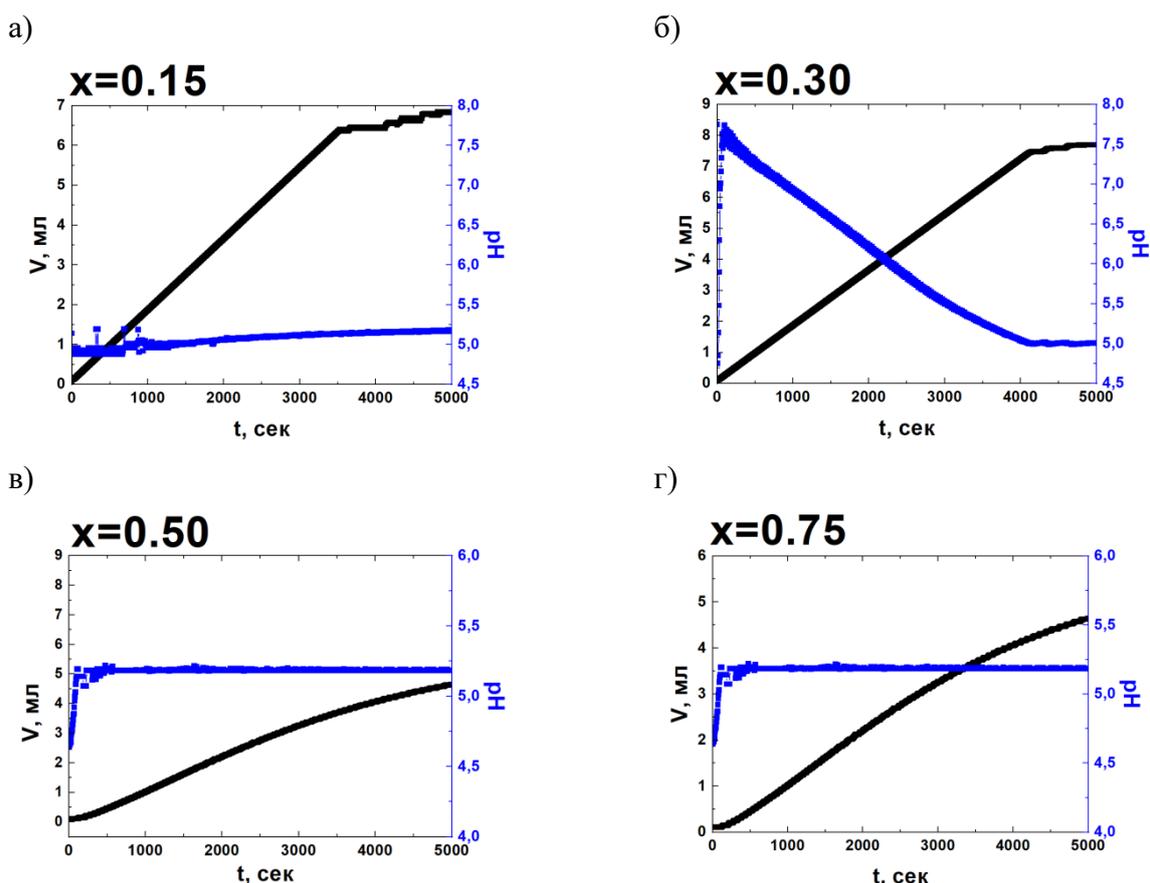


Рис. 3.38 Кинетика растворения керамических гранул с разным коэффициентом x в соотношении смесей $(1-x)\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 + x\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ и соотношением $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$ и $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ на титраторе при добавлении раствора лимонной кислоты: а) $x=0.15$, б) $x=0.30$, в) $x=0.50$, г) $x=0.75$.

При увеличении содержания в смеси тетрамагнийнатриевого фосфата происходит увеличение степени резорбции, поскольку требуется меньший объём лимонной кислоты при титровании керамических гранул, что объясняется увеличением доли более резорбируемого компонента в составе смеси керамики. Так, при изменении соотношения $M4NP3:M3P2$ с 50/50 до 70/30 объём кислоты для растворения мало изменился, а при уменьшении доли $M4NP3$ до соотношения 30/70 объём кислоты увеличился с 4.5 мл до 8 мл. Такую закономерность повышения растворимости при увеличении коэффициента x можно также связать с меньшим размером частиц порошка на основе $M4NP3$, который может вносить вклад в итоговую растворимость.

Полученная керамика на основе фосфатов магния и магний-натриевых фосфатов растворяется практически с постоянной скоростью. Это является несомненным преимуществом для биоматериалов для лечения дефектов костной ткани, поскольку позволит прогнозировать скорость растворения имплантата. Кроме того, при постоянной скорости растворения ухудшение прочностных свойств керамики будет происходить более плавно, так как в резорбируемый имплантат будет вращаться натуральная костная ткань.

3.4.2 Резорбция спечённой керамики

Результаты по исследованию кинетики резорбции керамики на основе магний-натриевых фосфатов, термообработанной при 800°C , в растворе лимонной кислоты представлены на рис. 3.39.

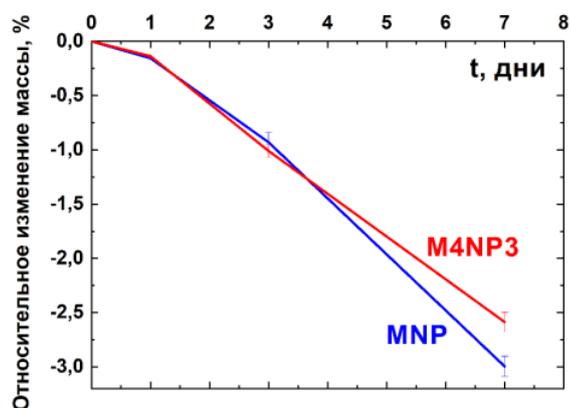


Рис. 3.39 Кинетика растворения в лимонной кислоте образцов керамики на основе $MgNaPO_4$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$, спечённых при температуре 800°C .

Керамика на основе фосфатов магния-натрия подвергается резорбции и характеризуется потерей массы при выдерживании в растворе лимонной кислоты в течение 7 дней. Относительное изменение массы керамики на основе МНР составило -3.0% через 7 дней, в то время как для керамики на основе М4NP3 оно составило -2.6%. Было проведено исследование процесса резорбции при измерении массы образцов керамики на основе смесей М4NP3 и МЗР2 с коэффициентом $x=0.50$ и 0.75 после обжига при температуре 800°C (рис. 3.40).

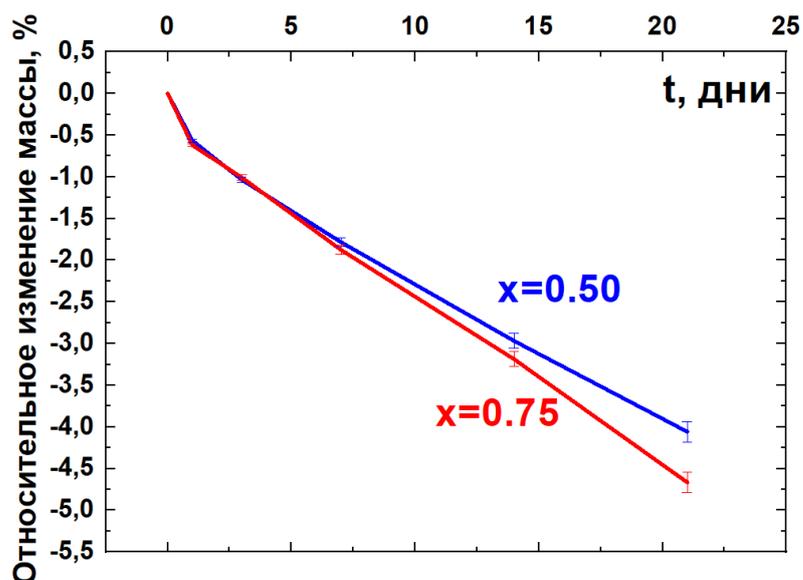


Рис. 3.40 Кинетика растворения в лимонной кислоте образцов керамики с коэффициентом $x=0.50$ и $x=0.75$, спечённых при температуре 800°C .

Процесс резорбции имеет схожие закономерности с процессом растворения для керамических гранул: при увеличении более резорбируемого компонента М4NP3 в смеси наблюдается более высокая скорость потери массы: для керамики с соотношением М4NP3:МЗР2=50:50 относительное изменение массы на 21 день составляет -3.6%, а для керамики с соотношением М4NP3:МЗР2=70:30 – -4.1%, т.е. потеря массы уменьшается почти на 11%. В процессе резорбции не происходило появления новых фаз (приложение 4). Изменение микроструктуры керамики в процессе резорбции представлено на рис. 3.41.

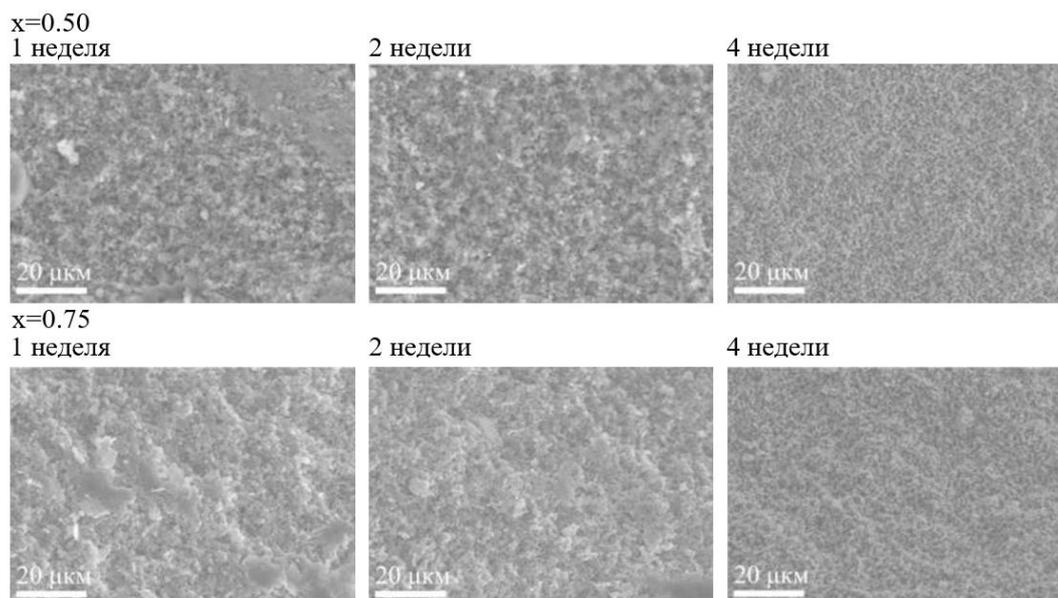
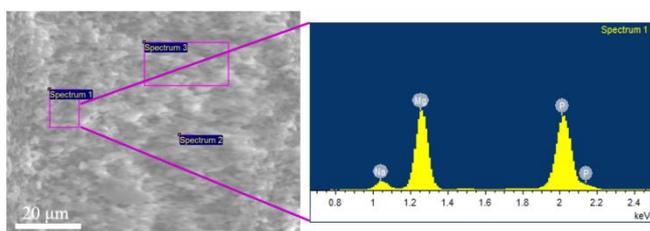


Рис. 3.41 Изменение микроstructures керамики с коэффициентом $x=0.50$ и 0.75 в процессе резорбции в лимонной кислоте в течение 1, 2 и 4 недель.

Для образцов керамики с коэффициентом $x=0.75$ в процессе резорбции наблюдается образование агрегатов пластинчатой формы, в то время как для керамики с коэффициентом $x=0.50$ наблюдается увеличение дисперсности при увеличении времени выдерживания в лимонной кислоте до 4 недель. Результаты рентгеноспектрального микроанализа приведены на рис. 3.42 и 3.43.

$x=0.50$

2 недели



4 недели

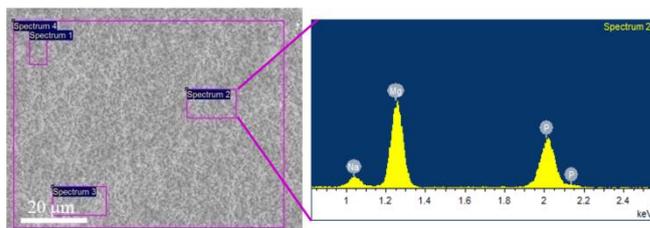


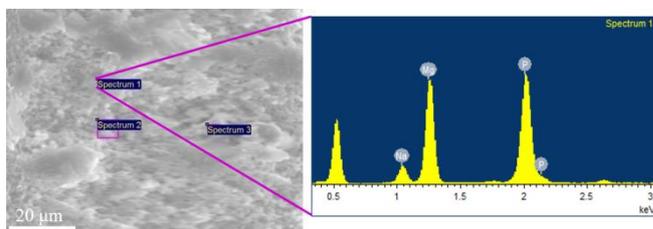
Рис. 3.42 РЭМ снимок области съёмки и типичный спектр, измеренный при рентгеноспектральном микроанализе керамики с коэффициентом $x=0.50$ после резорбции в лимонной кислоте в течение 2 и 4 недель.

Измеренные средние соотношения магния и натрия к фосфору по данным рентгеноспектрального микроанализа для керамики с коэффициентом $x=0.50$ составляют

0.95 при резорбции в течение 2 недель и 1.02 при резорбции в течение 4 недель, в то время как для керамики с $x=0.75$ они составляют 0.98 и 1.10, что является близким к стехиометрическим значениям.

$x=0.75$

2 недели



4 недели

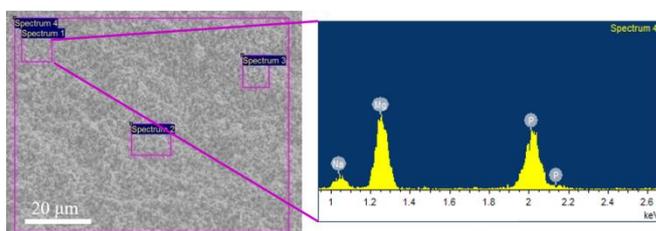


Рис. 3.43 РЭМ снимок области съёмки и типичный спектр, измеренный при рентгеноспектральном микроанализе керамики с коэффициентом $x=0.75$ после резорбции в лимонной кислоте в течение 2 и 4 недель.

По результатам исследования распределения магния, натрия и фосфора в образцах керамики (рис. 3.44, приложение 5) наблюдается равномерное распределение всех элементов, причём наибольшее содержание составляет магний и фосфор и меньшее – натрий, увеличение времени выдерживания в среде резорбции не ведёт к видимым изменениям.

В результате проведённых экспериментов была впервые исследована кинетика процессов резорбции керамических гранул на основе фосфатов магния в модельной среде (растворе лимонной кислоты) и было показано, что все исследуемые составы являются полностью растворимыми в заданных условиях ($pH=5$, $T=25^{\circ}C$), демонстрируя потенциал применения в регенеративной медицине для изготовления биорезорбируемых имплантатов. Значения соотношений Mg/P в процессе резорбции были в пределах от 3:2 до 2:3, что соответствует концентрации магния в плазме крови. Было показано, что образцы биокерамики не претерпевают фазовых изменений в процессе резорбции в модельной среде раствора лимонной кислоты в течение 4 недель. При увеличении более резорбируемого компонента происходит увеличение степени резорбции, тем самым позволяя достичь нужной скорости растворения имплантата в среде организма.

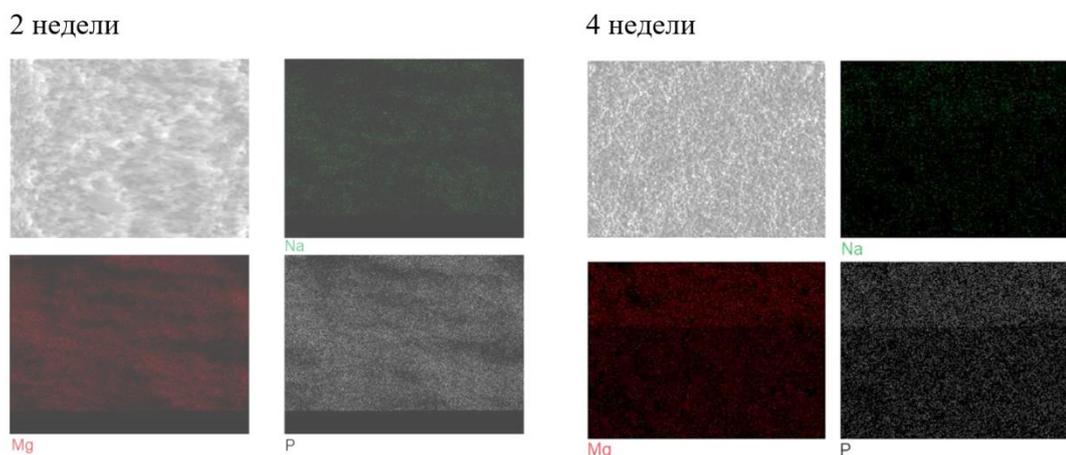


Рис. 3.44 Картирование области образца керамики с коэффициентом $x=0.50$ после резорбции в лимонной кислоте в течение 2 и 4 недель.

3.5 Механические испытания керамических материалов

При подготовке данной главы использованы публикации автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М. В. Ломоносова, частично отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Preobrazhenskiy I.I., Deyneko D.V., Titkov V.V., Murashko A.M., Putlyaev V.I. Study of magnesium-sodium double phosphates ceramic for bone treatment // **Ceramics International** – 2023, 49 (17), 29064-29073. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.06.182>

Preobrazhenskiy I.I., Putlyaev V.I. Ceramics based on double magnesium–sodium phosphates for bone regeneration // **Mendeleev Communications**, 33(4), 531-533. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2023.06.029>

Одной из важных характеристик биокерамических материалов являются прочностные свойства, которые могут быть использованы для характеристики процесса спекания. Магний в отличие от кальция характеризуется большей способностью проявлять комплексобразующие свойства, образовывать кристаллогидраты солей и прочную кристаллическую структуру с фосфат-ионами. По сравнению с фосфатами кальция, замена кальция на меньший по размеру катион магния в фосфатах приводит к более плотной и, следовательно, прочной кристаллической решётке. Это должно приводить к росту теоретической прочности фосфатной керамики. Результаты механических испытаний образцов керамики, спечённой при температуре 900°C в течение 10 часов, представлены на рис. 3.45. Как видно из полученных результатов измерения прочности на сжатие, наибольшей прочностью характеризуются образцы на основе M4NP3. Меньшими значениями прочности на сжатие характеризуются образцы на основе M3P2, наименьшие значения прочности были для образцов на основе MNP. Полученные данные можно объяснить тем, что режим спекания был наиболее подходящим для M4NP3,

при котором образуется плотная структура. В случае MNP при спекании при 900°C происходит образование трещин, которые оказывают влияние на прочность получаемой керамики, а для M3P2 температуры спекания 900°C недостаточно для получения плотного керамического материала.

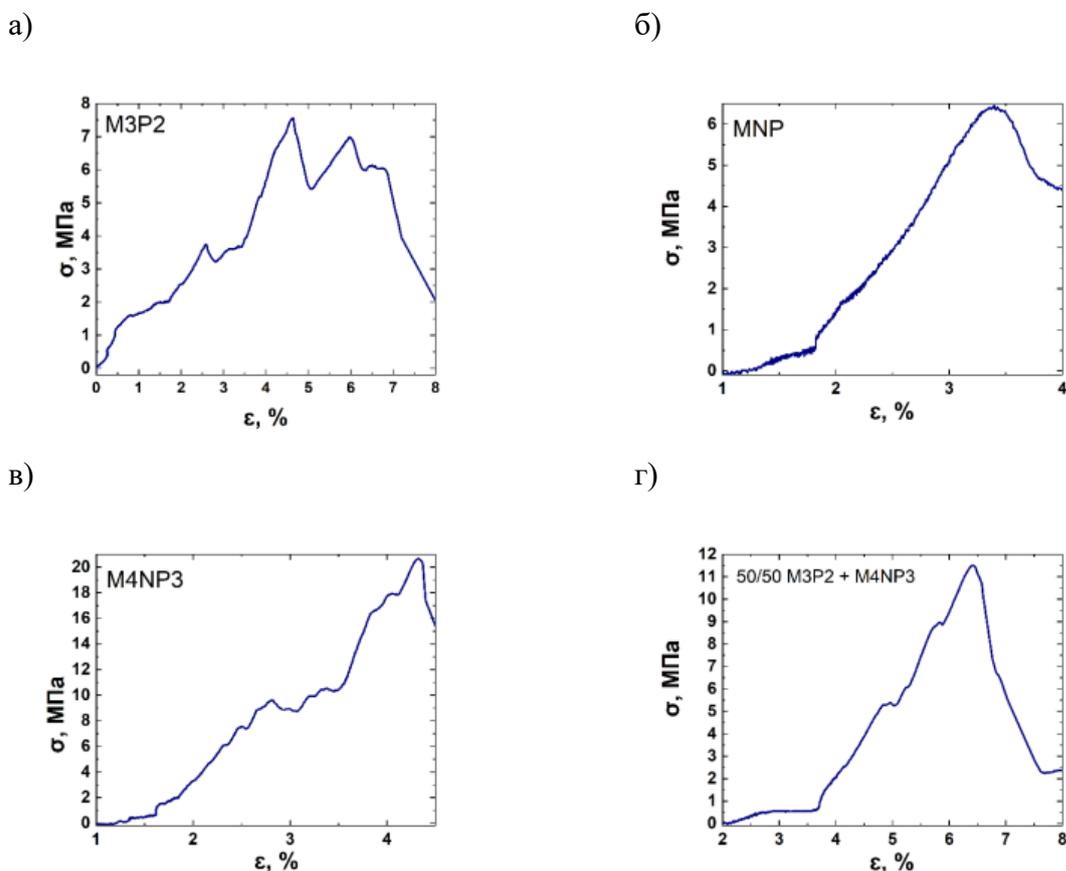


Рис. 3.45 Зависимости напряжения (σ) от относительной деформации (ϵ) после термообработки при 900°C для керамических образцов на основе: а) $Mg_3(PO_4)_2$, б) $MgNaPO_4$, в) $Mg_4Na(PO_4)_3$, г) 50:50 $Mg_3(PO_4)_2:Mg_4Na(PO_4)_3$.

Полученная тенденция согласуется с изменениями значений плотности, измеренными для тех же образцов. Наибольшие значения относительной плотности наблюдаются для керамики на основе M4NP3 в случае термообработки при 900°C, что может быть рассмотрено как показатель малого количества пор. Возможной причиной более высокой прочности на сжатие керамики на основе M4NP3 может быть образование более плотных контактов между частицами. Следует отметить высокие значения прочности для M4NP3, которые превышают значения прочности для керамики на основе ГАП (до 7.1 МПа) [210]. Полученные результаты соответствуют пределу прочности

трабекулярной кости нижней челюсти человека на сжатие 0.2–10.4 МПа, полученному у людей в возрасте от 56 до 90 лет [211].

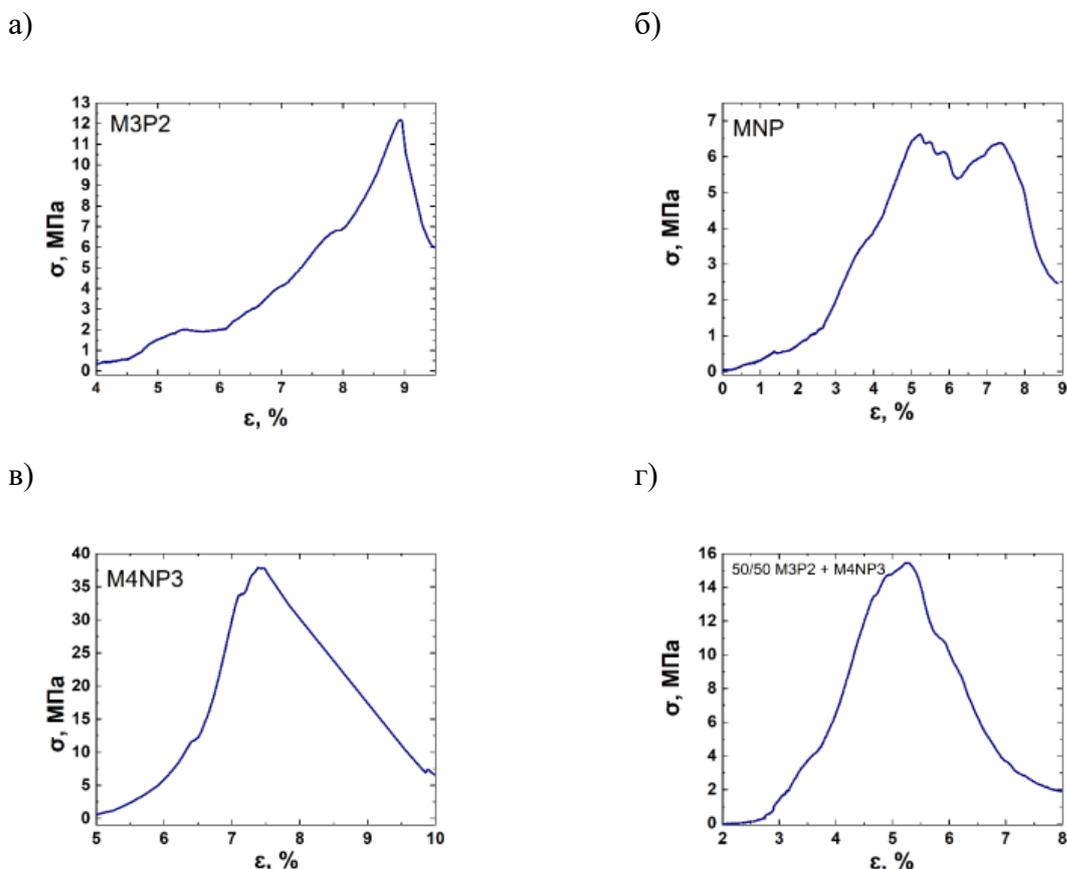


Рис. 3.46 Зависимости напряжения (σ) от относительной деформации (ϵ) после термообработки при 1000°C для керамических образцов на основе: а) $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$, б) MgNaPO_4 , в) $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$, г) 50:50 $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$: $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$.

Полученные диаграммы деформация-напряжение при испытании на сжатие характеризуются наличием двух участков с восходящим и нисходящим трендом. Участок, где наблюдается восходящая часть графика, соответствует моменту нарастания усилия, когда образец сохраняет достаточную целостность и оказывает сопротивление. На втором участке, где расположена нисходящая часть графика, образец разрушается на несколько частей и становится неспособным нести дальнейшую нагрузку. Пилообразность полученных графиков связана с происходящими во время эксперимента локальными разрушениями, после каждого из которых напряжения в образце перераспределяются за счёт упругой податливости материала и упругости контактной поверхности испытательной машины. После каждого такого локального разрушения образец не утрачивает целостности и способен воспринимать более высокую нагрузку. На рис. 3.46

представлены результаты механических испытаний для образцов, термообработанных при температуре 1000°C.

Наибольшими значениями прочности на сжатие, как и в испытаниях при 900°C, характеризуются образцы керамики на основе $Mg_4Na(PO_4)_3$. Следует отметить, что наблюдается для всех образцов повышение значений прочности на сжатие при повышении температуры термообработки до 1000°C. Использование бифазной керамики на основе $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$ также позволяет добиться хороших прочностных свойств. Наименьшие значения прочности на сжатие характерны для керамики на основе MNP , что можно объяснить образованием трещин при термообработке при температурах 900 и 1000°C, которые существенно влияют на механические характеристики.

