

СИНТЕЗ ГИДРОКСИАПАТИТА КАЛЬЦИЯ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ РАСТВОРИМЫХ МАТРИЦ НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРНЫХ ВОЛОКОН

А.С. Чекиева^{1*}, Ч.Б. Даулбаев^{2,3}, Ф.Р. Султанов^{2,3}, Б. Бакболат^{2,3}, Р.И. Гадыльшина³

¹Казахский национальный технический исследовательский университет им. К.И. Сатпаева, ул. Сатпаева 22а, Алматы, Казахстан

²Институт проблем горения, ул. Богенбай батыра 172, Алматы, Казахстан

³Казахский национальный университет им. аль-Фараби, пр. аль-Фараби 71, Алматы, Казахстан

Дата поступления:
10 августа 2020

Принято на печать:
21 сентября 2020

Доступно онлайн:
29 сентября 2020

АННОТАЦИЯ

В данной работе рассматривается возможность синтеза гидроксиапатита кальция (ГАП) с использованием биогенных источников карбоната кальция, а именно кальцита в скорлупе куриного яйца. Порошки ГАП были синтезированы методом осаждения из водного раствора. Данный метод синтеза позволил получить порошки ГАП с чистотой 95%. В ходе экспериментальных работ было обнаружено, что время обработки ультразвуком обеспечивает частицам однородности больше, чем длительная термообработка. Синтезированный порошок ГАП был применен для получения биологически растворимых пленок на основе полимерных волокон. Пленки были получены методом электроформирования. В раствор пленок в разных концентрациях был добавлен лекарственный препарат, в частности амоксициллин. Экспериментальные работы показали, что толщина пленок зависит от концентрации лекарственного вещества. Сканирующая электронная микроскопия (SEM) и рентгеновская дифракция (XRD) были применены для исследования характеристик ГАП и пленок.

Ключевые слова: гидроксиапатит кальция, яичная скорлупа, электроспиннинг, полимерные пленки.

Введение

Проблемы, связанные с заболеваниями и повреждениями костей, добавленные к увеличению продолжительности жизни, увеличили усилия по поиску новых подходов в области регенеративной медицины и инженерии костной ткани [1]. Кость имеет сложное расположение структур, которые обеспечивают механические, химические и биологические функции и, хотя она имеет жесткую структуру, она не является инертной тканью. Таким образом, идеальный биоматериал должен имитировать структуру

кости, обеспечивая ее регенерацию за счет восстановления биологической активности. Фосфаты кальция являются основными неорганическими веществами, обнаруживаемыми в твердых тканях млекопитающих, таких как костная и зубная ткани.

Фосфат кальция со структурой апатита $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}]$ имеет большой потенциал для применения в катализе, хроматографической адсорбции и в качестве биоматериала [2, 3]. Гидроксиапатит, являясь основным компонентом натуральной кости, представляет большой интерес для биомедицинских применений [4, 5]. Поскольку гидроксиапа-

*Ответственный автор
E-mail: aruqkz@gmail.com (А.С. Чекиева).

тит имеет структуру гексагональной кристаллической решетки, было обнаружено, что он подходит для широкого разнообразия замещений различными функциональными группами, катионами и анионами, такими как CO_3^{2-} [6], $\text{Fe}^{+2/+3}$ [7-9] и F^- [10] и т.д. ГАП широко используется в качестве биоматериала благодаря его исключительной биосовместимости, биоактивности и остеокондуктивности [11].

Потенциальное применение фосфата кальция было доказано большим количеством анализов *in vitro* и *in vivo* как фактор ускорения регенерации кости и восстановления дефектной кости [12-14].

ГАП синтезируется химическими методами с использованием гидроксида кальция или нитрата в качестве прекурсоров [15]. Яичная скорлупа, один из основных продуктов отходов пищевой промышленности, является хорошим источником карбоната кальция (95%), и этот источник может быть использован для синтеза ГАП. Существуют различные исследования, связанные с синтезом ГАП с использованием скорлупы яиц [16-18]. Настоящее исследование также описывает синтез ГАП с использованием этого источника.

Яичная скорлупа составляет 11% от общего веса куриного яйца и состоит из орга-

нических веществ (4%), карбоната кальция (94%), фосфата кальция (1%), карбоната магния (1%) и микроэлементов, таких как N, Na, Mg и Sr [19].

