Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации
Федеральное государственное
бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тверской государственный университет»

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ИЗУЧЕНИЯ КЛАСТЕРОВ,
НАНОСТРУКТУР
И НАНОМАТЕРИАЛОВ**

**PHYSICAL AND CHEMICAL ASPECTS
OF THE STUDY OF CLUSTERS,
NANOSTRUCTURES AND
NANOMATERIALS**

**FIZIKO-HIMIČESKIE ASPEKTY
IZUČENIÂ KLASTEROV,
NANOSTRUKTUR I NANOMATERIALOV**

выпуск 13

ТВЕРЬ 2021

УДК 620.22:544+621.3.049.77+539.216.2:537.311.322: 530.145

ББК Ж36:Г5+В379

Ф50

Рецензирование статей осуществляется на основании Положения о рецензировании статей и материалов для опубликования в журнале «Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов».

Официальный сайт издания в сети Интернет:

<https://www.physchemaspects.ru>

Ф50 Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов [Текст]. – Тверь: Издательство Тверского государственного университета, 2021. – Вып. 13. – 956 с.

Зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций, свидетельство о регистрации СМИ ПИ № ФС77-47789 от 13.12.2011.

Издание составлено из оригинальных статей, кратких сообщений и обзоров теоретического и экспериментального характера, отражающих результаты исследований в области изучения физико-химических процессов с участием кластеров, наноструктур и наноматериалов физики, включая межфазные явления и нанотермодинамику. Журнал предназначен для научных и инженерно-технических работников, преподавателей ВУЗов, студентов и аспирантов. Издание подготовлено на кафедре общей физики Тверского государственного университета.

Переводное название: Physical and chemical aspects of the study of clusters, nanostructures and nanomaterials

Транслитерация названия: Fiziko-himičeskie aspekty izučeniâ klasterov, nanostruktur i nanomaterialov

УДК 620.22:544+621.3.049.77+539.216.2:537.311.322: 530.145

ББК Ж36:Г5+В379

Print ISSN 2226-4442

Online ISSN 2658-4360

© Коллектив авторов, 2021

© Тверской государственный университет, 2021

УДК: 661.842.455:612.398.[12+133]

Оригинальная статья

ОСАЖДЕНИЕ ГИБРИДНЫХ НАНОКОМПОЗИТОВ ГИДРОКСИАПАТИТ / АУТОФИБРИН В СЛАБОЩЕЛОЧНОЙ СРЕДЕ

И.Е. Глазов¹, В.К. Крутько¹, Р.А. Власов², О.Н. Мусская¹, Л.В. Кульбицкая¹,
А.И. Кулак¹

¹ГНУ «Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси»

220072, Республика Беларусь, Минск, ул. Сурганова, 9/1

²Медицинский центр SANTE ООО «Медандровит»

220033, Республика Беларусь, Минск, ул. Тростенецкая, 3

tsuber@igic.bas-net.by

DOI: 10.26456/pcascnn/2021.13.818

Аннотация: Синтезированы гибридные наноконпозиты на основе гидроксиапатита и аутофибрина в форме фибринового сгустка либо цитратной плазмы путем осаждения при pH 9. «Мягкие» условия осаждения и быстрое выделение наноконпозитов способствовали сохранению биополимерной матрицы аутофибрина. Дестабилизация дополнительной фазы аморфного фосфата кальция с образованием стехиометрического гидроксиапатита обусловлена влиянием макромолекул фибрина. Формирование кальцийдефицитного гидроксиапатита с $x \approx 0,1$ и Ca/P 1,65 происходило в среде цитратной плазмы, который после $800^\circ C$ превращался в смесь гидроксиапатит / β -трикальцийфосфат. Синтез композитов на основе биомиметического апатита осуществляли при добавлении 30 об.% модельного раствора Simulated Body Fluid (SBF). Влияние ионов Mg^{2+} , CO_3^{2-} , входящих в состав SBF, способствовало стабилизации аморфного фосфата кальция и образованию карбонатзамещенного гидроксиапатита, устойчивого к термическим превращениям до $800^\circ C$. Совокупное влияние аутофибрина и ионов введенного SBF позволило управлять составом минеральной составляющей гибридных наноконпозитов без разрушения биополимерной матрицы.

Ключевые слова: гибридный наноконпозит, гидроксиапатит, фибрин, цитратная плазма, аморфный фосфат кальция, кальцийдефицитный гидроксиапатит, карбонат-гидроксиапатит.

1. Введение

Материалы на основе компонентов крови широко применяют для лечения ран и стимуляции заживления поврежденных тканей [1, 2]. Использование таких материалов началось в 1970 г. с описания фибриновых клеев [3], действие которых имитирует последнюю стадию коагуляции плазмы крови – образование фибрина (ФБ) из фибриногена с участием тромбина и ионов Ca^{2+} . Коммерческие наборы фибриновых клеев обычно включают очищенные и концентрированные фибриноген, тромбин и источник ионов Ca^{2+} , которые при смешивании образуют плотную фибриновую сетку. Источники фибриногена аутогенной природы [1], такие как цитратная плазма (ЦП), являются безопасными аналогами коммерческих фибриновых клеев за счет биосовместимости и отсутствия

иммунной реакции [4]. На сегодняшний день, фибриновые клеи широко применяют в таких областях медицины, как доставка лекарственных средств и тканевая инженерия, включая инженерию костной ткани [5].