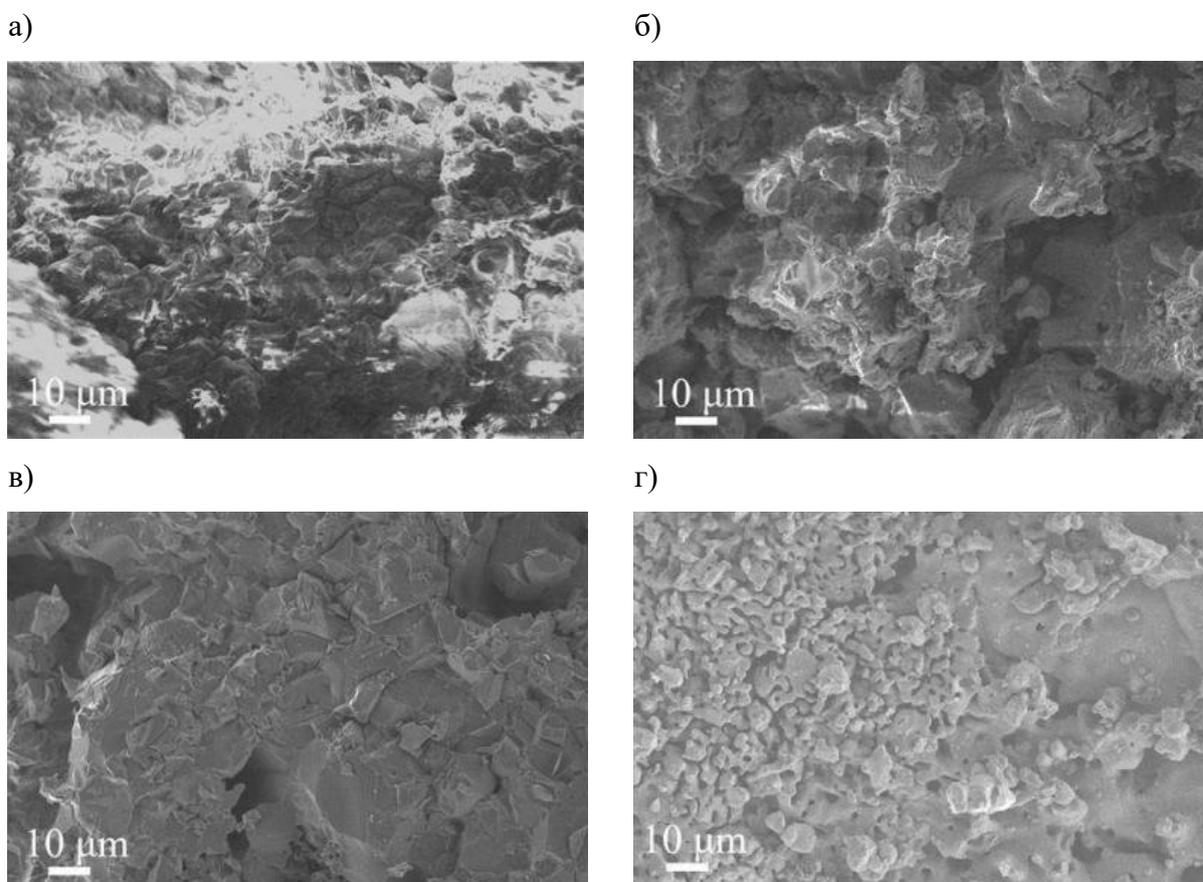


Рис. 3.47 РЭМ образцов керамики, обожжённых при 900°C, после механических испытаний на основе: а) $Mg_3(PO_4)_2$, б) $MgNaPO_4$, в) $Mg_4Na(PO_4)_3$, г) 50:50 $Mg_3(PO_4)_2:Mg_4Na(PO_4)_3$.

Как видно по результатам РЭМ сколов образцов керамики после механических испытаний (рис. 3.47, приложение 6), наиболее плотная структура образуется для $M4NP3$, для которого наблюдаются наибольшие значения прочности на сжатие. Размер зёрен

уменьшается в ряду М4NP3, MNP, МЗP2. Образцы М4NP3 имеют более крупные зерна (6-9 мкм) относительно MNP (6-7 мкм) и МЗP2 (4-5 мкм). Согласно микроструктуре, пористость керамики на основе М4NP3 меньше, по сравнению с пористостью составов MNP и МЗP2. Разрушение образцов керамики происходило под углом 45°, что соответствует теории хрупкого разрушения (рис. 3.48) [212]. В табл. 3.12 представлены сводные данные о прочностных характеристиках керамики на основе фосфатов магния и магний-натриевых фосфатов.



Рис. 3.48 Фото образцов керамики после механических испытаний.

Табл. 3.12 Сводная таблица прочностных свойств керамики на основе фосфатов магния

Название образца	Температура спекания, °С	σ , МПа
Mg ₃ (PO ₄) ₂	900	7.5 ± 1.1
	1000	12.2 ± 1.6
MgNaPO ₄	900	6.4 ± 0.8
	1000	6.4 ± 1.0
Mg ₄ Na(PO ₄) ₃	900	20.7 ± 1.7
	1000	37.8 ± 2.2
50:50 Mg ₃ (PO ₄) ₂ :Mg ₄ Na(PO ₄) ₃	900	11.5 ± 1.4
	1000	15.5 ± 1.7

3.6 Биологические испытания *in vitro*

При подготовке данной главы использованы публикации автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М. В. Ломоносова, частично отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Preobrazhenskiy I.I., Deyneko D.V., Titkov V.V., Murashko A.M., Putlyaev V.I. Study of magnesium-sodium double phosphates ceramic for bone treatment // **Ceramics International** – 2023, 49 (17), 29064-29073. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2023.06.182>

На рис. 3.49 показаны результаты МТТ-теста метаболической активности клеток NCTC после 24 часов инкубации. В качестве контроля, принятого за 100%, использовали предметное стекло. Риски ошибок на графиках в столбцах указывают на среднее стандартное отклонение. Исследование цитотоксичности показало, что образцы керамики на основе MNP и M4NP3 существенно не влияли на жизнеспособность фибробластных клеток мыши NCTC. Показатели выживаемости клеток составили 82% и 89%, соответственно, по сравнению с контролем. Полученные данные о токсичности коррелируют с данными о цементах на основе фосфатов магния и кальция, которые также не были цитотоксичными [213]. При использовании керамики на основе M3P2 не было выявлено негативного влияния на клетки, показатель выживаемости клеток был равен 95%. Таким образом, было установлено, что протестированные материалы не являются цитотоксичными.

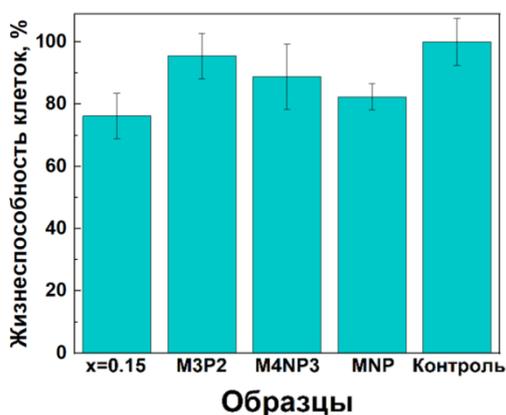


Рис. 3.49 МТТ тест метаболической активности клеток NCTC при 24-часовой инкубации на образцах керамики и на контроле.

Жизнеспособность клеток DPSC оценивали путём дифференцированного флуоресцентного окрашивания живых и мёртвых клеток с использованием флуоресцентных красителей. Изображения клеток представлены на рис. 3.50. Клетки были равномерно распределены. Количество мёртвых клеток было незначительным.

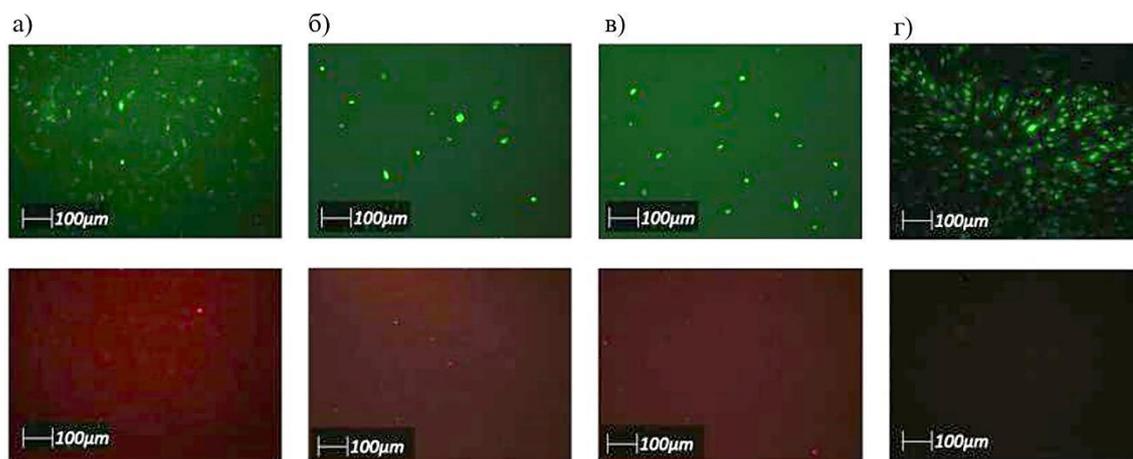


Рис. 3.50 Клетки DPSC после культивации в течение 48 ч на поверхности образцов: а) $Mg_3(PO_4)_2$, б) $MgNaPO_4$, в) $Mg_4Na(PO_4)_3$, г) контроль.

Была исследована жизнеспособность клеток на образцах керамики на основе смесей ортофосфата магния и тетрамагнийнатриевого фосфата (рис. 3.51). Показано, что, как и в случае проведения анализа для керамики из отдельных компонентов, наблюдается малое количество мёртвых клеток, что позволяет сделать вывод об отсутствии цитотоксичности биоматериалов.

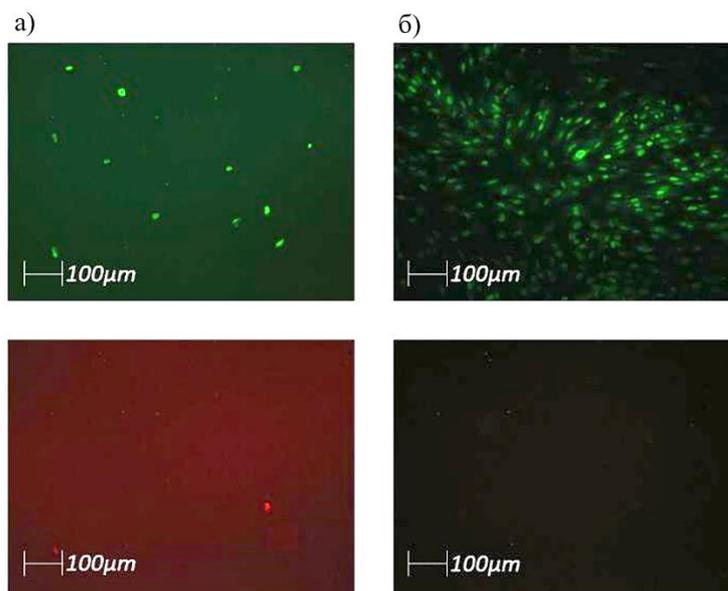


Рис. 3.51 Клетки DPSC после культивации в течение 48 ч на поверхности образцов: а) керамика на основе смеси $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$ в соотношении 70/30, б) контроль.

Таким образом, в ходе исследования физико-химических и биологических свойств была показана перспективность использования фосфатов магния для создания биорезорбируемой керамики. Полученные образцы характеризуются хорошими

прочностными свойствами, пригодными для лечения дефектов костной ткани, почти постоянной скоростью растворения в модельной среде и отсутствием цитотоксичного воздействия на клетки остеобластов.

3.7 Гидрогели с различным соотношением мономеров ПЭГМА и ПЭГДА

При подготовке данной главы использованы публикации автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М. В. Ломоносова, частично отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Preobrazhenskiy I.I., Putlyaev V.I. The ability to control swelling and degradation processes of hydrogels based on a mixture of PEGMA/PEGDA monomers // **Mendeleev Communications** – 2023, 33, 83-85. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2023.01.026>

Preobrazhenskiy I.I., Tikhonov A.A., Evdokimov P.V., Shibaev A.V., Putlyaev V.I. DLP printing of hydrogel/calcium phosphate composites for the treatment of bone defects // **Open Ceramics** – 2021, 100115. <https://doi.org/10.1016/j.oceram.2021.100115>

Преображенский И.И., Тихонов А.А., Климашина Е.С., Евдокимов П.В., Путляев В.И. Набухание акрилатных гидрогелей, наполненных брусшитом и октакальциевым фосфатом // **Известия АН. Серия химическая**, 2020, 8, 1601-1603. <https://elibrary.ru/item.asp?id=43862779>

Кроме того, результаты, приведённые в данной главе, являются частью отчета по гранту РФФИ №17-79-20427.

3.7.1 Обоснование выбора компонентов

Идея создания композиционных биоматериалов объясняется природой костной ткани и попыткой получить материал, близкий по составу к натуральной костной ткани, которая является композиционным материалом и содержит как органическую компоненту (коллаген), обеспечивающую упругость костной ткани, так и неорганическую составляющую, придающую необходимые прочностные характеристики. В качестве полимерной фазы для создания композиционных материалов возможно применение гидрогелей, которые обладают рядом преимуществ: это эластичные свойства, которые облегчают лечение труднодоступных костных дефектов; способность к набуханию, что позволит решить проблему плотного заполнения дефекта при имплантировании и возможность изменения свойств и применения аддитивных технологий для получения конструкций со сложной архитектурой. Материалы на основе гидрогелей можно сжимать при имплантации за счёт эластичных свойств, что позволит ввести имплантат в труднодоступное место, и при их последующем набухании будет происходить плотное заполнение дефекта. В медицине среди синтетических полимеров активно применяют ПЭГ, который характеризуется гидрофильностью, хорошей биосовместимостью,

неиммуногенностью и устойчивостью к адсорбции белков. Гидрогели на основе акрилатных производных ПЭГ (такие как ПЭГ-метакрилат или ПЭГМА и ПЭГ-диакрилат или ПЭГДА) могут быть получены при реакции радикальной фотополимеризации, что делает возможным применение стереолитографического метода 3D-печати для получения материала со сложной архитектурой для управления пористостью и размером пор и обеспечения osteoconductive свойств (связные макропоры), т.е. способности материала стимулировать прорастание нативной костной ткани внутрь имплантата. Контролирование жёсткости путём управления количеством и размером пор позволит задавать направление дифференцировки клеток. ПЭГДА и ПЭГМА являются нетоксичными водорастворимыми соединениями. Кроме того, производные ПЭГ являются коммерчески доступными, в результате чего возможно варьирование молекулярной массы. Путём изменения молекулярной массы и концентрации ПЭГ возможно регулирование механических свойств гидрогелей. Для увеличения вязкой компоненты в работе исследовали образцы, содержащие воду в исходном составе в соотношении 50/50 относительно мономера.

3.7.2 Выбор фотоинициатора

Фотоинициатор (ФИ) является важным компонентом фотосуспензии, и при его выборе надо учитывать следующие характеристики: 1) спектр источника излучения для полимеризации и положение полосы поглощения ФИ, 2) цитотоксичность ФИ, 3) растворимость ФИ в воде и в мономере.

Табл. 3.13 Растворимость фотоинициатора Irgacure®819

Растворимость в ПЭГМА	Растворимость в ПЭГДА	Растворимость в воде
81 г/л	87 г/л	1 г/л

В процессе работы был произведён подбор фотоинициатора на основе литературных данных. Цитотоксическое влияние ФИ зависит от его типа и концентрации, времени реакции и интенсивности света. Интерес вызывает фотоинициатор Irgacure®819 на основе фенилбис(2,4,6-триметилбензоил)фосфин оксида, который является одним из наиболее эффективных коммерчески доступных ФИ, имеющий спектр поглощения 365 нм. Однако, следует отметить, что спектр излучения стереолитографического 3D-принтера лежит правее, при 405 нм, но это несильно влияет на процесс фотополимеризации. Фотоинициатор Irgacure®819 в малых количествах (до 1 масс%) не вызывает острого цитотоксического воздействия [214].

Одним из требований, предъявляемых к ФИ, является частичная растворимость в воде и в мономерах для получения однородной суспензии. В табл. 3.13 приведены экспериментальные данные оценки растворимости ФИ Irgacure®819 в воде и в мономерах ПЭГМА и ПЭГДА.

Таким образом, была показана растворимость фотоинициатора Irgacure®819 в воде и мономерах. В основном для получения гидрогелей вследствие возможной цитотоксичности используют ФИ в массовых концентрациях от 0.1 до 1 % [215], что позволяет использовать Irgacure®819 для синтеза гидрогелей с большим содержанием воды.

3.7.3 Исследование механических свойств гидрогелей

При создании гидрогелей на основе одного мономера ПЭГДА наблюдаются недостатки, связанные с низкими значениями набухания, ПЭГДА практически не подвержен деструкции, недостаточно упругими свойствами. При использовании смеси мономеров ПЭГМА и ПЭГДА существует возможность контролирования скорости и степени резорбции и корректирования стабильных к растворению гидрогелей ПЭГДА, что было изучено в данной работе. Для поиска подходящего соотношения мономеров проводили исследование времени фотополимеризации и твёрдости в зависимости от состава (рис. 3.52, 3.53).

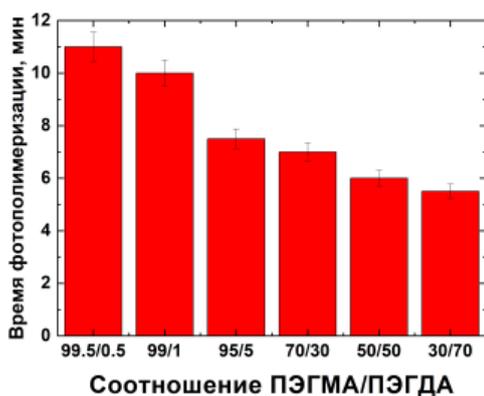


Рис. 3.52 Зависимость времени фотополимеризации от соотношения мономеров.

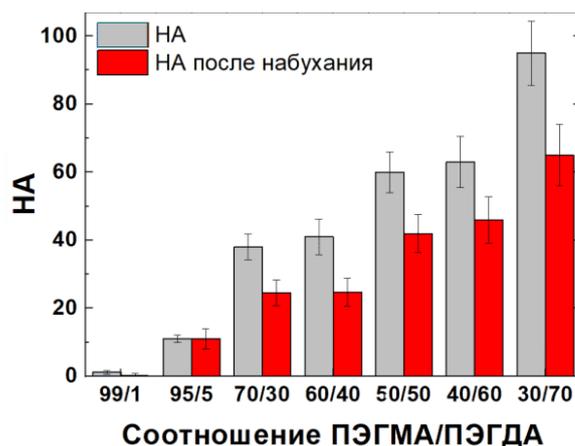


Рис. 3.53 Результаты исследования твёрдости гидрогелей на дюрометре до и после набухания.

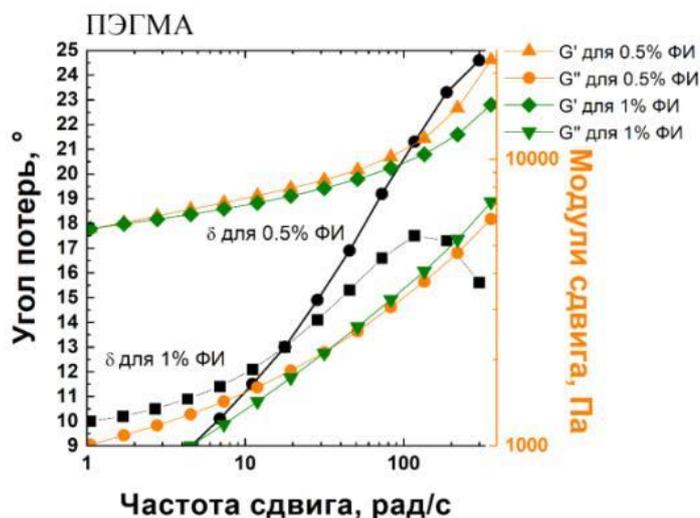
При использовании одного мономера ПЭГМА наблюдается слишком большие длительности фотополимеризации, и в работе не удавалось получить образцы на стереолитографическом 3D-принтере: в результате печати получали недостаточно заполимеризованные текучие образцы. При использовании гидрогелей на основе ПЭГДА наблюдается слишком высокая скорость фотополимеризации, в результате чего было необходимо применение красителей, действие которых заключается в поглощении излучения без образования свободных радикалов, для улучшения разрешения печати. В этом смысле использование смеси мономеров позволит подобрать нужное время фотополимеризации для достижения требуемого разрешения в процессе 3D-печати, поскольку при введении ПЭГДА в состав гидрогелей на основе ПЭГМА время фотополимеризации уменьшалось. Исследование твёрдости гидрогелей до и после процесса набухания проводили с использованием дюрометра Шора типа А (рис. 3.53).

При увеличении доли ПЭГМА с меньшим количеством функциональных групп наблюдается уменьшение твёрдости, что можно связать с меньшим количеством сшивок между молекулами. Так, при увеличении доли ПЭГДА от 5 до 70% в составе фотосуспензии происходит увеличение твёрдости почти в 9 раз. Гидрогели с соотношением ПЭГМА более 60% относительно ПЭГДА начинают проявлять хрупкие свойства, что возможно связано с расслаиванием фотосуспензии при использовании смеси мономеров. Набухание негативно влияет на прочностные характеристики, что связано с ослаблением связей между макромолекулами при введении воды в состав гидрогелей. Для составов ПЭГМА/ПЭГДА 50/50 и ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 наблюдается уменьшение твёрдости после набухания в 1.4 раза. Для составов ПЭГМА/ПЭГДА 99/1 и 95/5 не наблюдается сильного изменения твёрдости после набухания, что можно связать с изначально низкими значениями твёрдости, в результате чего влияние набухания менее выражено, чем для остальных составов, а также можно связать с недостаточной точностью измерительного прибора для таких низких значений. Для дальнейших исследований, из-за более низкой хрупкости и приемлемого времени фотополимеризации для 3D-печати, были выбраны образцы с соотношением ПЭГМА/ПЭГДА 50/50 и 30/70.

В работе проводили исследование вязкоупругих свойств гидрогелей на основе ПЭГМА и смеси мономеров. Результаты реологических испытаний гидрогелей приведены на рис. 3.54. Гидрогели на основе ПЭГМА характеризуются значительным превышением упругой компоненты модуля сдвига над вязкой, что связано с высокоэластичным состоянием гидрогелей, что также проявляется при тактильных ощущениях. При увеличении частоты компоненты модуля сдвига монотонно растут на рассматриваемом участке. Повышение концентрации фотоинициатора от 0.5 до 1 масс.% относительно

количества мономера приводит к понижению угла потерь на 3° , что связано с тем, что при деформации большая часть энергии будет рассеиваться, а не накапливаться в гидрогеле, в то время как упругий и вязкий компоненты модуля сдвига не претерпевают изменений.

а)



б)

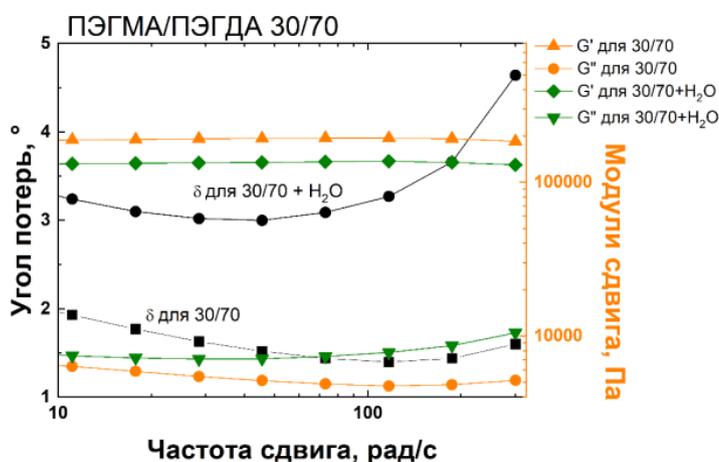


Рис. 3.54 Зависимость упругой (G') и вязкой (G'') компонент модуля сдвига, а также угла потерь δ от частоты для гидрогелей: а) ПЭГМА + 0.5 и 1% фотоинициатора, б) ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 + 1% фотоинициатора с водой и без воды в исходном составе.

При создании гидрогелей на основе смеси мономеров ПЭГМА/ПЭГДА за счёт включения мономера с большим числом функциональных групп происходит падение угла потерь в 7 раз, что связано с увеличением жёсткости гидрогелей за счёт большего числа сшивок между макромолекулами. Гидрогели, имеющие воду в исходном составе, характеризуются большим углом потерь по сравнению с гелями без воды, что связано с

увеличением вязкой компоненты и с тем, что вода может препятствовать процессу фотополимеризации при синтезе гидрогелей. При включении ПЭГДА в состав гидрогелей в соотношении 30/70 упругая компонента модуля сдвига достигает значений 196 кПа, что превышает более чем в 10 раз значения, характерные для ПЭГМА – 12 кПа. Таким образом, была показана возможность контроля эластичности и прочности гидрогелей за счёт подбора состава.

3.7.4 Исследование процесса набухания гидрогелей

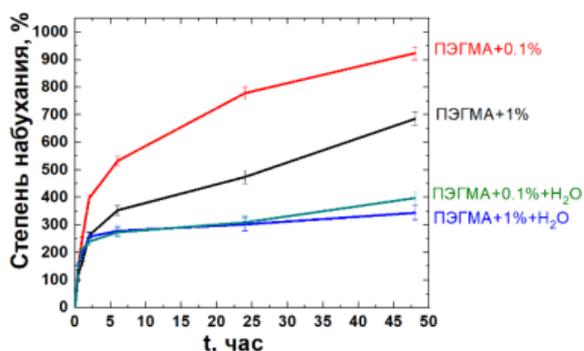
Способность к набуханию, связанная с диффузией и большими деформациями, является преимуществом гидрогелей, что объясняется возможностью решения проблемы плотного заполнения дефекта при имплантировании материала. Способность гидрогелей к набуханию может быть определена объёмом пространства внутри полимерной сетки, доступного для размещения воды. Гидрогели способны сохранять форму при набухании без растворения в результате ограниченного перемещения полимерных цепей из-за межмолекулярных сшивок, и степень набухания ограничивается силами упругости в геле.

Степень набухания и модуль упругости гидрогелей зависят от плотности сшивки и заряда полимера; в зависимости от пористости структуры, типа используемых материалов и плотности сшивки гидрогели способны вместить разное количество воды [216]. Для исследования кинетики набухания синтезировали образцы гидрогелей цилиндрической формы на основе ПЭГМА и ПЭГДА, а также из смеси мономеров ПЭГМА/ПЭГДА. Данные по набуханию гидрогелей на основе ПЭГМА и ПЭГДА с различным содержанием фотоинициатора, с водой и без воды в исходном своём составе приведены на рис. 3.55 и 3.56.

Значения СН и РСВ имеют наибольшие значения у образцов гелей без содержания воды в исходном составе и при меньшем содержании фотоинициатора, достигая максимальных значений в случае ПЭГМА около 923% и 90%, соответственно (рис. 3.55). Повышение концентрации фотоинициатора ведёт к образованию более жёсткого полимерного каркаса, что снижает способность гелей к набуханию. Установлено, что набухание гидрогелей на основе метакрилата при увеличении концентрации ФИ с 0.1 до 1 масс.% уменьшается в 1.3 раза: для гидрогелей, содержащих 1% ФИ степень набухания составляет 685%; для гидрогелей, содержащих 0.1% ФИ – 923%. Включение воды в исходный состав мономера предполагает частичное заполнение свободного объёма, из-за чего последующее набухание данных гелей меньше. Так, происходит уменьшение

набухания в 2.6 раз при включении воды в исходный состав фотосуспензии при концентрации ФИ 0.1 масс.%.

