(19)

Евразийское ⁽¹¹⁾ 039901 ⁽¹³⁾ В1 патентное ведомство

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента 2022.03.25

(51) Int. Cl. C01B 25/32 (2006.01) A61L 27/12 (2006.01)

- (21) Номер заявки 201990345
- (22) Дата подачи заявки 2017.08.01

ПОСТОЯННО ПОЛЯРИЗОВАННЫЙ ГИДРОКСИАПАТИТ, СПОСОБ ЕГО (54) ПОЛУЧЕНИЯ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ

- (31) 16382381.8; 16382524.3
- (32) 2016.08.02; 2016.11.11
- (33) EP
- (43) 2019.08.30
- (86) PCT/EP2017/069437
- (87) WO 2018/024727 2018.02.08
- (71)(73) Заявитель и патентовладелец: Б. БРАУН СЁРДЖИКАЛ, С. А.; УНИВЕРСИТАТ ПОЛИТЕКНИКА **ДЕ КАТАЛУНЬЯ (ES)**
- (72) Изобретатель: Турон Долс По, Дель Валле Мендоса Луис Хавьер, Пуйггали Беллальта Жорди, Алеман Ллансо Карлос Энрике (ES)
- (74) Представитель: Нилова М.И. (RU)

UESHIMA M ET AL .: "Electrovectorial effect (56) of polarized hydroxyapatite on quasi-epitaxial growth at nano-interfaces", SOLID STATE IONICS, NORTH HOLLAND PUB. COMPANY. AMSTERDAM; NL, NL, vol. 151, no. 1-4, 1 November 2002 (2002-11-01), pages 29-34, XP004393763, ISSN: 0167-2738, DOI:10.1016/S0167-2738(02)00600-8 cited in the application 2.1. Materials 2.2. HAp Polarization

ΕT AL.: "Enhanced Takayuki Kobayashi surface charges osteobonding by negative osteobonding of the hydroxyapatite", Journal electrically polarized hydroxyapatite", Journal Biomedical Materials Research, 15 December 2001 of (2001-12-15), pages 477-484, XP055413169, New York DOI:10.1002/1097-4636(20011215)57:4<477::AID-JBM1193>3.0.CO;2-5 Retrieved from the Internet:URL: http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1002 /1097-4636(20011215)57:4 page 478, column 1, page 481, column 1, paragraph 1

HORIUCHI N ET AL .: "Proton conduction related electrical dipole and space charge polarization in hydroxyapatite", JOURNAL OF APPLIED PHYSICS, AMERICAN INSTITUTE OF PHYSICS, US, vol. 112, no. 7, 1 October 2012 (2012-10-01), pages 74901-74901, XP012167582, ISSN: 0021-8979, DOI: 10.1063/1.4754298 XP012167582, ISSN: 0021-8979, DOI: 10.1063/1.4754298 [retrieved on 2012-10-01] pages 074901-1, column 1, paragraph 3 "C. TSDC spectra of samples sintered in various atmospheres" "D. TSDC spectra as a function of polarization voltage"; pages 074901-2 - pages 074901-3 YU ET AL.: "Local structure of hydroxy-peroxy apatite: A combined XRD, FT-IR, Raman, SEM, and solid-state NMR study", JOURNAL OF PHYSICS AND CHEMISTRY OF SOLIDS, PERGAMON PRESS, LONDON GB, vol. 68, pp. 10, 1, October, 2007

LONDON, GB, vol. 68, no. 10, 1 October 2007 (2007-10-01), pages 1863-1871, XP022283261, ISSN: 0022-3697, DOI: 10.1016/J.JPCS.2007.05.020 figures 8(a), 9(a)

MIHO NAKAMURA ET AL .: "Role of blood coagulation components as intermediators of high osteoconductivity of electrically polarized hydroxyapatite", JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH. PART A, vol. 79A, no. 3, 1 December 2006 (2006-12-01), pages 627-634, XP055341307, HOBOKEN, NY, US ISSN: 1549-3296, DOI: 10.1002/jbm.a.30827 Preparation of polarized HA samples RESULTS; paragraph [0001] GITTINGS ET AL.: "Characterisation

ferroelectric-calcium phosphate composites and ceramics", JOURNAL OF THE EUROPEAN CERAMIC SOCIETY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, ESSEX, GB, vol. 27, no. 13-15, 1 January 2007 (2007-01-01), pages 4187-4190, XP022143720, ISSN: 0955-2219, DOI: 10.1016/J.JEURCERAMSOC.2007.02.1202. Experimental methods

Tofail, S.A.M., Bauer J.:"Electro-thermal Polarisation of Hydroxyapatite Ceramics and Coatings for Bone Tissue Engineering Applications" In: Tofail, S.A.M, Bauer, J.:"Electrically Active Materials for Medical Devices", 2016, Imperial College Press, London, GB, XP008183113, ISBN: 9781783269860, pages 115-134, 1. Electro-thermally Polarised Hydroxyapatite (HA) Ceramics