Одним из способов повышения эффективности применения компонентов крови в тканевой инженерии кости является их использование в сочетании с гидроксиапатитом (ГА) $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, который является распространенным биоматериалом для костных имплантатов с остеоиндуктивными и остеокондуктивными свойствами [6, 7]. Известно, что инкорпорация наночастиц ГА в матрицу ФБ способствует увеличению механической прочности [8] и остеогенных свойств [9] биополимера. С другой стороны, фибриновый клей заполняет объем костного дефекта [10] и стабилизирует положение имплантатов на основе ГА в процессе остеогенеза. Проведенные ранее нами исследования [11, 12] доказали эффективность применения композитов на основе компонентов крови и геля ГА в ЛОР-хирургии. В наших предыдущих работах [13, 14] описаны физико-химические свойства композитов на основе ГА, полученных осаждением в среде ФБ либо ЦП при pH 11. Полученные данные указывают на влияние добавок биополимерной матрицы на фазовый состав продукта осаждения без изменения морфологии. Однако длительное выдерживание образцов в сильнощелочной среде, необходимой для формирования стехиометрического ГА, сопровождалось частичным разрушением биополимерной матрицы. Поэтому в данной работе исследовано формирование гибридных нанокомпозитов на основе ГА и компонентов крови (ФБ, ЦП) в «мягких» условиях осаждения при pH 9 и быстрого выделения методом фильтрования-декантации, а также изучен фазовый состав композитов на основе ГА, синтезированных в присутствии модельного раствора SBF (Simulated Body Fluid).

2. Экспериментальная часть

Синтезы ГА и его композитов осуществляли по известной методике [6, 11] путем взаимодействия растворов 1,2 М $CaCl_2$ и 0,6 М $(NH_4)_2HPO_4$ при отношении Ca/P 1,67 и величине pH 9, создаваемой водным раствором аммиака (0,907 г/см³). Компоненты крови (ФБ, ЦП) получали из образцов донорской крови мужчин 20–40 лет в соответствии со ст. 44 Закона о здравоохранении РБ. Сгусток ФБ выделяли путем многократного встряхивания свежей донорской крови с последующим промыванием холодной дистиллированной водой. Образцы ЦП получали смешиванием 18 мл донорской крови с 2 мл антикоагулянта (3,8 масс.% раствора цитрата натрия) и последующим центрифугированием при 3000 об/мин в течение 15 мин; отбирали верхнюю фракцию. Гибридные композиты ГА

осаждали в среде, содержащей 0,3 г сгустка ФБ либо до 6 об.% ЦП. Биомиметический апатит и его композиты (ГА / SBF) получали при введении в реакционную среду 30 об.% модельного раствора SBF с pH 7,4 [15]. Осадки выдерживали под маточным раствором в течение 4 сут, для быстрой нейтрализации слабощелочной среды отделяли фильтрованием, после чего промывали дистиллированной водой до величины pH 7,0–7,2. Для идентификации, отмытые образцы высушивали при 60 °С и термообработывали при 800 °С.

Функционально-групповой состав влажных образцов ФБ исследовали методом ИК-спектроскопии (ИКС) отражения, которую осуществляли на ИК-Фурье микроскопе Hyperion (Bruker, Германия) с использованием 15-кратного G_{16} -объектива в диапазоне 4000–500 cm^{-1} . ИК-спектры пропускания высушенных образцов записывали на ИК-Фурье спектрометре Tensor-27 (Bruker, Германия) с использованием таблеток бромида калия (2 мг вещества на 800 мг бромида калия) в диапазоне 4000–400 cm^{-1} . Рентгенофазовый анализ (РФА) проводили на дифрактометре ADVANCE D 8 (Bruker, Германия) при $Cu_{K\alpha}$ 1,5405 Å с использованием баз данных ICDD PDF-2 [16].

3. Результаты и обсуждение

Согласно полученным данным, в водном растворе аммиака с pH 11 сгусток ФБ растворялся в течение суток, что свидетельствует о его неустойчивости в сильнощелочной среде. Уменьшение величины pH реакционной среды до 9 способствовало увеличению устойчивости ФБ до двух недель, что превышает длительность выдерживания осадка ГА под маточным раствором [6, 11]. Устойчивость сгустка ФБ обуславливает сохранение его объема, в котором может быть локализовано формирование ГА в композитах ГА / ФБ.

