



# ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ, ФАРМАКОГНОЗИЯ

УДК 681.2

## СИНТЕЗ И ОЦЕНКА БИОАКТИВНОСТИ ФТОРСОДЕРЖАЩЕГО НАНОГИДРОКСИАПАТИТА

**М.А. ТРУБИЦЫН  
НГУЕН ДИНЬ ТЬИЕН**

*Белгородский  
государственный  
национальный  
исследовательский  
университет*

*e-mail: troubitsin@bsu.edu.ru*

В статье представлены результаты исследований по синтезу фторзамещенных гидроксиапатитов (F-ГАП), были определены основные параметры элементарной ячейки образцов, полученных методом осаждения из водных растворов с различными степенями замещения. Оценка их биоактивности динамическим методом показала возможность применения F-ГАП в качестве добавки в рецептуре фторсодержащих зубных паст.

Ключевые слова: фосфаты кальция, биоапатит, наноразмерный гидроксиапатит, стоматология, фторсодержащая зубная паста.

**Введение.** В настоящее время перспективным направлением в медицинском материаловедении является разработка биоматериалов на основе фосфатов кальция для замены и восстановления поврежденных костных тканей. Костная ткань человека и животных, в том числе зубная ткань, в качестве минерального матрикса содержит биоапатит. Биоапатит по минеральному и химическому составу близок к гидроксиапатиту (ГАП), или точнее, к модифицированному гидроксиапатиту (МГАП), так как химический состав биоапатита описывается формулой  $\text{Ca}_{10-x-y/2}(\text{HPO}_4)_x(\text{CO}_3)_y(\text{PO}_4)_{6-x-y}(\text{OH})_{2-x}$ , где  $0 \leq x \leq 2$ ;  $0 \leq y \leq 4$  [1]. Содержание кальция, фосфора и фтора в костных тканях согласно [2-3] представлено в табл. 1.

Таблица 1

**Основной элементный состав костных тканей человека**

Элемент	Массовое содержание, %		
	Эмаль	Дентин	Кость
Ca	36,5	35,1	34,8
P	17,7	16,9	15,2
F	0,01	0,06	0,03

Считается, что уникальные свойства биоапатитов определяются их химическим составом, морфологией кристаллов и свойствами поверхности материалов. В последние годы основным методом, позволяющим максимально приблизить структуру и свойства синтетического гидроксиапатита к биоапатиту, является химическое модифицирование биосовместимыми катионами или анионами. Как правило, в качестве модифицирующих добавок выбирают соединения, содержащие элементы, входящие в состав естественной кости. Биоапатит содержит в своем составе  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{SiO}_4^{4-}$ , поэтому в качестве модификаторов микроструктуры используют вещества, содержащие именно эти катионы и анионы. Было установлено, что подобное модифицирование структуры ГАП позволяет эффективно управлять биологической функцией кальций-фосфатных имплантатов, в частности регулировать скорость резорбции таких материалов при контакте с межтканевыми жидкостями [4]. Среди анионнозамещенных фосфатов кальция весьма

перспективным биоматериалом для стоматологических целей является фторсодержащий гидроксиапатит (F-ГАП).

Основной причиной разрушения зубной эмали является нарушение биохимического и кислотно-щелочного балансов в полости рта, когда под влиянием бактерий и кислот начинает превалировать процесс деминерализации (рис. 1). Для восстановления поверхности эмали требуется проведение лечебно-профилактических мероприятий по усилению процесса реминерализации.