 \mathbf{m}

Настоящее изобретение относится к постоянно поляризованному гидроксиапатиту, способу (57) получения указанного постоянно поляризованного гидроксиапатита и вариантам его применения. В частности, раскрыты постоянно поляризованный гидроксиапатит, характеризующийся тем, что его кристалличность составляет более 65% и соответствующий спектр ЯМР ³¹Р получен с твердым гидроксиапатитом с H₃PO₄ в качестве образца сравнения и демонстрирует уникальный пик при 2.6 ppm, соответствующий фосфатным группам гидроксиапатита, причем "постоянно поляризованный апатит" обозначает гидроксиапатит, обладающий удельной емкостью, которая

уменьшается менее чем на 8% через 3 месяца, и способ получения указанного постоянно поляризованного гидроксиапатита и варианты его применения для биомедицинских приложений, в качестве электродов, для легирования полимеров, в качестве катализатора, для адсорбции органических молекул, в качестве компонента твердотельной батареи или в качестве компонента чипа, аккумулирующего энергию.

<u>039901</u> B1

Область техники

Настоящее изобретение относится к постоянно поляризованному гидроксиапатиту, способу получения указанного постоянно поляризованного гидроксиапатита и его применениям.

Уровень техники

Гидроксиапатит (ГАп), Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, является основным неорганическим компонентом твердых биологических тканей, таких как кости и зубы.^{1,2} Были исследованы возможности биомедицинских приложений синтетического ГАп, который демонстрирует превосходную способность взаимодействовать с живыми системами, например, для доставки лекарственных средств и генов, тканевой инженерии и восстановления костей.³⁻⁸

Важным различием между аморфным фосфатом кальция (АФК) и кристаллическим синтетическим ГАп (кГАп) является выстраивание ионов ОН вдоль оси с в последнем. Кристаллическая структура стехиометрического кГАп, не содержащего дефектов ОН, является моноклинной при комнатной температуре.^{9,10} Моноклинный кГАп превращается в гексагональную фазу при температуре примерно 210°С, что означает переход от упорядоченного к неупорядоченному распределению ионов ОН вдоль оси с. Помимо термического фазового перехода, фазовый переход также вызывают дефекты ОН.^{9,10} В этом случае гексагональная фаза становится наиболее стабильной формой кГАп в диапазоне pH 4-12 из-за неупорядоченности, вызванной наличием вакансий и присутствием кислородных радикалов в стобикахгрупп ОН. Хотя было обнаружено, что на электрические и диэлектрически свойства кГАп влияют вызванные нагревом изменения в положениях ионов ОН ¹¹⁻¹³, наблюдаемые поляризационные эффекты не были стабильными при комнатной температуре (т.е. повторная переориентация ОН- имеет малое время релаксации).

Yamashita и соавторы^{14,15} вызвали квазипостоянные поляризационные эффекты в образцах поликристаллического ГАп, прикладывая постоянное электрическое поле постоянной величины 1,0-4,0 кВ/см к образцам, предварительно спеченным при 1250°С в течение 2 ч. Этот подход основан на воздействии электрического поля постоянной величины при температуре <700°С. Максимальную плотность тока (~10⁻⁹ A/cм²), определенную посредством измерения тока термостимулированной деполяризации (TSDC), получили при использовании на этапе поляризации температуры 400°С. Действительно, наблюдалось быстрое снижение плотности тока, когда температура поляризации превышала 450°С. Результаты показали, что поляризация порождалась электрическими диполями, связанными с образованием дефектов внутри кристаллических зерен, и объемно-зарядной поляризацией, возникающей на границах зерен. Было обнаружено, что процесс термостимулированной поляризации оказывает различное влияние на поверхностные свойства ГАп.^{16,17} Хотя не было продемонстрировано какого-либо влияния поляризации на шероховатость поверхности, кристалличность и составляющие элементы кГАп, смачиваемость¹⁶ и адгезия остеобластов выше на поляризованных образцах, чем на образцах без последующей обработки (после получения).¹⁷ Последние явления были отнесены на счет увеличения свободных поверхностных энергий по сравнению с поверхностями неполяризованного кГАп.

При этом в документе ES 2323628 раскрыто, что гидроксиапатит кальция в твердом растворе получают путем спекания полученного порошка указанным способом при 1200°С в течение 1-5 ч. Керамический материал может быть поляризован при температуре выше 1000°С или под воздействием электрического поля постоянной величины более 100,000 В/см. Тем не менее, энергия в таких условиях не накапливается, и, соответственно, лучше работать при температуре до 1000°С или напряжении от 10 до 100,000 В/см.

Fu, Cong et al. в "Hydroxyapatite thin films with giant electrical polarization", Chemistry of Materials (2015) 27(4), 1164-1171 раскрывают, что карбонизированный гидроксиапатит, образованный на электродах из титана и нержавеющей стали и подвергнутый дальнейшей гидротермальной кристаллизации при 200°С с использованием раствора, содержащего 0,3 М мочевины, демонстририруем поляризацию с накопленным зарядом, превышающим 66,000 микрокулон на квадратный сантиметр. Кроме того, эта демонстрируемая поляризация на карбонизированном гидроксиапатите зависит от температуры и не является постоянной. В настоящем изобретении, напротив, не раскрыт карбонизированный гидроксиапатит, и цель состоит в достижении постоянной поляризации.