Экспериментальная часть

Скорлупу яиц промывали и нагревали в печи при температуре 900-1000 °C в течение 3 ч для разложения органических соединений и превращения карбоната кальция (CaCO_3) в оксид кальция (CaO). Кристаллы ГАП были синтезированы методом осаждения из водного раствора. Оксид кальция взвешивали и смешивали с дистиллированной водой, затем к данной суспензии добавляли водный раствор ортофосфорной кислоты в отношении стехиометрического отношения $\text{Ca/P} = 1,67$. После добавления раствора ортофосфорной кислоты применяли ультразвуковую обработку (таблица 1). Готовый осадок сушили при комнатной температуре в течение двух дней и измельчали в ступке для дальнейших исследований. Порошки были названы как ГАП1, ГАП2, ГАП3 и ГАП4 соответственно.

Полученные порошки ГАП были применены для получения пленок на основе полимера и лекарственного препарата методом электроспиннинга. Растворы были приготовле-

Таблица 1

Условия синтеза порошков ГАП

Образцы	Температура и время обжига, T °C, t ч	Масса CaO, г	H ₂ O, мл	Мешалка, t мин	Время ультразвуковой обработки, t мин	H ₃ PO ₄ , %	ГАП, %
ГАП 1	950, 3	4	80	60	30	6	95
ГАП 2	950, 3	4	80	60	30	6	95
ГАП 3	950, 3	4	80	60	45	6	95
ГАП 4	950, 3	4	80	60	45	6	95

Таблица 2

Состав растворов для электроформирования

Образцы	PAN, г	Растворитель, мл	ГАП, г	Амоксициллин, г
Образец 1	0.5	4.5	-	0.25
Образец 2	0.5	4.5	0.5	0.25
Образец 3	0.5	4.5	-	0.45
Образец 4	0.5	4.5	0.5	0.45

ны в различных концентрациях, которые подробно приведены в таблице 2. Полиакрилонитрил (ПАН) растворяли при комнатной температуре в растворителе диметилформид, мешая на магнитной мешалке 30 мин. Постепенно в раствор добавляли гидроксиапатит кальция, затем вводили полусинтетический антибиотик широкого спектра действия группы пенициллинов – амоксициллин в двух концентрациях.

Для всех четырех образцов использовали одинаковые условия электроформирования. Высокое напряжение, которое подавалось на иглу и коллектор, составляло 1,5 кВ на каждый сантиметр. Скорость шприцевого насоса составляла 1,5 мл/час [20].

Результаты и обсуждение

Для получения изображения поверхности с высоким пространственным разрешением

использовали сканирующий электронный микроскоп (SEM) японской компании «JEOL», марки JSM-6490LA. На рисунке 1 изображены SEM снимки поверхности образцов ГАП. Образцы ГАП 1 и ГАП 2 (рис. 1 а, б соответственно) подвергались одинаковому времени ультразвуковой обработки. Помимо обжига яичной скорлупы, проводили дополнительную термообработку порошков (образцы ГАП 2 и ГАП 4). Время обработки ультразвуком образцов ГАП 3 и ГАП 4, которые изображены на рисунке 1 с и д соответственно, больше на 15 мин от первых двух образцов. Можно заметить, что время обработки ультразвуком обеспечивает частицам однородности больше, чем длительная термообработка.

На рисунке 2 изображены полимерные пленки толщиной 200-400 нм. Образцы отличаются концентрацией лекарственного препарата и наличием ГАП в составе пленок.