Осаждение ГА в матрице ЦП сопровождалось запуском процесса коагуляции плазмы и образованием сетки ФБ по всему объему реакционной смеси [14], о чем свидетельствовало схватывание осадка в процессе его выдерживания под маточным раствором. После формирования ФБ сетки, избыток биополимеров в составе ЦП постепенно удаляли из реакционной среды при длительной декантации. Поэтому именно ФБ являлся основным биополимерным компонентом в образцах ГА / ФБ и ГА / ЦП. Причем устойчивость ФБ при pH 9 обуславливала повышенное содержание биополимерной составляющей в гибридных композитах, осажденных при pH 9, что подтверждается данными ИКС.

На ИК-спектрах отражения образцов ФБ (см. рис. 1 а) наблюдались полосы колебаний амидных групп: при 1700–1600 cm^{-1} валентных

колебаний $C=O$ (амид I), при $1600\text{--}1500\text{ см}^{-1}$ плоскостных деформационных колебаний $N-H$ (амид II) и при $1330\text{--}1190\text{ см}^{-1}$ валентных колебаний $C-N$ (амид III). В области при $1500\text{--}1330\text{ см}^{-1}$ представлены полосы колебаний гидрофобных боковых групп аминокислот, а при $1190\text{--}700\text{ см}^{-1}$ – полосы колебаний $C-O$ полисахаридов [17, 18]. Полосы в области $3800\text{--}2000\text{ см}^{-1}$ соответствуют валентным колебаниям $O-H$ воды и валентным колебаниям $C-H$ и $N-H$ макромолекул ФБ. В процессе высыхания, степень разрешения полос биополимера на ИК-спектрах (см. рис. 1 а, кривые 1-3) увеличивалась, а степень разрешения полос связанной воды уменьшалась. Данные ИКС указывают на возможность идентификации ФБ в составе композитов с ГА по присутствию на ИК-спектрах полос амидов I и II, которые являются одними из наиболее интенсивных среди характеристических полос ФБ и не перекрываются полосами колебаний $O-P-O$, $O-C-O$ апатитов.

Рис. 1. ИК-спектры отражения влажных ФБ сгустков (а) и пропускания образцов после 60°C (б): 1–3 – ФБ сгусток в процессе высыхания, 4 – ГА; 5 – ГА / ФБ; 6 – ГА / ЦП; 7 – ГА / SBF; 8 – ГА / SBF / ФБ; 9 – ГА / SBF / ЦП.

На ИК-спектрах пропускания ГА и его композитов (см. рис. 1 б) наблюдались полосы валентных ($3600\text{--}3200\text{ см}^{-1}$) и деформационного (1650 см^{-1}) колебаний $H-O-H$ адсорбированной и структурной воды. Полосы валентных асимметричных (1090 , 1040 см^{-1}), валентного симметричного (956 см^{-1}) и деформационных (603 , 566 , 472 см^{-1}) колебаний $O-P-O$, а также полосы валентного (3570 см^{-1}) и либрационного (633 см^{-1}) колебаний $O-H$ – характеристические для апатита. На ИК-спектрах ГА и ГА / ФБ (см. рис. 1 б, кривые 4, 5) полосы колебаний $O-H$ апатита при 3570 , 633 см^{-1} являлись более интенсивными по сравнению с композитом ГА / ЦП

(см. рис. 1 б, кривая 6), что обусловлено образованием кальцийдефицитного ГА [19] $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$, $0 < x < 1$ в присутствии матрицы ЦП. Полосы валентных ассиметричных ($1485, 1448, 1417 \text{ см}^{-1}$) и деформационных (876 см^{-1}) колебаний $\text{O}-\text{C}-\text{O}$ (см. рис. 1 б, кривые 4-6) свидетельствуют о карбонатном замещении Б-типа в структуре апатитов [20]. Склонность апатитов к ионному обмену [7] объясняет инкорпорацию CO_3^{2-} -ионов, источником которых является CO_2 , растворенный в щелочной среде формирования ГА. В случае композитов с ЦП, в области при $1600-1500 \text{ см}^{-1}$ проявилась полоса амида II (см. рис. 1 б, кривая 6, отмечена стрелкой), которая указывает на сохранение ФБ в структуре нанокompозита. Отсутствие данной полосы на ИК-спектре ГА / ФБ (см. рис. 1 б, кривая 5) может быть обусловлено превращением α -спиралей макромолекул ФБ в β -листы [17]. В качестве движущей силы такого превращения может выступать растяжение ФБ сгустка при формировании в нём фазы ГА.