Недавно авторы настоящего изобретения исследовали способность полученных АФК и кГАп взаимодействовать с различными фосфатами и биофосфонатами (БФ),¹⁸ что является очень актуальной темой в области биоматериалов для биомедицинских приложений. Так, полифосфат (полиФ), представляющий собой полимер ортофосфорной кислоты, присутствующий в организмах млекопитающих,¹⁹ способствует регенерации костной ткани при адсорбции на ГАп.²⁰⁻²⁴ В частности, полиФ стабилизирует рост и дифференцировку основных клеток, улучшая регенерацию костной ткани.²⁵⁻²⁷ Кроме того, в других исследованиях было установлено, что полиФ и пирофосфат ($P_2O_7^{4-}$) ингибируют рост кристаллов ГАп.^{28,29} Относительно недавно Grynpas и соавторы³⁰ предположили, что продукция полиФ играет важную роль в минерализации хряща и формировании костной ткани, что было связано с локальным накоплением фосфата (PO_4^{3-}) и кальция (Ca^{2+}) посредством образования прочных комплексов. Эта гипотеза была подтверждена как адсорбцией полиФ на ГАп, так и корреляцией между гидролитической корреляцией полиФ в комплексах Ca^{2+} -полиФ и увеличением концентраций PO_4^{3-} и Ca^{2+} . С другой стороны, в БФ атом кислорода, связывающий фосфатные группы пирофосфатов, заменен атомом углерода, что приводит к ингибированию как гидролитического, так и ферментативного разложения.³¹ Сродство БФ к ГАп увеличивается за счет включения аминогрупп при третичном атоме углерода, что было связано с образованием прочных водородных связей между двумя веществами.^{32,33} Кроме того, БФ являются основными агентами в современном фармакологическом арсенале против различных заболеваний костей (например, остеопороза, болезни Педжета и злокачественных новообразований, метастазирующих в кости).³⁴ Недавние исследования свидетельствуют о том, что адсорбция полиФ и P₂O₇⁴⁻ на АФК и кГАп без

Недавние исследования свидетельствуют о том, что адсорбция полиФ и $P_2O_7^-$ на АФК и кl An без последующей обработки лучше проходит при pH 7, чем при основном pH 9, хотя при сравнении результатов, полученных с использованием различных концентраций адсорбата, были обнаружены некоторые ограничения процессов ассоциации.¹⁸ Исследования адсорбции аминотриметиленфосфоновой кислоты, далее обозначаемой как АТМФ, дали основания предположить, что сродство АФК и кГАп к этому БФ ниже, чем к полиФ и $P_2O_7^{4-,18}$ M. Ueshima, S. Nakamura, M. Oghaki, K. Yamashita, Solid State Ionics 2002, 151, 29-34 ⁶³ описывают поляризацию биоактивных материалов (ГАп) путем получения порошков ГАп с помощью реакции осаждения, затем одноосного прессования порошков в гранулы и их спекания при 1250°C в течение 2 ч в потоке водяного пара. Полученные образцы помещают между платиновыми электродами, нагревают до комнатной температуры, 300°C и 800°C на воздухе, соответственно, а затем подвергают электрической поляризационной обработке в постоянных электрических полях величиной 1 и 10 кВ/см в течение 1 ч, после чего охлаждают до комнатной температуры при поляризации.

М. Nakamura, Y. Sekijima, S. Nakamura, T. Kobayashi, K. Niwa, K. Yamashita, J. Biomed. Mater. Res. 2006, 79A, 627-634 ⁶² описывают получение образцов поляризованного ГАп, как показано в разделе "Материалы и методы", в котором, в частности, проводят спекание в атмосфере насыщенного водяного пара при 1250°C в течение 2 ч и электрически поляризуют образцы в постоянном электрическом поле величиной 1,0 кВ см⁻¹ с помощью пары платиновых электродов на воздухе при 300°C в течение 1 ч. Указанные поляризованные ГАп имплантируют в большую берцовую кость крыс, чтобы выявить взаимодействия между имплантированным ГАп и факторами свертывания крови. Также обсуждается механизм повышенной остеопроводимости, вызванной электрической поляризацией.

Соответственно, с учетом вышеизложенного авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что можно получить постоянно поляризованный гидроксиапатит с особыми электрохимическими и электрическими свойствами, связанными с огромным диапазоном возможностей его применения, как описано ниже.

Краткое описание изобретения

Первый аспект настоящего изобретения относится к постоянно поляризованному гидроксиапатиту и содержащим его композиции или материалу.

Второй аспект настоящего изобретения относится к способу получения постоянно поляризованного гидроксиапатита.

Третий аспект настоящего изобретения относится к еще одному способу получения постоянно поляризованного гидроксиапатита.

Четвертый аспект настоящего изобретения относится к постоянно поляризованному гидроксиапатиту, полученному или получаемому способом согласно второму или третьему аспекту настоящего изобретения.

Пятый аспект настоящего изобретения относится к различным применениям постоянно поляризованного гидроксиапатита.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1. ИК-Фурье спектры (а) кГАп и (b) АФК.