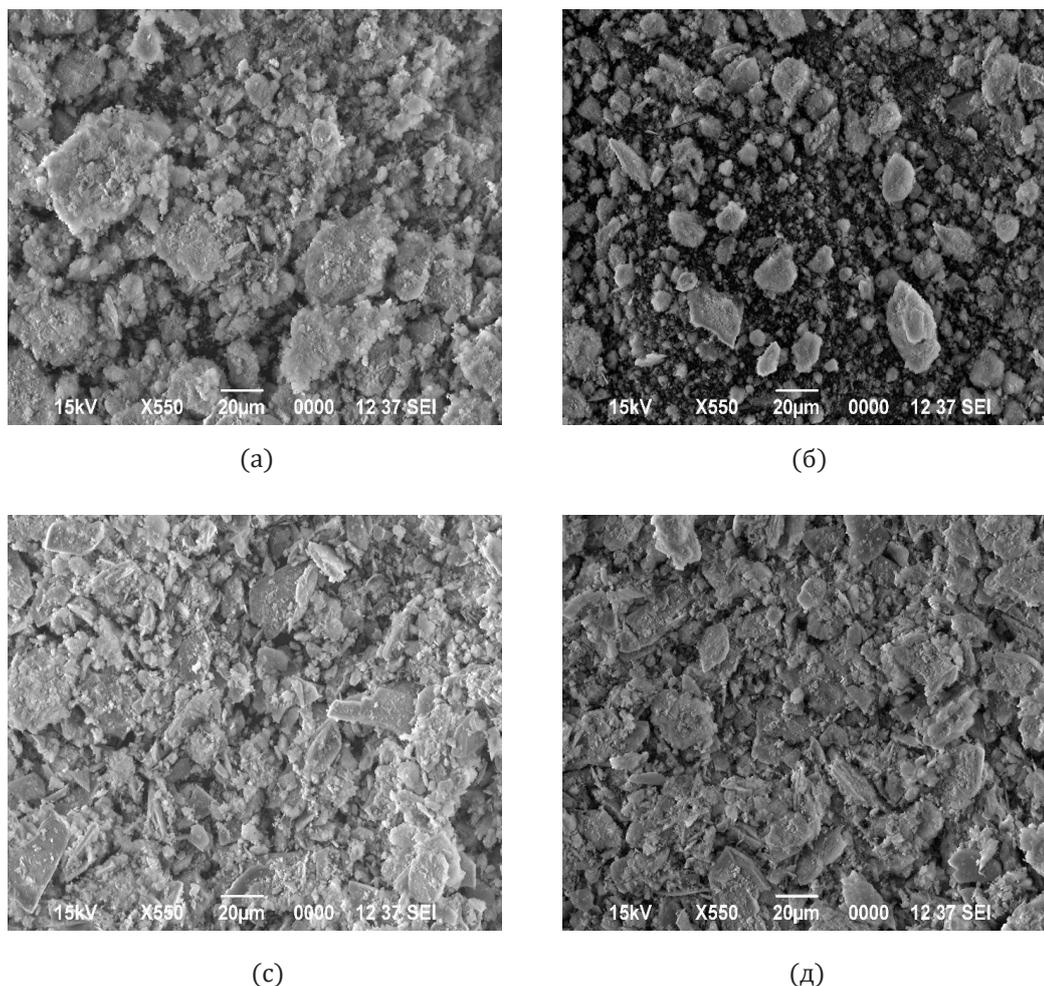


Рис.1. Снимки SEM образцов гидроксиапатита кальция: (а) – ГАП 1; (б) – ГАП 2; (с) – ГАП 3; (д) – ГАП 4.

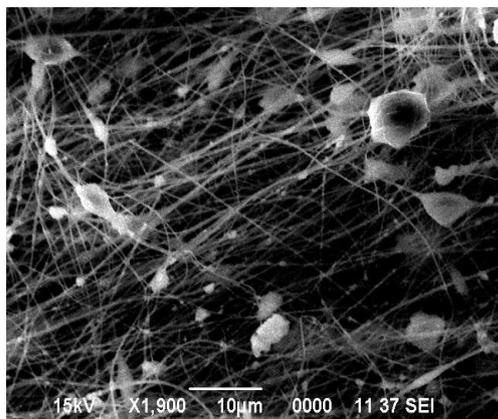
Обнаружили, что чем больше концентрация лекарственного препарата, тем больше толщина волокон, в нашем случае при увеличении концентрации в два раза, толщина волокон увеличилась так же в два раза.

Кристаллическая структура полученных образцов была исследована рентгенофазовым анализом. Все дифракционные пики можно индексировать как гексагональную структуру ГАП, которая показана на рисунке 3. На рентгенограмме видны дифракционные пики, которые хорошо согласуются с данными JCPDS (Объединенный комитет по стандартам порошковой дифракции) номер 96-900-2219. Стоит отметить, что на рентгенограмме не наблюдается никаких характерных пиков примесей, таких как гидроксид или фосфатов кальция, что означает, что чистота содержания ГАП в полученных образцах составляет 95%. Образец является практически монофазой соединения $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

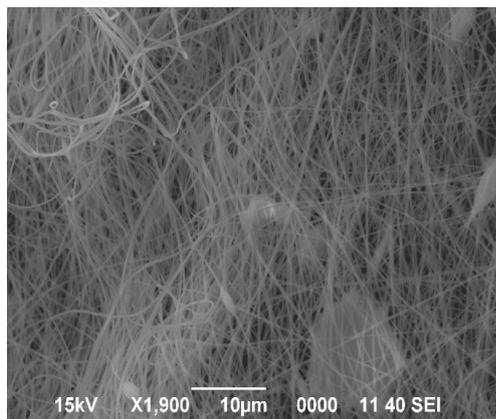
с низкой степенью окристаллизованности. В образце присутствует рентгеноаморфная фаза в небольшом количестве.

