

УДК 615.465

**ПОЛУЧЕНИЕ ХИТОЗАН-ГИДРОКСИЛАПАТИТНЫХ ПОКРЫТИЙ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ИМПЛАНТАТОВ****А.А. Яновская, В.Н. Кузнецов, С.Н. Данильченко, Л.Ф. Суходуб***Институт прикладной физики НАН Украины, 40000 Сумы, ул. Петропавловская 58, Украина*  
[biophy@yandex.ru](mailto:biophy@yandex.ru)

Поступила в редакцию 2 октября 2010 г.

Принята 7 декабря 2010 г.

В работе приведены результаты исследований внесения хитозана в покрытия для материалов медицинских имплантатов на основе гидроксилапатита (ГА). Композитные покрытия, содержащие хитозан и гидроксилапатит, были получены методом термодепозиции. Покрытия осаждали из водных растворов, содержащих  $10 \text{ ммоль/дм}^3 \text{ CaCl}_2$  и  $6 \text{ ммоль/дм}^3 \text{ NaH}_2\text{PO}_4$ , при  $\text{pH}=6,5$  на  $\text{Ti6Al4V}$  субстраты, нагретые пропусканием через них переменного электрического тока до температуры  $105^\circ\text{C}$ .

Для исследования морфологии покрытий, их фазового и элементного состава применяли растровую электронную микроскопию, рентгеноспектральный и рентгеноструктурный анализ. В данной работе изучали влияние хитозана на характеристики покрытий. Целью добавления хитозана в покрытия ГА является повышение их биоактивности, как материала для медицинских имплантатов. Хитозан вносили в покрытия на основе ГА тремя различными способами: перед осаждением ГА покрытия, после осаждения покрытия ГА и одновременно с осаждением покрытия ГА из водных растворов, содержащих хитозан различной концентрации и прекурсоры для синтеза гидроксилапатита. Композитные покрытия с фазовым и элементным составом, отвечающим ГА получены совместным осаждением хитозана и ГА из маточного раствора. Данные рентгеноструктурного анализа свидетельствуют о том, что размер кристаллов ГА уменьшается с увеличением концентрации хитозана в водных растворах. Обработка субстрата хитозаном до осаждения ГА обеспечивает лучшее сцепление покрытия с поверхностью субстрата и также является эффективным методом для введения хитозана в композитный материал. Погружение покрытия на основе ГА в концентрированный раствор хитозана ( $1 \text{ г/л}$ ) в  $1\% \text{ CH}_3\text{COOH}$  приводит к изменению морфологии покрытия и его частичному растворению.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** хитозан, гидроксилапатит, покрытия, биополимеры, кальций-фосфатные материалы, биоактивность, остеоинтеграция.

**ОТРИМАННЯ ХИТОЗАН-ГІДРОКСИЛАПАТИТНИХ ПОКРИТТІВ  
ДЛЯ МЕДИЧНИХ ІМПЛАНТАТІВ****Г.О. Яновська, В.М. Кузнецов, С.М. Данильченко, Л.Ф. Суходуб***Институт прикладної фізики НАН України, вул. Петропавлівська 68, Суми, Україна, 40000*

В роботі наведені результати досліджень внесення хітозану до складу покриттів для матеріалів медичних імплантатів на основі гідроксилапатиту (ГА). Композитні покриття, що містять хітозан і гідроксилапатит були одержані методом термодепозиції. Покриття осаджували з водних розчинів, що містили  $10 \text{ ммоль/дм}^3 \text{ CaCl}_2$  та  $6 \text{ ммоль/дм}^3 \text{ NaH}_2\text{PO}_4$ , при  $\text{pH}=6,5$  на  $\text{Ti6Al4V}$  субстрати, нагріті пропусканням через них змінного електричного струму до температури  $105^\circ\text{C}$ .

Для дослідження морфології покриттів, їх фазового і елементного складу застосовували растрову електронну мікроскопію, рентгеноспектральний та рентгеноструктурний аналіз. Досліджували вплив хітозану на характеристики покриттів. Метою додавання хітозану в покриття ГА є підвищення їх биоактивності, як матеріалу для медичних імплантатів. Хітозан вносили в покриття на основі ГА трьома різними способами: перед осадженням ГА покриття, після осадження покриття ГА і одночасно з осадженням покриття ГА з водних розчинів, що містять хітозан різної концентрації і прекурсорів для синтезу гідроксилапатиту. Композитні покриття з фазовим і елементним складом, що відповідає ГА, отримані сумісним осадженням хітозану і ГА з маточного розчину. Дані рентгеноструктурного аналізу свідчать про те, що розмір кристалів ГА зменшується із збільшенням концентрації хітозану у водних розчинах. Обробка субстрату хітозаном до осадження ГА забезпечує краще зчеплення покриття з поверхнею субстрату і також є ефективним методом для введення хітозану в композитний матеріал. Занурення покриття на основі ГА в концентрований

розчин хітозану (1г/л) в 1%  $\text{CH}_3\text{COOH}$  призводить до зміни морфології покриття і його частковому розчиненню.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** хітозан, гідроксилапатит, покриття, біополімери, кальцій-фосфатні матеріали, біоактивність, остеointegraція.

### OBTAINING OF CHITOSAN-HYDROXYAPATITE COATINGS FOR MEDICAL IMPLANTS

A.A. Yanovska, V.N. Kuznetsov, S.N. Danilchenko, L.F. Sukhodub

*Institute of Applied Physics National Academy of Sciences of Ukraine, Petropavlovskaya str. 68, Sumy, Ukraine, 40000*

The influence of chitosan addition on morphology, phase and elemental composition of hydroxyapatite coatings were investigated. Composite coatings containing chitosan and hydroxyapatite (HA) were prepared by thermal substrate method. Coatings were deposited from aqueous solution which included  $10 \text{ mmol/dm}^3 \text{ CaCl}_2$  and  $6 \text{ mmol/dm}^3 \text{ NaH}_2\text{PO}_4$ , at  $\text{pH}=6,5$  onto Ti6Al4V substrates, which were heated with the passage of alternating current to temperature  $105^\circ\text{C}$ .