Фиг. 2. Дифракционные рентгенограммы частиц кГАп и АФК, изученных в этой работе:

(а) кГАп/п и кГАп/тсп; и

(b) АФК/п и АФК/тсп.

Образцы кГАп и АФК были идентифицированы по пикам при 20=32°-34°.

Фиг. 3. Спектры РФЭС (рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия) высокого разрешения для образцов (а) кГАп/п, (b) кГАп/с и (c) кГАп/тсп: области Р2р, Са2р и O1s.

Фиг. 4. Микрофотографии частиц кГАп/п, к/ГАп/с и кГАп/тсп, полученные с помощью СЭМ (сканирующего электронного микроскопа).

Фиг. 5. Для кГАп/п, к/ГАп/с и кГАп/тсп:

(а) контрольные вольтамперограммы и изменение

(b) потери электроактивности (LEA в уравнении 2) и

(с) удельной емкости (С в уравнении 3) с увеличением количества последовательных циклов окисления-восстановления в PBS.

Фиг. 6. Графики (а) Найквиста и (b) Боде для кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп. (c) Эквивалентная электрическая схема (ЭЭС), использованная для аппроксимации экспериментальных данных, полученных для кГАп/с и кГАп/тсп: Rs - сопротивление электролита, СРЕ_b и R_b - электрическая емкость элемента постоянной фазы и его сопротивление, соответственно, СРЕ_{dl} - вклад емкости двойного слоя. Незакрашенные символы соответствуют значениям фазового угла, а закрашенные символы соответствуют Log|Z|, и черные линии соответствуют аппроксимированному профилю. Вставка на фиг. (a) представляет собой поведение Найквиста при высокой частоте.

Фиг. 7. Краевой угол смачивания первой и второй капель ФБС ($\theta_{\Phi b C}$ и $\theta'_{\Phi b C}$ черного и серого цвета, соответственно) для образцов кГАп/с и кГАп/тсп до и после инкубации в присутствии $P_2O_7^{4-}$, полиФ и АТМФ.

Фиг. 8. ИК-Фурье спектры кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп, инкубированных в присутствии (а) полиФ (200 мМ), (b) P₂O₇⁴⁻ (100 мМ) и (c) АТМФ (200 мМ) при рН 7. Стрелки обозначают положение полос и плеча, использованных для определения адсорбции различных адсорбатов.

Фиг. 9. Для (а и с) кГАп/с и (b и d) кГАп/тсп: (а и b) контрольные вольтамперограммы и (с и d) изменение потери электроактивности (LEA в уравнении 2) с увеличением количества последовательных циклов окисления-восстановления в PBS для образцов, не инкубированных и инкубированных в присутствии $P_2O_7^{4-}$, полиФ и ATMP.

Фиг. 10. Дифракционные рентгенограммы образцов кГАп/п и кГАп/с, идентифицированных по пикам при 20=32°-34°.

Фиг. 11. Микрофотографии частиц АФК/п, АФК/с и АФК/тсп, полученные с помощью СЭМ. Наносферическая морфология, обнаруженная в АФК/п, превращается в веретенообразные наностержни в АФК/тсп, тогда как в АФК/с две морфологии, по-видимому, сосуществуют.

Фиг. 12. Спектр РФЭС высокого разрешения в области Na1s для (а) образцов кГАп/с и (b) кГАп/тсп до и после инкубации в присутствии АТМФ, P₂O₇⁴⁻ и полиФ.

Фиг. 13. Спектр РФЭС высокого разрешения в области N1s для образцов (а) кГАп/с и (b) кГАп/тсп до и после инкубации в присутствии АТМФ.

Фиг. 14. Для кГАп/п: (a) контрольная вольтамперограмма и (b) изменение потери электроактивности (LEA в уравнении 2) с увеличением количества последовательных циклов окисления-восстановления в PBS для образцов, не инкубированных и инкубированных в присутствии $P_2O_7^{4-}$, полиФ и ATMФ.

Фиг. 15. Графики (а) Найквиста, (b) log |Z| и (c) фазового угла для кГАп/с, по отдельности и инкубированного в присутствии полиФ (200 мМ), $P_2O_7^{4-}$ (100 мМ) и (c) АТМФ (200 мМ) при рН 7.

Фиг. 16. Графики (а) Найквиста, (b) log |Z| и (c) фазового угла для кГАп/тсп, по отдельности и инкубированного в присутствии полиФ (200 мМ), $P_2O_7^{4-}$ (100 мМ) и (c) АТМФ (200 мМ) при рН 7.

Фиг. 17. На фиг. 17 показаны контрольные вольтамперограммы для кГАп/п, к/ГАп/с и кГАп/тсп в PBS. Электрохимическая активность, которая определяется анодной и катодной областями вольтамперограммы, заметно выше для ГАп/тсп, чем для ГАп/с и ГАп/п и контроля (нержавеющая сталь, AISI 304, электрод).