Заключение

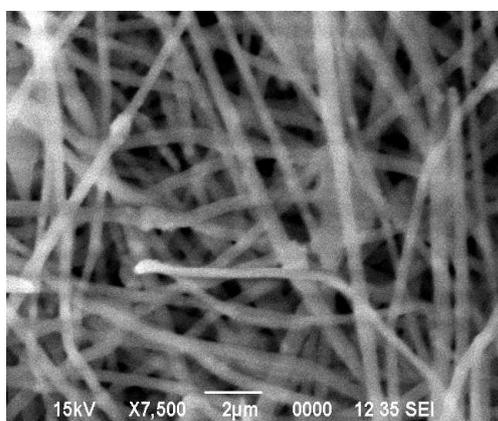
В лаборатории энергоемких и нано материалов Института проблем горения были проведены экспериментальные работы по синтезу порошков ГАП из биологически отходного материала – скорлупы яиц методом осаждения из водного раствора. Варьированием времени ультразвуковой и термической обработок были получены и исследованы 4 образца порошков ГАП. Синтетические порошки ГАП были применены для получения пленок на основе полимерных волокон и лекарственного препарата. Размеры полученных порошков ГАП составляют 4-6 мкм, толщина пленок 200-400 нм. На рентге-



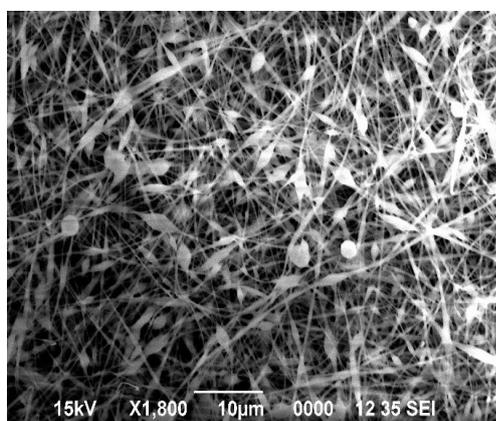
(a)



(б)



(c)



(д)

Рис.2. Снимки SEM полимерных волокон: (а) – образец 1; (б) – образец 2; (с) – образец 3; (д) – образец 4.

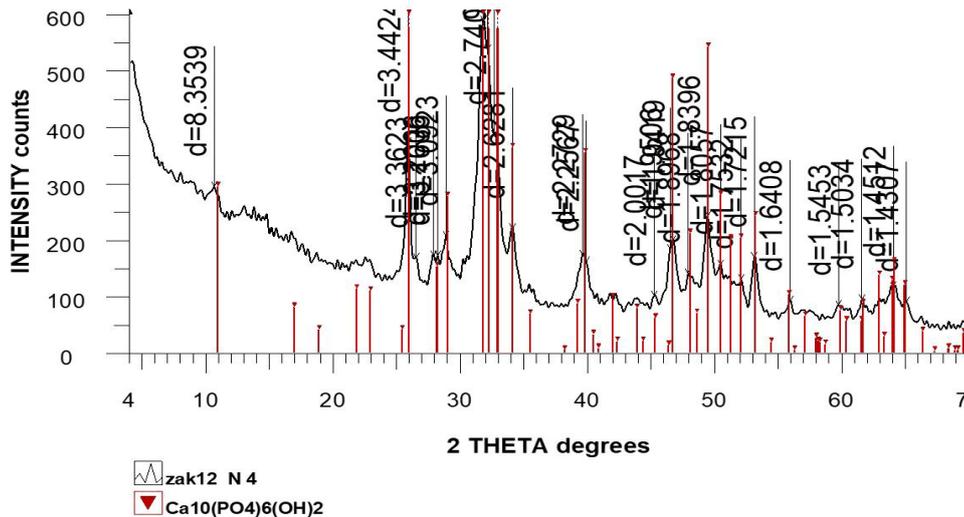


Рис. 3. Рентгенограмма образца ГА П 4.