а)



б)

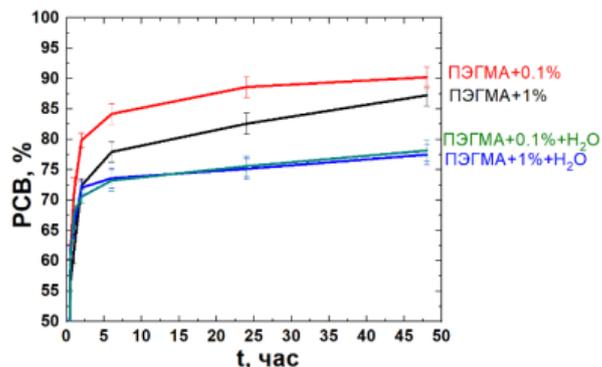
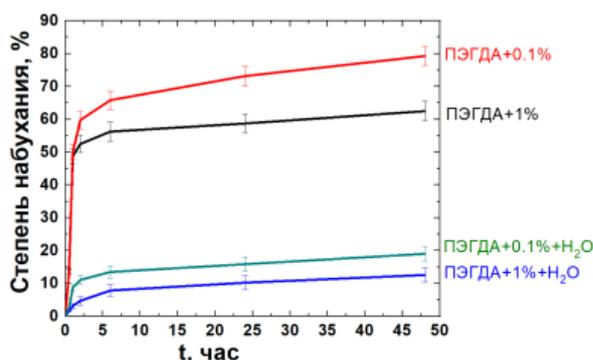


Рис. 3.55 Зависимости степени набухания (а) и равновесного содержания воды (РСВ) (б) от времени эксперимента для гидрогелей на основе ПЭГМА с различным содержанием фотоинициатора, с водой и без воды в исходном составе.

Стоит также отметить, что для образцов, изначально содержащих воду, способность к набуханию не сильно изменяется при увеличении концентрации фотоинициатора, что позволяет сделать вывод, что наличие воды в исходном составе гидрогелей оказывает наибольшее влияние на способность гидрогелей к набуханию.

а)



б)

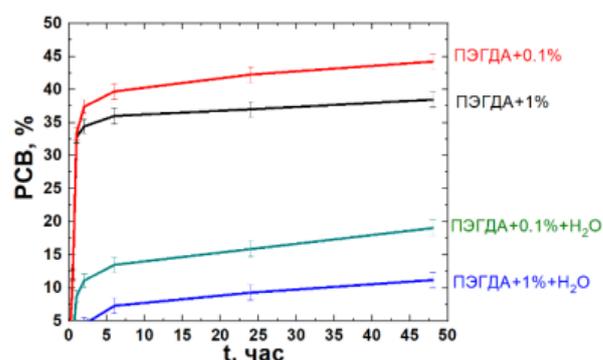


Рис. 3.56 Зависимости степени набухания (а) и равновесного содержания воды (РСВ) (б) от времени эксперимента для гидрогелей на основе ПЭГДА с различным содержанием фотоинициатора, с водой и без воды в исходном составе.

Поглощение воды в гидрогелях зависит от многих факторов, таких как параметры полимерной сетки, природа раствора, структура гидрогелей. Наиболее важным фактором является плотность сшивки, которая определяется эффективной концентрацией

сшивающего агента или числом функциональных групп в гидрогеле. Гидрогели на основе ПЭГМА имеют значительно более высокую степень набухания по сравнению с гидрогелями на основе ПЭГДА, что связано с меньшим количеством поперечных связей между молекулами. Этот факт может быть объяснён различной функциональностью мономеров, и, следовательно, степень набухания гидрогелей на основе ПЭГДА меньше из-за их большей функционализации по сравнению с гидрогелями на основе ПЭГМА (рис. 3.56). Однако при создании материала следует учитывать, что набухание сильно влияет на прочностные свойства, и гидрогели на основе ПЭГМА имеют слишком высокие значения набухания, что приводит к низким значениям прочности. В работе были предложены варианты предотвращения чрезмерного набухания гидрогелей на основе ПЭГМА за счёт использования смеси мономеров и наполнения фосфатами. Для изменения способности гидрогелей к набуханию в работе исследовали образцы на основе смеси мономеров ПЭГМА/ПЭГДА, взятых в соотношении 30/70, 50/50, 60/40, 70/30, 95/5 и 99/1 (рис. 3.57).

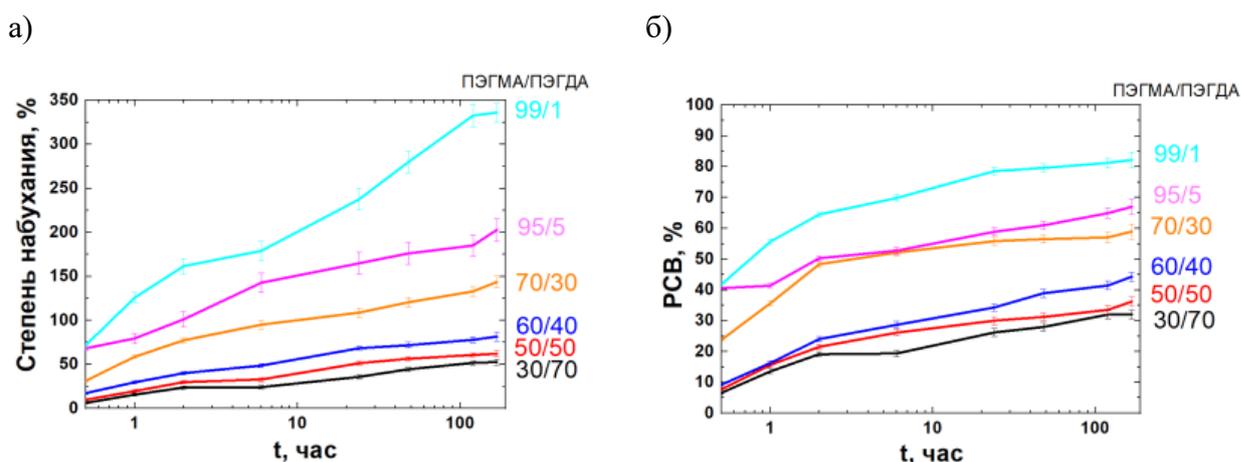


Рис. 3.57 Зависимости степени набухания (а) и равновесного содержания воды (РСВ) (б) от времени эксперимента для гидрогелей на основе смесей ПЭГМА/ПЭГДА.

При введении ПЭГМА в состав гидрогелей на основе смеси мономеров происходит увеличение степени набухания, причём наблюдается увеличение степени набухания пропорционального количеству введённого ПЭГМА, что позволяет корректировать низкие значения набухания гидрогелей на основе ПЭГДА. Так, при увеличении содержания ПЭГМА от 30 до 60 происходит увеличение степени набухания почти в 2 раза на 7 день эксперимента, а до 95 и 91 в 8.6 и в 10.8 раз, соответственно. Введение мономера ПЭГМА и варьирование соотношения мономеров мало влияет на кинетику набухания: большая часть воды поглощается гидрогелями в течение 2 дней, после чего увеличение массы наблюдается незначительное, а после 7 дней масса практически не меняется. Такая

же тенденция наблюдается для РСВ. Так, для гидрогелей состава ПЭГМА/ПЭГДА 70/30 РСВ на 2 день составляет – 56.5%, а на 7 дней – 58.9%.

После набухания в течение 2 недель производили измерение массы образцов для исследования изменения содержания воды в гидрогелях после процесса набухания. Для этого после набухания гидрогели помещали в сухую ёмкость и измеряли их массу через определённые промежутки времени (рис. 3.58).

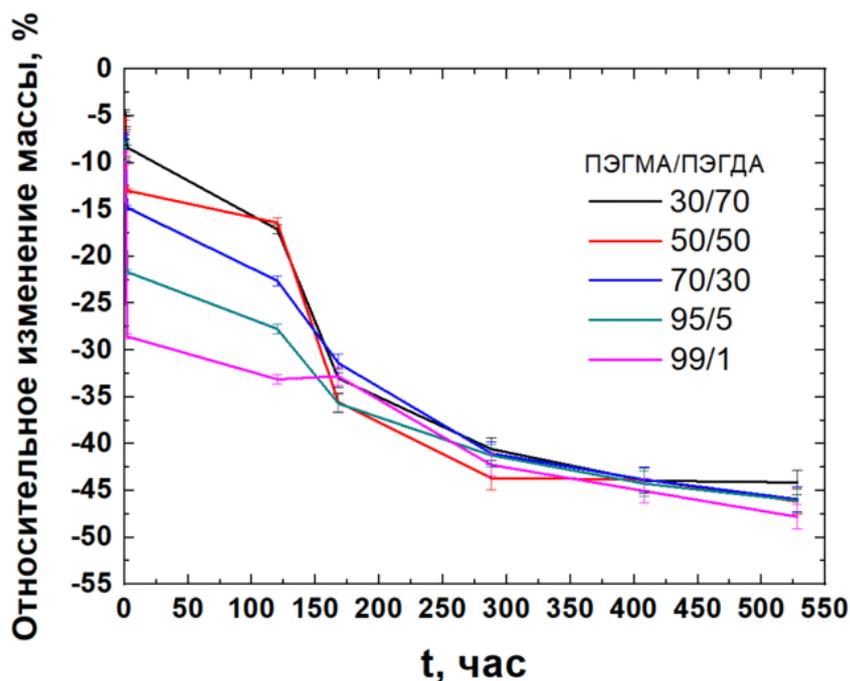


Рис. 3.58 Относительное изменение массы гидрогелей на основе смесей ПЭГМА/ПЭГДА после набухания.

При выдерживании гидрогелей в сухой ёмкости после процесса набухания происходит уменьшение массы гидрогелей, что связано с потерей гидрогелями слабосвязанной воды. Для гидрогелей с большим содержанием ПЭГМА, то есть обладающих более слабой сшивкой между молекулами, наблюдается большая потеря поглощенной воды, а также в полностью набухшем состоянии при механическом напряжении наблюдалась тенденция к распаду на более мелкие набухшие фрагменты геля. Образовавшиеся мелкие фрагменты претерпевают более быструю десорбцию за счёт увеличения площади контакта с окружающей сухой средой.

Гидрогели претерпевают одинаковую кинетику процесса десорбции в независимости от соотношения мономеров, и масса становится постоянной на 21 день. Гидрогели на основе исследуемых составов теряют воду около 45%, оставшаяся часть воды после набухания находится в их поровом пространстве. Наиболее интенсивная

потеря массы происходит в течение первых 7 дней и составляет около 35%. Способность гидрогелей сохранять большое количество воды после набухания связано с их гидрофильной структурой, что обуславливается наличием гидрофильных групп -COOH в составе исходных мономеров, и является преимуществом с точки зрения регенеративного подхода из-за того, что количество недеградируемых остатков акриловой кислоты останется меньше. В общем случае, чем более гидрофильной является структура полимера, тем сильнее становится взаимодействие полимера с водой. Гидрогели с гидрофильными функциональными группами набухают в воде в результате сил взаимодействия полимера с водой. Однако чрезмерное набухание гидрогелей ведёт к ухудшению их прочностных свойств, в результате чего возможность контролирования процесса набухания за счёт использования смеси мономеров и наполнения гидрогелей неорганической фазой является важным преимуществом при их применении в качестве биоматериалов.

3.7.5 Исследование кинетики растворения гидрогелей на основе смеси мономеров ПЭГМА и ПЭГДА

Возможность разрабатываемых биоматериалов на основе гидрогелей резорбировать в биологической среде является несомненным преимуществом при их применении для лечения дефектов костной ткани, что позволит избежать повторных хирургических вмешательств. В процессе лечения имплантаты на основе гидрогелей будут разлагаться в условиях организма, и в конечном итоге будут заменены вновь регенерированной натуральной костной тканью. Деструкция гидрогелей зависит от двух критериев, главным образом от разлагаемых химических структур и физико-химической структуры полимерной сетки [217]. Акрилатные полимеры часто рассматривают как полимеры с низкой скоростью биодеструкции. Разложение гидрогелей в ферментативных условиях организма на основе акрилатных производных ПЭГ происходит путём атаки сложноэфирных связей. В процессе деструкции конечные группы ПЭГДА и ПЭГМА подвергаются гидролизу.

В ходе эксперимента по резорбции исследовали гидрогели на основе ПЭГМА и ПЭГДА, а также смеси мономеров с соотношением ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, 40/60, 50/50, 60/40. Было показано, что с учётом эффекта набухания гидрогели на основе ПЭГМА имеют большую степень деструкции по сравнению с гидрогелями на основе ПЭГДА (рис. 3.59). Гидрогели на основе ПЭГМА испытывают большее набухание в начале процесса

деструкции, после чего потеря массы происходит с более высокой скоростью по сравнению с гидрогелями на основе ПЭГДА.

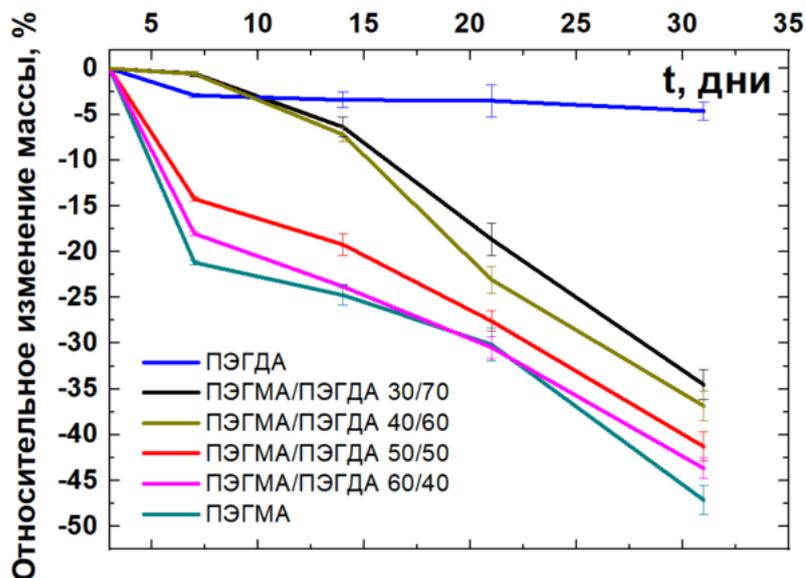
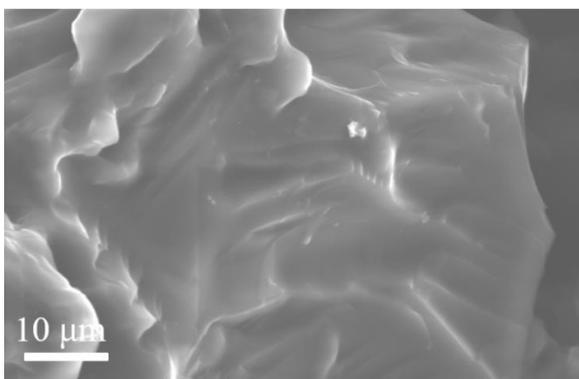


Рис. 3.59 Относительное изменение массы гидрогелей с различным соотношением мономеров ПЭГМА/ПЭГДА при их резорбции в лимонной кислоте.

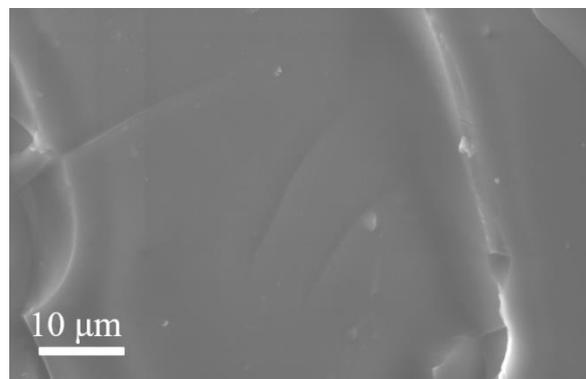
С увеличением доли ПЭГМА в исходном составе гидрогелей происходит увеличение степени деструкции. Таким образом, изменение соотношения мономеров позволит контролировать скорость и степень биодеструкции, что является важным аспектом в регенеративной медицине, поскольку кинетика процесса деструкции влияет на процесс восстановления костной ткани. Достаточно высокая стабильность к растворению гидрогелей на основе ПЭГДА может быть скорректирована использованием ПЭГМА, что обеспечит более высокую скорость биодеструкции. При введении ПЭГМА в соотношении 50/50 и 30/70 относительно ПЭГДА наблюдается увеличение степени деструкции почти в 7.5 и 10 раз, соответственно, по сравнению с гидрогелями на основе ПЭГДА. Даже небольшое количество введённого ПЭГМА (30 масс.%) оказывает сильное влияние на кинетику деструкции и ведёт к более быстрой потере массы гидрогелей. При растворении в организме, если гидрогель разлагается слишком быстро, клетки и активные вещества могут подвергнуться воздействию внешней среды, приводящей к недостаточной поддержке регенерации тканей, однако недостаточная скорость деструкции может препятствовать образованию новой ткани и даже вызвать гибель клеток [218]. Поэтому следует контролировать скорость деструкции гидрогелей, чтобы соответствовать темпу образования регенерированной костной ткани. Изменения микроструктуры гидрогелей на

основе смеси мономеров ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 и 50/50 после деструкции в растворе лимонной кислоты показаны на рис. 3.60.

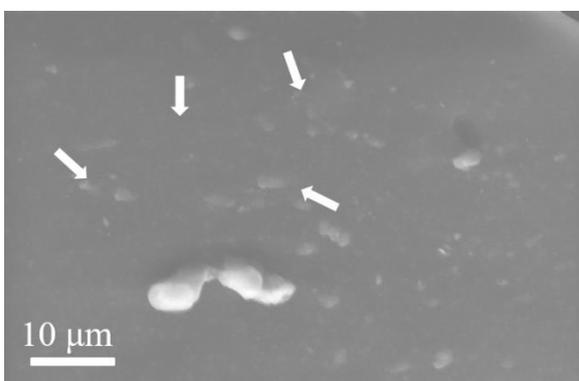
0 дней ПЭГМА/ПЭГДА 30/70



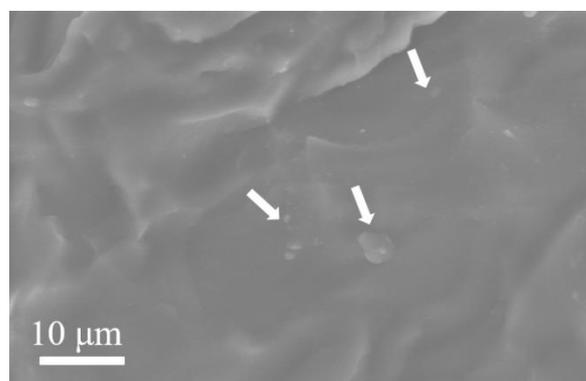
0 дней ПЭГМА/ПЭГДА 50/50



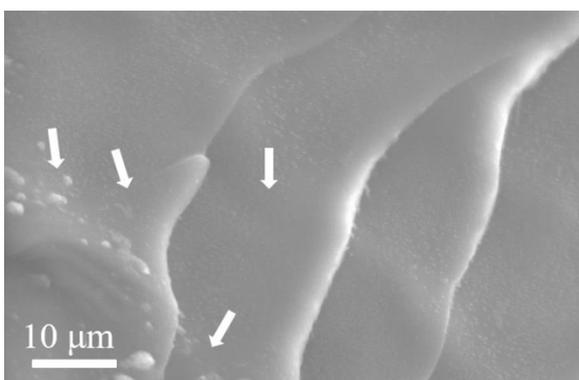
3 дня ПЭГМА/ПЭГДА 30/70



3 дня ПЭГМА/ПЭГДА 50/50



21 день ПЭГМА/ПЭГДА 30/70



21 день ПЭГМА/ПЭГДА 50/50

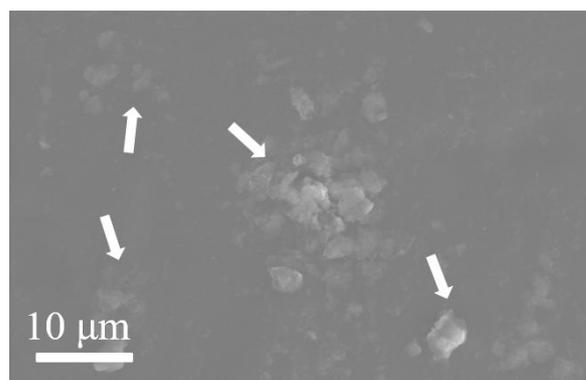


Рис. 3.60 Микроструктура гидрогелей на основе ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 и 50/50 после выдерживания в растворе лимонной кислоты в течение различных сроков. Стрелками выделены участки разложения.

При анализе поверхности гидрогелей после их выдерживания в растворе лимонной кислоты были выявлены участки с развитием процессов разложения, причём при увеличении сроков выдерживания количество участков увеличивается. Неравномерное

развитие процесса деструкции для гидрогелей с соотношением мономеров ПЭГМА/ПЭГДА 50/50 должно быть связано с микронеоднородностью гелей, в первую очередь из-за их пористой структуры. Также влияние могут оказывать гидрофильность структуры и эластичные свойства, которые можно настроить путём подбора смеси ПЭГМА/ПЭГДА. Новообразования на поверхности гелей являются остатками лимонной кислоты, однако подтвердить это данными РФА не удалось из-за малого количества новообразований.

3.7.6 Микроструктура и поведение при нагревании гидрогелей на основе смеси мономеров

РЭМ изображения сколов гидрогелей на основе смеси мономеров ПЭГМА/ПЭГДА представлены на рис. 3.61. При увеличении доли метакрилата происходит образование ребристой морфологии, по-видимому, связанной с обезвоживанием гидрогеля в вакуумной камере микроскопа. В ходе получения образцов на УФ-лампе было замечено, что гидрогелям на основе диакрилата требовалось значительно меньшее время для затвердевания по сравнению с метакрилатом, что заключалось в меньшем времени засветки образцов гидрогелей.

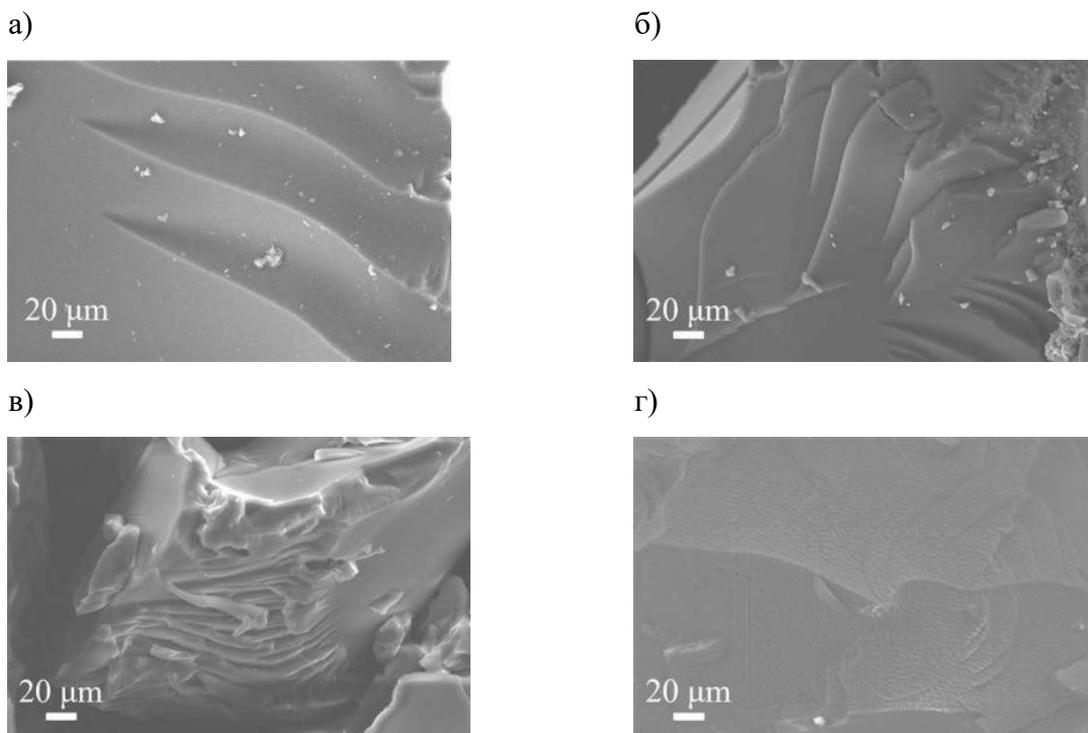


Рис. 3.61 Микрофотографии гидрогелей с соотношением мономеров ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 (а), 50/50 (б), 60/40 (в), 70/30 (г).

На некоторых образцах состава ПЭГМА/ПЭГДА (30/70, 50/50 и 60/40) наблюдалось распространение трещины в гидрогеле, причём не было найдено образования слоистости, что могло бы свидетельствовать о расслоении смеси из-за различной кинетики фотополимеризации, связанной с разным временем фотополимеризации для ПЭГДА и ПЭГМА. Для исследования поведения гидрогелей при нагревании использовали термогравиметрический анализ при нагреве образцов от комнатной температуры до 550°C (рис. 3.62).

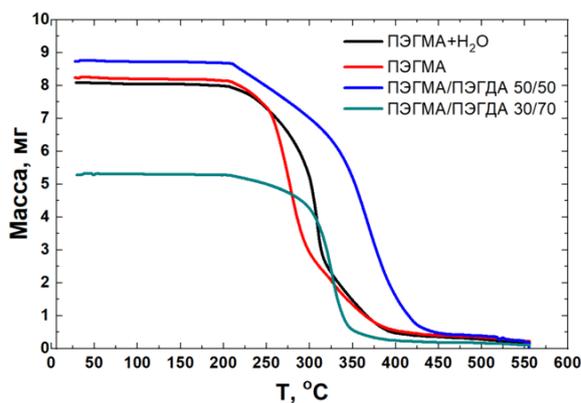


Рис. 3.62 Термогравиметрический анализ гидрогелей на основе ПЭГМА и смеси мономеров ПЭГМА/ПЭГДА.

Все образцы показали сходные закономерности потери веса во время анализа. Потеря массы происходит в диапазоне температур от 350°C до 440°C, что указывает на разрушение полимерной основы, главным образом из-за испарения углекислого газа. Для всех образцов наблюдается одинаковая потеря массы при температурах 210-220°C. Наибольшей стабильностью характеризуется образец на основе ПЭГМА/ПЭГДА 50/50, для которого наблюдается начало потери массы при 220°C и конец потери массы при 440°C. Отсутствие плато потери массы для испарения воды может быть связано, что вода вошла в структуру гидрогеля и испаряется при разрушении полимерной основы гидрогелей. Масс-спектры гидрогеля на основе ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 + H₂O (50:50 относительно массы мономера) с $m/z=2$ (H₂), $m/z=28$ ([CO]⁺), $m/z=18$ (H₂O), $m/z=44$ ([CO₂]⁺), $m/z=16$ ([O]⁺) представлены на рис. 3.63. На основе полученных данных можно подтвердить, что образование плато потери массы обуславливается выделением углекислого газа, испарением воды, а также разрушением полимерной основы.