Фиг. 18А-D. На фиг. 18А показан спектр ЯМР ³¹Р образца ГАп, полученного с помощью синтеза (кГАп/п), где наблюдается сосуществование кристаллической и неупорядоченной фазы (фаз) (аморфного фосфата кальция). Кристалличность составляет 43%. Слабые сигналы, по-видимому, связаны с гидрофосфатом и дигидрофосфатом. На фиг. 18В показан спектр ЯМР ³¹Р спеченного образца ГАп (кГАп/с), где наблюдается реорганизация. Также наблюдается сосуществование нескольких кристаллических и неупорядоченных фаз (аморфного фосфата кальция). Кристалличность составляет 65%. Слабые сигналы, вероятно, связаны с гидрофосфатом и дигидрофосфатом. На фиг. 18С показан спектр ЯМР ³¹Р образца ГАп после осуществления постоянной поляризации согласно настоящему изобретению (кГАп/тсп), где кристалличность составляет 76%. Слабые сигналы больше не присутствуют. На фиг. 18D показано перекрытие спектров, представленных на фиг. 18А-С.

Фиг. 19. Спектры ЯМР ¹Н (А), ¹³С (В) и ³¹Р (С) образца серии 1 (табл. 4), полученного после взаимодействия в течение 24 ч при 95°С и с использованием 5 мМ раствора ZrOCl₂ для получения слоистой системы.

Фиг. 20. Изменение соотношений Gly/Phos (\circ), Ala/Phos (\Box) (Gly+Ala)/Phos (\blacklozenge) и Gly/Ala (\blacktriangle) в зависимости от времени для реакций, проведенных при 95°С с использованием образцов серии 1 (табл. 4), полученных из 5 мМ раствора ZrOCl₂ (a), в зависимости от температуры для реакций, проведенных в течение 24 ч с использованием того же образца (b), и в зависимости от концентрации растворов оксихлорида циркония (c) для реакций, проведенных при 95°С, в течение 24 ч и с использованием образцов серии 1.

Фиг. 21. Спектры РФЭС высокого разрешения для (а) п-кГАп, (b) п-кГАп + Phos-Zr-Phos, (c) пкГАп + Phos-Zr-Phos после отрицательной реакции (например, без воздействия УФ-излучения) и (d) пкГАп + Phos-Zr-Phos после положительной реакции (24 ч при 95°С): области N1s и Zr3d.

Фиг. 22. Микрофотографии образца серии 1, полученные с помощью СЭМ, до (а) и после (b) проведения реакции в течение 24 ч при 95°С и с использованием 5 мМ раствора ZrOCl₂ для получения слоистой системы.

Фиг. 23. (а) ИК-Фурье спектры образца серии 1 после реакции в течение 24 ч при 95°С и с использованием 5 мМ раствора $ZrOCl_2$ для получения слоистой системы. На вставках сравнивается область 1700-1500 см⁻¹ для вышеуказанного образца после (b) и до проведения реакции (d), образец серии 2 после проведения реакции (c) и смесь глицина и аланина (массовое соотношение 2:1) (e).

Фиг. 24. Дифракционные рентгенограммы, соответствующие поляризованному к-ГАп (а) и образцу серии 1 до (b) и после (c) проведения реакции в течение 24 ч при 95°С и с использованием 5 мМ раствора

ZrOCl₂ для получения слоистой системы. Серые крестики обозначают характеристические дифракционные пики катализатора, которые исчезают после реакции, а красные крестики обозначают новые дифракционные пики, которые можно наблюдать после реакции. Символы, обведенные кружком, обозначают дифракционные пики, которые в ходе реакции изменились более существенно.

Фиг. 25. Вольтамперограмма после 20 последовательных циклов окисления-восстановления для кГАп/тсп (полученного в соответствии с условиями согласно изобретению) и поляризованного минерала, полученного в соответствии с условиями согласно Nakamura et al. и Ueshima et al. с образцами без последующей обработки.

Условия согласно Nakamura et al. (J. Biomed. Mater. Res. 2006, 79A, 627-634):

і) синтез путем осаждения при комнатной температуре;

іі) сушка при 850°С в течение 2 ч;

ііі) обжиг (кальцинация) при 1250°С в атмосфере насыщенного водяного пара в течение 2ч;

iv) поляризация при 1 кВ/см в течение 1 ч при 300 или 800°С.

Условия согласно Ueshima et al. (Solid State Ionics 2002, 151, 29-34):

і) синтез путем осаждения при комнатной температуре;

іі) сушка при 850°С в течение 2 ч;

ііі) обжиг при 1250°С в атмосфере насыщенного водяного пара в течение 2 ч;

iv) поляризация при 10 кВ/см в течение 1 ч при 300 или 850°С.

Фиг. 26. Потеря электрохимической активности в зависимости от количества циклов окислениявосстановления для кГАп/тсп (полученного в соответствии с условиями согласно изобретению) и поляризованного минерала, полученного в соответствии с условиями согласно Nakamura et al. и Ueshima et al. с образцами без последующей обработки.

Условия согласно Nakamura et al. (J. Biomed. Mater. Res. 2006, 79A, 627-634):

і) синтез путем осаждения при комнатной температуре;

іі) сушка при 850°С в течение 2 ч

ііі) обжиг при 1250°С в атмосфере насыщенного водяного пара в течение 2 ч;

iv) поляризация при 1 кВ/см в течение 1 ч при 300 или 800°С.