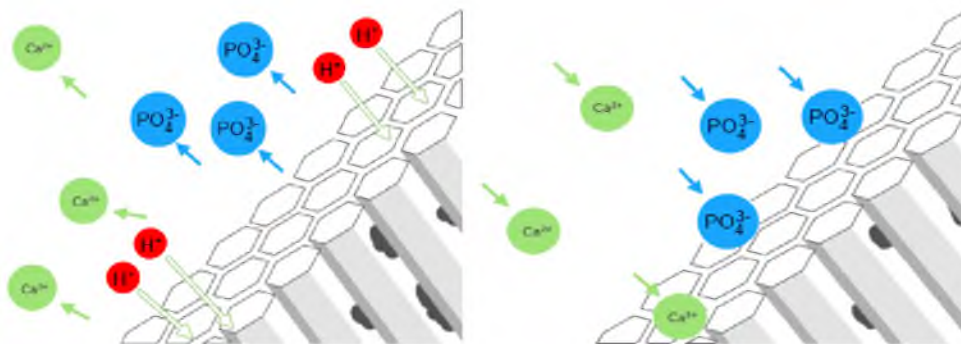
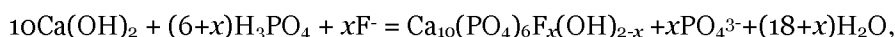


Рис. 1. Деминерализация и реминерализация на поверхности эмали

В настоящее время для профилактики и предотвращения возникновения кариеса зарубежные и отечественные производители предлагают фторсодержащие зубные пасты, где в качестве фторсодержащего компонента вводят NaF, SnF<sub>2</sub>, AlF<sub>3</sub>, а некоторые производители еще дополнительно вводят кальций-фосфатный компонент в виде синтетического гидроксиапатита. Вместе с тем, введение в рецептуру зубных паст фторсодержащего наноразмерного гидроксиапатита, по нашему мнению, может давать синергетический эффект, поскольку F-ГАП наиболее близок к биоапатиту, формирующему эмаль зубов.

В данной статье представлены результаты исследований по синтезу фторзамещенных гидроксиапатитов с разной степенью замещения и оценке их биологической активности (далее биоактивности).

**Материалы и методы.** Синтез вели в следующей последовательности: к насыщенному раствору гидроксида кальция добавляли стехиометрическое количество NH<sub>4</sub>F. Затем прибавляли рассчитанное количество раствора ортофосфорной кислоты с определенной скоростью при интенсивном перемешивании. Процесс синтеза можно описать следующим уравнением:



где  $x$  – степень замещения фторид-ионов в кристаллической структуре ГАП и составляла от 0,5 до 2,0.

Продукты синтеза после окончания процесса отстаивались до полного осаждения. Полученные осадки отделяли от маточного раствора фильтрованием, затем сушили в сушильном шкафу до постоянной массы. Для достижения наибольшей степени кристалличности и дополнительного удаления побочных продуктов реакции порошки термообработывали при 350°C в течение 24 в муфельной печи. Полученные продукты синтеза представляют собой белые кристаллические порошки (рис. 2).



Рис. 2. Различные формы фторзамещенного ГАП, синтезированные авторами



Для оценки степени фазовой чистоты, параметров элементарной ячейки, степени кристалличности и размера кристаллов, а также пространственной группы синтезированных объектов применяли метод рентгенофазового анализа с использованием рентгеновского дифрактометра ARL X'TRA., также определяли удельную поверхность порошков методом низкотемпературной адсорбции и термодесорбции азота (метод БЭТ) на газо-адсорбционном анализаторе TriStar II 3020. Введение фторид-ионов в структуру элементарной ячейки гидроксиапатита дополнительно контролировали методом инфракрасной спектроскопии на ИК-Фурье спектрометре Nicolet 6700 (Thermo Electron Corporation, США).

Были реализованы два варианта оценки биоактивности синтезированных образцов:

- «статический метод» – путем потенциометрического измерения активности ионов кальция по мере растворения материала в ацетатном буфере с pH= 4,5;
- специально разработанный «динамический метод», когда к суспензиям порошков гидроксиапатита с постоянной скоростью из бюретки добавляли малые порции соляной кислоты и непрерывно регистрировали значение pH гетерогенной системы [5].