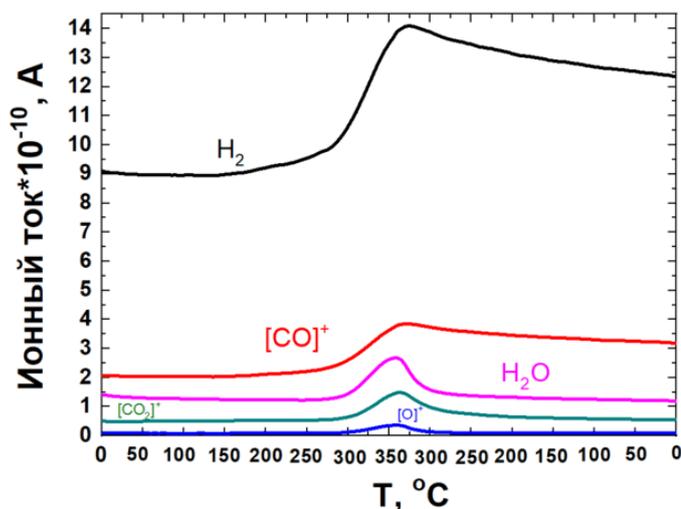


Рис. 3.63 Температурные зависимости ионного тока для выделяющихся газов при термическом разложении гидрогеля на основе соотношения мономеров ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 + H₂O.

3.8 Получение композитов на основе гидрогелей, наполненных фосфатами магния

При подготовке данной главы использованы публикации автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М. В. Ломоносова, частично отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Preobrazhenskiy I.I., Tikhonov A.A., Evdokimov P.V., Shibaev A.V., Putlyaev V.I. DLP printing of hydrogel/calcium phosphate composites for the treatment of bone defects // **Open Ceramics** – 2021, 100115. <https://doi.org/10.1016/j.oceram.2021.100115>

Преображенский И.И., Тихонов А.А., Климашина Е.С., Евдокимов П.В., Путляев В.И. Набухание акрилатных гидрогелей, наполненных брусшитом и октакальциевым фосфатом // **Известия АН. Серия химическая**, 2020, 8, 1601-1603. <https://elibrary.ru/item.asp?id=43862779>

3.8.1 Гранулометрический анализ порошков фосфатов магния

Введение неорганической фазы в состав гидрогелей и создание композиционных материалов позволит увеличить биоактивность, кроме того, включение Mg в состав полимерных материалов позволяет нейтрализовать продукты их кислотного распада и повысить остеоиндуктивность [219]. Для анализа размера частиц с целью дальнейшего наполнения композиционных материалов на основе гидрогелей был проведён гранулометрический анализ порошков фосфатов магния (пирофосфата и ортофосфата магния, тетрамагнийнатриевого фосфата). Результаты анализа приведены на рис. 3.64.

Синтезированные порошки на основе M2P2 и M3P2 легко поддавались измельчению и просеиванию через сито. Согласно полученным данным (рис. 3.64), наиболее

перспективным порошком для наполнения является пирофосфат магния, для которого характерен бимодальный характер распределения частиц: для 1 моды средний размер частиц составляет 20 мкм, для 2 моды – 32 мкм. Это может быть связано получением этого порошка растворным синтезом, в то время как другие порошки получали твердофазным методом. Так, порошки на основе ГАП, полученные твердофазным методом, характеризовались большим размером частиц с неправильной формой [220]. Растворными методами возможно контролирование морфологии и размера частиц синтезируемой фазы посредством изменения параметров реакции [221]. Для ортофосфата магния, полученного твердофазным методом, характерно более широкое распределение частиц от 20 до 56 мкм. Для тетрамагнийнатриевого фосфата наблюдается наличие частиц с размером до 80 мкм, что может негативно сказаться на возможной степени наполнения. Полученные данные хорошо согласуются с РЭМ-изображениями для исследуемых порошков.

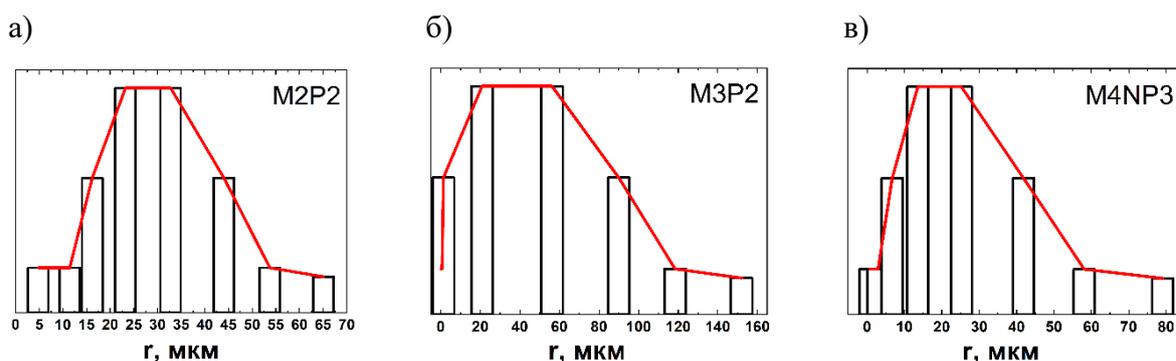


Рис. 3.64 Гранулометрический анализ порошков на основе: а) пирофосфата магния ($Mg_2P_2O_7$, M2P2), б) ортофосфата магния ($Mg_3(PO_4)_2$, M3P2), в) тетрамагнийнатриевого фосфата ($Mg_4Na(PO_4)_3$, M4NP3).

Варьирование количества наполнителя показало, что при добавлении 70 масс.% порошка M2P2 и M3P2 наблюдается образование пастообразной массы, причём время фотополимеризации увеличивается примерно в 2 раза по сравнению с временем фотополимеризации ненаполненных гидрогелей вследствие поглощения и рассеяния излучения порошками, приводящими к снижению прозрачности суспензии. Достигнутые объёмные степени наполнения составляют для M2P2 39%, а в случае M3P2 – 41%. Так, для ненаполненных гидрогелей на основе ПЭГМА время фотополимеризации составляет 8 минут, а при наполнении 70 масс.% M2P2 время фотополимеризации увеличивается до 17 минут. Увеличение доли фосфатного порошка приводит к образованию высоковязкой суспензии. Достигнутые значения наполнения композита являются достаточными,

поскольку полученные значения наполнения часто являются граничными значениями, при их достижении происходит появление связанных кластеров из частиц наполнителя, что довольно сильно (по сравнению с правилом смесей) изменяет механические свойства. В данном случае композит становится слишком жёстким, в то время как по условию он должен подвергаться заметным деформациям. Кроме того, на стадии печати при таком большом наполнении вязкость фотосuspензии уже затрудняет процесс 3D-печати.

3.8.2 Стабильность фосфатов магния внутри мономеров и заполимеризованных гидрогелей

В работе проводили исследование стабильности фосфатов магния, которые перспективно использовать для наполнения композитов с точки зрения размера частиц по данным гранулометрического анализа и РЭМ, для исследования возможности изменения фазового состава внутри гидрогелей. Поскольку по результатам прошлой работы по оценке стабильности порошков фосфатов кальция в мономерах ПЭГМА и ПЭГДА было найдено, что мономер ПЭГМА является более реакционноспособным, оценку стабильности проводили в мономере ПЭГМА (рис. 3.65).

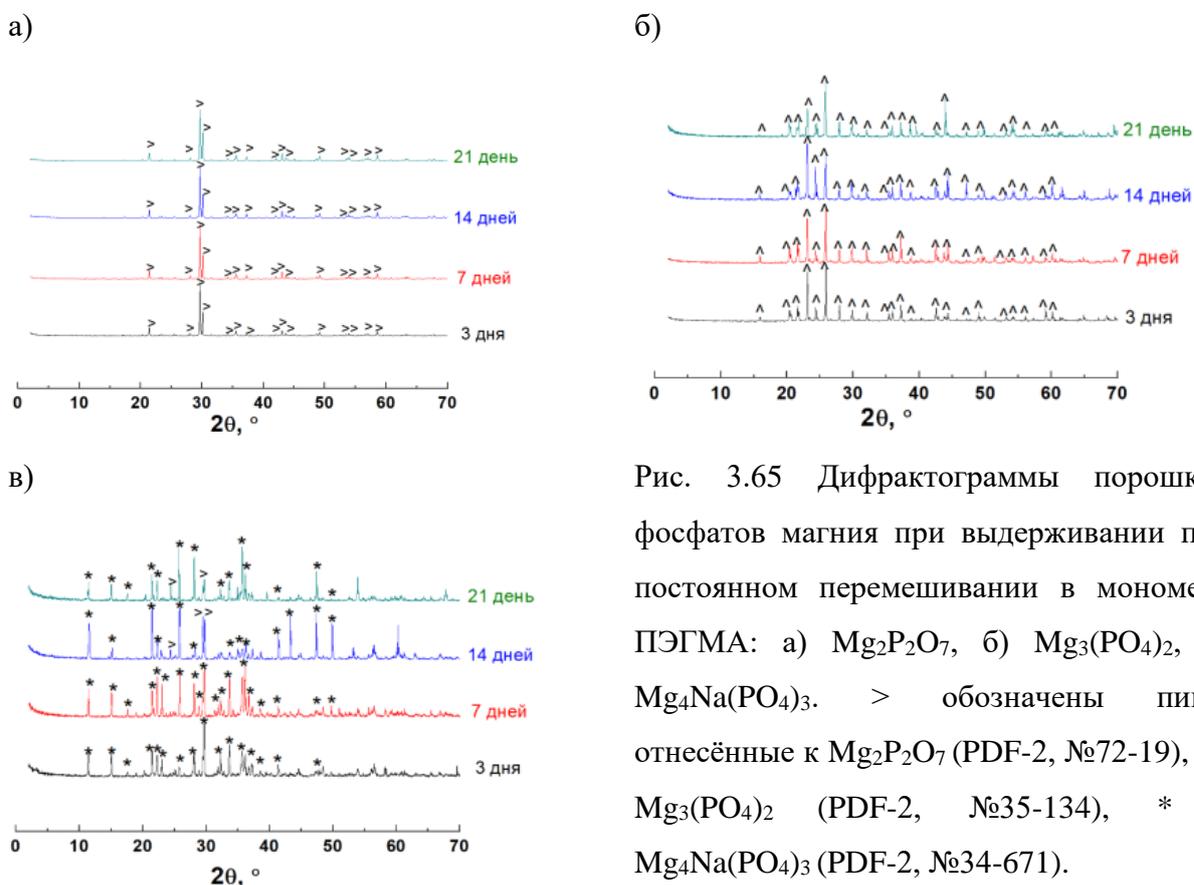


Рис. 3.65 Дифрактограммы порошков фосфатов магния при выдерживании при постоянном перемешивании в мономере ПЭГМА: а) $Mg_2P_2O_7$, б) $Mg_3(PO_4)_2$, в) $Mg_4Na(PO_4)_3$. > обозначены пики, отнесённые к $Mg_2P_2O_7$ (PDF-2, №72-19), ^ - $Mg_3(PO_4)_2$ (PDF-2, №35-134), * - $Mg_4Na(PO_4)_3$ (PDF-2, №34-671).

В результате эксперимента было показано, что порошки пирофосфата и ортофосфата магния (рис. 3.65 а и б) не претерпевают фазовых изменений при выдерживании их в мономере в течение 21 дня, что характеризует стабильность этих фаз в случае выдерживания их в ПЭГМА, делая их перспективными для наполнения гидрогелей и создания композитов.

При выдерживании тетрамагнийнатриевого фосфата в мономере в течение более 14 дней наблюдается образование пиков, отнесённых к пирофосфату магния. Это может быть связано с понижением значений рН при введении порошка в мономер. Таким образом, из-за нестабильности и сложностью получения в большом количестве соединения M_4NP_3 не является приемлемым наполнителем для гидрогелей, и в дальнейшем в работе для создания композитов на основе гидрогелей использовали порошки на основе M_2P_2 и M_3P_2 . При оценке изменения фазового состава пирофосфата магния внутри запolyмеризованных гидрогелей на основе соотношения мономеров ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 в течение 14 дней было показано также стабильность M_2P_2 внутри гидрогелей (рис. 3.66).

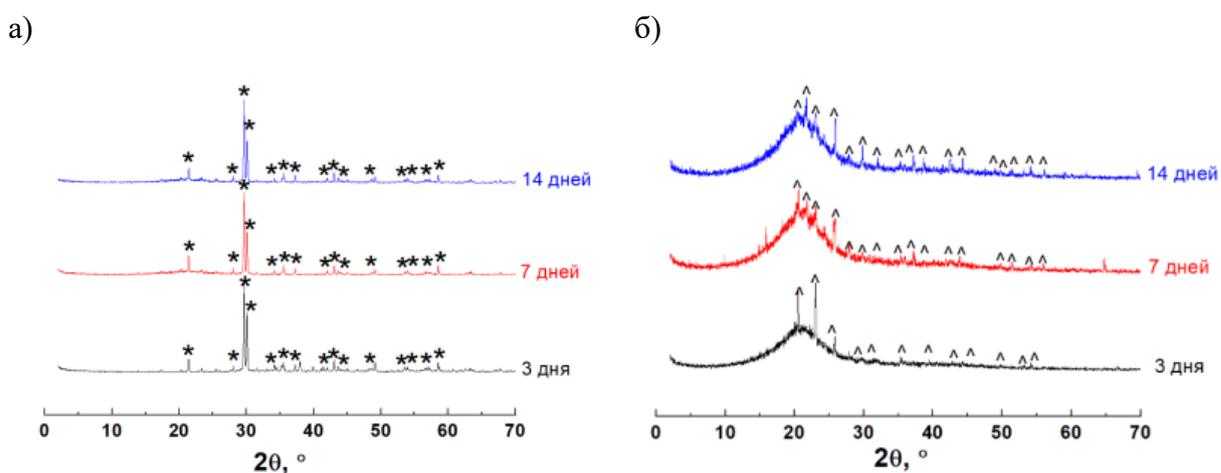
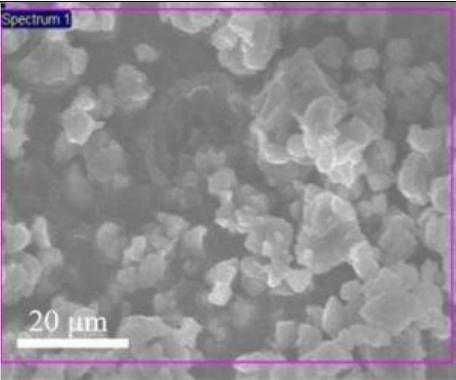
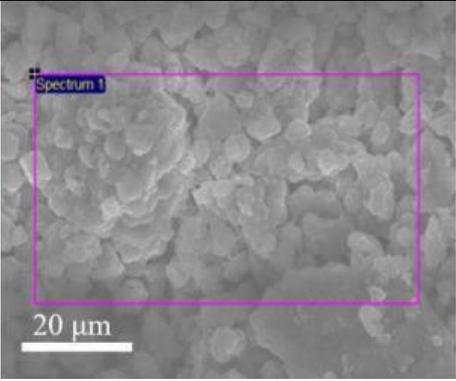
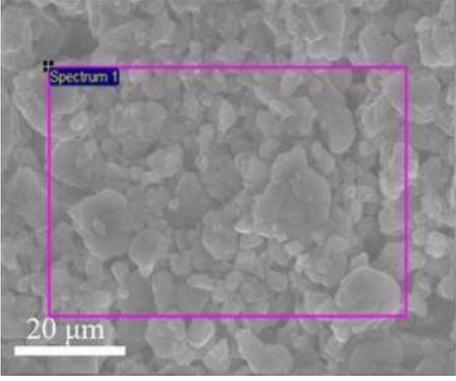


Рис. 3.66 Дифрактограммы порошков пирофосфата магния (а) и ортофосфата магния (б) после выдерживания внутри запolyмеризованных гидрогелей с соотношением мономеров ПЭГМА/ПЭГДА 30/70. * обозначены пики, отнесённые к $Mg_2P_2O_7$ (PDF-2, №72-19), ^ - $Mg_3(PO_4)_2$ (PDF-2, №35-134).

Следует отметить, что в случае наполнения гидрогелей M_3P_2 наблюдается образование на дифрактограммах гало при значениях $2\theta = 21^\circ$, отнесённого к ПЭГДА. Это может быть связано с объёмной долей и равномерностью распределения наполнителя в полимерной матрице. Объёмная степень наполнения композитов M_2P и M_3P_2 является примерно одинаковой (39 и 41 об.%, соответственно). В случае композита

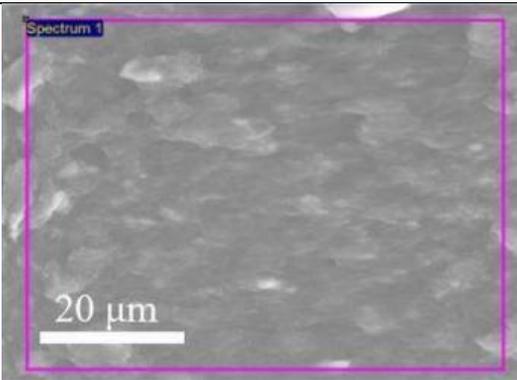
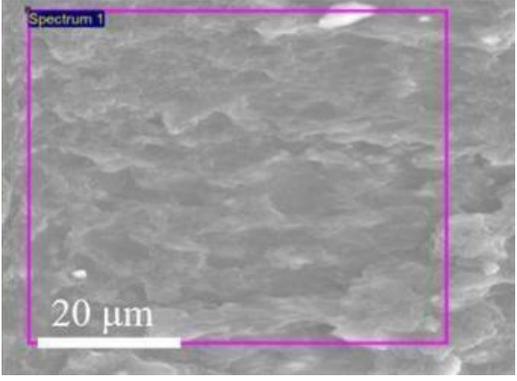
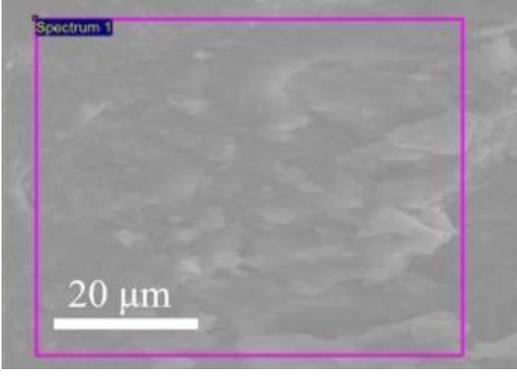
ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненного МЗР2, наблюдается большее количество агрегатов, между которыми находятся участки гидрогеля, в результате чего происходит образование гало, отнесённого к ПЭГДА. При наполнении гидрогелей пирофосфатом магния распределение более равномерное и не наблюдается образование рефлексов, отнесённых к ПЭГДА. Для оценки соотношения магния к фосфору в заполимеризованных гидрогелях был проведён рентгеноспектральный микроанализ (табл. 3.14, 3.15).

Табл. 3.14 РСМА-анализ гидрогелей на основе 30/70 ПЭГМА/ПЭГДА, наполненных 70 масс.% М2Р2

№	Исследуемая область	Соотношение Mg/P	Количество Mg и P на участке, масс. %
1.		0.7	2.8
2.		0.8	4.9
3.		0.8	5.5

Наблюдаемые значения соотношения элементов Mg к P, взятых в атомных процентах, составляют в среднем 0.8%, что является несколько заниженным значением к рассчитанным для пирофосфата магния (1%). Подобные расхождения можно объяснить погрешностью метода из-за зарядки образцов.

Табл. 3.15 РСМА-анализ гидрогелей на основе 30/70 ПЭГМА/ПЭГДА, наполненных 70 масс.% МЗР2

№	Исследуемая область	Соотношение Mg/P	Количество Mg и P на участке, масс. %
1.		1.2	0.6
2.		1.3	0.6
3.		1.4	2.0

Для гидрогелей, наполненных ортофосфатом магния, МЗР2, наблюдается схожая тенденция, т.е. заниженные значения Mg к P, относительно рассчитанных. Среднее значение Mg/P для образцов составляет 1.3 (рассчитанное значение для МЗР2 составляет

1.5). Подобные расхождения можно объяснить теми же причинами, что и для гидрогелей, наполненных пирофосфатом магния. Таким образом, фазы М2Р2 и М3Р2 являются стабильными при выдерживании в мономерах и в заполимеризованных гидрогелях в течение 21 дня, в то время как для М4NP3 наблюдается появление пиков, отнесённых к пирофосфату магния при выдерживании в мономере ПЭГМА в течение 14 дней.

3.8.3 Свойства композиционных материалов на основе гидрогелей, наполненных фосфатами магния

3.8.3.1 Исследование равномерности распределения наполнителя

Для оценки равномерности распределения наполнителя и морфологии композитов на основе гидрогелей с соотношением мономеров ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных пирофосфатом и ортофосфатом магния, использовали РЭМ (рис. 3.67).

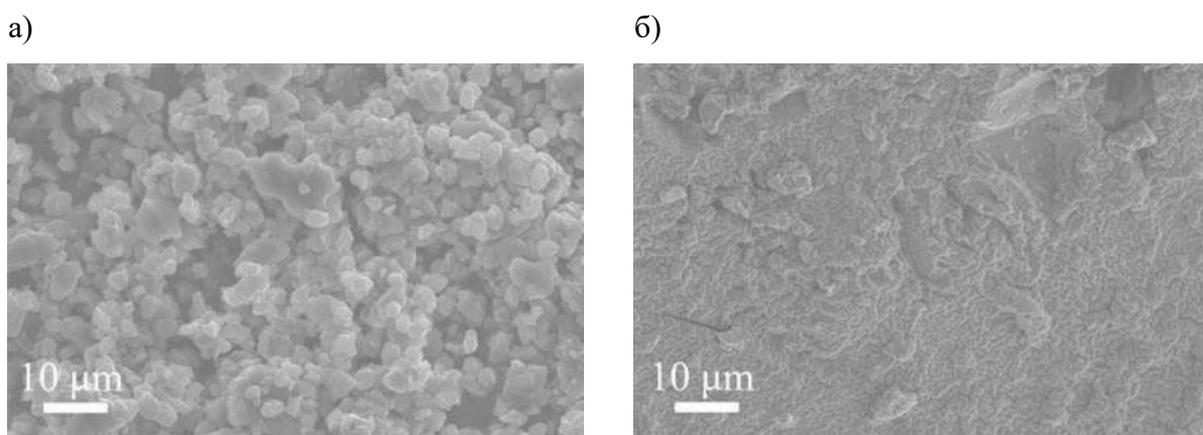


Рис. 3.67 РЭМ изображения скола образцов композитов на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных 70 масс.% $Mg_2P_2O_7$ (а) и $Mg_3(PO_4)_2$ (б).

При наполнении гидрогелей пирофосфатом магния наблюдается равномерное распределение частиц в полимерной матрице и отсутствие образования скопления частиц и незаполненных участков. Средний размер частиц составлял менее 15 мкм для пирофосфата магния. В случае использования ортофосфата магния наблюдается образование агломератов, распределение наполнителя менее равномерное; по РЭМ снимкам можно видеть участки гидрогеля. Таким образом, в результате проведённых гранулометрического анализа, оценке стабильности наполнителя в мономере и в заполимеризованных гидрогелях и характеристики микроструктуры наиболее подходящим наполнителем является пирофосфат магния, который характеризуется наименьшим размером частиц, равномерным распределением и стабильностью при его

выдерживании в мономере ПЭГМА в течение 21 дня и в гидрогелях при выдерживании в течение 14 дней. Следует также отметить и достижение больших степеней наполнения (70 масс.%), которые превышают публикуемые в литературе и достигнутые в прошлых работах лаборатории при наполнении гидрогелей фосфатами кальция. Увеличение степени наполнения ведёт к улучшению биологических свойств и к уменьшению количества недеградируемых остатков акриловой кислоты. Для получения гидрогелей с заданной архитектурой методами аддитивных технологий в дальнейшем в качестве наполнителя в работе использовали пирофосфат магния.

3.8.3.2 Набухание и резорбция в модельной среде композитов на основе гидрогелей, наполненных фосфатами магния

Для оценки влияния наполнения гидрогелей на процесс набухания исследовали композиты на основе гидрогелей с соотношением мономеров ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненные пирофосфатом и ортофосфатом магния, поскольку эти фазы являются наиболее подходящими для наполнения, в количестве 50 и 70 масс.% относительно соотношения мономеров (рис. 3.68).

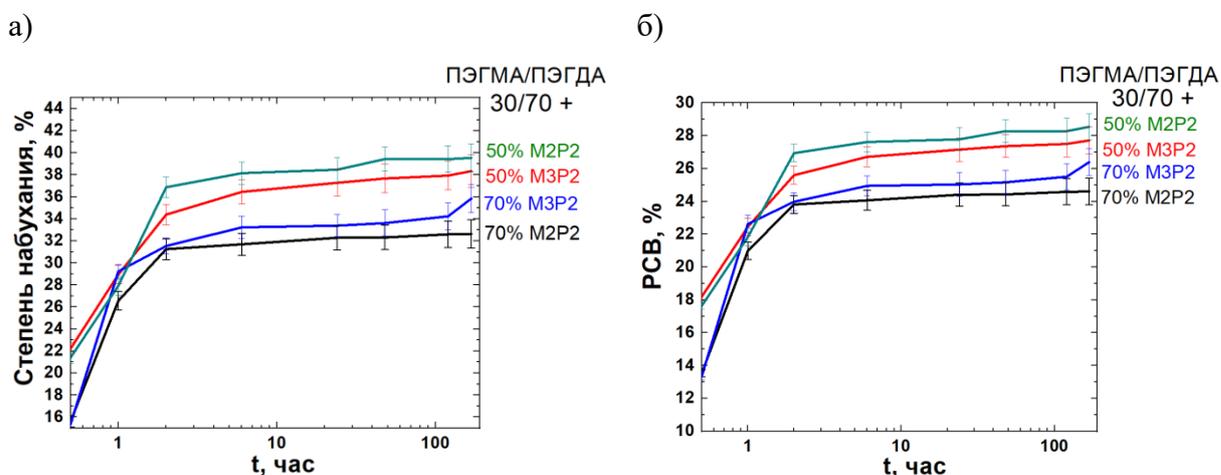


Рис. 3.68 Зависимости степени набухания (а) и равновесного содержания воды (РСВ) (б) от времени эксперимента для образцов гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных 50 и 70 масс.% $Mg_2P_2O_7$ (M2P2) и $Mg_3(PO_4)_2$ (M3P2).

Включение в состав гидрогелей неорганической фазы позволит изменять способность гидрогелей к набуханию и предотвратит чрезмерное набухание гидрогелей, ведущее к потере их прочности. Введение наполнителя играет роль армирующего компонента, и как следствие вызывает снижение значений степени набухания и

равновесного содержания воды. В результате введения неорганической фазы происходит заполнение порового пространства полимерной матрицы гидрогеля, в результате чего свободное пространство для дальнейшего размещения воды в гидрогелях становится меньше. Ещё одним фактором, ведущим к снижению способности гидрогелей к набуханию при введении наполнителя, является возможная адсорбция воды на поверхности порошков фосфатов магния.

В работе проводили исследование изменения фазового состава порошков фосфатов магния внутри композита на основе заполимеризованных гидрогелей после процесса набухания в течение 7 дней (рис. 3.69). После процесса набухания не происходит образования новых фаз, что свидетельствует о стабильности пирофосфата и ортофосфата магния внутри гидрогелей в процессе набухания. Отмечено отсутствие некоторых рефлексов в случае МЗР2, что можно связать с менее равномерным распределением наполнителя. ИК-спектры гидрогелей (рис. 3.69б), наполненных пирофосфатом магния, содержат колебания, отнесённые к группам PO_4^{3-} и связям Mg-O , причём интенсивность колебаний увеличивается при увеличении содержания наполнителя.