Осаждение ГА в присутствии SBF сопровождалось формированием биомиметического апатита за счет инкорпорации ионов SBF в решетку твердой фазы. На ИК-спектрах ГА / SBF (см. рис. 1 б, кривые 7-9), характеристические полосы $\text{O}-\text{P}-\text{O}$ и $\text{O}-\text{H}$ апатита, особенно при 956 см^{-1} и 633 см^{-1} , обладали пониженной разрешенностью по сравнению с образцами, осажденными без SBF (см. рис. 1 б, кривые 4-6), что может быть обусловлено присутствием аморфного фосфата кальция (АФК) $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, $n = 3,0-4,5$ [21]. Стабилизация неустойчивого в водных растворах АФК могла происходить под влиянием ионов Mg^{2+} и CO_3^{2-} , входящих в состав SBF [21]. На ИК-спектре композита ГА / SBF / ЦП также проявилась полоса амида II при $1600-1500 \text{ см}^{-1}$ (см. рис. 1 б, кривая 9, отмечена стрелкой). Полосы колебаний $\text{O}-\text{C}-\text{O}$ (см. рис. 1 б, кривые 7-9) при $1538, 1502, 1492, 1456, 1422, 873 \text{ см}^{-1}$ относятся к АБ-типу карбонатного замещения [20], причем их интенсивность повышена по сравнению с образцами, осажденными без SBF (см. рис. 1 б, кривые 4-6). Гибридные композиты ГА / SBF, ГА / SBF / ФБ, и ГА / SBF / ЦП за счет повышенного содержания CO_3^{2-} -ионов в структуре по своему составу приближаются к костному апатиту [22], степень карбонатного замещения в котором достигает 8 масс. %.

Дифрактограмма высушенного ФБ (см. рис. 2 а, кривая 1) представлена двумя рентгеноаморфными гало при 2θ $15-30^\circ$ и $30-45^\circ$ без разрешенных рефлексов, что обусловлено аморфной структурой сетчатого полимера. Дифрактограммы высушенного ГА и его композитов (см. рис. 2 а, кривые 2-7) содержат уширенные рефлексы при 2θ $25,9^\circ, 32,0^\circ, 34,0^\circ, 39,7^\circ$, характерные для аморфизированных апатитов. Однако, на

дифрактограммах композитов на основе ЦП (см. рис. 2 а, кривые 4, 7) дополнительно проявился рефлекс при 2θ 33,1°, характерный для фазы ГА, что свидетельствует о большей кристалличности апатита по сравнению с ГА и ГА / ФБ (см. рис. 2 а, кривые 2, 3, 5, 6). Формирование более закристаллизованного апатита может указывать на способность матрицы ЦП стимулировать рост кристаллов ГА в процессе его созревания.

Рис. 2. Дифрактограммы образцов после 60 °С (а) и 800 °С (б): 1 – ФБ; 2 – ГА; 3 – ГА / ФБ; 4 – ГА / ЦП; 5 – ГА / SBF; 6 – ГА / SBF / ФБ; 7 – ГА / SBF / ЦП. Здесь ○ – аморфизированный апатит; α / β – модификации ТКФ; ● – стехиометрический ГА.

Высушенные апатиты значительно аморфизированы, что затрудняет их идентификацию, поэтому фазовый состав образцов изучали по их термическим превращениям после 800 °С [6]. После прогрева при 800 °С в составе всех образцов преобладает фаза ГА (см. рис. 2 б), что обусловлено условиями осаждения. В отсутствие биополимерной матрицы осаждение ГА при pH 9 сопровождалось образованием 15 масс.% фазы АФК, которая после 800 °С кристаллизовалась в 14 масс.% α-ТКФ (см. рис. 2 б, кривая 2) согласно уравнению реакции (1):

Присутствие АФК может быть связано с его повышенной устойчивостью к превращению в апатит при pH 9 в сравнении с pH 11 [21]. Образец ГА / ФБ после 800 °С представлен однофазным ГА (см. рис. 2 б, кривая 3), что указывает на дестабилизацию АФК при pH 9 в присутствии макромолекул ФБ. Кроме того, поверхность ФБ сгустка

может выступать в качестве подложки, способствующей формированию стехиометрического ГА. После 800 °С кальцийдефицитный ГА в составе ГА / ЦП превращался в смесь ГА и 12 масс.% β -ТКФ (см. рис. 2 б, кривая 4) в соответствии с уравнением реакции (2):

Согласно уравнению реакции (2), кальцийдефицитный ГА в составе ГА / ЦП характеризуется параметром $x \approx 0,1$ и отношением Ca/P 1,65, что соответствует формуле $Ca_{9,9}(HPO_4)_{0,1}(PO_4)_{5,9}(OH)_{1,9}$. Причиной нарушения стехиометрии апатита является ограничение диффузии ионов Ca^{2+} анионными функциональными группами матрицы ЦП, что подтверждается результатами измерения величин ζ -потенциалов компонентов гибридного нанокompозита [14].

Карбонатзамещенный биомиметический апатит и его композиты, полученные при введении SBF, после 800 °С представлены однофазным ГА (см. рис. 2 б, кривые 5-7), хотя введение CO_3^{2-} -ионов в структуру ГА, как правило, понижает его температуру разложения до 700–750 °С [20]. Вероятно, повышенная термическая устойчивость биомиметического апатита, которая характерна и для костного апатита [23], обусловлена стабилизацией апатитовой решетки под влиянием ионов SBF. На дифрактограммах композита ГА / SBF / ЦП после 800 °С наиболее интенсивный рефлекс фазы ГА при hkl (211), а также рефлексы при hkl (210), (300), (301), (130), (131) характеризовались смещением в малоугловую область на 2θ 0,16–0,28° (см. рис. 2 б, кривая 7, обозначены стрелками). Данное смещение может свидетельствовать об искажении апатитовой решетки, которое обусловлено внедрением ионов SBF и стабилизировано влиянием матрицы ЦП.