**Результаты и их обсуждение.** На рис. 3 приведены ИК-спектры поглощения F-ГАП.

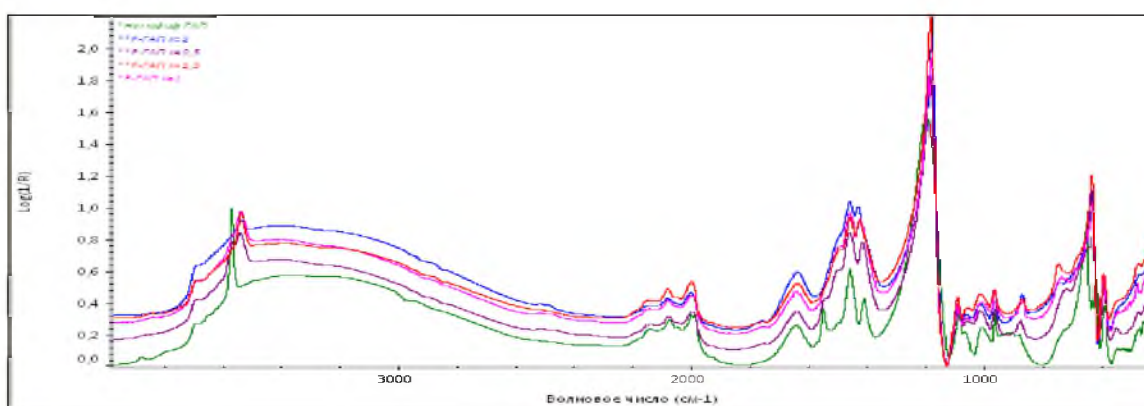


Рис. 3. ИК-спектр образцов F-ГАП

Из анализа спектров поглощения продуктов синтеза следует, что хотя все образцы имеют характерные полосы валентных колебаний группы  $\text{OH}^-$  (в интервале  $3530\text{--}3571\text{ см}^{-1}$ ), однако ослабление их интенсивности указывает на процесс замещения групп  $\text{OH}^-$  другими функциональными группами. Интенсивность полосы колебаний группы  $\text{PO}_4^{3-}$  у всех образцов остается неизменной, следовательно, фосфат-анионы в структуре ГАП не подвергаются замещению. Все фторсодержащие апатиты имеют характерные полосы валентных колебаний группы  $\text{F}^-$  в диапазоне  $900\text{--}1100\text{ см}^{-1}$ . Это свидетельствует об успешном и преимущественном замещении гидроксильных групп на фторид-ионы.

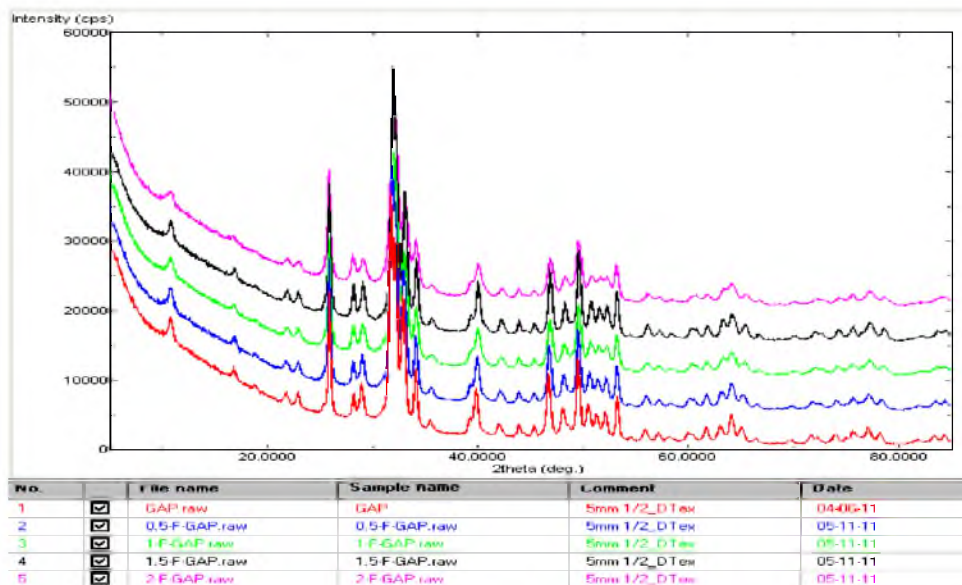


Рис. 4. Диффрактограммы РФА образцов F-ГАП

Порошковые дифрактограммы образцов F-ГАП представлены на рис. 4. Результаты обработки данных рентгенофазового анализа приведены в табл. 2 и на рис. 5.