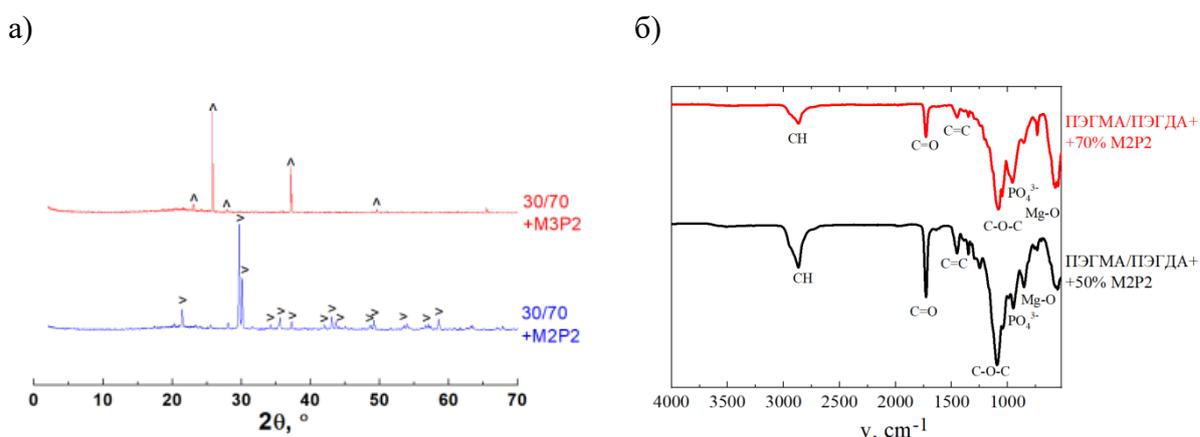
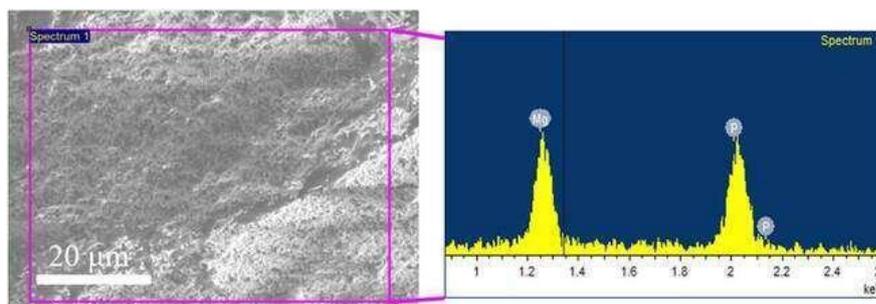


Рис. 3.69 Дифрактограммы (а) и ИК-спектры (б) композитов на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (М2Р2) и $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ (МЗР2), после набухания в течение 7 дней. ^ помечены пики, отнесённые к $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ (PDF-2, №35-134), > - $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (PDF-2, №72-19).

По данным рентгеноспектрального микроанализа (рис. 3.70) было показано, что после набухания композитов в течение 7 дней наблюдаются средние соотношения магния к фосфору 0.9 для композитов, наполненных пирофосфатом магния, и 1.3 для композитов, наполненных ортофосфатом магния, т.е. значения Mg/P близкие к стехиометрическим, что коррелирует с данными РФА, и позволяет сделать вывод о стабильности наполнителя при набухании композитов в течение 7 дней.

30/70 ПЭГМА/ПЭГДА + М2Р2



30/70 ПЭГМА/ПЭГДА + М3Р2

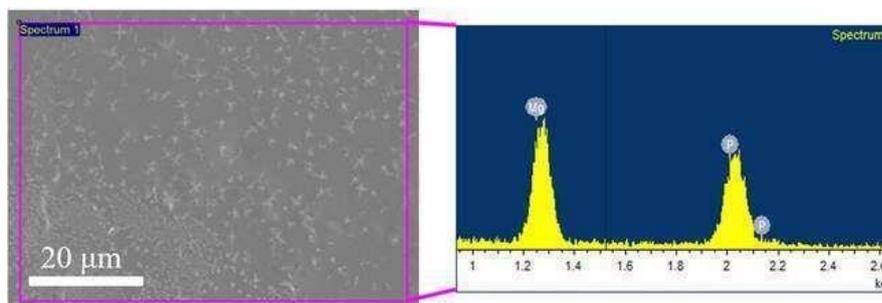
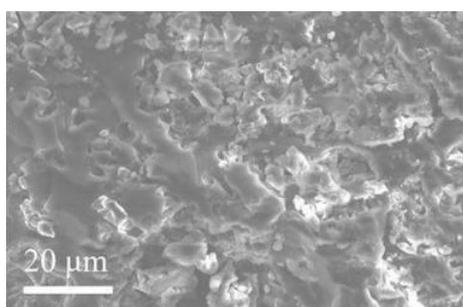


Рис. 3.70 Области исследования для проведения рентгеноспектрального микроанализа и полученные спектры композитов гидрогели/фосфаты магния после набухания в течение 7 дней.

При исследовании изменения микроструктуры композитов (рис. 3.71) можно наблюдать увеличение пористости в результате поглощения воды и последующего высыхания на воздухе для образцов композита 30/70 ПЭГМА/ПЭГДА + М2Р2.

30/70 ПЭГМА/ПЭГДА + М2Р2



30/70 ПЭГМА/ПЭГДА + М3Р2

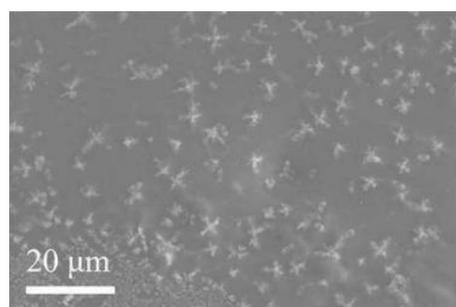


Рис. 3.71 Микроструктура композитов на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных $Mg_2P_2O_7$ и $Mg_3(PO_4)_2$, после процесса набухания в течение 7 дней.

Таким образом, в результате изменения состава гидрогелей и композитов на их основе, включая использование смеси мономеров, варьирование концентрации фотоинициатора и введение наполнителей, была показана возможность управления

процессом набухания, что позволяет подбирать подходящие значения степени набухания для конкретного применения.

В случае биоразлагаемых синтетических гидрогелей с полиэфирными цепями было обнаружено, что кислотные побочные продукты в процессе гидролиза, разрушающие сложноэфирные связи, вызывают побочные негативные эффекты для клеток [223]. Поэтому добавление в состав гидрогелей неорганической фазы и создание композиционных материалов является необходимым фактором для устранения некоторых недостатков гидрогелей. Следовательно, включение в состав композиционного материала на основе гидрогелей фосфатов магния позволит улучшить биологические свойства такого биокомпозита. Результаты по эксперименту резорбции композитов на основе ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных M2P2 и M3P2, представлены на рис. 3.72.

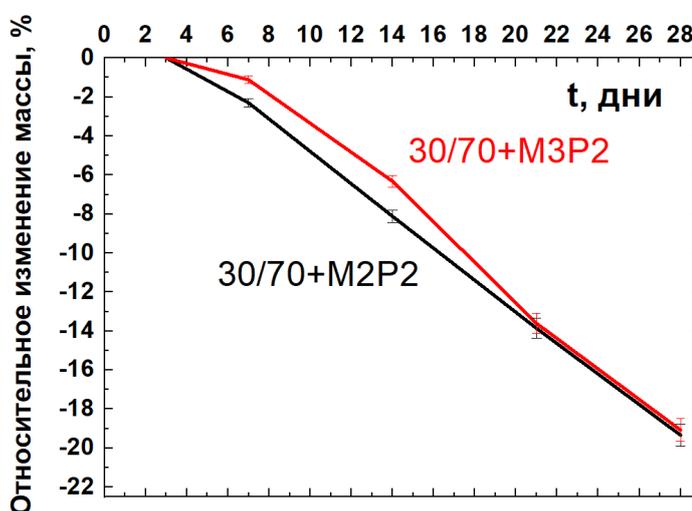
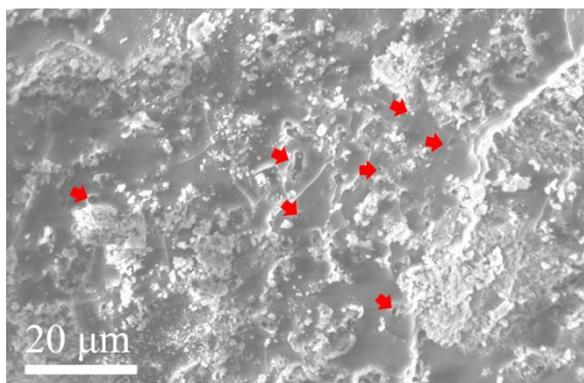


Рис. 3.72 Относительное изменение массы композитов на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных $Mg_2P_2O_7$ (M2P2) и $Mg_3(PO_4)_2$ (M3P2), при их резорбции в растворе лимонной кислоты.

Для композитов на основе гидрогелей, наполненных фосфатами магния, наблюдается более высокая степень резорбции на протяжении эксперимента по сравнению с ненаполненными гидрогелями, что можно связать с увеличением границ фаз и увеличению способности композитов к деструкции. Причём стоит отметить, что выбор порошка не оказывает сильного влияния на степень резорбции композитов в указанные сроки, поскольку композиты, наполненные пирофосфатом и ортофосфатом магния, имеют почти одинаковую степень резорбции, которая немного больше для гидрогелей, наполненных пирофосфатом магния.

а) 30/70 ПЭГМА/ПЭГДА + М2Р2



б) 30/70 ПЭГМА/ПЭГДА + М3Р2

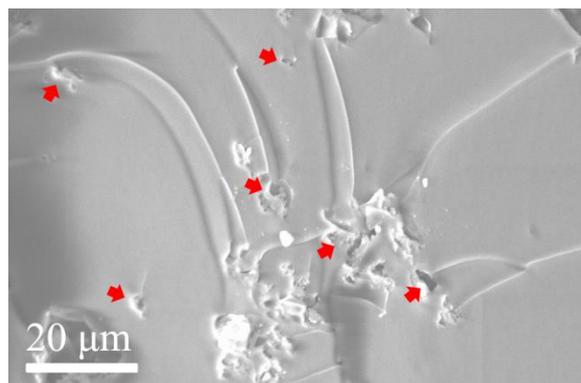
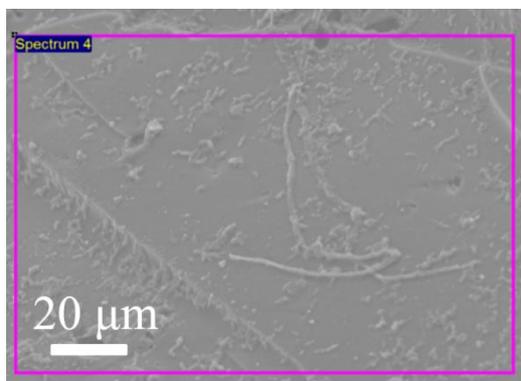


Рис. 3.73 Микроструктура композитов на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных $Mg_2P_2O_7$ (а) и $Mg_3(PO_4)_2$ (б), после резорбции в растворе лимонной кислоты в течение 4 недель. Стрелками выделены участки разложения.

При рассмотрении микроструктуры композитов после деструкции в растворе лимонной кислоты (рис. 3.73) можно обнаружить места разрушения геля. Как и в случае исследования стабильности, при исследовании соотношения магния к фосфору по данным РСМА для образцов наблюдаются соотношения магния к фосфору, близкие к стехиометрическим (рис. 3.74).

а) 30/70 ПЭГМА/ПЭГДА + М2Р2



б) 30/70 ПЭГМА/ПЭГДА + М3Р2

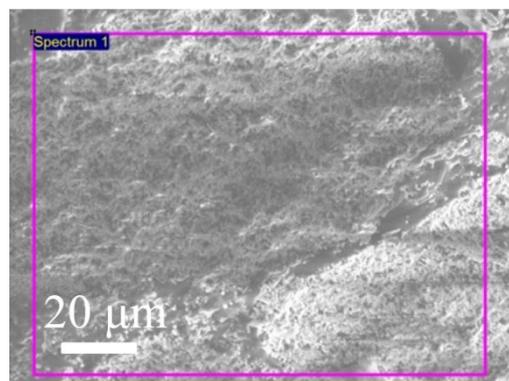


Рис. 3.74 Области исследования композитов на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных $Mg_2P_2O_7$ (а) и $Mg_3(PO_4)_2$ (б), после резорбции в лимонной кислоте в течение 4 недель для проведения рентгеноспектрального микроанализа.

Для исследования фазового изменения композитов при выдерживании их в растворе лимонной кислоты использовали РФА (рис. 3.75, 3.76).

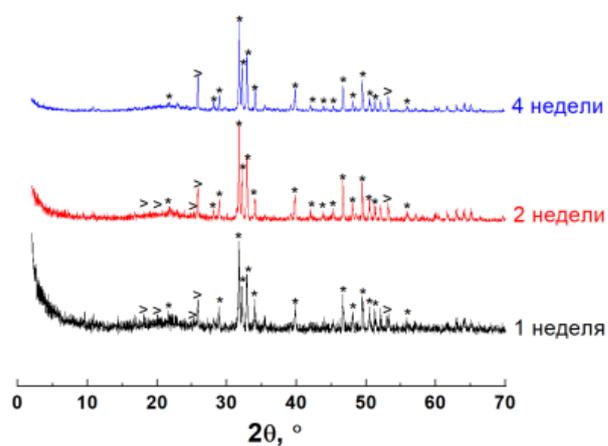


Рис. 3.75 Дифрактограммы композитов на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных $Mg_2P_2O_7$, после резорбции в растворе лимонной кислоты. > помечены пики, отнесённые к $Mg_2P_2O_7$ (PDF-2, №72-19), * - ньюбериту $MgHPO_4$ (PDF-2, №35-780).

При выдерживании в растворе лимонной кислоты композитов, наполненных пирофосфатом магния (рис. 3.75) происходит образование фазы ньюберита, причём при увеличении времени выдерживания интенсивность рефлексов возрастает. Наблюдается реакция, обратная реакции поликонденсации (3.12):



При использовании в качестве наполнителя ортофосфата магния (рис. 3.76) образования новых фаз не происходило при выдерживании в течение 4 недель. Это можно связать с тем, что ортофосфат магния является более стабильным в данные сроки, однако, согласно литературным данным [224], ортофосфат магния может гидратироваться до малорастворимых фосфатов магния, таких как катиит $Mg_3(PO_4)_2 \cdot 22H_2O$, но в работе при исследовании процесса резорбции композитов в течение 4 недель этого замечено не было.

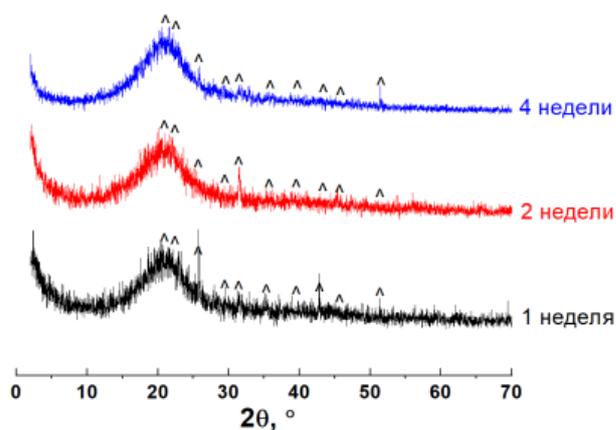


Рис. 3.76 Дифрактограммы композитов на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных $Mg_3(PO_4)_2$, после резорбции в растворе лимонной кислоты. ^ помечены пики, отнесённые к $Mg_3(PO_4)_2$ (PDF-2, №35-134).

Обобщая полученные результаты, можно сделать вывод о возможности увеличения степени резорбции гидрогелей за счёт использования смеси мономеров и увеличения

содержания ПЭГМА в составе. Введение неорганического наполнителя не оказывает сильного влияния на кинетику процесса резорбции, однако будет играть важную биологическую роль, заключающуюся в увеличении биоактивности такого композита и уменьшении недеградируемых остатков гидрогеля. В процессе резорбции в растворе лимонной кислоты не было отмечено изменение фазового состава, ведущего к изменению соотношения Mg/P.

3.9 Получение трёхмерных структур с использованием метода стереолитографической 3D-печати

При подготовке данной главы использованы публикации автора, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ имени М. В. Ломоносова, частично отражены основные результаты, положения и выводы исследования:

Preobrazhenskiy I.I., Tikhonov A.A., Evdokimov P.V., Shibaev A.V., Putlyayev V.I. DLP printing of hydrogel/calcium phosphate composites for the treatment of bone defects // **Open Ceramics** – 2021, 100115. <https://doi.org/10.1016/j.oceram.2021.100115>

Преображенский И.И., Путляев В.И. Трёхмерная печать биоматериалов на основе гидрогелей // **Журнал Прикладной химии** – 2022, 95 (6), с. 685-699. <https://doi.org/10.31857/S0044461822060020>

Кроме того, результаты, приведённые в данной главе, являются частью отчета по гранту РФФИ №17-79-20427.

Использование аддитивных технологий позволяет придать биоматериалу osteoconductive свойства, которые сильно влияют на процесс замены имплантата натуральной костной тканью при его дальнейшей деструкции в случае применения регенеративного подхода к лечению. Для обеспечения osteoconductive свойств материал должен иметь макроскопические поры около 60-80% объёма. При нахождении компромисса между проницаемостью и прочностью в качестве дальнейшей архитектуры создаваемых биоматериалов была выбрана структура гироида, которая характеризуется наличием сплошных сообщающихся каналов для обеспечения прорастания нативной костной ткани в имплантат и протекания биологических потоков, тем самым обеспечивая osteoconductive свойства разрабатываемого имплантата. Пористость смоделированной архитектуры составляет 70%, что лежит в диапазоне оптимальной пористости для биоматериалов (60-80%) (рис. 3.77).

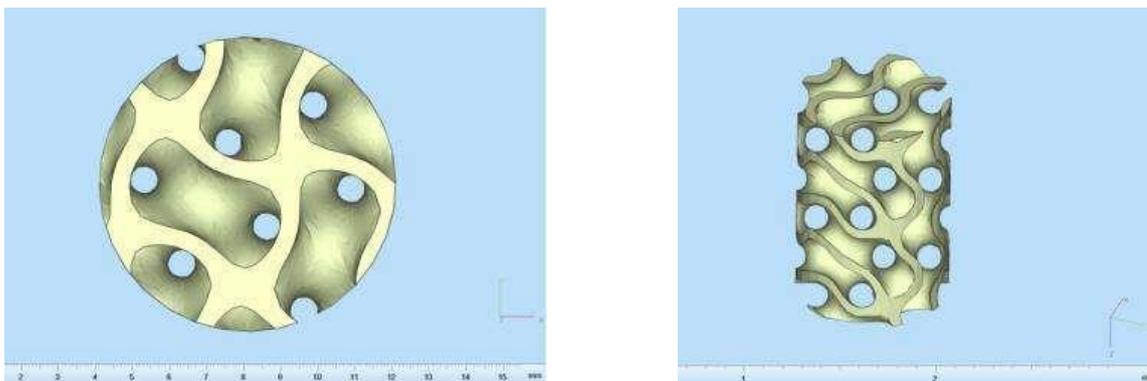


Рис. 3.77 Компьютерная модель структуры гироида, которую использовали при создании материалов на стереолитографическом 3D-принтере.

Образцы со сложной структурой на основе гидрогелей и композитов из гидрогелей, наполненных фосфатами, получали на стереолитографическом 3D-принтере, где послойное отверждение жидкой фотополимеризуемой суспензии происходило при воздействии источника света (в работе с помощью проектора, создающего изображение засвечиваемого слоя модели). Толщина затвердевшего слоя (глубина отверждения C_d в мкм) контролируется дозой светового облучения E (мДж/см²). Рабочая кривая реакции фотополимеризации представляет собой график с наклоном D_p и пересечением E_c и представлена следующим уравнением зависимости глубины отверждения от натурального логарифма энергии [225] (уравнение 3.13):

$$C_d = D_p \ln\left(\frac{E}{E_c}\right) \quad (3.13)$$

где C_d – глубина полимеризации, D_p – фоточувствительность, E – доза излучения, E_c – критическая энергия полимеризации.

Критическая энергия фотополимеризации (E_c в мДж/см²) представляет собой минимальный уровень энергии, необходимый для преобразования суспензии из жидкой в твёрдую. Фоточувствительность (D_p в мкм или мм) описывает глубину проникновения света в фотосуспензию и, следовательно, увеличение толщины отвержденного слоя при воздействии излучения [226]. Если слой заполимеризовался недостаточно глубоко, то в процессе печати не удастся достигнуть прочного межслойного соединения, что приведёт к расслоению. С другой стороны, если засветка одного слоя будет слишком велика, то будут наблюдаться неточности и отклонения от спроектированной архитектуры. Чтобы определить наиболее подходящие параметры для процесса печати, необходимо оценить описанные выше параметры. Это можно сделать экспериментально, измерив глубину

затвердевшего фотополимера при различных значениях засветки одного слоя. В работе проводили определение глубины полимеризации с целью дальнейшего построения калибровочных графиков фоточувствительности от дозы излучения для определения необходимой дозы излучения для затвердевания и сцепления слоёв (рис. 3.78).

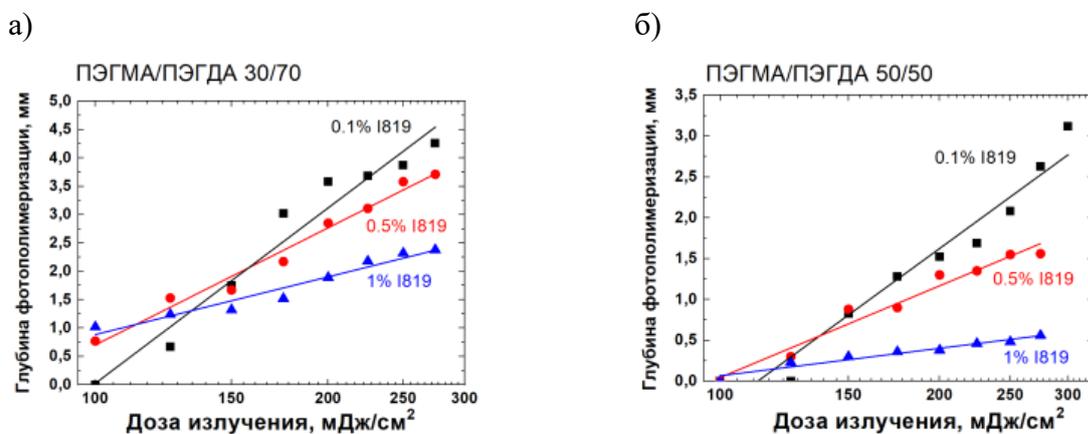


Рис. 3.78 Зависимость глубины полимеризации от дозы излучения для гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 (а) и 50/50 (б).

При увеличении содержания ПЭГДА и уменьшении количества ФИ в составе фотосuspензии наблюдалось увеличение фоточувствительности (табл. 3.16). Приемлемые значения фоточувствительности (0.4÷0.5 мм) для слоёв 100-200 мкм достигаются для состава ПЭГМА/ПЭГДА 50/50 + 1% I819 без наполнителя и введения красителей. Варьирование состава фотосuspензии позволяет получать различные значения фоточувствительности для дальнейшей печати материала. При уменьшении глубины полимеризации возможно уменьшение толщины полимеризуемого слоя и увеличение пространственного разрешения.

В работе удалось достигнуть больших степеней наполнения, что важно для биоактивных свойств материала и для улучшения прочности, однако также высокие степени наполнения затрудняют процесс печати, что связано с увеличением вязкости suspension и седиментацией частиц наполнителя. Для уменьшения оседания частиц в suspension использовали в малых количествах ПАВ, для чего изначально подбирали подходящее количество ПАВ экспериментальным методом при оценивании оседания частиц в течение нескольких минут. Результаты определения основных параметров стереолитографической 3D-печати для гидрогелей, наполненных 60 масс.% пирофосфатом магния, представлены на рис. 3.79. Расчитанные значения фоточувствительности представлены в табл. 3.16.

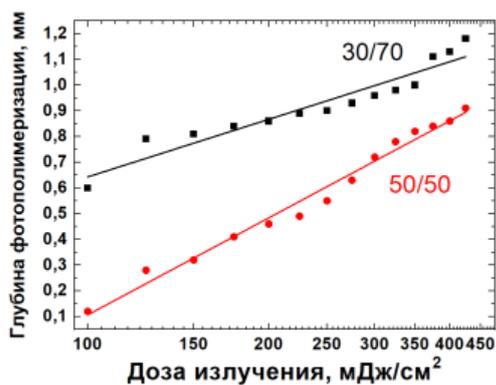


Рис. 3.79 Зависимость глубины полимеризации от дозы излучения для гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 и 50/50, наполненных 60 масс.% $Mg_2P_2O_7$.

Табл. 3.16 Значения фоточувствительности суспензий D_p и критической энергии полимеризации E_c .

Обозначение	$C_d = C_d[E]$	D_p , мм	E_c , мДж/см ²
ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 + 0.5% I819	$2.98\ln(x) - 13.03$	2.98 ± 0.06	78.96 ± 1.66
ПЭГМА/ПЭГДА 50/50 + 0.5% I819	$1.62\ln(x) - 7.42$	1.62 ± 0.06	97.42 ± 3.41
ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 + 1% I819	$1.47\ln(x) - 5.88$	1.47 ± 0.07	54.60 ± 2.78
ПЭГМА/ПЭГДА 50/50 + 1% I819	$0.48\ln(x) - 2.17$	0.48 ± 0.02	87.53 ± 4.46
ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 + 0.1% I819	$4.46\ln(x) - 20.53$	4.46 ± 0.18	99.28 ± 4.07
ПЭГМА/ПЭГДА 50/50 + 0.1% I819	$3.20\ln(x) - 15.37$	3.20 ± 0.11	121.51 ± 4.13

При наполнении фотосуспензий происходит ухудшение разрешения, что связано, главным образом, с рассеянием света на введённых частицах, поскольку фотоны начинают рассеиваться при попадании на частицы и менять своё направление, что ведёт к увеличению проецируемого изображения [227]. Однако уменьшение глубины полимеризации позволяет составить в дальнейшем полимеризуемый образец из более тонких слоёв, тем самым улучшая разрешение по вертикальной оси z . Также при введении наполнителя может происходить меньшая сшивка растущих полимерных цепей из-за подавления полимеризации мономеров за счёт ослабления светового потока, что ведёт к большей гибкости полимерных цепей за счёт увеличения длины структурных звеньев

между точками сшивки. Фото композита на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА, наполненного 60 масс.% пирофосфатом магния, представлены на рис. 3.80.

В процессе печати производили варьирование времени засветки одного слоя от 2 до 4 секунд. За счёт уменьшения времени засветки возможно увеличение пористости в композите и при времени засветки одного слоя 2 секунды удалось достигнуть сквозной пористости в материале. По мере увеличения времени излучения между слоями размер пор в композите уменьшался: средние размеры пор составляют 0.7, 0.6 и 0.4 мм для глубины полимеризации 0.42, 0.56 и 0.62 мм соответственно. На РЭМ изображениях также можно видеть слоистость печати.

В работе было проведено исследование процесса набухания композитов на основе гидрогелей со структурой гироида, напечатанных на стереолитографическом 3D-принтере, в зависимости от параметров печати (времени засветки одного слоя) и изменения заданной пористости при набухании для оценки возможного изменения размера пор от смоделированного значения (рис. 3.81). Это необходимо с точки зрения возможной дальнейшей корректировки изменения пористости при набухании такого биокompозита, в результате чего может наблюдаться отклонения от спроектированного размера пор.

При увеличении времени засветки одного слоя образцы становятся более жёсткими и менее упругими, что выражается в меньших степенях набухания и по тактильным ощущениям, что связано с большей энергией светового облучения, приводящей к большей сшивке между полимерными звеньями в процессе печати композита. При увеличении времени засветки одного слоя от 2 до 4 секунд значения СН уменьшаются на 14.6%, а пористость после набухания – на 36.8%.