Scanning electron microscopy (SEM), energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS) and X-ray diffraction (XRD) were employed in the study of coatings morphology, phase and elemental analysis after deposition. The influence of chitosan addition on coatings characteristics was examined. The aim of chitosan addition to hydroxyapatite coatings was to raise their bioactivity as a material for medical implants. Chitosan was added to hydroxyapatite coatings in three various ways: before deposition of HA coatings, after deposition of HA coatings and coprecipitation from aqueous solution, which contains chitosan in different concentrations, and precursors for HA synthesis. Composite coatings which phase and elemental composition conform to HA were obtained by coprecipitation from aqueous solutions. The experimental XRD results showed that crystal size of HA decreased with increasing concentration of chitosan in aqueous solutions. Chitosan pretreatment before HA deposition provided adherence of HA coatings to substrate surface and it was also an effective method of chitosan injection to composite material. HA coating immersion to concentrated (1g/l) chitosan solution in 1%  $\text{CH}_3\text{COOH}$  lead to changing of coatings morphology and partial dissolution of the coating.

**KEYWORDS:** chitosan, hydroxyapatite, coatings, biopolymers, calcium-phosphate materials, bioactivity, osteointegration.

Для биоматериалов нового поколения, в состав которых входят биоактивные органические компоненты, возможности существующих методов получения покрытий существенно ограничены. Перспективными являются методы, в которых совместимы оптимальные условия кристаллизации кальций-фосфатных материалов с существованием при данных условиях биоактивных органических компонентов.

Керамические покрытия на основе ГА эффективны для обеспечения остеointegrации металлических имплантатов с костными тканями [1]. Многочисленные исследования подтверждают, что синтетический ГА относится к разряду биосовместимых материалов, хорошо взаимодействующих с костной тканью [2,3]. Новое направление в реконструктивно-восстановительной костной хирургии – инженерия костной ткани. Согласно этому методу организм сам может создавать костную ткань когда для него созданы соответствующие условия [4,5] если есть матрикс для наращивания ткани и стимулы для остеогенеза. Естественным матриксом для прикрепления клеток являются коллаген, фибронектин, протеогликаны. Известными стимуляторами остеогенеза являются деминерализованный костный матрикс, кальций-фосфатные материалы. В качестве матрикса в некоторых работах предлагают использовать хитозан [6]. Однако, из-за низких механических характеристик данных материалов, актуальной является разработка технологий получения композитных покрытий на основе ГА и природных биополимеров.

Хитозан является одним из наиболее многообещающих биополимеров для инженерии тканей и возможного ортопедического применения благодаря волокну- и плёнкообразующим свойствам, а также антибактериальной активности. Хитозану присуща способность образовывать структуры с прогнозируемым объёмом пор и скоростью разложения, что делает его подходящим альтернативным материалом для костных им-

плантатов. Очень важной является способность хитозана связывать анионные молекулы, такие как глюкозаминогликаны, ДНК. Способность связывания с ДНК позволяет материалу быть субстратом для генно-активированных матриц для применения в качестве генной терапии в ортопедии. Фактически, комбинация хорошей биосовместимости, присущей ему антибактериальной активности, способности преобразовываться во множество различных форм делает хитозан подходящим материалом для применения в ортопедии [6].

Применение хитозана в комбинации с гидроксилапатитом (ГА) может являться перспективным для увеличения биосовместимости и улучшения остеоинтеграции. Литературные данные [7,8] свидетельствуют о том, что титановые поверхности покрытые хитозаном, демонстрируют увеличение адгезии остеобластов и пролиферации. Wang и др. [9] использовали хитозан для увеличения биосовместимости осаждённых путём электролиза покрытий апатита на титановых сплавах. Смешанное кальций-фосфат-хитозан покрытие, полученное с помощью электролиза, демонстрировало высокий уровень распада, как в кислом, так и в нейтральном модельном физиологическом растворе, кроме того – улучшенное сцепление с клетками стромы костного мозга [9].

Способ получения нанокompозитных покрытий, содержащих биокерамический ГА и биополимер – хитозан был предложен Житомирским И. и др. [10]. Он основывается на электрофоретическом осаждении ГА и электрохимическом осаждении хитозана. Наночастицы ГА синтезированы с помощью химического осаждения. Покрытия различной толщины в диапазоне 50  $\mu\text{m}$  были получены на металлической фольге, проводах, металлической сетке и графитовых субстратах. Структура осадка отличается при варьировании концентрации ГА в растворах хитозана. Выход осадка может контролироваться варьированием времени осаждения. Изложенный метод позволяет получить плотные, вязкие и равномерные покрытия на субстратах сложной формы, которые обеспечивают коррозионную защиту субстратов и медицинских имплантатов.

Введение хитозана в состав покрытия полученного методом термодепозиции позволит управлять антимикробными свойствами покрытия путём варьирования состава и концентраций компонентов в покрытии. Целью данной работы является: введение хитозана в состав покрытий полученных методом термодепозиции. В ходе исследований решались следующие задачи: 1) выбор оптимальной методики введения хитозана в покрытие, 2) изучение влияния хитозана на фазовый, элементный состав и морфологию полученных покрытий; 3) рассмотрение вероятных взаимодействий между хитозаном и кальций-фосфатами, что ранее не было исследовано.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Как основной метод получения покрытий нами был использован метод «термодепозиции» - осаждение из водного раствора содержащего ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{PO}_4^{3-}$  на нагретый с помощью электрического тока Ti6Al4V субстрат [11,12]. Как материал субстрата был выбран сплав Ti6Al4V широко используемый в качестве имплантата в ортопедии [13].