Условия согласно Ueshima et al. (Solid State Ionics 2002, 151, 29-34):

і) синтез путем осаждения при комнатной температуре;

іі) сушка при 850°С в течение 2 ч;

ііі) обжиг при 1250°С в атмосфере насыщенного водяного пара в течение 2 ч;

iv) поляризация при 10 кВ/см в течение 1 ч при 300 или 850°С.

Фиг. 27. Сравнительная таблица электрического сопротивления и удельной емкости системы согласно настоящему изобретению и систем согласно уровню техники при следующих условиях с образцами без последующей обработки.

Условия согласно Nakamura et al. (J. Biomed. Mater. Res. 2006, 79A, 627-634):

і) синтез путем осаждения при комнатной температуре;

іі) сушка при 850°С в течение 2 ч;

ііі) обжиг при 1250°С в атмосфере насыщенного водяного пара в течение 2 ч;

iv) поляризация при 1 кВ/см в течение 1 ч при 300 или 800°С;

Условия согласно Ueshima et al. (Solid State Ionics 2002, 151, 29-34):

і) синтез путем осаждения при комнатной температуре;

іі) сушка при 850°С в течение 2 ч;

iii) обжиг при 1250°С в атмосфере насыщенного водяного пара в течение 2 ч;

iv) поляризация при 10 кВ/см в течение 1 ч при 300 или 850°С.

Фиг. 28. Повторная оценка образцов, представленных на фиг. 25, спустя 3 месяца.

Фиг. 29. Повторная оценка образцов, представленных на фиг. 27, спустя 3 месяца.

Подробное описание изобретения

В первом аспекте настоящее изобретение относится к постоянно поляризованному гидроксиапатиту, характеризующемуся тем, что его кристалличность составляет более 65%, предпочтительно более 70%, более предпочтительно более 75%, и его соответствующий спектр ЯМР ³¹Р представляет собой такой, как показано на фиг. 18С.

В настоящем изобретении термин "постоянно поляризованный" означает, что гидроксиапатит претерпел полное структурное перераспределение, почти идеальное, с высокой степенью кристалличности, то есть, в особенности, с небольшим количеством аморфного фосфата кальция и небольшим количеством вакансий, обнаруживаемых по повышенной электрохимической активности и накоплению заряда на единицу массы и поверхности. Он обладает электрохимической активностью и ионной подвижностью, которые не исчезают с течением времени. Химические различия между постоянно поляризованным гидроксиапатитом и соответствующим синтезированным и спеченным гидроксиапатитом показаны на спектрах ЯМР ³¹Р, приведенных на фиг. 18А-С.

На фиг. 18А-С показаны твердофазные спектры ЯМР ³¹Р образцов кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп (согласно настоящему изобретению). Основной резонансный пик, присутствующий в кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп при 2,9 ppm, соответствует объемным фосфатным группам PO_4^{3-} гидроксиапатитов.⁵⁶ По сравнению с кГАп/п ширина линий в обоих образцах кГАп/с и ГАп/тсп уже, что согласуется с увеличением χ_{c} , упомянутым выше. Широкие сигналы при приблизительно [-1,0] ppm и плечо при [0,1] ppm, присутствующие в кГАп/п и кГАп/с, обычно относили к одиночным протонированным поверхностным фосфатным группам, возникающим из-за неупорядоченного приповерхностного слоя. 57 Действительно, частицы гидроксиапатита обычно описываются как представляющие собой упорядоченное гидроксиапатитовое ядро, окруженное неупорядоченным неапатитовым поверхностным слоем.⁵⁸ Плечо при 4-6 ppm, присутствующее в кГАп/с, также обусловлено поверхностными ионами HPO₄²⁻, когда их количество в поверхностном слое превышает определенный порог.⁵⁹ Это увеличение числа поверхностных ионов HPO₄²⁻ в кГАп/с вызвано более разупорядоченным поверхностным слоем из-за термического процесса, применяемого при обработке частиц кГАп/с. Более необычной особенностью является единственный пик типичных объемных фосфатных групп PO4³⁻ гидроксиапатитов в кГАп/тсп. Так, эти частицы подвергаются обработке, заключающейся в воздействии постоянного электрического поля постоянной величины 500 В при одновременном нагреве при 1000°C в течение 2 ч. Было обнаружено, что этот процесс термической и электрической стимуляции (ТСП) оказывает различное влияние на поверхностные свойства гидроксиапатита.⁶⁰ Подобно тому, как поверхность гидроксиапатита претерпевает изменения из-за изменения положения ионов OH^{.61} Соответственно, характерным признаком выхода поверхностных ионов OH⁻ из столбиков в п-кГАп в результате термически и электрически стимулированного процесса поляризации является исчезновение поверхностных ионов HPO₄²⁻ и образование дырок в валентной зоне для соответствующей нейтрализации заряда.

Настоящее изобретение также относится к композиции или материалу, содержащим постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе.

В дополнительном варианте осуществления указанная композиция или указанный материал являются медицинскими, в частности, фармацевтическими, композицией или материалом.