Таблица 2

**Физико-химические характеристики образцов**

		F-ГАП				
Коэфф. замещения (x)		0	0,5	1,0	1,5	2,0
Постоянная решетки (Å)	a=b	9,41	9,42	9,40	9,0	9,39
	c	6,86	6,89	6,89	6,90	6,91
Кристалличность, %		91,00	90,84	91,6	91,81	91,74
Средний размер кристалла (нм)		65,5	4,35	31,3	35,7	26,1

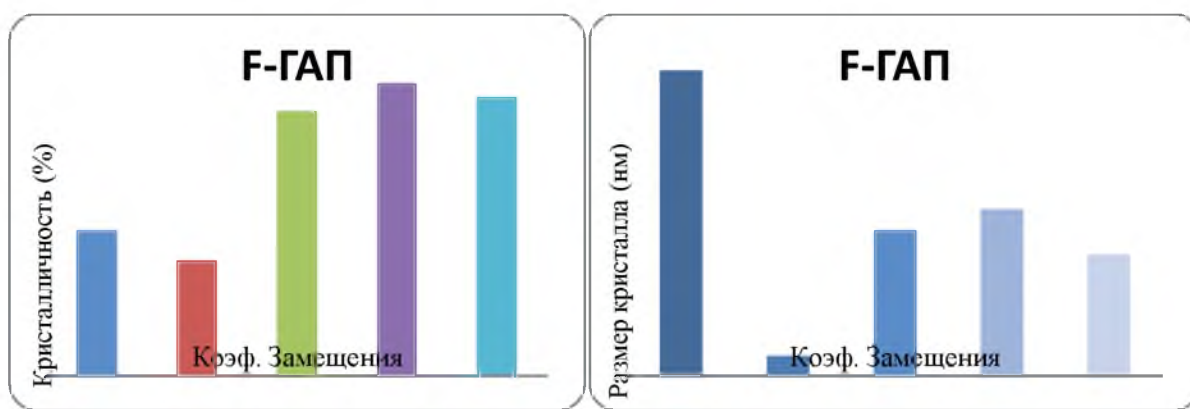


Рис. 5. Зависимость кристалличности (а) и размера кристалла (б) образцов F-ГАП от коэффициента замещения

Из представленных данных видно что, внедрение фторид-ионов приводит к искажению кристаллической решетки ГАП, особенно в случае образца F-ГАП с коэффициентом замещения 1,5, где наблюдается наибольшее различие значений постоянных ячейки модифицированного и нормального ГАП (a=b=9,0 нм и a=b=9,41 нм соответственно). Важно также отметить факт уменьшения среднего размера кристалла у всех образцов F-ГАП примерно в 2 раза, по сравнению с немодифицированным ГАП. При этом в исследованном интервале замещения F-ионов выявлено особенно резкое уменьшение размера кристаллов у F-ГАП со степенью замещения 0,5, что требует дополнительных исследований.