Субстраты были предварительно очищены: 15 минут ультразвуком в ацетоне, 15 минут в 96% этаноле и затем промыты в дистиллированной воде.

Субстрат прикрепляли к медным электродам, и опускали в маточный раствор, содержащий  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  объемом 0,2  $\text{dm}^3$  с молярным соотношением  $\text{Ca/P} = 1,67$ . pH поддерживался на уровне 6,5 добавлением раствора NaOH. Переменный ток использовали для нагрева субстрата до необходимой температуры (подбирали экспериментально). Температура субстрата контролировалась медь-константановой термопарой. Для повышения точности измерений температуры использовали еще одну контрольную емкость, где термопара плотно прикреплялась к титановой пластинке. Две посуды с ти-

тановыми пластинами помещали в водяную баню, наполненную дистиллированной водой, которая охлаждалась. Для поддержания равномерного распределения температуры в растворах использовали магнитную мешалку.

Экспериментально было определено оптимальное время проведения эксперимента (не менее 60 минут), а также выбраны pH раствора = 6,5 и температура субстрата (100-110°C) [11,14]. При соблюдении необходимых параметров возможно получение покрытий толщиной 5-10 микрон, соотношение Са/Р в которых близко к такому для стехиометрического гидроксилapatита (1,67 ат %).

Для модификации поверхности было решено использовать хитозан (Рис.1.). По химической структуре хитозан является сополимером D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина, содержащий от 5 до 15% ацетамидных групп, а также до 1% групп, соединённых с аминокислотами и пептидами.

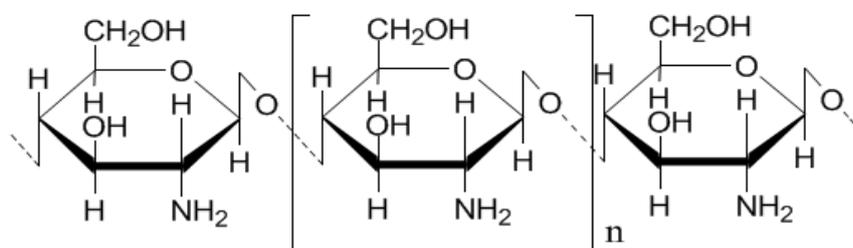


Рис.1. Структурная формула хитозана.

Водородные связи между молекулами хитозана приводят к его плохой растворимости в воде, поскольку связи между молекулами хитозана более прочные, чем между молекулами хитозана и молекулами воды. В то же время, водородные связи определяют способность хитозана растворяться в органических кислотах – уксусной, лимонной, щавелевой, янтарной, причем при набухании он способен прочно удерживать в своей структуре растворитель, а также растворенные и взвешенные в нем вещества. Минимально необходимое для растворения хитозана содержание органических кислот, обладающих различной способностью к образованию ионной связи с NH<sub>2</sub>-группой полимера, неодинаково и составляет для уксусной кислоты 0,5%, лимонной -2,5%, щавелевой - 5,0% [15].

При растворении хитозана в уксусной кислоте происходит протонирование аминогруппы хитозана (Рис. 2).

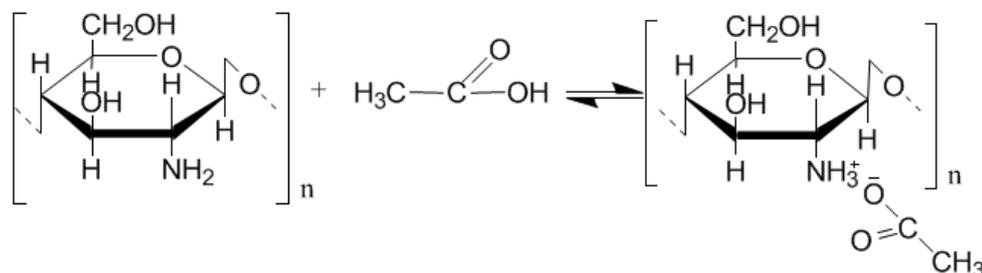


Рис. 2. Уравнение реакции растворения хитозана в уксусной кислоте.

Растворимая форма хитозана удобна для проведения экспериментов по введению хитозана в состав покрытия, поэтому мы использовали растворы хитозана в 1% уксусной кислоте.

Было исследовано несколько вариантов внесения хитозана в покрытие: 1) предварительное нанесение хитозана на субстрат и дальнейшее осаждение кальций-

фосфатного покрытия из раствора на образовавшуюся плёнку хитозана; 2) совместное осаждение хитозана и кальций-фосфатов из растворов на нагретый субстрат; 3) нанесение покрытия гидроксилапатита согласно описанной технологии и дальнейшая обработка его раствором хитозана.[14]

Исследования морфологии и элементного состава поверхности полученных покрытий проводили с помощью сканирующего электронного микроскопа РЭММА-102 (ОАО «SELMI», Сумы, Украина). Микрофотографии поверхности получены в режиме вторичных электронов (ВЭ), при ускоряющем напряжении 20 кВ. Элементный состав определяли с помощью рентгеновского спектрометра с дисперсией по энергиям. Весовые отношения Ca/P в каждой точке рассчитывались методом сравнения с внешним эталоном с применением ZAF-коррекции.