Согласно полученным данным, осаждение гибридных нанокompозитов в слабощелочной среде при pH 9 способствовало образованию фазы ГА без разрушения биополимерных макромолекул. Варьирование источника аутофибрина и введение модельного раствора SBF позволили управлять формированием дополнительной фазы АФК и отклонением основной фазы ГА от стехиометрии, что обеспечивает тонкий контроль резорбируемости.

4. Заключение

Синтезированы гибридные нанокompозиты на основе ГА в матрице ФБ либо ЦП методом осаждения при pH 9. Биополимерная матрица ФБ ингибировала образование дополнительной фазы АФК, а действие ЦП способствовало формированию кальцийдефицитного ГА с $x \approx 0,1$ и Ca/P

1,65, который после 800 °С превращался в смесь ГА / β -ТКФ. Введение 30 об.% модельного раствора SBF способствовало формированию композитов на основе карбонатзамещенного биомиметического апатита, который характеризовался термической устойчивостью до 800 °С. Совокупное влияние биополимерной матрицы и ионов SBF позволило тонко управлять составом и свойствами гибридных нанокомпозитов на основе ГА. Полученные данные могут быть использованы при разработке биоматериалов для костной пластики с регулируемой резорбцией.

Работа выполнена при финансовой поддержке ГНПИ «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорхимия» по заданию 2.1.04, НИР 7 на 2021-2025 годы и гранта НАН Беларуси № 2021-27-173 на 2021 год.

Библиографический список:

1. **Noori, A.** A review of fibrin and fibrin composites for bone tissue engineering / A. Noori, S.J. Ashrafi, R. Vaez-Ghaemi et al. // International Journal of Nanomedicine. – 2017. – V. 12. – P. 4937-4961. DOI: 10.2147/IJN.S124671.
2. **Ehrenfest, D.M.D.** Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF) / D.M.D. Ehrenfest, L. Rasmusson, T. Albrektsson // Trends in biotechnology. – 2009. – V. 27. – I. 3. – P. 158-167. DOI: 10.1016/j.tibtech.2008.11.009.
3. **Толстов, Д.А.** Тромбоцитарные концентраты: классификация, технологии получения, биологические эффекты / Д.А. Толстов, В.Г. Богдан // Военная медицина. – 2012. – № 3. – С. 141-144.
4. **Khodakaram-Tafti, A.** An overview on autologous fibrin glue in bone tissue engineering of maxillofacial surgery / A. Khodakaram-Tafti, D. Mehrabani, H. Shaterzadeh-Yazdi // Dental Research Journal. – 2017. – V. 14. – I. 2. – P. 79-86. DOI: 10.4103/1735-3327.205789.
5. **Dietrich, M.** Fibrin-based tissue engineering: comparison of different methods of autologous fibrinogen isolation / M. Dietrich, J. Heselerhaus, J. Wozniak et al. // Tissue Engineering Part C: Methods. – 2013. – V. 19. – № 3. – P. 216-226. DOI: 10.1089/ten.tec.2011.0473.
6. **Цубер, В.К.** Синтез, идентификация и определение примесей в биоактивном гидроксиапатите / В.К. Цубер, Л.А. Лесникович, А.И. Кулак и др. // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – Т. 40. – № 8. – С. 48-51. DOI: 10.30906/0023-1134-2006-40-8-48-51.
7. **Uskoković, V.** The role of hydroxyl channel in defining selected physicochemical peculiarities exhibited by hydroxyapatite / V. Uskoković // RSC Advances. – 2015. – V. 5. – I. 46. – P. 36614-36633. DOI: 10.1039/C4RA17180B.
8. **Linsley, C.S.** Mesenchymal stem cell growth on and mechanical properties of fibrin-based biomimetic bone scaffolds / C.S. Linsley, B.M. Wu, B. Tawil // Journal of Biomedical Materials Research Part A. – 2016. – V. 104. – I. 12. – P. 2945-2953. DOI: 10.1002/jbm.a.35840.
9. **Alam, S.** A comparative study of platelet-rich fibrin and platelet-rich fibrin with hydroxyapatite to promote healing of impacted mandibular third molar socket / S. Alam, G. Khare, K.V.A. Kumar // Journal of Maxillofacial and Oral Surgery. – 2020. – 8 p. DOI: 10.1007/s12663-020-01417-9.
10. **Le Nihouannen, D.** Micro-architecture of calcium phosphate granules and fibrin glue composites for bone tissue engineering / D. Le Nihouannen, L. Le Guehennec, T. Rouillon et al. // Biomaterials. – 2006. – V. 27. – I. 13. – P. 2716-2722. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.11.038.
11. **Крутько, В.К.** Гибридные биоматериалы на основе гидроксиапатита и компонентов крови / В.К. Крутько, Р.А. Власов, О.Н. Мусская и др. // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия химических наук. – 2019. – Т. 55. – № 3. – С. 299-308. DOI: 10.29235/1561-8331-2019-55-3-299-308.
12. **Власов, Р.А.** Использование композиционных материалов на основе фибрина и гидрогеля гидроксиапатита в риносептопластике / Р.А. Власов, В.Ф. Мельник, Е.И. Меркулова и др. // Оториноларингология. Восточная Европа. – 2013. – № 3. – С. 29-32.
13. **Глазов, И.Е.** Синтез композиционных материалов на основе фосфатов кальция и компонентов крови / И.Е. Глазов, Р.А. Власов, В.К. Крутько, О.Н. Мусская // Известия Национальной академии наук