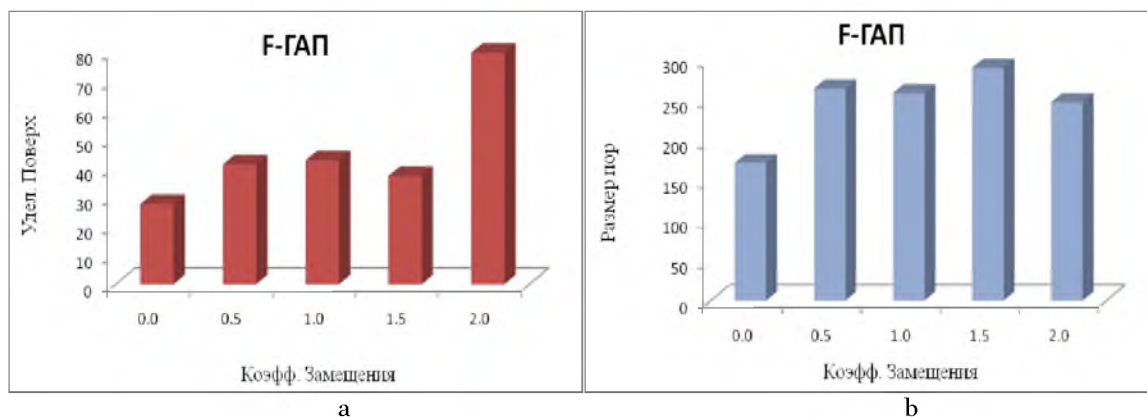


Рис. 6. Зависимость удельной поверхности (а) и среднего размера пор (б) образцов F-ГАП от коэффициента замещения



В целом приведенные характеристики синтезированных образцов наноразмерного гидроксиапатита хорошо согласуются с литературными данными [2, 4-6]. Среди полученных образцов F-ГАП максимум кристалличности достигается у F<sub>1,5</sub>-ГАП, что определяется главным образом условиями термообработки и диспергирования продуктов после синтеза.

Результаты определения удельной поверхности, объема и среднего размера пор представлены на рис. 6.

Из представленных результатов следует, что внедрение фторид-ионов в кристаллическую решетку ГАП приводит к увеличению удельной поверхности и среднего размера пор почти в 1,5-2 раза по сравнению с нормальным гидроксиапатитом. Это может положительно отразиться на сорбционных свойствах ГАП. При этом удельная поверхность образцов, как правило, увеличивается с повышением коэффициента замещения.

На рис. 7 представлены результаты исследования биоактивности *in vitro*.

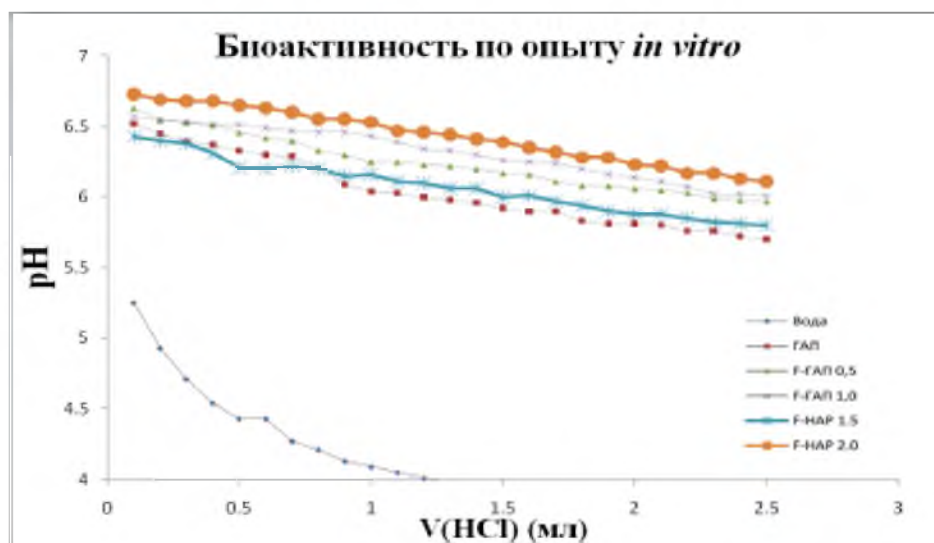


Рис. 7: Оценка биоактивности образцов F-ГАП

Графики, приведенные на рис. 7, свидетельствуют о наличии прямолинейной зависимости  $pH = f(V_{HCl})$  для всех синтезированных образцов ГАП. При этом график изменения pH для нормального гидроксиапатита идет параллельно практически всем графикам образцов фторсодержащего ГАП, что указывает на сопоставимую скорость растворения изученных образцов. Это, в свою очередь, позволяет говорить о близких значениях биоактивности этих образцов независимо от степени замещения фторид-ионами. Исключением является только график растворения F-ГАП со степенью замещения 1,5 по сравнению с таковым для немодифицированного состава. У него скорость растворения и, соответственно, биоактивность несколько ниже, что объясняется более совершенной кристалличностью.