Рентгенографические исследования проводились на автоматизированном дифрактометре ДРОН 4-07 («Буревестник», Россия) в режиме на отражение (геометрия Брегга-Брентано) с использованием  $\text{Cu K}\alpha$  излучения (длина волны  $\lambda=1,5418 \text{ \AA}$ , никелевый  $\beta$ -фильтр). Параметры работы генератора: ускоряющее напряжение – 30 кВ, ток трубки – 20 мА. Использовались следующие щели: на первичном пучке – 2 мм; на отраженном – 0,25 мм; Соллера – с расходимостью  $2,5^\circ$  на первичном и отраженном пучках. Регистрация велась в непрерывном режиме со скоростью  $2^\circ/\text{мин}$  в диапазоне углов  $2\theta$  от  $20^\circ$  до  $60^\circ$ . Все процедуры обработки экспериментальных данных были выполнены с помощью программного пакета поддержки эксперимента и обработки результатов DIFWIN-1 (ТОО «Эталон ПТЦ»). Пробоподготовка проводилась следующим образом: образцы растирались в агатовой ступке, после чего наносились на двусторонний скотч, наклеенный на дно кюветы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В работе была проведена следующая серия экспериментов.

1) Предварительно очищенные субстраты последовательно погружали сначала в вязкий 2% (Рис.3 а) и 1% раствор хитозана в 1% уксусной кислоте (Рис. 3 б), а затем в 10 % раствор гидроксида натрия для получения плёнки хитозана.

Далее субстрат был тщательно промыт в дистиллированной воде для удаления ионов  $\text{Na}^+$ . Маточный раствор, содержащий ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{PO}_4^{3-}$  был доведён до pH 6,5, добавлением по каплям 1 % раствора NaOH а затем погружена пластинка, покрытая плёнкой хитозана. Температуру субстрата поддерживали на уровне  $105^\circ\text{C}$ , pH = 6,5 – 6,6; время проведения эксперимента – 3 часа. Морфология полученных покрытий представлена на рис.3. Измеренное методом энерго-дисперсионного рентгено-спектрального анализа отношение Ca/P = 1,69-1,73 ат. %

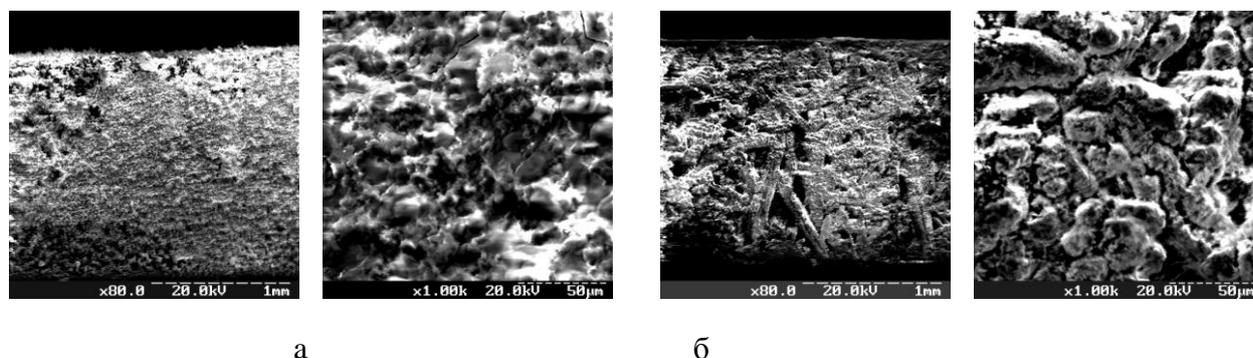


Рис.3. Морфология покрытий ГА, полученных на плёнке хитозана, предварительно нанесённой на субстрат при концентрации хитозана в исходном растворе 1% (а) и 2% (б).

Измеренное отношение Ca/P, исследования фазового состава (рис. 4) а также развитая поверхность полученного покрытия позволяют сделать вывод, что данный вариант внесения хитозана в покрытие является приемлемым.

Изоэлектрическая точка хитозана находится приблизительно при  $\text{pH}=8,7$  [16]. Другие литературные источники свидетельствуют о том, что депротонирование полимера и переход его из растворимого состояния в нерастворимое происходит при  $\text{pH} = 7,5$  [17]. Предварительными экспериментами по осаждению покрытий ГА на Ti6Al4V субстраты было установлено, что при температуре  $105^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} = 6,5$  получается покрытие, основной фазой которого является ГА (Рис. 4).