Беларуси. Серия химических наук. – 2019. – Т. 55. – № 2. – С. 135-141. DOI: 10.29235/1561-8331-2019-55-2-135-141.

14. **Glazov, I.E.** Effect of platelet-poor plasma additive on the formation of biocompatible calcium phosphates / I.E. Glazov, V.K. Krut'ko, A.I. Kulak et al. // *Materials Today Communications*. – 2021. – V. 27. – I. 5. – Art. № 102224. – 13 p. DOI: 10.1016/j.mtcomm.2021.102224.

15. Powder Diffraction File JCPDS-ICDD PDF-2 (Set 1-47). (Release, 2016). – Режим доступа: [www.url: https://www.icdd.com/pdf-2](http://www.icdd.com/pdf-2). – 15.06.2021.

16. **Kokubo, T.** How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? / T. Kokubo, H. Takadama // *Biomaterials*. – 2006. – V. 27. – I. 15. – P. 2907-2915. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.01.017.

17. **Bramanti, E.** Determination of secondary structure of normal fibrin from human peripheral blood / E. Bramanti, Ed. Benedetti, A. Sagripanti et al. // *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*. – 1997. – V. 41. – I. 5. – P. 545-553. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0282(19970415)41:5<545::AID-BIP6>3.0.CO;2-M.

18. **Litvinov, R.I.** The α -helix to β -sheet transition in stretched and compressed hydrated fibrin clots / R.I. Litvinov, D.A. Faizullin, Y.F. Zuev, J.W. Weisel // *Biophysical Journal*. – 2012. – V. 103. – I. 5. – P. 1020-1027. DOI: 10.1016/j.bpj.2012.07.046.

19. **Cardoso, G.B.C.** In vivo approach of calcium deficient hydroxyapatite filler as bone induction factor / G.B.C. Cardoso, A. Tondon, L.R.B. Maia et al. // *Materials Science Engineering C*. – 2019. – V. 99. – P. 999-1006. DOI: 10.1016/j.msec.2019.02.060.

20. **Глазов, И.Е.** Жидкофазный синтез карбонат-гидроксиапатита / И.Е. Глазов, В.К. Крутько, О.Н. Мусская, А.И. Кулак // *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия химических наук*. – 2019. – Т. 55. – № 4. – С. 391-399. DOI: 10.29235/1561-8331-2019-55-4-391-399.

21. **Combes, C.** Amorphous calcium phosphates: synthesis, properties and uses in biomaterials / C. Combes, C. Rey // *Acta Biomaterialia*. – 2010. – V. 6. – I. 9. – P. 3362-3378. DOI: 10.1016/j.actbio.2010.02.017.

22. **Данильченко, С.Н.** Структура и свойства апатитов кальция с точки зрения биоминералогии и биоматериаловедения (обзор) / С.Н. Данильченко // *Вестник Сумского государственного университета. Серия Физика, математика, механика*. – 2007. – № 2. – С. 33-59.

23. **Galeano, S.** Bone mineral change during experimental calcination: an X-ray diffraction study / S. Galeano, M.L. García-Lorenzo // *Journal of forensic sciences*. – 2014. – V. 59. – I. 6. – P. 1602-1606. DOI: 10.1111/1556-4029.12525.

References:

1. Noori A., Ashrafi S.J., Vaez-Ghaemi R. et al. A review of fibrin and fibrin composites for bone tissue engineering, *International Journal of Nanomedicine*, 2017, vol. 12, pp. 4937-4961. DOI: 10.2147/IJN.S124671.

2. Ehrenfest D.M.D., Rasmusson L., Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF), *Trends in biotechnology*, 2009, vol. 27, issue 3, pp. 158-167. DOI: 10.1016/j.tibtech.2008.11.009.

3. Tolstov D.A., Bogdan V.G. Trombotsitarnye kontsentraty: klassifikatsiya, tekhnologii polucheniya, biologicheskie efekty [Platelet concentrates: classification, production technologies, biological effects], *Voennaya meditsina [Military Medicine]*, 2012, issue 3, pp. 141-144. (In Russian).