**Выводы.** Образцы фторсодержащего наноразмерного гидроксиапатита, синтезированные методом осаждения из водных растворов, являются однофазными кристаллическими порошками и принадлежат к пространственной группе R63/m гексагональной системы. С использованием метода ИК-спектроскопии установлено, что, фторид-ионы преимущественно замещают позиции гидроксид-ионов в кристаллической решетке ГАП. Внедрение фторид-ионов приводит к искажению кристаллической решетки, что отражается на параметрах элементарной ячейки, особенно в случае образца F-ГАП с коэффициентом замещения 1,5. Методом *in-vitro* установлено, что биоактивность этих образцов не зависит от доли фторид-ионов.

Полученный модифицированный наногидроксиапатит может успешно использоваться в качестве комплексного фторсодержащего компонента в рецептуре зубных паст для повышения их эффективности противостоять деминерализации и кариесу.

*Работа выполнена в рамках договора об условиях предоставления и использования субсидии на реализацию комплексного проекта по созданию высокотехнологического производства, выполняемого с участием российского высшего учебного заведения № 13.G25.31.0006 от 07.09.2010г. «Биосовместимые композиционные и кальцийсодержащие остеопластические и лечебно-профилактические материалы для медицины».*



---

**Литература**

1. Вересов, А.Г. Направленный синтез высокодисперсных материалов на основе гидроксиапатита : автореф. дис. ... канд. хим. наук : 02.00.01 / А. Г. Вересов. – М., 2003. – 22 с.
2. Tschoppe, P. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes / P. Tschoppe, L. Daniela Zandim, P. Martus, A.M. Kielbassa // *Journal of dentistry*. – 2011. – № 39. – P. 430-437.
3. Jiangling, L. Structural characterisation of apatite-like materials : dis. on metallurgy and materials / L. Jiangling – College of Engineering and Physical Sciences, University of Birmingham, UK. 2009. – 167 с.
4. Климашина, Е.С. Синтез, структура и свойства карбонатзамещенных гидроксиапатитов для создания резорбируемых биоматериалов : автореф. канд. хим. наук (02.00.01) / Е.С. Климашина; Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева. – М., 2011. – 23 с.
5. Трубицын, М.А. Физико-химические методы в оценке биоактивности кремнийсодержащего гидроксиапатита / М.А. Трубицын, Н.Г. Габрук, И.И. Олейникова, Ле Ван Тхуан, Доан Ван Дат // *Международный журнал экспериментального образования*. – 2012. – № 6. – С. 129-130.
6. Hae-Won, Kim. Nanofiber Generation of Hydroxyapatite and Fluor-Hydroxyapatite Bioceramics / Hae-Won Kim, Hyoun-Ee Kim // *J Biomed Mater Res Pt B Appl Biomater*. – 2006. – № 77 (2). – С. 323-328.

## **SYNTHESIS AND DEFINITION OF LATTICE PARAMETERS OF FLUORIDE NANO-HYDROXYAPATITE SAMPLES**

**M.A. TRUBITSYN  
NGUYEN DINH CHIEN**

*Belgorod National  
Research University*

*e-mail: troubitsin@bsu.edu.ru*

In this article the synthesis and definition of lattice parameters of fluoride nano-hydroxyapatite (F-HAp) samples, which were synthesized by precipitation from aqueous solutions with different replacement rates, are conducted. Evaluation of their bioactivity by dynamic method suggests the possibility to use F-GAP as an additive to dental fluoride toothpastes.

Keywords: Calcium phosphate, bioapatite, nano hydroxyapatite, stomatology, fluoride toothpaste.