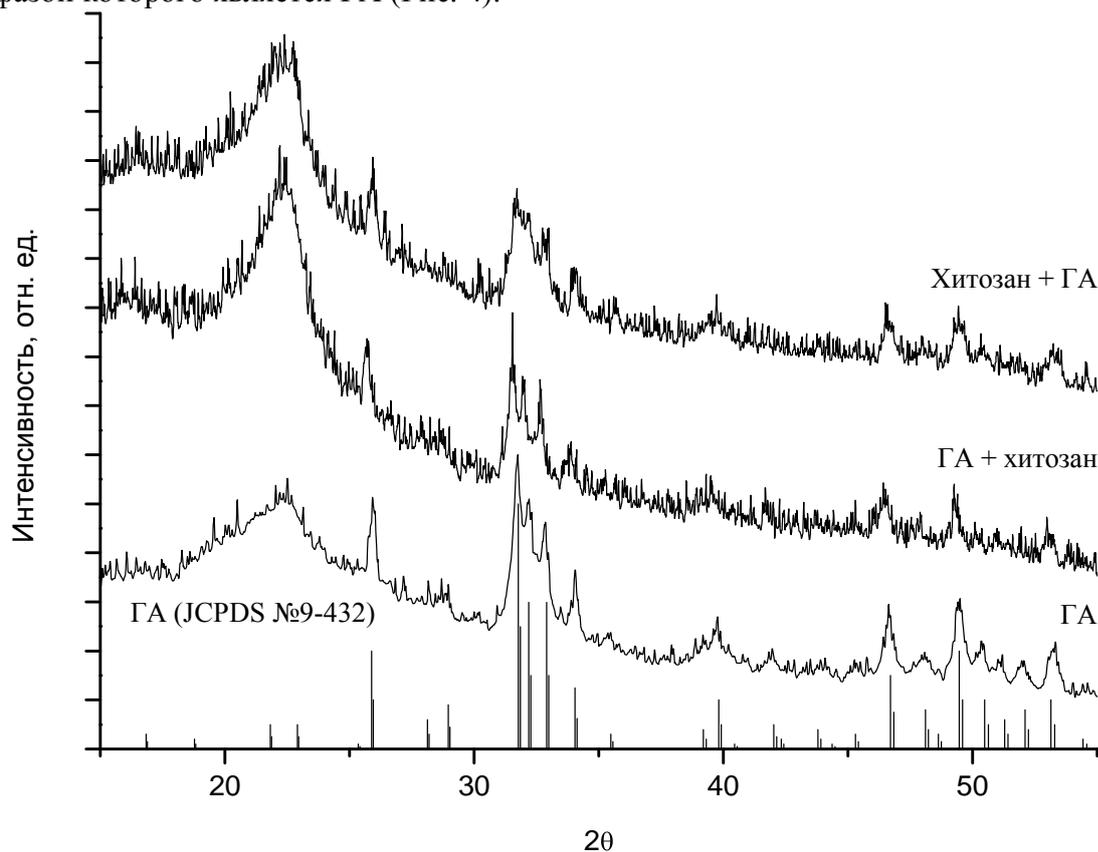


Рис. 4. Характерные кривые рентгеновской дифракции для покрытия гидроксилатапата, полученного при температуре  $100-105^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH}=6,5$  в течении 2-х часов; покрытия гидроксилатапата после нахождения в течении 24 часов в растворе хитозана (способ 2) и плёнки хитозана с осаждённым на неё методом термодепозиции покрытием ГА (способ 1).

Пик  $2\theta=20^\circ$  в случае чистого апатита является пиком скотча, но, как указано в работе [18, 19], в этом же диапазоне лежит и диффузный пик хитозана. Однако уменьшение отношения интенсивностей основного пика апатита ( $2\theta=31,65^\circ$ ) к данному пику ( $2\theta=20^\circ$ ) в содержащих хитозан образцах позволяет подтвердить присутствие фазы хитозана.

2) Субстрат с нанесённым на него покрытием ГА ( $t^\circ=100^\circ\text{C}$ ;  $\text{pH} = 6,5$ ; время проведения по 1 часу каждая сторона) и опустили в концентрированный раствор хитозана на 1 сутки ( $\text{pH}$  раствора = 6,74). Был выбран именно такой диапазон  $\text{pH}$ , поскольку в кислой среде происходит растворение покрытия гидроксилатапата, его деминерализация. К тому же целесообразно приблизить  $\text{pH}$  к значению такого в физиологической среде организма, не превышая изоэлектрическую точку хитозана [16, 17]. Сравнение морфологии покрытий до и после погружения в раствор хитозана иллюстрирует значительное

растворение покрытия, но отношение Ca/P остаётся близким к такому для ГА (1,64; 1,71 и 1,68 в точках анализа 1,2 и 3 соответственно) (Рис. 5 г).

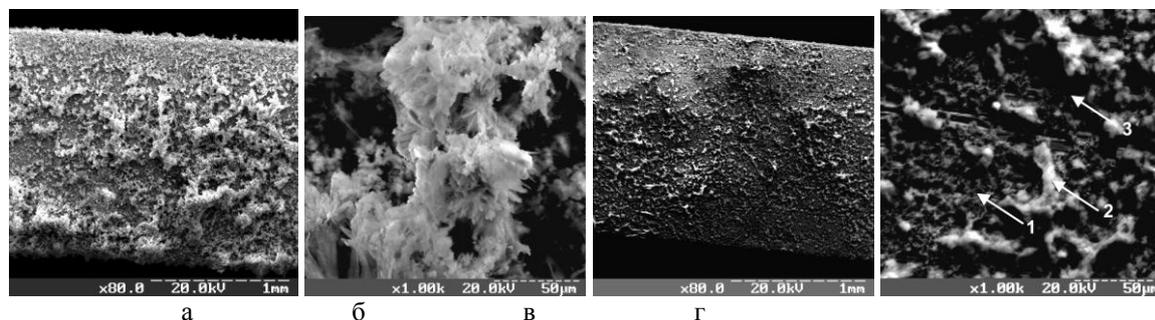


Рис. 5. Морфология покрытий ГА до погружения на 1 сутки в раствор хитозана (а) при 80-кратном увеличении и при увеличении  $1,0 \cdot 10^3$  (б); после погружения в раствор хитозана при 80-кратном увеличении (в) и при увеличении  $1,0 \cdot 10^3$ , с указанием точек анализа (г).

Частичное растворение покрытия ГА при  $\text{pH} = 6,5$  близком к нейтральному, можно объяснить воздействием уксусной кислоты. Макромолекулы хитозана, имея достаточно разветвлённое строение и обладая хелатообразующими свойствами, захватывают и частично удерживают в своей структуре растворитель, которым является 1% уксусная кислота. При погружении покрытия в раствор хитозана происходит его частичная деградация (Рис.6).

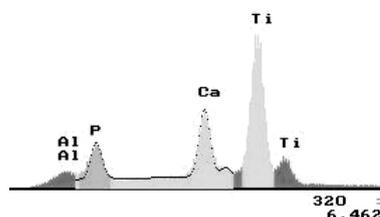


Рис. 6. Энергодисперсионный рентгеновский спектр покрытия ГА ( $t^\circ=100^\circ\text{C}$ ;  $\text{pH} = 6,5$ ; время проведения 2 часа) на Ti6Al4V субстрате погружённого на 24 часа в раствор хитозана.