В еще одном дополнительном варианте осуществления указанная композиция или материал дополнительно содержат по меньшей мере одно из следующего: силикаты; биосовместимые полимеры, включая, но не ограничиваясь перечисленным, полимолочную кислоту (PLA), сополимер молочной и гликолевой кислот (PGLA), полигликолид (PGA), полидиоксанон (PDO), полигидроксибутират (PHB), полисахариды и белки, такие как коллаген; металлоорганические соединения и ионы металлов, предпочтительно выбранные из Mg, Sr, Fe, Mn, Zr, Au и Ti, более предпочтительно Zr.

Во втором аспекте настоящее изобретение относится к способу получения постоянно поляризованного гидроксиапатита, предпочтительно, как определено в любом из вариантов осуществления первого аспекта, включающему следующие этапы:

(а) получение спеченных образцов гидроксиапатита и/или аморфного фосфата кальция при температуре от 700°С до 1200°С;

(b) приложение постоянного напряжения постоянной или изменяющейся величины в диапазоне от 250 В до 2500 В в течение по меньшей мере 1 мин при температуре от 900 до 1200° С, или приложение эквивалентного электрического поля величиной от 1,49 кВ/см до 15 кВ/см в течение по меньшей мере 1 мин при температуре от 900 до 1200° С, или приложение электростатического разряда величиной от 2500 В до 1500000 В в течение менее 10 мин при температуре от 900 до 1200° С, или приложение эквивалентного электрического поля величиной от 148,9 кВ/см до 8928 кВ/см в течение менее 10 мин при температуре от 900 до 1200° С;

(c) охлаждение образцов при одновременном приложении постоянного напряжения постоянной или изменяющейся величины или эквивалентного электрического поля, предпочтительно до комнатной температуры, или охлаждение образцов при одновременном приложении электростатического разряда или эквивалентного электрического поля, предпочтительно до комнатной температуры.

Способ и постоянно поляризованный гидроксиапатит, полученный или получаемый этим способом, имеют, в частности, следующие преимущества.

Температура спекания, определенная на этапе (а), ниже, чем используемая Yamashita и соавторами¹⁴, и позволяет избежать некоторых нежелательных фазовых переходов.

Плотность тока постоянно поляризованного гидроксиапатита, полученного при использовании температуры, как определено на этапе (b), представляющей собой так называемую температуру поляризации, на несколько порядков выше, чем достигнутая Yamashita и соавторами¹⁴ при использовании температуры поляризации от 350°C до 400°C ($\sim 10^{-5}$ A/cm² и $\sim 10^{-9}$ A/cm², соответственно), что доказывает успешность обработки согласно настоящему изобретению. Стоит отметить, что этот результат был неожиданным, так как Yamashita и соавторы¹⁴ обнаружили, что плотность тока уменьшается в интервале от 450 до 700°C. Успешность обработки согласно настоящему изобретению объяснили сочетанием температуры спекания и очень высокой температуры поляризации (от 900°C до 1200°C).

В предпочтительном варианте осуществления спеченные образцы гидроксиапатита, полученные на этапе (а), выбраны из группы, состоящей из спеченных образцов кристаллического гидроксиапатита, спеченных образцов аморфного гидроксиапатита и смеси указанных спеченных образцов. В более предпочтительном варианте спеченные образцы гидроксиапатита, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы кристаллического гидроксиапатита.

В дополнительном варианте осуществления спеченные образцы, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы гидроксиапатита. Спеченные образцы гидроксиапатита предпочтительно выбраны из группы, состоящей из спеченных образцов кристаллического гидроксиапатита, спеченных образцов аморфного гидроксиапатита и смеси указанных спеченных образцов. В более предпочтительном варианте спеченные образцы, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы кристаллического гидроксиапатита.

В еще одном дополнительном варианте осуществления спеченные образцы, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы гидроксиапатита и аморфного фосфата кальция. Спеченные образцы гидроксиапатита предпочтительно выбраны из группы, состоящей из спеченных образцов кристаллического гидроксиапатита, спеченных образцов аморфного гидроксиапатита и смеси указанных спеченных образцов. В более предпочтительном варианте спеченные образцы, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы кристаллического гидроксиапатита и аморфного фосфата кальция.

В еще одном варианте осуществления спеченные образцы, полученные на этапе (a), представляют собой спеченные образцы аморфного фосфата кальция.

Стадия спекания (a) представляет собой термическую обработку керамики при температуре ниже ее температуры плавления. В данном случае этап спекания проводят при температуре от 700°C до 1200°C, предпочтительно от 700°C до 1150°C, более предпочтительно от 800°C до 1100°C и наиболее предпочтительно примерно 1000°C.

Также важно отметить, что в способе согласно второму аспекту настоящего изобретения используется постоянное напряжение постоянной величины (см. этап (b)) и/или электрическое поле постоянной величины, как описано в уровне техники. В случае приложения постоянного напряжения постоянной величины соответствующее электрическое поле равно нулю.