Как видно на фото композита (рис. 3.82) после набухания гидрогелей не происходит заметного изменения пористости (при набухании пористость увеличилась на 7% в случае композита с временем засветки одного слоя равным 2 секунды). За счёт варьирования времени засветки возможно изменение степени набухания и пористости напечатанных структур. В процессе набухания не происходит большого изменения пористости композитов, и такое изменение размера пор можно скорректировать при проектировании архитектуры. Возможность точной настройки свойств позволяет подобрать требуемые значения набухания в зависимости от размера костного дефекта.

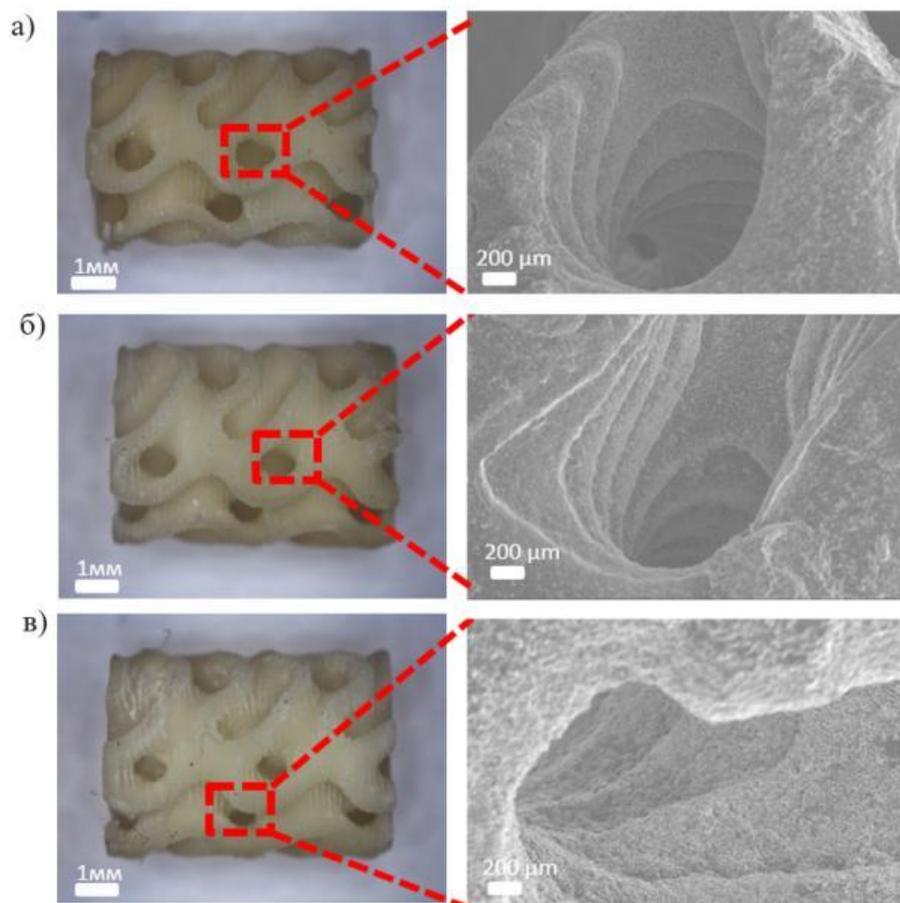


Рис. 3.80 Макро- и микрофотографии композитов со структурой гироида на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных 60 масс.% $Mg_2P_2O_7$, полученных на стереолитографическом 3D-принтере с временем засветки одного слоя 2 (а), 3 (б) и 4 (в) секунды.

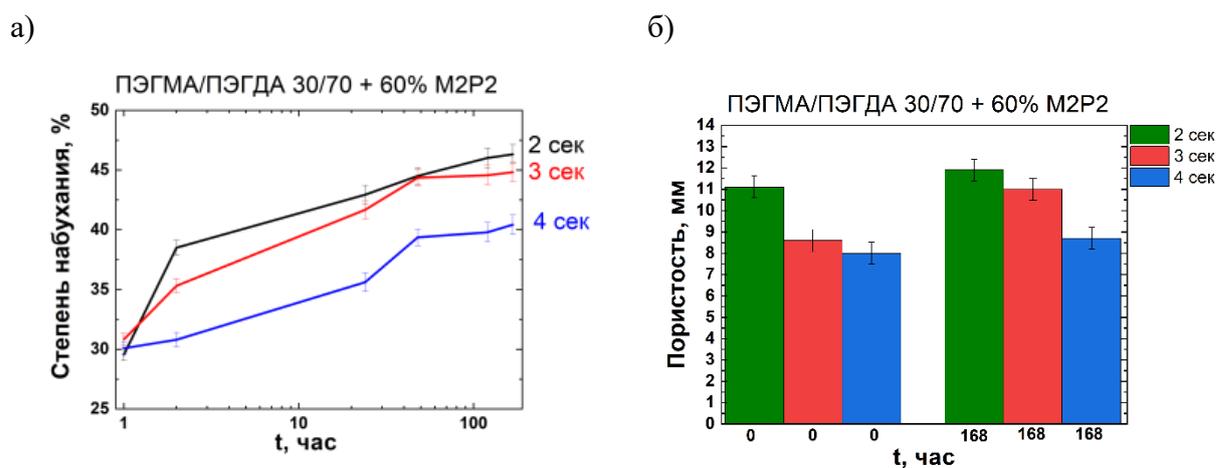


Рис. 3.81 Зависимости степени набухания (а) и пористости (б) от времени эксперимента для композитов на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных 60 масс.% $Mg_2P_2O_7$, со структурой гироида.

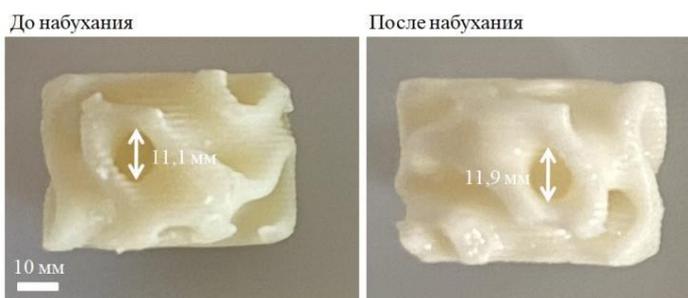


Рис. 3.82 Фото композита на основе гидрогелей ПЭГМА/ПЭГДА 30/70, наполненных 60 масс.% $Mg_2P_2O_7$, со структурой гироида до и после набухания в течение 7 дней.

продемонстрирована возможность получения гидрогелей со сложной архитектурой, точно совпадающей с моделью, на основе смеси мономеров ПЭГМА и ПЭГДА без использования красителей, которые потенциально будут оказывать цитотоксичное воздействие при их введении в организм человека. Было показано, что пористостью и способностью к набуханию можно будет управлять за счёт изменения времени светового воздействия в процессе стереолитографической печати, и продемонстрировано незначительное изменение пористости напечатанных гидрогелей после процесса набухания.

Таким образом, в работе была показана возможность достижения больших степеней наполнения для композитов на основе гидрогелей при использовании в качестве неорганического наполнителя пирофосфата магния, причём степень наполнения превышает публикуемые в литературе. Была

Заключение

В настоящее время биокерамика, гидрогели и композиционные материалы находят широкое применение в области регенеративной медицины в качестве материалов для лечения дефектов костной ткани. В ходе данной работы были впервые предложены биокерамика на основе фосфатов магния и композиционные материалы из гидрогелей, наполненные фосфатами магния, для апробирования заживления дефектов костной ткани. В литературе известны способы получения магниевых имплантатов [48, 50] и биоцементов на основе фосфатов магния [58, 60], которые характеризуются биосовместимостью и способностью резорбировать в биологической среде. Однако в случае использования магниевых сплавов наблюдается слишком высокая скорость растворения, а также выделение большого количества водорода, что ухудшает свойства имплантатов. Биоцементы лишены недостатков магниевых сплавов, однако они характеризуются долгим временем схватывания и отсутствием остеокондуктивных свойств. Полученные в работе биокерамические материалы на основе соединений системы $Mg_3(PO_4)_2 - Mg_4Na(PO_4)_3$ характеризуются рядом преимуществ: резорбция в модельной среде 0.1 М раствора лимонной кислоты с потерей массы до 5% при выдерживании в течение 28 дней, прочностью на сжатие от 10 до 38 МПа, отсутствием цитотоксичных свойств, относительной плотностью более 85% и усадкой до 12%. Использование гидрогелей в качестве полимерной матрицы для создания композиционных материалов позволило обеспечить способность таких материалов к набуханию до 40% по массе на 7 день эксперимента, достижение эластичных свойств и возможность получения макропористой структуры с использованием стереолитографического 3D-принтера. Варьирование исходного состава гидрогеля (соотношение мономеров, содержание воды) и количества наполнителя в композиционных материалах позволяет получать требуемые свойства конечного имплантата. Полученные материалы могут быть перспективны в качестве резорбируемых матриц при создании материалов для тканевой инженерии.

В результате работы были сделаны следующие выводы:

1. Фазовые отношения в системе $Mg_3(PO_4)_2 - MgNaPO_4$ характеризуется наличием двух перитектически плавящихся соединений – $MgNaPO_4$ (983°C) и $Mg_4Na(PO_4)_3$ (1140°C). Определяющее значение для создания керамических материалов имеет полиморфизм фосфатов магния-натрия. Для $MgNaPO_4$ обнаружено два фазовых превращения 1-го рода: переход при температуре 727°C ($\alpha \rightarrow \beta$) с объёмным эффектом $\Delta V/V = +3.1\%$ и также фазовый переход при температуре 890°C ($\beta \rightarrow \gamma$) с $\Delta V/V = +0.7\%$. В случае $Mg_4Na(PO_4)_3$ обнаружено превращение с малым объёмным эффектом при температуре 820°C.
2. Полиморфные превращения $MgNaPO_4$ определяют специфический режим синтеза данной фазы (термообработка при 900°C в течение 10 часов с последующим дополнительным обжигом при 600°C) и приводят к растрескиванию керамики на её основе. Для

формирования керамики более предпочтительными выглядят фазы $Mg_4Na(PO_4)_3$, $Mg_3(PO_4)_2$ и их смеси.

3. Спекание $Mg_3(PO_4)_2$, $Mg_4Na(PO_4)_3$, а также смесей $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$ следует проводить при температурах в диапазоне 800 - 1000°C; при этом возможно получение керамических материалов с относительной плотностью более 85%. Увеличение температуры спекания от 900 до 1000°C ведёт к увеличению прочности на сжатие для всех составов, причём наибольшие значения прочности (до 38 МПа) наблюдаются для керамики на основе тетрамагнийнатриевого фосфата, $Mg_4Na(PO_4)_3$, что можно связать с образованием более плотной структуры.
4. Предложенные в работе керамические материалы на основе фосфатов магния и магний-натриевых фосфатов обладают практически постоянной скоростью растворения при pH=5 в модельной среде, что позволяет их рекомендовать для дальнейших медико-биологических исследований в качестве резорбируемых материалов. На основе экспериментальных данных был выведен ряд растворимости: $Mg_3(PO_4)_2 < Mg_4Na(PO_4)_3 < MgNaPO_4 < Mg_2P_2O_7$. Керамические материалы на основе фосфатов магния не оказывают острого цитотоксического воздействия на клетки остеобластов и поддерживают пролиферацию клеток, могут быть рекомендованы для проведения дальнейших клинических испытаний *in vivo*.
5. Использование смеси мономеров ПЭГМА и ПЭГДА позволяет решить проблему высокой фоточувствительности, низких эластичных свойств и малых значений степени набухания ПЭГДА и низких прочностных свойств ПЭГМА. При использовании смеси мономеров ПЭГМА/ПЭГДА в соотношении 30/70 упругая компонента модуля сдвига достигает значений 196 кПа, что превышает более чем в 10 раз значения, характерные для ПЭГМА – 12 кПа. Добавление ПЭГМА в состав фотосуспензии позволяет снизить фоточувствительность (с нескольких мм до 0.1 мм) и достичь разрешения печати (до 100 мкм), необходимого для получения конструкций с заданной архитектурой.
6. Полученные в работе образцы гидрогелей на основе смеси мономеров ПЭГМА/ПЭГДА 30/70 и 50/50 характеризуются временем фотополимеризации до 8 минут, способностью к набуханию до 50% по массе и наименьшей хрупкостью, а также способностью к резорбции в модельной среде лимонной кислоты с потерей массы до 45% на 31 день эксперимента. С использованием установленных параметров стереолитографической печати были изготовлены прототипы композитных имплантатов на основе гидрогелей из смеси мономеров ПЭГМА/ПЭГДА, наполненных 60 масс.% $Mg_2P_2O_7$, со структурой «гиرويد» с пористостью 70%, которые продемонстрировали незначительное изменение пористости (до 7%) после набухания в течение 7 дней.

Список литературы

1. Bueno E.M., Glowacki J. Cell-free and cell-based approaches for bone regeneration // *Nature Rev. Rheumatology*. 2009. Vol. 5, № 12. P. 685-697.
2. Barakat N.A., Khalil K.A., Sheikh F.A., Omran A.M., Gaihre B., Khil S.M., Kim H.Y. Physiochemical characterizations of hydroxyapatite extracted from bovine bones by three different methods: extraction of biologically desirable HA_p // *Mater. Sci. and Eng.: C*. 2008. Vol. 28, № 8. P. 1381-1387.
3. Vallet-Regi M., González-Calbet J.M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues // *Progress in solid state chem.* 2004. Vol. 32, № 1. P. 1-31.
4. Резвова М.А., Овчаренко Е.А., Глушкова Т.В., Кудрявцева Ю.А., Барбараш Л.С. Оценка резистентности к кальцификации ксеноперикарда, обработанного полигидроксисоединениями // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2021. Т. 23, № 1. С. 75-83.
5. Combes C., Cazalbou S., Rey C. Apatite biominerals // *Minerals*. 2016. Vol. 6, № 2. P. 34.
6. Котельников Г.П., Колсанов А.В., Волова Л.Т., Трунин Д.А., Попов Н.В., Николаенко А.Н., Степанов Г.В. Технология производства персонифицированного реконструктивного аллогенного костного имплантата // *Хирургия. Журнал им. НИ Пирогова*. 2019. № 3. С. 65-72.
7. Mailoo V.J., Srinivas V., Turner J., Fraser W.D. Beware of bone pain with bisphosphonates // *BMJ Case Reports CP*. 2019. Vol. 12, № 3. e225385.
8. Hanson B., van der Werken C., Stengel D. Surgeons' beliefs and perceptions about removal of orthopaedic implants // *BMC Musculoskeletal disorders*. 2008. Vol. 9, № 1.
9. Aludden H.C., Mordenfeld A., Hallman M., Dahlin C., Jensen T. Lateral ridge augmentation with Bio-Oss alone or Bio-Oss mixed with particulate autogenous bone graft: a systematic review // *Int. J. Oral and Maxillofacial Surg.* 2017. Vol. 46, № 8. P. 1030-1038.
10. Sakkas A., Schramm A., Winter K., Wilde F. Risk factors for post-operative complications after procedures for autologous bone augmentation from different donor sites // *J. Cranio-Maxillofacial Surg.* 2018. Vol. 46, № 2. P. 312-322.
11. Venet L., Perriat M., Mangano F.G., Fortin T. Horizontal ridge reconstruction of the anterior maxilla using customized allogeneic bone blocks with a minimally invasive technique-a case series // *BMC Oral Health*. 2017. Vol. 17.

12. Benwood C., Chrenek J., Kirsch R.L., Masri N.Z., Richards H., Teetzen K., Willerth S.M. Natural biomaterials and their use as bioinks for printing tissues // *Bioengineering*. 2021. Vol. 8, № 2. P. 27.
13. Yang Y., Wang G., Liang H., Gao C., Peng S., Shen L., Shuai C. Additive manufacturing of bone scaffolds // *Int. J. Bioprinting*. 2019. Vol. 5, № 1. P. 1-25.
14. Watson G.S., Green D.W., Schwarzkopf L., Li X., Cribb B.W., Myhra S., Watson J.A. A gecko skin micro/nano structure—A low adhesion, superhydrophobic, anti-wetting, self-cleaning, biocompatible, antibacterial surface // *Acta Biomater*. 2015. Vol. 21. P. 109-122.
15. Gazzano M., Rubini K., Bigi A., Boanini E. Strontium-substituted α -TCP: structure, stability, and reactivity in solution // *Cryst. Growth & Design*. 2023. Vol. 23, № 8. P. 5690-5698.
16. Es-saddik M., Laasri S., Taha M., Laghzizil A., Guidara A., Chaari K., et al. Effect of the surface chemistry on the stability and mechanical properties of the zirconia-hydroxyapatite bioceramic // *Surf. and Interf.* 2021. Vol. 23. 100980.
17. Yuan H., Yang Z., de Bruijn J.D., de Groot K., Zhang X. Material-dependent bone induction by calcium phosphate ceramics: a 2.5-year study in dog // *Biomaterials*. 2001. Vol. 22, № 19. P. 2617-2623.
18. Christoffersen J., Christoffersen M.R., Kolthoff N., Bärenholdt O. Effects of strontium ions on growth and dissolution of hydroxyapatite and on bone mineral detection // *Bone*. 1997. Vol. 20, № 1. P. 47-54.
19. Kanter B., Geffers M., Ignatius A., Gbureck U. Control of in vivo mineral bone cement degradation // *Acta Biomater*. 2014. Vol. 10, № 7. P. 3279-3287.
20. Hench L.L., Polak J.M. Third-generation biomedical materials // *Science*. 2002. Vol. 295, № 5557. P. 1014-1017.
21. Alsberg E., von Recum H.A., Mahoney M.J. Environmental cues to guide stem cell fate decision for tissue engineering applications // *Expert opinion on biol. therapy*. 2006. Vol. 6, № 9. P. 847-866.
22. Путляев В.И., Сафронова Т.В. Новое поколение кальций фосфатных биоматериалов: роль фазового и химического состава // *Стекло и керамика*. 2006. Т. 3. С. 285–297.
23. Wolf F I., Cittadini A. Chemistry and biochemistry of magnesium // *Molec. aspects of med.* 2003. Vol. 24, № 1. P. 3-9.

24. Maguire M.E., Cowan J.A. Magnesium chemistry and biochemistry // *Biometals*. 2002. Vol. 15, № 3. P. 203-210.
25. Burstein L.S., Boskey A.L., Tannenbaum P.J., Posner A.S., Mandel I.D. The crystal chemistry of submandibular and parotid salivary gland stones // *J. Oral Pathology & Med.* 1979. Vol. 8, № 5. P. 284-291.
26. Salimi M.H., Heughebaert J.C., Nancollas G.H. Crystal growth of calcium phosphates in the presence of magnesium ions // *Langmuir*. 1985. Vol. 1, № 1. P. 119-122.
27. Jahnen-Dechent W., Ketteler M. Magnesium basics // *Clin. Kidney J.* 2012. Vol. 5 (Suppl_1). P. i3-i14.
28. Bertran O., Valle L.J., Revilla-López G., Rivas M., Chaves G., Casas M.T., et al. Synergistic approach to elucidate the incorporation of magnesium ions into hydroxyapatite // *Chemistry–A Europ. J.* 2015. Vol. 21, № 6. P. 2537-2546.
29. Diba M., Tapia F., Boccaccini A.R., Strobel L.A. Magnesium-containing bioactive glasses for biomedical applications // *Int. J. Appl. Glass Sci.* 2012. Vol. 3, № 3. P. 221-253.
30. Simon D.B., Lu Y., Choate K.A., Velazquez H., Al-Sabban E., Praga M., et al. Paracellin-1, a renal tight junction protein required for paracellular Mg²⁺ resorption // *Science*. 1999. Vol. 285, № 5424. P. 103-106.
31. Chen Z., Zhang W., Wang M., Backman L.J., Chen J. Effects of zinc, magnesium, and iron ions on bone tissue engineering // *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2022. Vol. 8, № 6. P. 2321-2335.
32. Rude R.K., Gruber H.E., Wei L.Y., Frausto A., Mills B.G. Magnesium deficiency: effect on bone and mineral metabolism in the mouse // *Calcified tissue int.* 2003. Vol. 72, № 1. P. 32-41.
33. Gronowicz G., McCarthy M.B. Response of human osteoblasts to implant materials: Integrin-mediated adhesion // *J. Orthopaedic Res.* 1996. Vol. 14, № 6. P. 878-887.
34. Wu L., Luthringer B.J., Feyerabend F., Schilling A.F., Willumeit R. Effects of extracellular magnesium on the differentiation and function of human osteoclasts // *Acta Biomater.* 2014. Vol. 10, № 6. P. 2843-2854.
35. Mammoli F., Castiglioni S., Parenti S., Cappadone C., Farruggia G., Iotti S., et al. Magnesium is a key regulator of the balance between osteoclast and osteoblast differentiation in the presence of vitamin D₃ // *Int. J. Molecular Sci.* 2019. Vol. 20, № 2. P. 385.

36. Yoshizawa S., Brown A., Barchowsky A., Sfeir C. Magnesium ion stimulation of bone marrow stromal cells enhances osteogenic activity, simulating the effect of magnesium alloy degradation // *Acta Biomater.* 2014. Vol. 10, № 6. P. 2834-2842.
37. Zhang Y., Xu J., Ruan Y.C., Yu M.K., O'Laughlin M., Wise H., et al. Implant-derived magnesium induces local neuronal production of CGRP to improve bone-fracture healing in rats // *Nature Med.* 2016. Vol. 22, № 10. P. 1160-1169.
38. Wolf F.I., Trapani V. Cell (patho) physiology of magnesium // *Clinical Sci.* 2008. Vol. 114, № 1. P. 27-35.
39. La Fontaine A., Zavgorodniy A., Liu H., Zheng R., Swain M., Cairney J. Atomic-scale compositional mapping reveals Mg-rich amorphous calcium phosphate in human dental enamel // *Sci. Advances.* 2016. Vol. 2, № 9. e1601145.
40. Barboni M., Boehnke P., Keller B., Kohl I.E., Schoene B., Young E.D., McKeegan K.D. Early formation of the Moon 4.51 billion years ago // *Sci. Advances.* 2017. Vol. 3, № 1. e1602365.
41. Gordon L.M., Cohen M.J., MacRenaris K.W., Pasteris J.D., Seda T., Joester D. Amorphous intergranular phases control the properties of rodent tooth enamel // *Science.* 2015. Vol. 347, № 6223. P. 746-750.
42. Boskey A.L., Posner A.S. Magnesium stabilization of amorphous calcium phosphate: a kinetic study // *Mater. Res. Bulletin.* 1974. Vol. 9, № 7. P. 907-916.
43. Bachra B.N., Fischer H.R. The effect of some inhibitors on the nucleation and crystal growth of apatite // *Calcified Tissue Res.* 1969. Vol. 3, № 1. P. 348-357.
44. Kibalczyk W., Christoffersen J., Christoffersen M.R., Zielenkiewicz A., Zielenkiewicz W. The effect of magnesium ions on the precipitation of calcium phosphates // *J. Cryst. Growth.* 1990. Vol. 106, № 2-3. P. 355-366.
45. Abbona F., Baronnet A.A XRD and TEM study on the transformation of amorphous calcium phosphate in the presence of magnesium // *J. Cryst. Growth.* 1996. Vol. 165, № 1-2. P. 98-105.
46. Eanes E.D., Posner A.S. Intermediate phases in the basic solution preparation of alkaline earth phosphates // *Calcified Tissue Res.* 1968. Vol. 2, № 1. P. 38-48.
47. Yang X., Xie B., Wang L., Qin Y., Henneman Z.J., Nancollas G.H. Influence of magnesium ions and amino acids on the nucleation and growth of hydroxyapatite // *CrystEngComm.* 2011. Vol. 13, № 4. P. 1153-1158.

48. Rude R.K., Singer F.R. Magnesium Deficiency and Excess // *Annu. Rev. Med.* 1981. Vol. 32, № 1. P. 245–259.
49. Ang H.Q., Abbott T.B., Zhu S., Gu C., Easton M.A. Proof stress measurement of die-cast magnesium alloys // *Mater. & Design.* 2016. Vol. 112. P. 402-409.
50. Wang X.J., Xu D.K., Wu R.Z., Chen X.B., Peng Q.M., Jin L., et al. What is going on in magnesium alloys? // *J. Mater. Sci. & Techn.* 2018. Vol. 34, № 2. P. 245-247.
51. Yang Y., He C., Dianyu E., Yang W., Qi F., Xie D., et al. Mg bone implant: Features, developments and perspectives // *Mater. & Design.* 2020. Vol. 185. 108259.
52. Zhang S., Zhang X., Zhao C., Li J., Song Y., Xie C., et al. Research on an Mg–Zn alloy as a degradable biomaterial // *Acta Biomater.* 2010. Vol. 6, № 2. P. 626-640.
53. Myrissa A., Agha N.A., Lu Y., Martinelli E., Eichler J., Szakacs G., et al. In vitro and in vivo comparison of binary Mg alloys and pure Mg // *Mater. Sci. and Eng.: C.* 2016. Vol. 61. P. 865-874.
54. Waddington C., Carey M.E., Boinett C.J., Higginson E., Veeraraghavan B., Baker S. Exploiting genomics to mitigate the public health impact of antimicrobial resistance // *Genome Med.* 2022. Vol. 14.
55. Shao Y., Zeng R.C., Li S.Q., Cui L.Y., Zou Y.H., Guan S.K., Zheng Y.F. Advance in antibacterial magnesium alloys and surface coatings on magnesium alloys: a review // *Acta Metallurgica Sinica (English Letters).* 2020. Vol. 33, № 5. P. 615-629.
56. Nabiyouni M., Brückner T., Zhou H., Gbureck U., Bhaduri S.B. Magnesium-based bioceramics in orthopedic applications // *Acta Biomater.* 2018. Vol. 66. P. 23-43.
57. Yang N., Shi C., Yang J., Chang Y. Research progresses in magnesium phosphate cement–based materials // *J. Mater. in Civil Engineering.* 2014. Vol. 26, № 10. 04014071.
58. Mestres G., Abdolhosseini M., Bowles W., Huang S. H., Aparicio C., Gorr S.U., Ginebra M.P. Antimicrobial properties and dentin bonding strength of magnesium phosphate cements // *Acta Biomater.* 2013. Vol. 9, № 9. P. 8384-8393.
59. Kaiser F., Schröter L., Stein S., Krüger B., Weichhold J., Stahlhut P., et al. Accelerated bone regeneration through rational design of magnesium phosphate cements // *Acta Biomater.* 2022. Vol. 145. P. 358-371.
60. Mestres G., Ginebra M.P. Novel magnesium phosphate cements with high early strength and antibacterial properties // *Acta Biomater.* 2011. Vol. 7, № 4. P. 1853-1861.