Анализ фазового состава покрытия свидетельствует о том, что при данном методе внесения хитозана, также как и в первом случае, сохраняется структура ГА. На спектре (Рис.6) виден материал субстрата, что свидетельствует о незначительной толщине покрытия.

Ограничением применения данного метода внесения может быть изменение морфологии и толщины покрытия и его частичная деградация.

3) Методика совместного осаждения покрытий ГА - хитозан описана в работах [11, 14]. Покрытия получены при концентрации хитозана в маточном растворе: 0,1 г/л (а), 0,05 г/л (б), 0,025 г/л (в) и 0,001 г/л (г).

Субстраты (Ti6Al4V) нагревали с помощью переменного электрического тока до  $100-105^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH}$  в растворе поддерживали на уровне 6,5 добавлением NaOH. Осаждение проводили в течении трёх часов. В ходе проведения серии экспериментов установлено, что морфология покрытий, полученных в течении двух и трёх часов отличается мало, за исключением того, что во втором случае они значительно толще и обладают более развитой поверхностью. Этим и обусловлен выбор времени проведения эксперимента.

Во втором случае к раствору хитозана был добавлен избыток фосфат ионов ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), с целью уменьшения избытка кальция в соотношении Са/Р.

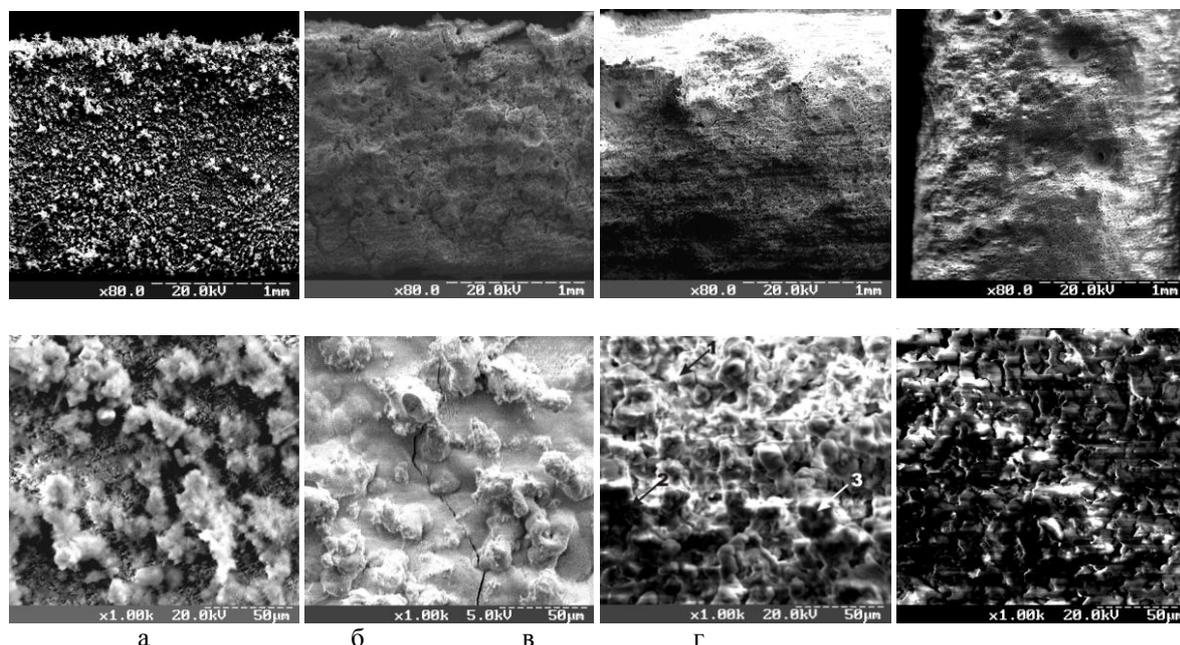


Рис. 7. Микрофотографии поверхности покрытий с концентрациями хитозана в исходном растворе: а) 0,1 г/л; б) 0,05 г/л, избыток фосфат ионов ( $\text{PO}_4^{3-}$ ); в) 0,025 г/л; г) 0,001 г/л.

Наиболее однородные и прочные покрытия с развитой структурой, получены при концентрациях хитозана в исходном растворе 0,001 - 0,025 г/л. Возможно это связано с тем, что макромолекулы хитозана, связываясь с компонентами маточного раствора мешают протеканию обычного процесса кристаллизации ГА.

Из приведённых спектров рентгеновской дифракции (Рис.8) видно, что при увеличении концентрации хитозана в маточном растворе, используемом для получения покрытий методом термодепозиции, происходит уменьшение отношения интенсивностей основного пика апатита ( $2\theta=31,65^\circ$ ) к диффузному пику хитозана ( $2\theta=20^\circ$ ).