нограмме не наблюдалось никаких характерных пиков примесей, что означает, что чистота содержания ГАП в полученных образцах составляет 95%.

Результаты исследований показали, что

– время обработки ультразвуком обеспечивает частицам однородности больше, чем длительная термообработка.

– увеличение концентрации амоксицилина приводит к увеличению толщины волокон.

Список литературы

- [1]. C.R.M. Black, V. Goriainov, D. Gibbs, J. Kanczler, R.S. Tare, R.O.C. Oreffo, Bone tissue engineering // *Curr. Mol. Biol. Reports* 1 – 2015. – P.132-140.
- [2]. Matsuda T., Yamanaka C. and Ikeda M. ESR study of Gd^{3+} and Mn^{2+} ions sorbed on hydroxyapatite // *Appl. Radiat. Isotopes* – 2005. – №62. – P.353-357.
- [3]. Thakur P., Moore R.C. and Chopin G.R., Sorption of U(VI) species on hydroxyapatite // *Radiochim. Acta* – 2005.– №93.– P.385-391.
- [4]. Martini F.H., *Fundamentals of Anatomy & Physiology* – San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2006.
- [5]. Park J.B., Bronzino. J.D., *Biomaterials Principles and Applications* – Boca Raton: CRC Press, 2003.
- [6]. Cazalbou S, Eichert D, Ranz X, Drouet C, Combes C, et al. Ion exchanges in apatites for biomedical applications // *J Mater Sci: Mater Med* – 2005. – №16. – P.405-409.
- [7]. Jiang.M., Terra.J., Rossi.A.M., Morales.M.A., Baggio Saitovitch. E.M., et al. Fe^{2+}/Fe^{3+} substitution in hydroxyapatite // *Theory and experiment. Phys Rev B, Condens Matter Mater: Phys* – 2002.– №66. – P. 224-107.
- [8]. Wang J, Nonami T, Yubata K., Synthesis, structure and photophysical properties of iron containing hydroxyapatite prepared by a modified pseudo-body solution // *J Mater Sci: Mater Med.* – 2008.– №19.– P. 2663-2667.
- [9]. Prakash K.H., Kumar.R., Ooi C.P., Sritharan.T., Cheang.P., et al. Wet Chemical Synthesis and Magnetic Property Studies of Fe (III) Ion Substituted Hydroxyapatite // *MCB* – 2006.– №3. – P. 177-178.
- [10]. Qu H, Vasiliev AV, Aindow M, Wei M., Incorporation of Fluorine Ions in Hydroxyapatite by a pH Cycling Method // *J Mater Sci Mater Med.* – 2005.– №16. – P.447-453.
- [11]. Rogers, W.J.; Basu, P. Factors regulating macrophage endocytosis of nanoparticles: Implications for targeted magnetic resonance plaque imaging // *Atherosclerosis* – 2005.– №178. – P. 67-73.
- [12]. Ganesh C. Ingavle, Marissa Gionet-Gonzales, Charlotte E. Vorwald, et al., Injectable mineralized microsphere-loaded composite hydrogels for bone repair in a sheep bone defect model // *Biomaterials* – 2019. – №197.– P.119-128.
- [13]. Wouter Habraken, Pamela Habibovic, Matthias Epple, et al., Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future // *Materials Today* – 2016. – №19. – P. 69-87.

- [14]. Yau-Hung Chen, Hung-Yin Tai, Earl Fu, et al., Guided bone regeneration activity of different calcium phosphate/chitosan hybrid membranes // International Journal of Biological Macromolecules – 2019. – №126. – P. 159–169.
- [15]. Daulbayev, C., Mitchell, G., Zakhidov, A., Sultanov, F., Mansurov, Z. Obtaining of biologically soluble membranes based on polymeric nanofibres and hydroxyapatite of calcium // Eurasian Chemico-Technological Journal, 2018, 20(2), P. 119-124
- [16]. S. Chen, S. Pujari-Palmer, S. Rubino, V. Westlund, M. Ott, H. Engqvist, W. Xia, Highly repeatable synthesis of nHA with high aspect ratio // Mater Lett. – 2015. – №159. – P. 163-167.
- [17]. K. Prabakaran, S. Rajeswari, Spectroscopic investigations on the synthesis of nano hydroxyapatite from calcined eggshell by hydrothermal method using cationic surfactant as template // Spectrochim. Acta A – 2009. – №74. – P. 1127–1134.
- [18]. W.-F. Ho, H.-C. Hsu, S.-K. Hsu, C.-W. Hung, S.-C. Wu, Calcium phosphate bioceramics synthesized from eggshell powders through a solid state reaction // Ceram. Int. – 2013. – №39. – P. 6467–6473.
- [19]. W.J. Stadelman, Egg and egg products, in: F.J. Francis (Ed.), Encycl. Food Sci. Technol., John Wiley & Sons – New York, 2000. – P. 593–599.
- [20]. F. Sultanov, C. Daulbayev, B. Bakbolat, O. Daulbayev, M. Bigaj, Z. Mansurov, K. Kuterbekov, K. Bekmyrza. Aligned composite SrTiO₃/PAN fibers as 1D photocatalyst obtained by electrospinning method // Chemical Physics Letters. – 2019. – V. 737.