61. Ewald A., Helmschrott K., Knebl G., Mehrban N., Grover L.M., Gbureck U. Effect of cold-setting calcium-and magnesium phosphate matrices on protein expression in osteoblastic cells // *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomaterials*. 2011. Vol. 96, № 2. P. 326-332.
62. Lv S., Qu T., Al-Ward H., Mu L., Qiu H., Zhang Y. Influence of monocalcium phosphate on the properties of bioactive magnesium phosphate bone cement for bone regeneration // *Materials*. 2022. Vol. 15, № 6. 2293.
63. Liu W., Huan Z., Wu C., Zhou Z., Chang J. High-strength calcium silicate-incorporated magnesium phosphate bone cement with osteogenic potential for orthopedic application // *Composites part B: Engineering*. 2022. Vol. 247. 110324.
64. Wu F., Su J., Wei J., Guo H., Liu C. Injectable bioactive calcium–magnesium phosphate cement for bone regeneration // *Biomed. Mater.* 2008. Vol. 3, № 4. 044105.
65. Gentile P., Frongia M.E., Cardellach M., Miller C.A., Stafford G.P., Leggett G.J., Hatton P.V. Functionalised nanoscale coatings using layer-by-layer assembly for imparting antibacterial properties to polylactide-co-glycolide surfaces // *Acta Biomater.* 2015. Vol. 21. P. 35-43.
66. Yazdimamaghani M., Razavi M., Vashae D., Tayebi L. Development and degradation behavior of magnesium scaffolds coated with polycaprolactone for bone tissue engineering // *Mater. Letters*. 2014. Vol. 132. P. 106-110.
67. Gupta P., Adhikary M., Kumar M., Bhardwaj N., Mandal B.B. Biomimetic, osteoconductive non-mulberry silk fiber reinforced tricomposite scaffolds for bone tissue engineering // *ACS Appl. Mater. & Interfaces*. 2016. Vol. 8, № 45. P. 30797-30810.
68. Wen C.E., Yamada Y., Shimojima K., Chino Y., Hosokawa H., Mabuchi M. Compressibility of porous magnesium foam: dependency on porosity and pore size // *Mater. Letters*. 2004. Vol. 58, № 3-4. P. 357-360.
69. Jia G., Chen C., Zhang J., Wang Y., Yue R., Luthringer-Feyerabend B. J., et al. In vitro degradation behavior of Mg scaffolds with three-dimensional interconnected porous structures for bone tissue engineering // *Corrosion Sci.* 2018. Vol. 144. P. 301-312.
70. Luo X., Cui X.T. Electrochemical deposition of conducting polymer coatings on magnesium surfaces in ionic liquid // *Acta Biomater.* 2011. Vol. 7, № 1. P. 441-446.
71. Li Y., Zhou J., Pavanram P., Leeftang M.A., Fockaert L.I., Pouran B., et al. Additively manufactured biodegradable porous magnesium // *Acta Biomater.* 2018. Vol. 67. P. 378-392.
72. Zhang S., Li L., Lv X. Synthesis and characterization of a novel $Mg_3(PO_4)_2$ ceramic with low dielectric constant // *J. Mater. Sci.: Mater. in Electronics*. 2017. Vol. 28, № 2. P. 1620-1623.

73. Zhou H., Bhaduri S. Novel microwave synthesis of amorphous calcium phosphate nanospheres // *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomaterials*. 2012. Vol. 100, № 4. P. 1142-1150.
74. Yasukawa A., Ouchi S., Kandori K., Ishikawa T. Preparation and characterization of magnesium–calcium hydroxyapatites // *J. Mater. Chem*. 1996. Vol. 6, № 8. P. 1401-1405.
75. Boanini E., Gazzano M., Bigi A. Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature // *Acta Biomater*. 2010. Vol. 6, № 6. P. 1882-1894.
76. Rajkumar P., Sarma B.K. Role of Zn and Mg substitutions on the mechanical behaviour of biomimetic hydroxyapatite and insight of the emergence of hydroxyapatite-ZnO nanocomposite // *Mater. Characterization*. 2021. Vol. 176. 111107.
77. Xue W., Dahlquist K., Banerjee A., Bandyopadhyay A., Bose S. Synthesis and characterization of tricalcium phosphate with Zn and Mg based dopants // *J. Mater. Sci.: Mater. in Med*. 2008. Vol. 19, № 7. P. 2669-2677.
78. Frasnelli M., Pedranz A., Biesuz M., Dirè S., Sglavo V.M. Flash sintering of Mg-doped tricalcium phosphate (TCP) nanopowders // *J. Europ. Ceram. Soc*. 2019. Vol. 39, № 13. P. 3883-3892.
79. Frasnelli M., Sglavo V.M. Effect of Mg²⁺ doping on beta–alpha phase transition in tricalcium phosphate (TCP) bioceramics // *Acta Biomater*. 2016. Vol. 33. P. 283-289.
80. Prymak O., Vagiaki L.E., Buyakov A., Kulkov S., Epple M., Chatzinikolaidou M. Porous zirconia/magnesia ceramics support osteogenic potential in vitro // *Materials*. 2021. Vol. 14, № 4. 1049.
81. Ding H., Pan H., Xu X., Tang R. Toward a detailed understanding of magnesium ions on hydroxyapatite crystallization inhibition // *Cryst. Growth & Design*. 2014. Vol. 14, № 2. P. 763-769.
82. Boukhobza A., Brioua M., Benaicha S., Fedaoui K. Biomechanical characterization of failure the 316L stainless steel for femoral compression plates // *J. Biomimetics, Biomaterials and Biomed. Engineering*. 2017. Vol. 34. P. 68-74.
83. Shuai C., Li S., Peng S., Feng P., Lai Y., Gao C. Biodegradable metallic bone implants // *Mater. Chem. Frontiers*. 2019. Vol. 3, № 4. P. 544-562.
84. Mariño F.T., Torres J., Tresguerres I., Jerez L.B., Cabarcos E.L. Vertical bone augmentation with granulated brushite cement set in glycolic acid // *J. Biomedical Mater. Res. Part A*. 2007. Vol. 81, № 1. P. 93-102.

85. Detsch R., Mayr H., Ziegler G. Formation of osteoclast-like cells on HA and TCP ceramics // *Acta Biomater.* 2008. Vol. 4, № 1. P. 139-148.
86. Bowen P.K., Drelich A., Drelich J., Goldman J. Rates of in vivo (arterial) and in vitro biocorrosion for pure magnesium // *J. Biomedical Mater. Res. Part A.* 2015. Vol. 103, № 1. P. 341-349.
87. Patil S.S., Misra R.D., Gao M., Ma Z., Tan L., Yang K. Bioactive coating on a new Mg-2Zn-0.5 Nd alloy: modulation of degradation rate and cellular response // *Mater. Techn.* 2019. Vol. 34, № 7. P. 394-402.
88. Song G.L., Atrens A. Corrosion mechanisms of magnesium alloys // *Adv. Engineering Mater.* 1999. Vol. 1, № 1. P. 11-33.
89. Shuai C., Yang Y., Wu P., Lin X., Liu Y., Zhou Y., et al. Laser rapid solidification improves corrosion behavior of Mg-Zn-Zr alloy // *J. Alloys and Compounds.* 2017. Vol. 691. P. 961-969.
90. Song Y., Shan D., Han E.H. Pitting corrosion of a rare earth Mg alloy GW93 // *J. Mater. Sci. & Techn.* 2017. Vol. 33, № 9. P. 954-960.
91. Klammert U., Ignatius A., Wolfram U., Reuther T., Gbureck U. In vivo degradation of low temperature calcium and magnesium phosphate ceramics in a heterotopic model // *Acta Biomater.* 2011. Vol. 7, № 9. P. 3469-3475.
92. Chau C., Qiao F., Li Z. Potentiometric study of the formation of magnesium potassium phosphate hexahydrate // *J. Mater. in Civil Engineering.* 2012. Vol. 24, № 5. P. 586-591.
93. Brown P.W., Gulick J., Dumm J. The System MgO—P₂O₅—H₂O at 25° C // *J. American Ceram. Soc.* 1993. Vol. 76, № 6. P. 1558-1562.
94. Mousa, S. Study on synthesis of magnesium phosphate materials // *Phosphorus Res. Bulletin.* 2010. Vol. 24. P. 16-21.
95. Chau C.K., Qiao F., Li Z. Microstructure of magnesium potassium phosphate cement // *Construction and Building Mater.* 2011. Vol. 25, № 6. P. 2911-2917.
96. Chen X., Ou J., Wei Y., Huang Z., Kang Y., Yin G. Effect of MgO contents on the mechanical properties and biological performances of bioceramics in the MgO—CaO—SiO₂ system // *J. Mater. Sci.: Mater. in Med.* 2010. Vol. 21. P. 1463-1471.
97. Abdel-Hameed S.A., El-Kheshen A.A. Thermal and chemical properties of diopside-wollastonite glass-ceramics in the SiO₂—CaO—MgO system from raw materials // *Ceram. Int.* 2003. Vol. 29, № 3. P. 265-269.

98. Majling J. Phase equilibriums study in the system $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2\text{-Na}_3\text{PO}_4$ // Chem. Papers. 1973. Vol. 27, № 6. P. 732-736.
99. Ust'yantsev V.M., Tretnikova M.G., Kelareva E.I. The system $\text{Na}_3\text{PO}_4\text{-Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ // Izv. Akad. Nauk SSSR, Neorg. Mater. 1976. Vol. 12, № 10. P. 1894-1896.
100. Ust'yantsev V.M., Tretnikova M.G. Phase diagrams of the partial systems $\text{NaMgPO}_4\text{-MgO}$, $\text{NaCaPO}_4\text{-MgO}$, $\text{NaMgPO}_4\text{-NaCaPO}_4$, $\text{Na}_2\text{CaMg}(\text{PO}_4)_2\text{-MgO}$, $\text{NaCaPO}_4\text{-Mg}_2\text{SiO}_4$ and $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-Mg}_2\text{SiO}_4$ // Inorg. Mater. 1976. Vol. 12, № 10, P. 1559-1561.
101. Brunet F., Chopin C., Elfakir A., Quarton M. Crystal and powder XRD data of $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2\text{-III}$: High-temperature and high-pressure form // Powder Diffraction. 1995. Vol. 10, № 4. P. 293-295.
102. Kaygili O., Tatar C., Yakuphanoglu F. Structural and dielectrical properties of $\text{Mg}_3\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ bioceramics obtained from hydroxyapatite by sol-gel method // Ceram. Int. 2012. Vol. 38, № 7. P. 5713-5722.
103. Florea D.A. et al. Design, characterization, and antibacterial performance of MAPLE-deposited coatings of magnesium phosphate-containing silver nanoparticles in biocompatible concentrations // Inter. J. Molecular Sci. 2022. Vol. 23, № 14. 7910.
104. Hu X., Liu L., Zhai S. The structure-Raman spectra relationships of $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ polymorphs: A comprehensive experimental and DFT study // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2021. Vol. 245. 118906.
105. Vorndran E., Wunder, K., Moseke C., Biermann I., Müller F.A., Zorn K., Gbureck U. Hydraulic setting $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ powders for 3D printing technology // Advances in Appl. Ceram. 2011. Vol. 110, № 8. P. 476-481.
106. Ando J. Phase diagrams of $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ and $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-CaNaPO}_4$ systems // Bulletin of the Chem. Soc. of Japan. 1958. Vol. 31, № 2. P. 201-205.
107. Alkemper J., Fuess H. The crystal structures of NaMgPO_4 , $\text{Na}_2\text{CaMg}(\text{PO}_4)_2$ $\text{Na}_{18}\text{Ca}_{13}\text{Mg}_5(\text{PO}_4)_{18}$: new examples for glaserite related structures // Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Mater. 1998. Vol. 213, № 5. P. 282-287.
108. Podhajska-Kaźmierczak T. Phase equilibria in the ternary system: $\text{MgO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$: Partial system: $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2\text{-Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3\text{-Na}_4\text{P}_2\text{O}_7\text{-Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ // Solid State Sci. 2000. Vol. 2, № 4. P. 489-493.
109. Majling J., Hanic F. Phase coexistence in the system $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-Na}_3\text{PO}_4$ // Chem. Zvesti. 1976. Vol. 30, № 2. P. 145-152.

110. Buwalda S.J., Boere K.W., Dijkstra P.J., Feijen J., Vermonden T., Hennink W.E. Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials // *J. Controlled Release*. 2014. Vol. 190. P. 254-273.
111. Choi J.R., Yong K.W., Tang R., Gong Y., Wen T., Yang H., et al. Lateral flow assay based on paper–hydrogel hybrid material for sensitive point-of-care detection of dengue virus // *Adv. Healthcare Mater.* 2017. Vol. 6, № 1. 1600920.
112. Chen X., Fan M., Tan H., Ren B., Yuan G., Jia Y., Li J., Xiong D., Xing X., Niu X., Hu, X. Magnetic and self-healing chitosan-alginate hydrogel encapsulated gelatin microspheres via covalent cross-linking for drug delivery // *Mat. Sci. and Eng.: C*. 2019. Vol. 101. P. 619-629.
113. Xu J., Wong C.W., Hsu S.H. An injectable, electroconductive hydrogel/scaffold for neural repair and motion sensing // *Chem. Mater.* 2020. Vol. 32, № 24. P. 10407-10422.
114. Ozbolat I.T., Hospodiuk M. Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting // *Biomaterials*. 2016. Vol. 76. P. 321-343.
115. Tian B., Hua S., Tian Y., Liu J. Chemical and physical chitosan hydrogels as prospective carriers for drug delivery: a review // *J. Mater. Chem. B*. 2020. Vol. 8, № 44. P. 10050-10064.
116. Lu P., Yang Y., Liu R., Liu X., Ma J., Wu M., Wang S. Preparation of sugarcane bagasse nanocellulose hydrogel as a colourimetric freshness indicator for intelligent food packaging // *Carbohydrate Polymers*. 2020. Vol. 249. 116831.
117. Takeno H., Inoguchi H., Hsieh W.C. Mechanical and structural properties of cellulose nanofiber/poly (vinyl alcohol) hydrogels cross-linked by a freezing/thawing method and borax // *Cellulose*. 2020. Vol. 27, № 8. P. 4373-4387.
118. Im S.H., Im D.H., Park S.J., Chung J.J., Jung Y., Kim S.H. Stereocomplex polylactide for drug delivery and biomedical applications: A review // *Molecules*. 2021. Vol. 26, № 10. 2846.
119. Maiz-Fernández S., Guaresti O., Pérez-Álvarez L., Ruiz-Rubio L., Gabilondo N., Vilas-Vilela J.L., Lanceros-Mendez S. β -Glycerol phosphate/genipin chitosan hydrogels: A comparative study of their properties and diclofenac delivery // *Carbohydrate Polymers*. 2020. Vol. 248. 116811.
120. Andrianov A.K., Payne L.G. Polyphosphazene hydrogel microspheres for protein delivery // *Microparticulate Syst. for the Deliv. Proteins and Vaccines*. 2020. P. 127-147.
121. Lopez C.G., Richtering W. Oscillatory rheology of carboxymethyl cellulose gels: Influence of concentration and pH // *Carbohydrate Polymers*. 2021. Vol. 267. 118117.

122. Sharma G., Kumar A., Naushad M., García-Peñas A., Ala'a H., Ghfar A.A., et al. Fabrication and characterization of Gum arabic-cl-poly (acrylamide) nanohydrogel for effective adsorption of crystal violet dye // *Carbohydrate Polymers*. 2018. Vol. 202. P. 444-453.
123. Augustine R., Alhussain H., Zahid A.A., Rehman S.R.U., Ahmed R., Hasan A. Crosslinking strategies to develop hydrogels for biomedical applications // *Nano Hydrogels*. 2021. P. 21-57.
124. Tan L.S., Tan H.L., Deekonda K., Wong Y.Y., Muniyandy S., Hashim K., Pushpamalar J. Fabrication of radiation cross-linked diclofenac sodium loaded carboxymethyl sago pulp/chitosan hydrogel for enteric and sustained drug delivery // *Carbohydrate Polymer Techn. and Appl.* 2021. Vol. 2. 100084.
125. Karabulut H.R., Mert B., Altinkok C., Karatavuk A.O., Acik G., Turkyilmaz M. Synthesis of new bio-based hydrogels derived from bile acids by free-radical photopolymerization // *Polymers for Adv. Techn.* 2021. Vol. 32, № 1. P. 220-227.
126. Sharma S., Jain P., Tiwari S. Dynamic imine bond based chitosan smart hydrogel with magnified mechanical strength for controlled drug delivery // *Int. J. Biolog. Macromolecules*. 2020. Vol. 160. P. 489-495.
127. Milleret V., Simona B.R., Lienemann P.S., Vörös J., Ehrbar M. Electrochemical control of the enzymatic polymerization of PEG hydrogels: formation of spatially controlled biological microenvironments // *Adv. Healthcare Mater.* 2014. Vol. 3, № 4. P. 508-514.
128. Zhao L., Mitomo H., Zhai M., Yoshii F., Nagasawa N., Kume T. Synthesis of antibacterial PVA/CM-chitosan blend hydrogels with electron beam irradiation // *Carbohydrate Polymers*. 2003. Vol. 53, № 4. P. 439-446.
129. Zhu J., Marchant R.E. Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds // *Expert Rev. Med. Devices*. 2011. Vol. 8, № 5. P. 607-626.
130. Schultz K.M., Anseth K.S. Monitoring degradation of matrix metalloproteinases-cleavable PEG hydrogels via multiple particle tracking microrheology // *Soft Matter*. 2013. Vol. 9, № 5. P. 1570-1579.
131. Bettinger C.J., Bruggeman J.P., Borenstein J.T., Langer R.S. Amino alcohol-based degradable poly (ester amide) elastomers // *Biomaterials*. 2008. Vol. 29, № 15. P. 2315-2325.
132. Hartl L., Zach S., Seidl-Seiboth V. Fungal chitinases: diversity, mechanistic properties and biotechnological potential // *App. Microbiology and Biotechnology*. 2012. Vol. 93, № 2. P. 533-543.

133. Gohil S.V., Padmanabhan A., Kan H.M., Khanal M., Nair L.S. Degradation-dependent protein release from enzyme sensitive injectable glycol chitosan hydrogel // *Tissue Engineering Part A*. 2021. Vol. 27, № 13-14. P. 867-880.
134. Kalyanam S., Toohey K.S., Insana M.F. Modeling biphasic hydrogels under spherical indentation: Application to soft tissues // *Mechanics of Mater.* 2021. 103987.
135. Oyen M.L. Mechanical characterization of hydrogel materials // *Int. Mater. Rev.* 2014. Vol. 59, № 1. P. 44-59.
136. Liparoti S., Speranza V., Marra F. Alginate hydrogel: The influence of the hardening on the rheological behavior // *J. Mech. Behavior of Biomed. Mater.* 2021. Vol. 116. 104341.
137. Bai X., Lü S., Cao Z., Gao C., Duan H., Xu X., et al. Self-reinforcing injectable hydrogel with both high water content and mechanical strength for bone repair // *Chem. Engineering J.* 2016. Vol. 288. P. 546-556.
138. Zheng Y., Zhang L., Duan B. Anisotropic chitosan/tunicate cellulose nanocrystals hydrogel with tunable interference color and acid-responsiveness // *Carbohydrate Polymers.* 2022. Vol. 295. 119866.
139. Shin Y., Choi J., Na J.H., Kim S.Y. Thermally triggered soft actuators based on a bilayer hydrogel synthesized by gamma ray irradiation // *Polymer.* 2021. Vol. 212. 123163
140. Subramani R., Izquierdo-Alvarez A., Bhattacharya P., Meerts M., Moldenaers P., Ramon H., Van Oosterwyck H. The influence of swelling on elastic properties of polyacrylamide hydrogels // *Frontiers in Mater.* 2020. Vol. 7. 212.
141. Kamata H., Akagi Y., Kayasuga-Kariya Y., Chung U.I., Sakai T. “Nonswellable” hydrogel without mechanical hysteresis // *Science.* 2014. Vol. 343, № 6173. P. 873-875.
142. Zhang Y., An D., Pardo Y., Chiu A., Song W., Liu Q., et al. High-water-content and resilient PEG-containing hydrogels with low fibrotic response // *Acta Biomater.* 2017. Vol. 53. P. 100-108.
143. Zhu L., Zhang X., Shao Z., Guo M. Highly stretchable, compressible, resilient, and equilibrium swelling hydrogels with elastic nano junctions // *Macromolecular Mater. and Engineering.* 2020. Vol. 305, № 8. 2000205.
144. Lipton J.I., Cutler M., Nigl F., Cohen D., Lipson H. Additive manufacturing for the food industry // *Trends in Food Sci. & Techn.* 2015. Vol. 43, № 1. P. 114-123.

145. Yoo B., Ko H., Chun S. Prosumption perspectives on additive manufacturing: reconfiguration of consumer products with 3D printing // *Rapid Prototyping J.* 2016. Vol. 22, № 4. P. 691-705.
146. Haleem A., Javaid M., Khan R.H., Suman R. 3D printing applications in bone tissue engineering // *J. Clin. Orthopaedics and Trauma.* 2020. Vol. 11. P. S118-S124.
147. Chatterjee K., Lin-Gibson S., Wallace W.E., Parekh S.H., Lee Y.J., Cicerone M.T., et al. The effect of 3D hydrogel scaffold modulus on osteoblast differentiation and mineralization revealed by combinatorial screening // *Biomaterials.* 2010. Vol. 31, № 19. P. 5051-5062.
148. Cooke M.E., Jones S.W., Ter Horst B., Moiemmen N., Snow M., Chouhan G., et al. Structuring of hydrogels across multiple length scales for biomedical applications // *Adv. Mater.* 2018. Vol. 30, № 14. 1705013.
149. Hikita A., Chung U.I., Hoshi K., Takato T. Bone regenerative medicine in oral and maxillofacial region using a three-dimensional printer // *Tissue Engineering Part A.* 2017. Vol. 23, № 11-12. P. 515-521.
150. Schmidleithner C., Kalaskar D.M. Stereolithography // *IntechOpen.* 2018. P. 1-22.
151. Barry III R.A., Shepherd R.F., Hanson J.N., Nuzzo R.G., Wiltzius P., Lewis J.A. Direct-write assembly of 3D hydrogel scaffolds for guided cell growth // *Adv. Mater.* 2009. Vol. 21, № 23. P. 2407-2410.
152. Hinczewski C., Corbel S., Chartier T. Ceramic suspensions suitable for stereolithography // *J. Europ. Ceram. Soc.* 1998. Vol. 18, № 6. P. 583-590.
153. Zhang X., Jiang X.N., Sun C. Micro-stereolithography of polymeric and ceramic microstructures // *Sensors and Actuators A: Physical.* 1999. Vol. 77, № 2. P. 149-156.
154. Bao Y. Recent trends in advanced photoinitiators for vat photopolymerization 3D printing // *Macromolecular Rapid Comm.* 2022. Vol. 43, № 14. 2200202.
155. Bártolo P.J. Stereolithography: materials, processes and applications // *Springer Sci. & Business Media.* 2011.
156. Browning M.B., Cereceres S.N., Luong P.T., Cosgriff-Hernandez E.M. Determination of the in vivo degradation mechanism of PEGDA hydrogels // *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* 2014. Vol. 102, № 12. P. 4244-4251.

157. Tang A., Li J., Li J., Zhao S., Liu W., Liu T., et al. Nanocellulose/PEGDA aerogel scaffolds with tunable modulus prepared by stereolithography for three-dimensional cell culture // *J. Biomaterials Sci., Polymer Ed.* 2019. Vol. 30, № 10. P. 797-814.
158. Elomaa L., Pan C.C., Shanjani Y., Malkovskiy A., Seppälä J.V., Yang Y. Three-dimensional fabrication of cell-laden biodegradable poly (ethylene glycol-co-depsipeptide) hydrogels by visible light stereolithography // *J. Mater. Chem. B.* 2015. Vol. 3, № 42. P. 8348-8358.
159. Garcia C., Gallardo A., López D., Elvira C., Azzahti A., Lopez-Martinez E., Rodríguez-Hernández J. Smart pH-responsive antimicrobial hydrogel scaffolds prepared by additive manufacturing // *ACS Appl. Bio Materials.* 2018. Vol. 1, № 5. P. 1337-1347.
160. Wang Z., Kumar H., Tian Z., Jin X., Holzman J.F., Menard F., Kim K. Visible light photoinitiation of cell-adhesive gelatin methacryloyl hydrogels for stereolithography 3D bioprinting // *ACS Appl. Mater. & Interfaces.* 2018. Vol. 10, № 32. P. 26859-26869.
161. Zhu W., Ma X., Gou M., Mei D., Zhang K., Chen S. 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering // *Current Opinion in Biotechnology.* 2016. Vol. 40. P. 103-112.
162. Hölzl K., Lin S., Tytgat L., Van Vlierberghe S., Gu L., Ovsianikov A. Bioink properties before, during and after 3D bioprinting // *Biofabrication.* 2016. Vol. 8, № 3. 032002.
163. Li L., Lin Q., Tang M., Duncan A.J., Ke C. Advanced polymer designs for direct-ink-write 3D printing // *Chem.–A Europ. J.* 2019. Vol. 25, № 46. P. 10768-10781.
164. Ali A., Ahmed S. Recent advances in edible polymer based hydrogels as a sustainable alternative to conventional polymers // *J. Agricultural and Food Chem.* 2018. Vol. 66, № 27. P. 6940-6967.
165. Hu X., Yang Z., Kang S., Jiang M., Zhou Z., Gou J., Hui D, He J. Cellulose hydrogel skeleton by extrusion 3D printing of solution // *Nanotechnology Rev.* 2020. Vol. 9, № 1. P. 345-353.
166. Gopinathan J., Hao T.N., Cha E., Lee C., Das D., Noh I. 3D printable and injectable lactoferrin-loaded carboxymethyl cellulose-glycol chitosan hydrogels for tissue engineering applications // *Mater. Sci. and Eng.: C.* 2020. 111008.
167. Li H., Liu S., Lin L. Rheological study on 3D printability of alginate hydrogel and effect of graphene oxide // *Int. J. Bioprinting.* 2016. Vol. 2, № 2. P. 54-66.

168. Naghieh S., Karamooz-Ravari M.R., Sarker M.D., Karki E., Chen X. Influence of crosslinking on the mechanical behavior of 3D printed alginate scaffolds: Experimental and numerical approaches // *J. Mech. Behavior of Biomed. Mater.* 2018. Vol. 80. P. 111-118.
169. Dávila J.L., d'Ávila M.A. Rheological evaluation of Laponite/alginate inks for 3D extrusion-based printing // *The Int. J. Adv. Manufacturing Techn.* 2019. Vol. 101, № 1. P. 675-686.
170. Heo D.N., Castro N.J., Lee S.J., Noh H., Zhu W., Zhang L.G. Enhanced bone tissue regeneration using a 3D printed microstructure incorporated with a hybrid nano hydrogel // *Nanoscale.* 2017. Vol. 9, № 16. P. 5055-5062.
171. Yang H., Lan X., Xiong Y. In situ growth of zeolitic imidazolate framework-1 in macroporous PVA/CMC/PEG composite hydrogels with synergistic antibacterial and rapid hemostatic functions for wound dressing // *Gels.* 2022. Vol. 8, № 5. 279.
172. Visconti R.P., Kasyanov V., Gentile C., Zhang J., Markwald R.R., Mironov V. Towards organ printing: engineering an intra-organ branched vascular tree // *Expert Opinion on Biolog. Therapy.* 2010. Vol. 10, № 3. P. 409-420.
173. Skardal A., Zhang J., McCoard L., Xu X., Oottamasathien S., Prestwich G.D. Photocrosslinkable hyaluronan-gelatin hydrogels for two-step bioprinting // *Tissue Engineering Part A.* 2010. Vol. 16, № 8. P. 2675-2685.
174. Fedorovich N.E., Alblas J., de Wijn J.R., Hennink W.E., Verbout A.J., Dhert W.J. Hydrogels as extracellular matrices for skeletal tissue engineering: state-of-the-art and novel application in organ printing // *Tissue Engineering.* 2007. Vol. 13, № 8. P. 1905-1925.
175. Censi R., Schuurman W., Malda J., Di Dato G., Burgisser P.E., Dhert W.J., et al. A printable photopolymerizable thermosensitive p (HPMAm-lactate)-PEG hydrogel for tissue engineering // *Adv. Funct. Mater.* Vol. 21, № 10. P. 1833-1842.
176. Kundu J., Shim J.H., Jang J., Kim S.W., Cho D.W. An additive manufacturing-based PCL–alginate–chondrocyte bioprinted scaffold for cartilage tissue engineering // *J. Tissue Engineering and Reg. Med.* 2015. Vol. 9, № 11. P. 1286-1297.
177. Zimmermann R., Hentschel C., Schrön F., Moedder D., Büttner T., Atallah P., Wegener T., Gehring T., Howitz S., Werner C. High resolution bioprinting of multi-component hydrogels // *Biofabrication.* 2019. Vol. 11, № 4. 045008.