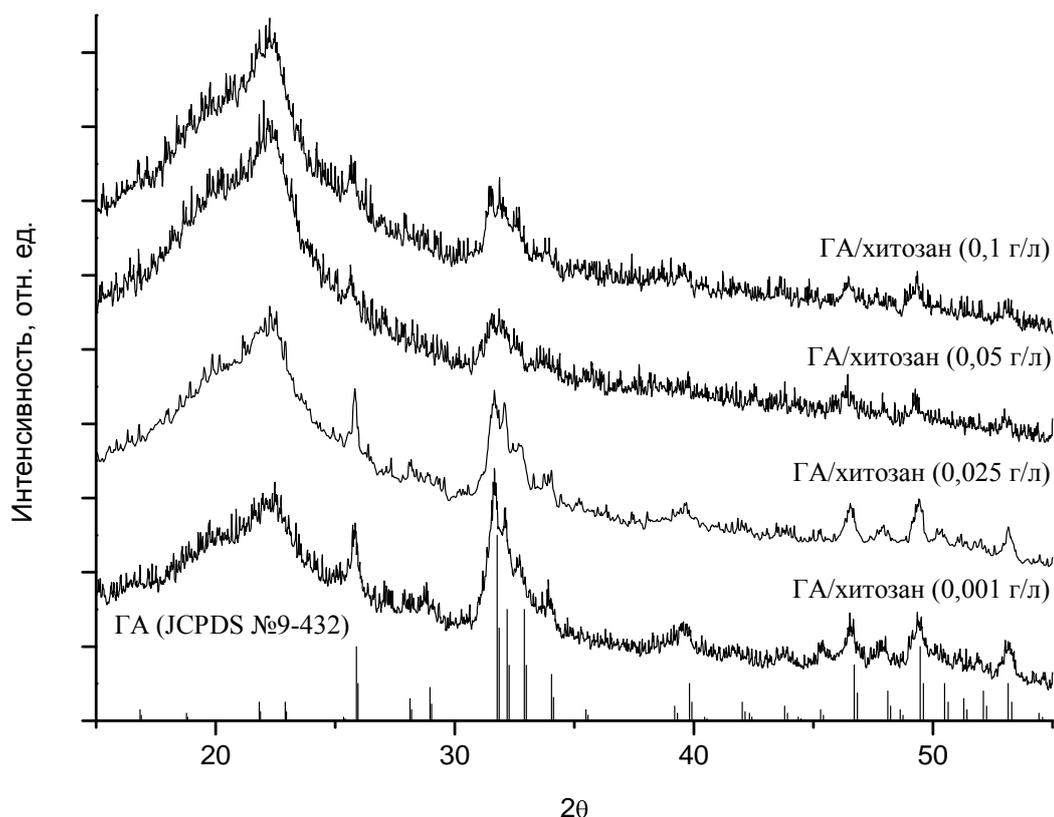


Рис. 8. Кривые рентгеновской дифракции покрытий с различными концентрациями хитозана (0,001 – 0,1 г/л) в исходном растворе.

В Таблице 1 представлены результаты фазового состава полученных покрытий и измеренные методом энерго-дисперсионного рентгено-спектрального анализа отношения Са/Р. Точки проведения элементного анализа обозначены на рис 5 г. и 7 в.

Таблица 1. Сравнительные характеристики покрытий полученных при введении хитозана на разных этапах синтеза.

		Условия эксперимента	Са/Р (вес. %)	Са/Р (ат. %)	Фазовый состав покрытия	Са/Р в ГА лит. данн.
1	Хитозан нанесён до осаждения ГА	$t^\circ = 105^\circ\text{C}$ ; pH = 6,5-6,6; время проведения 3 ч	2,01 2,25 2,05	1,55 1,73 1,59	Выражена фаза апатита, другие фазы отсутствуют	1,67 [20-21]
2	Концентрация хитозана 0,1 г/л	$t^\circ = 100-105^\circ\text{C}$ ; pH = 6,5; время проведения 3 ч	2,48 2,60 2,52	1,91 2,01 1,94	Выражена фаза апатита, другие фазы отсутствуют	1,67 [20-21]
	Концентрация хитозана 0,05 г/л	$t^\circ = 100-105^\circ\text{C}$ ; pH = 6,5; время проведения 3 ч	2,52 2,70 2,30	1,94 2,08 1,77	Выражена фаза апатита, другие фазы отсутствуют	1,67 [20-21]
	Концентрация хитозана 0,025 г/л	$t^\circ = 100-105^\circ\text{C}$ ; pH = 6,87; время проведения 3 ч	2,28 2,37 2,15	1,76 1,83 1,65	Выражена фаза апатита, другие фазы отсутствуют	1,67 [20-21]

	Концентрация хитозана 0,001 г/л	$t^{\circ}=100-105^{\circ}\text{C}$ ; pH = 6,55; время проведения 3 ч	2,17 2,19 2,14	1,68 1,70 1,66	Ярко выражена фаза апатита, другие фазы отсутствуют	1,67 [20-21]
3	Конц. раствор хитозана на 1 сутки (рН р-ра = 7 – 7,8).	$t^{\circ}=100^{\circ}\text{C}$ ; pH = 6,5; вр. провед. по 1 часу каждая сторона	2,12 2,22 2,04	1,64 1,71 1,68	Выражена фаза апатита, другие фазы отсутствуют	1,67 [20-21]
4	Покрытие ГА без хитозана	$t^{\circ}=105^{\circ}\text{C}$ ; pH = 6,5; время проведения 2 ч	2,19 2,176 2,15	1,7 1,68 1,66	Ярко выражена фаза апатита, другие фазы отсутствуют	1,67 [20-21]