4. Khodakaram-Tafti A., Mehrabani D., Shaterzadeh-Yazdi H. An overview on autologous fibrin glue in bone tissue engineering of maxillofacial surgery, *Dental Research Journal*, 2017, vol. 14, issue 2, pp. 79-86. DOI: 10.4103/1735-3327.205789.

5. Dietrich M., Heselhaus J., Wozniak J. et al. Fibrin-based tissue engineering: comparison of different methods of autologous fibrinogen isolation, *Tissue Engineering Part C: Methods*, 2013, vol. 19, no. 3, pp. 216-226. DOI: 10.1089/ten.tec.2011.0473.

6. Tsuber, V.K., Lesnikovich L.A., Kulak A.I. et al. Synthesis, identification and determination of impurities in bioactive hydroxyapatite, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2006, vol. 40, issue 8, pp. 455-458. DOI: 10.1007/s11094-006-0151-2.

7. Uskoković V. The role of hydroxyl channel in defining selected physicochemical peculiarities exhibited by hydroxyapatite, *RSC Advances*, 2015, vol. 5, issue 46, pp. 36614-36633. DOI: 10.1039/C4RA17180B.

8. Linsley, C.S., Wu B.M., Tawil B. Mesenchymal stem cell growth on and mechanical properties of fibrin-based biomimetic bone scaffolds, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2016, vol. 104, issue 12, pp. 2945-2953. DOI: 10.1002/jbm.a.35840.

9. Alam S., Khare G., Kumar K.V.A. A comparative study of platelet-rich fibrin and platelet-rich fibrin with hydroxyapatite to promote healing of impacted mandibular third molar socket, *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery*, 2020, 8 p. DOI: 10.1007/s12663-020-01417-9.

10. Le Nihouannen D., Le Guehennec L., Rouillon T. et al. Micro-architecture of calcium phosphate granules and fibrin glue composites for bone tissue engineering, *Biomaterials*, 2006, vol. 27, issue 13, pp. 2716-2722. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.11.038.
11. Krut'ko V.K., Vlasov R.A., Musskaya O.N. et al. Gibridnye biomaterialy na osnove gidroksiapatita i komponentov krovi [Hybrid biomaterials based on hydroxyapatite and blood components], *Izvestiya Natsional'noj akademii nauk Belarusi. Seriya khimicheskikh nauk [Proceedings of National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series]*, 2019, vol. 55, no. 3, pp. 299-308. DOI: 10.29235/1561-8331-2019-55-3-299-308. (In Russian).
12. Vlasov R.A., Mel'nik V.F., Merkulova E.P. et al. Ispol'zovanie kompozitsionnykh materialov na osnove fibrina i gidrogelya gidroksiapatita v rinoseptoplastike [Application of composite materials on the basis of fibrin and hydrogel of hydroxyapatite for rhinoseptoplasty], *Otorinolaringologiya. Vostochnaya Evropa [Otorhinolaryngology. Eastern Europe]*, 2013, no. 3, pp. 29-32. (In Russian).
13. Glazov I.E., Vlasov R.A., Krut'ko V.K., Musskaya O.N. Sintez kompozitsionnykh materialov na osnove fosfatov kal'ciya i komponentov krovi [Synthesis of composite materials based on calcium phosphates and blood components], *Izvestiya Natsional'noj akademii nauk Belarusi. Seriya khimicheskikh nauk [Proceedings of National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series]*, 2019, vol. 55, no. 2, pp. 135-141. DOI: 10.29235/1561-8331-2019-55-2-135-141. (In Russian).
14. Glazov I.E., Krut'ko V.K., Kulak A.I. et al. Effect of platelet-poor plasma additive on the formation of biocompatible calcium phosphates, *Materials Today Communications*, 2021, vol. 27, issue 5, art. no. 102224, 13 p. DOI: 10.1016/j.mtcomm.2021.102224.
15. Powder Diffraction File JCPDS-ICDD PDF-2 (Set 1-47). (Release, 2016). Available at: [www.url: https://www.icdd.com/pdf-2](https://www.icdd.com/pdf-2) (accessed 15.06.2021).
16. Kokubo T., Tadakama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 2006, vol. 27, issue 15, pp. 2907-2915. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.01.017.
17. Bramanti E., Benedetti Ed., Sagripanti A. et al. Determination of secondary structure of normal fibrin from human peripheral blood, *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 1997, vol. 41, issue 5, pp. 545-553. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0282(19970415)41:5<545::AID-BIP6>3.0.CO;2-M.
18. Litvinov R.I., Faizullin D.A., Zuev Y.F., Weisel J.W. The α -helix to β -sheet transition in stretched and compressed hydrated fibrin clots, *Biophysical Journal*, 2012, vol. 103, issue 5, pp. 1020-1027. DOI: 10.1016/j.bpj.2012.07.046.
19. Cardoso G.B.C., Tondon A., Maia L.R.B. et al. In vivo approach of calcium deficient hydroxyapatite filler as bone induction factor, *Materials Science and Engineering C*, 2019, vol. 99, pp. 999-1006. DOI: 10.1016/j.msec.2019.02.060.
20. Glazov I.E., Krut'ko V.K., Musskaya O.N., Kulak A.I. Zhidkofaznyj sintez karbonat-gidroksiapatita [Wet synthesis of carbonated hydroxyapatite], *Izvestiya Natsional'noj akademii nauk Belarusi. Seriya khimicheskikh nauk [Proceedings of National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series]*, 2019, vol. 55, no. 4, pp. 391-399. DOI: 10.29235/1561-8331-2019-55-4-391-399. (In Russian).
21. Combes C., Rey, C. Amorphous calcium phosphates: synthesis, properties and uses in biomaterials, *Acta Biomaterialia*, 2010, vol. 6, issue 9, pp. 3362-3378. DOI: 10.1016/j.actbio.2010.02.017.
22. Danil'chenko S.N. Struktura i svoystva apatitov kal'tsiya s tochki zreniya biomineralogii i biomaterialovedeniya (obzor) [Structure and properties of calcium apatites from viewpoint of biominerology and biomaterial science (a review)], *Vestnik Sumskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya Fizika, matematika, mekhanika [Proceedings of Sumy State University. Physics, mathematics, mechanics series]*, 2007, issue 2, pp. 33-59. (In Russian).
23. Galeano S., García-Lorenzo M.L. Bone mineral change during experimental calcination: an X-ray diffraction study, *Journal of forensic sciences*, 2014, vol. 59, issue 6, pp. 1602-1606. DOI: 10.1111/1556-4029.12525.