178. Freudenberg U., Liang Y., Kiick K.L., Werner C. Glycosaminoglycan-based biohybrid hydrogels: a sweet and smart choice for multifunctional biomaterials // *Adv. Mater.* 2016. Vol. 28, № 40. P. 8861-8891.
179. Gwon K., Han I., Lee S., Kim Y., Lee D.N. Novel metal–organic framework-based photocrosslinked hydrogel system for efficient antibacterial applications // *ACS Appl. Mater. & Interfaces.* 2020. Vol. 12, № 18. P. 20234-20242.
180. Ehrburger P. Interface in composite materials // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Mathem. and Phys. Sci.* 1980. Vol. 294, № 1411. P. 495-505.
181. Fu S.Y., Feng X.Q., Lauke B., Mai Y.W. Effects of particle size, particle/matrix interface adhesion and particle loading on mechanical properties of particulate–polymer composites // *Composites Part B: Engineering.* 2008. Vol. 39, № 6. P. 933-961.
182. Kabiri K., Omidian H., Zohuriaan-Mehr M.J., Doroudiani S. Superabsorbent hydrogel composites and nanocomposites: a review // *Polymer Composites.* 2011. Vol. 32, № 2. P. 277-289.
183. Gaharwar A.K., Peppas N.A., Khademhosseini A. Nanocomposite hydrogels for biomedical applications // *Biotechnology and Bioengineering.* 2014. Vol. 111, № 3. P. 441-453
184. Fedorovich N.E., Wijnberg H.M., Dhert W.J., Alblas J. Distinct tissue formation by heterogeneous printing of osteo-and endothelial progenitor cells // *Tissue Engineering Part A.* 2011. Vol. 17, № 15-16. P. 2113-2121.
185. Jang T.S., Jung H.D., Pan H.M., Han W.T., Chen S., Song J. 3D printing of hydrogel composite systems: Recent advances in technology for tissue engineering // *Int. J. Bioprinting.* 2018. Vol. 4, № 1.
186. Wüst S., Godla M.E., Müller, R., Hofmann S. Tunable hydrogel composite with two-step processing in combination with innovative hardware upgrade for cell-based three-dimensional bioprinting // *Acta Biomater.* 2014. Vol. 10, № 2. P. 630-640.
187. Jeong J.E., Park S.Y., Shin J.Y., Seok J.M., Byun J.H., Oh S.H., et al. 3D printing of bone-mimetic scaffold composed of gelatin/ β -tricalcium phosphate for bone tissue engineering // *Macromolecular Biosci.* 2020. Vol. 20, № 12. 2000256.
188. Jeong S.H., Koh Y.H., Kim S.W., Park J.U., Kim H.E., Song J. Strong and biostable hyaluronic acid–calcium phosphate nanocomposite hydrogel via in situ precipitation process // *Biomacromolecules.* 2016. Vol. 17, № 3. P. 841-851.

189. Efstathiou S., Wemyss A.M., Patias G., Al-Shok L., Grypioti M., Coursari D., et al. Self-healing and mechanical performance of dynamic glycol chitosan hydrogel nanocomposites // *J. Mater. Chem. B*. 2021. Vol. 9, № 3. P. 809-823.
190. Abbona F., Madsen H.L., Boistelle R. Crystallization of two magnesium phosphates, struvite and newberyite: effect of pH and concentration // *J. Cryst. Growth*. 1982. Vol. 57, № 1. P. 6-14.
191. Zhao T., Zhang H., Zhou D., Gao Y., Dong Y., Greiser U., et al. Water soluble hyperbranched polymers from controlled radical homopolymerization of PEG diacrylate // *RSC Advances*. 2015. Vol. 5, № 43. P. 33823-33830.
192. Tikhonov A.A., Evdokimov P.V., Putlyaev V.I., Safronova T.V., Filippov Y. On the choice of the architecture of osteoconductive bioceramic implants // *Inorg. Mater.: Applied Res.* 2019. Vol. 10, № 1. P. 242-247.
193. Petříček V., Dušek M., Palatinus L. Crystallographic computing system JANA2006: general features // *Zeitschrift für Kristallographie-Crystalline Mater.* 2014. Vol. 229, № 5. P. 345-352.
194. Chung F.H. Quantitative interpretation of X-ray diffraction patterns of mixtures. III. Simultaneous determination of a set of reference intensities // *J. Applied Crystallography*. 1975. Vol. 8, № 1. P. 17-19.
195. Goldstein J.I., Newbury D.E., Michael J.R., Ritchie N.W., Scott J.H., Joy D.C. Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis // Springer. 2017.
196. Socrates G. Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts // John Wiley & Sons. 2004.
197. Glasser L., Jenkins H.D. Lattice energies and unit cell volumes of complex ionic solids // *J. Am. Chem. Soc.* 2000. Vol. 122, № 4. P. 632-638.
198. Marcus Y. The thermodynamics of solvation of ions. Part 2. The enthalpy of hydration at 298.15 K // *J. Chem. Soc., Faraday Transactions 1: Phys. Chem. in Condensed Phases*. 1987. Vol. 83, № 2. P. 339-349.
199. Morelli M.B., Santulli G., Gambardella J. Calcium supplements: Good for the bone, bad for the heart? A systematic updated appraisal // *Atherosclerosis*. 2020. Vol. 296. P. 68-73.
200. Sronsri C., Sittipol W., Kongpop U. Optimization of biodiesel production using magnesium pyrophosphate // *Chem. Engineering Sci.* 2020. Vol. 226. 115884.

201. Kaprálik I., Potančok M. Calcium oxide–magnesium oxide–sodium phosphite system at subsolidus temperatures // *Chem. Papers*. 1971. Vol. 25. P. 272-279.
202. Haque M.A., Chen B., Liu Y., Shah S.F., Ahmad M.R. Improvement of physico-mechanical and microstructural properties of magnesium phosphate cement composites comprising with Phosphogypsum // *J. Cleaner Prod.* 2020. Vol. 261. 121268.
203. Yang Y., Zhou J., Chen Q., Detsch R., Cui X., Jin G., et al. In vitro osteocompatibility and enhanced biocorrosion resistance of diammonium hydrogen phosphate-pretreated/poly (ether imide) coatings on magnesium for orthopedic application // *ACS Appl. Mater. & Interfaces*. 2019. Vol. 11, № 33. P. 29667-29680.
204. Wang S., Liu R., Yao J., Wang Y., Li H., Dao R., et al. Fabrication of mesoporous magnesium substituted β -tricalcium phosphate nanospheres by self-transformation and assembly involving EDTA ions // *Micropor. and Mesopor. Mater.* 2013. Vol. 179. P. 172-181.
205. Kushkevych I., Abdulina D., Dordević D., Rozehnalová M., Vítězová M., Černý M., Svoboda P., Rittmann S.K. Basic bioelement contents in anaerobic intestinal sulfate-reducing bacteria // *Applied Sciences*. 2021. Vol. 11, № 3. 1152.
206. Zhou H., Nabiyouni M., Lin B., Bhaduri S.B. Fabrication of novel poly (lactic acid)/amorphous magnesium phosphate bionanocomposite fibers for tissue engineering applications via electrospinning // *Mater. Sci. and Eng.: C*. 2013. Vol. 33, № 4. P. 2302-2310.
207. Walker J., Shadanbaz S., Woodfield T.B., Staiger M.P., Dias G.J. Magnesium biomaterials for orthopedic application: a review from a biological perspective // *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Applied Biomaterials*. 2014. Vol. 102, № 6. P. 1316-1331.
208. High K., Milner N., Panter I., Penkman K.E. Apatite for destruction: investigating bone degradation due to high acidity at Star Carr // *J. Archaeological Sci.* 2015. Vol. 59. P. 159-168.
209. Geng Z., Ma L., Li Z., Cui Z., Zhu S., Liang Y., Yang X. Citric acid and lactic acid have a synergetic effect on absorbing the bone mineral crystal // *Mater. Letters*. 2018. Vol. 215. P. 218-220.
210. Jurgelane I., Buss A., Putnina M., Loca D., Locs J. Effect of sintering temperature on sorption properties and compressive strength of calcium phosphate ceramic granules // *Mater. Letters*. 2021. Vol. 282. 128858.
211. Misch C.E., Qu Z., Bidez M.W. Mechanical properties of trabecular bone in the human mandible: implications for dental implant treatment planning and surgical placement // *J. Oral and Maxillofacial Surgery*. 1999. Vol. 57, № 6. P. 700-706.

212. Реслер И. Механическое поведение конструкционных материалов. Интеллект. Долгопрудный. 2011. С. 1-502.
213. Krokhicheva P.A., Goldberg M.A., Fomin A.S., Khayrutdinova D.R., Antonova O.S., Baikin A.S., et al. Zn-doped calcium magnesium phosphate bone cements based on struvite and their antibacterial properties // *Mater.* 2023.
214. Urrios A., Parra-Cabrera C., Bhattacharjee N., Gonzalez-Suarez A.M., Rigat-Brugarolas L.G., Nallapatti U., et al. 3D-printing of transparent bio-microfluidic devices in PEG-DA // *Lab on a Chip.* 2016. Vol. 16, № 12. P. 2287-2294.
215. Alonso R.C., Brandt W.C., Souza-Junior E.J., Puppini-Rontani R.M., Sinhoreti M.A. Photoinitiator concentration and modulated photoactivation: influence on polymerization characteristics of experimental composites // *Applied Adhesion Sci.* 2014. Vol. 2, № 1. P. 1-11.
216. Catoira M.C., Fusaro L., Di Francesco D., Ramella M., Boccafoschi F. Overview of natural hydrogels for regenerative medicine applications // *J. Mater. Sci.: Mater. in Med.* 2019. Vol. 30, № 10. P. 1-10.
217. Lü S., Liu M., Ni B. An injectable oxidized carboxymethylcellulose/N-succinyl-chitosan hydrogel system for protein delivery // *Chem. Engineering J.* 2010. Vol. 160, № 2. P. 779-787.
218. Paul A., Manoharan V., Krafft D., Assmann A., Uquillas J. A., Shin S.R., et al. Nanoengineered biomimetic hydrogels for guiding human stem cell osteogenesis in three dimensional microenvironments // *J. Mater. Chem. B.* 2016. Vol. 4, № 20. P. 3544-3554.
219. Yuan Z., Wei P., Huang Y., Zhang W., Chen F., Zhang X., et al. Injectable PLGA microspheres with tunable magnesium ion release for promoting bone regeneration // *Acta Biomater.* 2019. Vol. 85. P. 294-309.
220. Sadat-Shojai M., Khorasani M.T., Dinpanah-Khoshdargi E., Jamshidi A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures // *Acta Biomater.* 2013. Vol. 9, № 8. P. 7591-7621.
221. Yelten-Yilmaz A., Yilmaz S. Wet chemical precipitation synthesis of hydroxyapatite (HA) powders // *Ceram. Int.* 2018. Vol. 44, № 8. P. 9703-9710.
222. Sainan L.I., Gongping L.I., Wang W.E., Xiangli F., Wanqin J.I. Ceramic supported PDMS and PEGDA composite membranes for CO₂ separation // *Chinese J. Chem. Engineering.* 2013. Vol. 21, № 4. P. 348-356.

223. Zusiak S.P., Leach J.B. Hydrolytically degradable poly (ethylene glycol) hydrogel scaffolds with tunable degradation and mechanical properties // *Biomacromolecules*. 2010. Vol. 11, № 5. P. 1348-1357.
224. Lahalle H., Coumes C.C., Mesbah A., Lambertin D., Cannes C., Delpech S., Gauffinet S. Investigation of magnesium phosphate cement hydration in diluted suspension and its retardation by boric acid // *Cement and Concrete Res.* 2016. Vol. 87. P. 77-86.
225. Jacobs P.F. *Rapid prototyping & manufacturing: fundamentals of stereolithography* // Soc. of Manufacturing Engineers. 1992.
226. Lee I.H., Cho D.W. Micro-stereolithography photopolymer solidification patterns for various laser beam exposure conditions // *The Int. J. Adv. Manufacturing Techn.* 2003. Vol. 22, № 5. P. 410-416.
227. Sun C., Zhang X. The influences of the material properties on ceramic micro-stereolithography // *Sensors and Actuators A: Physical*. 2002. Vol. 101, № 3. P. 364-370.

Приложение 1

Кристаллографические данные для ортофосфата магния и магний-натриевых фосфатов

Состав образца	$Mg_3(PO_4)_2$	$MgNaPO_4$	$Mg_4Na(PO_4)_3$
Рассчитанная плотность, г/см ³	2.755(8)	3.092(5)	2.831(6)
Данные съемки			
Дифрактометр	ARL X'TRA, сцинтилляционный детектор, Thermo Fisher Scientific, с использованием CuK_{α} -излучения ($\lambda=1.5418 \text{ \AA}$)		
2 Θ диапазон, °	3-70		
Шаг, 2 Θ	0.01		
I_{max}	28827	35284	29284
Число точек	6701		
Уточнение			
Метод уточнения	Ритвельд		
Функция фона	Псевдо-Войт, 1.5 terms		
Число формульных единиц Z	2	12	4
R и R_w (%) для отражений Брэгга	10.76/9.03	8.60/6.01	10.55/8.54
R_p , R_{wp} (%)	10.76/9.08	8.62/6.20	10.56/8.77
Max/Min остаточная плотность (e), \AA^3	0.76/-0.73	0.54/-0.64	0.98/-0.85

Приложение 2

Межатомные расстояния (Å) в структурах ортофосфата магния и магний-натриевых фосфатов

Расстояние	$Mg_3(PO_4)_2$	Расстояние	$MgNaPO_4$	Расстояние	$Mg_4Na(PO_4)_3$
Mg1-O2	2.100(8)	Mg4-O12	1.850(4)	Mg2-O8	1.955(1)
Mg1-O3	1.998(9)	Mg4-O13	1.945(4)	Mg2-O9	2.003(1)
Mg1-O4	2.089(9)	Mg4-O15	2.005(3)	Mg2-O14	1.987(3)
P1-O1	1.541(8)	P1-O13	1.540(3)	P5-O14	1.486(7)
P1-O2	1.479(9)	P1-O17	1.540(3)	P5-O15	1.517(1)
P1-O3	1.517(8)	P1-O19	1.750(4)	P5-O16	1.611(1)

Приложение 3

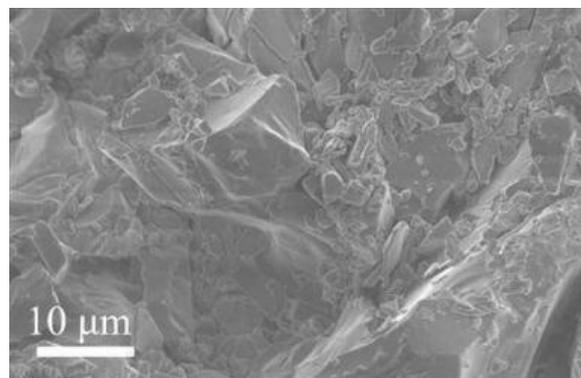
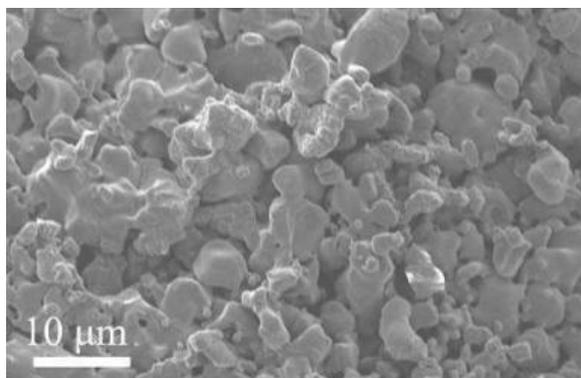
Изменение микроструктуры керамических образцов на основе MgNaPO_4 и $\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$, спечённых при различных температурах.

MgNaPO_4

$\text{Mg}_4\text{Na}(\text{PO}_4)_3$

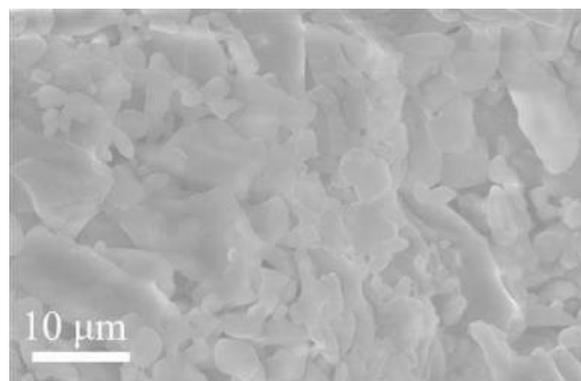
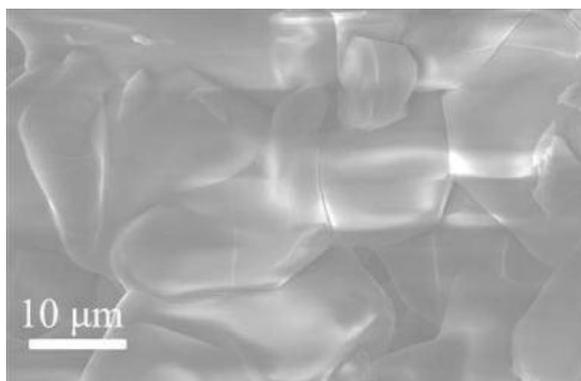
800°C

800°C



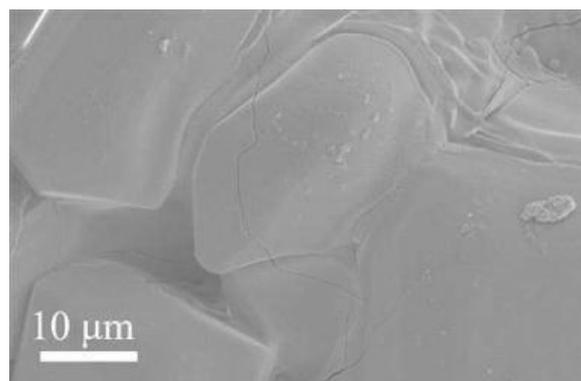
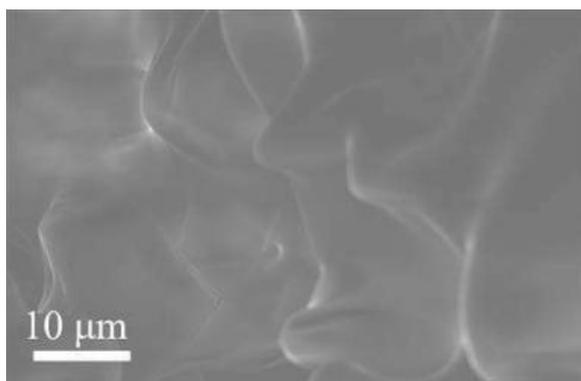
900°C

900°C



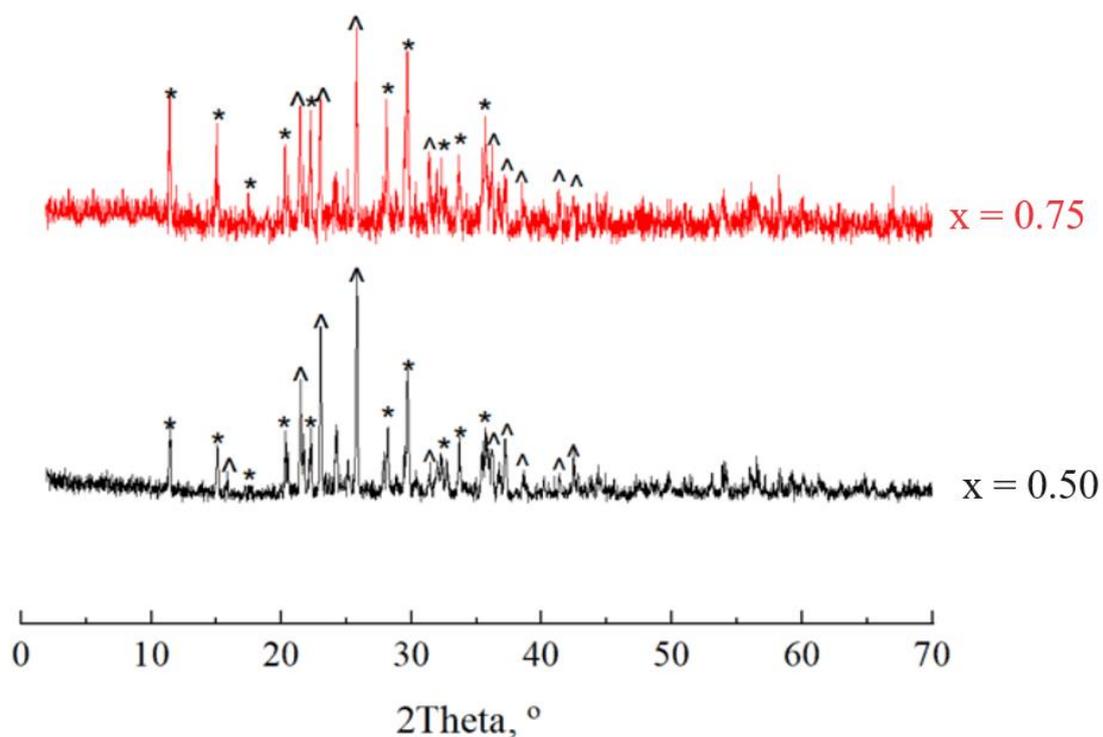
1000°C

1000°C



Приложение 4

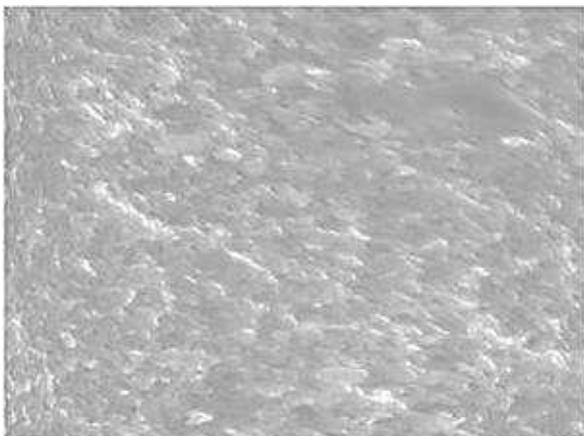
РФА образцов керамики на основе смесей $Mg_3(PO_4)_2$ и $Mg_4Na(PO_4)_3$, взятых в соотношении $M_4NP_3:M_3P_2=50:50$ ($x=0.50$) и $M_4NP_3:M_3P_2=75:25$ ($x=0.75$), после выдерживания в течение 4 недель в 0.1 М растворе лимонной кислоты.



* помечены пики, отнесённые к $Mg_4Na(PO_4)_3$ (PDF-2, №34-671), ^ - $Mg_3(PO_4)_2$ (PDF-2, №33-878).

Приложение 5

Картирование области образца керамики с коэффициентом $x=0.75$ после резорбции в лимонной кислоте в течение 2 недель.



Na



Mg

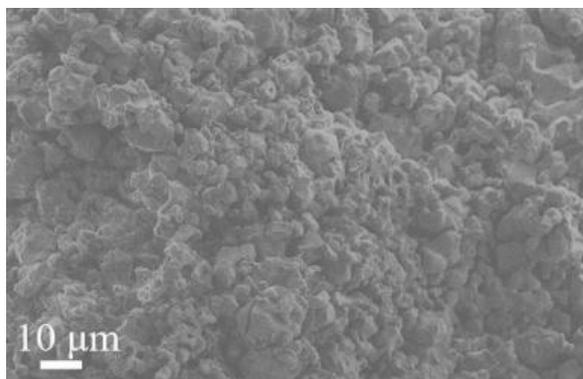


P

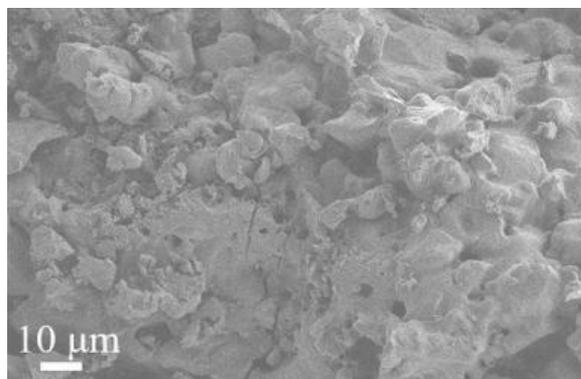
Приложение 6

РЭМ образцов керамики, обожжённых при 1000°C, после механических испытаний на основе: а) $Mg_3(PO_4)_2$, б) $MgNaPO_4$, в) $Mg_4Na(PO_4)_3$, г) 50:50 $Mg_3(PO_4)_2:Mg_4Na(PO_4)_3$.

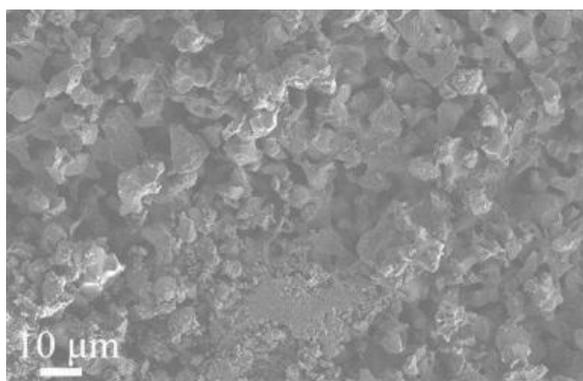
а)



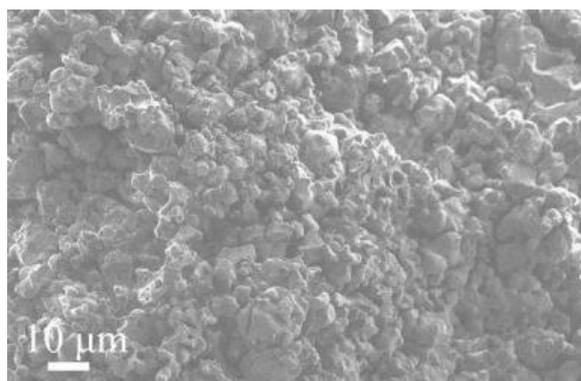
б)



в)



г)



Благодарности

Я хотел бы выразить искреннюю благодарность своему научному руководителю к.х.н., доценту **Путляеву Валерию Ивановичу** за руководство работой, приобретенные умения и помощь в развитии как самостоятельного исследователя в области неорганического материаловедения.

Также хотел бы поблагодарить администрацию, сотрудников и преподавателей факультета наук о материалах и химического факультета за создание отличных условий для учебы, развития и интересной и насыщенной жизни. Полученные знания и навыки будут полезны в дальнейшей профессиональной деятельности.

Благодарность за помощь при выполнении работы и советы хочется выразить коллективам кафедр междисциплинарного материаловедения и неорганической химии и группе электронной микроскопии лаборатории неорганического материаловедения. Автор выражает благодарность сотрудникам кафедры неорганической химии химического факультета МГУ **Филипповой Т.В., Сафроновой Т.В., Климашиной Е.С., Евдокимову П.В., Колесник И.В., Шаталовой Т.Б.**, сотрудникам кафедры химической технологии химического факультета МГУ **Дейнеко Д.В., Титкову В.В.**, сотруднику Института механики МГУ **Филиппову Я.Ю.** Автор крайне признателен студентам, аспирантам и выпускникам группы электронной микроскопии и факультета наук о материалах **Тихонову А.А., Каймонову М.Р., Тошеву О.У., Мурашко А.М.** за помощь в проведении исследований и поддержании рабочей атмосферы в стенах лаборатории.

Особую благодарность хотелось бы выразить семье и друзьям за поддержку, мотивацию к работе и терпение.