### ВЫВОДЫ

- Предварительная обработка Ti6Al4V субстрата хитозаном до осаждения гидроксиапатита не мешает кристаллизации, обеспечивает нормальное сцепление с субстратом и является приемлемым методом внесения хитозана в покрытие.
- При одновременном нахождении в растворе хитозана и ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{PO}_4^{3-}$  осаждение покрытия с заданными характеристиками происходит при условии небольшой концентрации хитозана (0,001 – 0,025 г/л). Исследование фазового состава показало, что при совместном осаждении хитозана и ГА основной фазой в покрытии является ГА. При этом интенсивность пиков ГА увеличивается с уменьшением концентрации хитозана. Исследование элементного состава покрытий показало, что при концентрации хитозана в маточном растворе 0,05 г/л и более нарушается отношение Ca/P в сторону избытка кальция, что может быть объяснено связыванием  $\text{PO}_4^{3-}$  с протонированными аминогруппами молекул хитозана.
- При добавлении хитозана после осаждения покрытия происходит изменение морфологии покрытия и его толщины, что возможно связано с его частичным растворением, без изменения фазового состава.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Liu D. M. In vitro forming of calcium phosphate layer on sol-gel hydroxyapatite-coated metal substrates / D. M. Liu, Q. Yang, T. Troszynski // J. Mater. Sci : Mater. Med, 2002. V. 13. № 10 – P.965 – 972.
2. Beljakova E.G. Tehnologija gidroksiapatita kal'cija – stimuljatora osteosinteza: Dis. na soiskanie stepeni kand. tehn. nauk 05.17.01. Ekaterinburg, 2002.
3. Komlev V. S. Poristaja gidroksiapatitnaja keramika i kompozicionnye materialy na ejo osnove. Dis. na soiskanie stepeni kand. tehn. nauk. 05.17.11. – M.:, 2001.
4. Bezrukov V. M. Operativnoe lechenie kist cheljustej s ispol'zovaniem gidroksiapatita ul'travysokoj dispersnosti / V. M. Bezrukov, L. A. Grigor'janc, V. P. Zuev, A. S. Pankratov // Stomatologija, 1998. – №1. – S. 31-35.
5. Karlov A. V. Ispol'zovanie implantatov s bioaktivnym pokrytiem pri lechenii perelomov os-lablennyh kostej. / A. V. Karlov // Tr. kongressa «Chelovek i ego zdorov'e». – SPb, 1999. – S. 55.
6. A. Di Martino et al Chitosan: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering // Biomaterials 26 (2005) 5983-5990.
7. Lee J.Y. Enhanced bone formation by controlled growth factor delivery from chitosan-based biomaterials / J.Y. Lee, S.H. Nam, S.Y. Im, [et al.] // J. Control Release. – 2002. - №78. – p.187–197.
8. Bumgardner J.D. Chitosan: potential use as a bioactive coating for orthopaedic and craniofacial/dental implants / J.D. Bumgardner, R. Wiser, P.D. Gerard, [et al.] // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. – 2003. - №14. – p. 423–38.

9. Wang J Preparation and characterization of electrodeposited calcium phosphate/chitosan coating on Ti6Al4V plates. / J Wang, J de Boer, K. de Groot // *J. Dent Res.* - 2004. - №83. - p. 296–301.
10. Zhitomirsky I. Chitosan-hydroxyapatite nanocomposite coatings for biomedical applications / I. Zhitomirsky, X. Pang // *Surfaces and Interfaces in Nanostructured Materials II* Edited by S.M. Mukhopadhyay, N.B. Dahotre, S. Seal, and A. Agarwal TMS (The Minerals, Metals & Materials Society), 2006.
11. Gudakova A. A. Poluchenie pokrytij hitozan-gidroksilapatit na Ti6Al4V substratah / A. A. Gudakova, L. F. Suhodub, P. A. Pavlenko // *Tezisy II mezhdunarodnoj konferencii NANSIS-2007.* – Kiev, 2007. – S. 342.
12. Sukhodub L. B. Improved thermal substrate method with cooling system for hydroxyapatite coatings on titanium substrates / L. B. Sukhodub, C. Moseke, L. F. Sukhodub [at al.] // *Annual report (2002/2003) Institut fur Kernphysik Westfalische Wilhelmsuniversitet Muenster*, 86-88.
13. Kalita V.I. Fizika i himija formirovanija bioinertnyh i bioaktivnyh poverhnostej na imp-lantantah. Obzor. / V.I. Kalita // *Fizika i himija obrabotki materialov.* – 2000, №5, S.28 – 45.
14. Gudakova A. A. Vlijanie hitozana na morfologiju i stehiometriju kal'cij-fosfatnyh pokrytij / A. A. Gudakova, P. A. Pavlenko, L. F. Suhodub // *IV Vseukrai'ns'ka naukovu-tehnicna konferencija studentiv, aspirantiv i molodyh vchenyh «Aktual'nye voprosy teoreticheskoi i prikladnoj biofiziki, fiziki i himii» «BFFH – 2008»*, m. Sevastopol', 21-26 kvitnja 2008 r. – S. 145-148.
15. Evdokimov I.A. Fiziko-himicheskie harakteristiki rastvorov hitozana / I.A. Evdokimov, S.V. Vasilisin, L.R. Alieva, [et al.] // *Vestnik SevGTU, serija «Prodovol'stvie»*. №1 (6), 2003.
16. Cheng W.P. Using Chitosan as a Coagulant in Recovery of Organic Matters from the Mash and Lauter Wastewater of Brevary / W.P. Cheng, F.H. Chi, R.F. Yu, Y.C. Lee // *Journal of polymers and the Environment* Vol. 13, № 4, October, 2005. P. 383-388.
17. T. W. Wong Chitosan and its Use in Design of Insulin Delivery System / *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 3. – 2009. P 8-25.
18. Modrzejewska Z. Determination of hydrogel chitosan membrane structure / Z. Modrzejewska, W. Maniukiewicz, A. Wojtasz-Pajak // *Polish Chitin Society, Monograph XI*, 2006. – P. 114-115.
19. M. Jaworska et al. Influence of chitosan characteristics on polymer properties. I: Crystallographic properties // *Polymer International* 52, 2003. – P. 198-205
20. Kohn M. J. Phosphates: geochemical, geobiological and materials importance / M. J. Kohn, J. Rakovan, J. M. Hughes– Series: “Reviews in mineralogy and geochemistry”: vol. 48 [Mineralogical Society of America]. – Washington, DC, 2002. - P. 634–635.
21. Elliott J.C. Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates / J.C. Elliott – Elsevier, London, 1994. - P. 111–127.