Кальций гидроксипатитін синтездеу және оны полимерлі талшықтар негізінде биологиялық еритін матрицалар дайындау үшін қолдану

А.С. Чекиева¹, Ч.Б. Даулбаев^{2,3}, Ф.Р. Султанов^{2,3},
Б. Бакболат^{2,3}, Р.И. Гадыльшина³

¹Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ Ұлттық Техникалық Зерттеу Университеті, Сәтбаев көшесі 22а, Алматы, Қазақстан

²Жану проблемалары институты, Бөгенбай батыр көшесі 172, Алматы, Қазақстан

³Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, әл-Фараби даңғылы 71, Алматы, Қазақстан

АНДАТПА

Бұл жұмыста кальций гидроксипатитін (ГАП) кальций карбонатының биогенді көздерін, атап айтқанда тауық жұмыртқасының қабығындағы кальцитті синтездеу мүмкіндігі қарастырылады. ГАП ұнтағы сулы еритіндіден қондыру әдісімен синтезделді. Бұл синтез әдісі бізге 95% тазалықтағы ГАП ұнтақтарын алуға мүмкіндік берді. Тәжірибелік жұмыс кезінде ультрадыбыстық өңдеу уақыты бөлшектерді ұзақ мерзімді термиялық өңдеуден гөрі біркелкілікпен қамтамасыз ететіндігі анықталды. Синтезделген ГАП ұнтағы полимерлі талшықтар негізінде биологиялық еритін қабықшаларды алу үшін қолданылды. Қабықшалар электроформалау әдісімен алынды. Препарат, атап айтқанда амоксциллин әр түрлі концентрацияда қабықшалардың еритіндісіне қосылды. Эксперименттік жұмыс қабықшалардың қалыңдығы дәрілік зат концентрациясына байланысты болатындығын көрсетті. Сканерлеуші электронды микроскопия (SEM) және рентгендік дифракция (XRD) ГАП және қабықшаларды сипаттау үшін қолданылды.

Түйін сөздер: Кальций гидроксипатиті, жұмыртқа қабығы, электроспиннинг, полимерлі қабықшалар.

Synthesis of calcium hydroxyapatite and its use for obtaining biologically soluble matrices based on polymer fibers

A.S. Chekiyeva¹, Ch.B. Daulbaev^{2,3}, F.R. Sultanov^{2,3},
B. Bakbolat^{2,3}, R.I. Gadylshina³

¹K.I. Satbayev Kazakh National Technical Research University, 22a Satbayev street, Almaty, Kazakhstan

²Institute of combustion problems, 172 Bogenbai batyr street, Almaty, Kazakhstan

³Al-Farabi Kazakh National University, 71 al-Farabi ave., Almaty, Kazakhstan

ABSTRACT

In this paper, we consider the possibility of synthesizing calcium hydroxyapatite (HAP) using biogenic sources of calcium carbonate, namely calcite in the shell of a chicken egg. HAP powders were synthesized by precipitation from an aqueous solution. This synthesis method

allowed us to obtain HAP powders with a purity of 95%. During experimental work, it was found that the ultrasonic treatment time provides particles with more uniformity than long-term heat treatment. The synthesized HAP powder was used to obtain biologically soluble films based on polymer fibers. Films were obtained by the method of electroforming. A drug, in particular amoxicillin, was added to the solution of films at different concentrations. Experimental work showed that the thickness of the films depends on the concentration of the drug substance. Scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction (XRD) were used to characterize HAP and films.

Keywords: Calcium hydroxyapatite, eggshell, electrospinning, polymer fibers.