Original paper

PRECIPITATION OF HYBRID HYDROXYAPATITE / AUTOFIBRIN NANOCOMPOSITES

I.E. Glazov¹, V.K. Krut'ko¹, R.A. Vlasov², O.N. Musskaya¹, L.V. Kul'bitskaya¹, A.I. Kulak¹

¹*The Institute of General and Inorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Belarus*

²*Medical-Center SANTE Ltd. «Medandrovit», Minsk, Belarus*

DOI: 10.26456/pcascnn/2021.13.818

Abstract: Hybrid composites based on hydroxyapatite and autofibrin were synthesized by precipitation in a medium with $pH = 9$. Soft precipitation conditions and rapid isolation of the

composite precipitates favored preservation of a biopolymer matrix of autofibrin. An effect of fibrin macromolecules contributed to destabilization of the amorphous calcium phosphate phase and formation of stoichiometric hydroxyapatite. The medium of the citrated plasma stimulated precipitation of calcium-deficient hydroxyapatite with $x \approx 0,1$ and the Ca/P ration of 1,65 which transformed into the mixture of hydroxyapatite / β -tricalcium phosphate at 800 °C. Biomimetic apatite composites were synthesized with an addition of 30 vol. % of a Simulated Body Fluid (SBF) model solution. The effect of Mg^{2+} , CO_3^{2-} ions of SBF promoted the stabilization of amorphous calcium phosphate and formation of carbonated hydroxyapatite that exhibited thermal stability up to 800 °C. The cumulative effect of autofibrin and ions of induced SBF provided controlling composition of the mineral part of hybrid nanocomposites without disruption of an autofibrin matrix.

Keywords: *hybrid nanocomposite, hydroxyapatite, fibrin, citrated plasma, amorphous calcium phosphate, calcium-deficient hydroxyapatite, carbonated hydroxyapatite.*

Глазов Илья Евгеньевич – младший научный сотрудник лаборатории фотохимии и электрохимии ГНУ «Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси»

Крутько Валентина Константиновна – к.х.н., доцент, заведующий лабораторией фотохимии и электрохимии ГНУ «Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси»

Власов Роман Алексеевич – ЛОР-врач, Медицинский центр SANTE ООО «Медандровит»

Мусская Ольга Николаевна – к.х.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории фотохимии и электрохимии ГНУ «Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси»

Кульбицкая Людмила Викторовна – научный сотрудник лаборатории физико-химических исследований и агрохимических испытаний ГНУ «Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси»

Кулак Анатолий Иосифович – член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси, д.х.н., профессор, директор ГНУ «Институт общей и неорганической химии Национальной академии наук Беларуси»

Ilya E. Glazov – Junior Researcher, Laboratory of Photochemistry and Electrochemistry, Institute of General and The Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus

Valentina K. Krut'ko – Ph. D., Assistant Professor, Head of the Laboratory of Photochemistry and Electrochemistry, The Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus

Roman A. Vlasov – ENT specialist, Medical-Center SANTE Ltd. «Medandrovit»

Olga N. Musskaya – Ph. D., Assistant Professor, Leading Researcher, Laboratory of Photochemistry and Electrochemistry, The Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus

Ludmila V. Kul'bitskaya – Researcher, Laboratory of Physicochemical Research, The Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus

Anatoly I. Kulak – Corresponding Member, D. Sc., Professor, Director of the Institute of General and Inorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus

Поступила в редакцию/received: 26.08.2021; после рецензирования/revised: 21.09.2021; принята/accepted 25.09.2021.