В дополнительном варианте осуществления постоянное напряжение постоянной или изменяющейся величины или эквивалентное электрическое поле прикладывают на этапе (b) в течение от 0,5 до 1,5 ч. В еще одном варианте осуществления постоянное напряжение постоянной или изменяющейся величины или эквивалентное электрическое поле прикладывают на этапе (b) в течение примерно 1 ч.

В еще одном дополнительном варианте осуществления постоянное напряжение, прикладываемое на этапе (b), составляет примерно 500 В. Такое постоянное напряжение будет эквивалентно электрическому полю постоянной величины 3,0 кВ/см.

В еще одном варианте осуществления температура на этапе (b) составляет по меньшей мере 1000°С.

В третьем аспекте настоящее изобретение относится к способу получения постоянно поляризованного гидроксиапатита, предпочтительно как определено в любом из вариантов осуществления первого аспекта, включающему следующие этапы:

(а) получение спеченных образцов гидроксиапатита и/или аморфного фосфата кальция;

(b) нагревание образцов, полученных на этапе (a), при температуре от 900° C до 1200° C;

(c) приложение постоянного напряжения постоянной или изменяющейся величины в диапазоне от 250 В до 2500 В в течение по меньшей мере 1 мин, или приложение эквивалентного электрического поля величиной от 1,49 кВ/см до 15 кВ/см в течение по меньшей мере 1 мин, или приложение электростатического разряда величиной от 2500 В до 1500000 В в течение менее 10 мин, или приложение эквивалентного электрического поля величиной от 148,9 кВ/см до 8928 кВ/см в течение менее 10 мин;

(d) охлаждение образцов при поддержании постоянного напряжения или эквивалентного электрического поля, предпочтительно до комнатной температуры, или охлаждение образцов при поддержании электростатического разряда или эквивалентного электрического поля, предпочтительно до комнатной температуры.

В предпочтительном варианте осуществления спеченные образцы гидроксиапатита, полученные на этапе (а), выбраны из группы, состоящей из спеченных образцов кристаллического гидроксиапатита, спеченных образцов аморфного гидроксиапатита и смеси указанных спеченных образцов. В более предпочтительном варианте спеченные образцы гидроксиапатита, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы кристаллического гидроксиапатита.

В дополнительном варианте осуществления спеченные образцы, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы гидроксиапатита. Спеченные образцы гидроксиапатита предпочтительно выбраны из группы, состоящей из спеченных образцов кристаллического гидроксиапатита, спеченных образцов аморфного гидроксиапатита и смеси указанных спеченных образцов. В более предпочтительном варианте спеченные образцы, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы кристаллического гидроксиапатита.

В еще одном дополнительном варианте осуществления спеченные образцы, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы гидроксиапатита и аморфного фосфата кальция. Спеченные образцы гидроксиапатита предпочтительно выбраны из группы, состоящей из спеченных образцов кристаллического гидроксиапатита, спеченных образцов аморфного гидроксиапатита и смеси указанных спеченных образцов. В более предпочтительном варианте спеченные образцы, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы кристаллического гидроксиапатита и аморфного фосфата кальция. В еще одном варианте осуществления спеченные образцы, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы аморфного фосфата кальция.

Стадия спекания (a) представляет собой термическую обработку керамики при температуре ниже ее температуры плавления. В данном случае этап спекания предпочтительно проводят при температуре от 700°C до 1200°C, более предпочтительно от 700°C до 1150°C, еще более предпочтительно от 800°C до 1100°C и наиболее предпочтительно примерно 1000°C.

Также важно отметить, что в способе согласно третьему аспекту настоящего изобретения прикладывают постоянное напряжение постоянной величины (см. этап (с)) и/или электрическое поле постоянной величины, как описано в уровне техники. Если прикладывают постоянное поле с константной величиной, соответствующее электрическое поле равно нулю.

В дополнительном варианте осуществления постоянное напряжение постоянной или изменяющейся величины или эквивалентное электрическое поле прикладывают на этапе (с) в течение от 0,5 до 1,5 ч. В еще одном варианте осуществления постоянное напряжение постоянной или изменяющейся величины или эквивалентное электрическое поле прикладывают на этапе (с) в течение примерно 1 ч.

В еще одном дополнительном варианте осуществления постоянное напряжение, прикладываемое на этапе (с), составляет примерно 500 В.

В еще одном варианте осуществления температура на этапе (b) составляет по меньшей мере 1000°С. Преимущества, упомянутые в контексте способа согласно второму аспекту настоящего изобретения, относятся также к способу согласно третьему аспекту настоящего изобретения.

В четвертом аспекте настоящее изобретение относится к постоянно поляризованному гидроксиапатиту, полученному или получаемому способом согласно второму аспекту или третьему аспекту настоящего изобретения. Дополнительные характеристики и преимущества постоянно поляризованного гидроксиапатита и способа соответствуют таковым для вариантов осуществления, описанных в первом и втором аспекте настоящего изобретения.

В пятом аспекте настоящее изобретение относится к следующим применениям постоянно поляризованного гидроксиапатита.

Настоящее изобретение также относится к применению постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, в биомедицинских приложениях. Предпочтительно указанное биомедицинское приложение выбрано из цемента для зубов, костей, протезов, медицинских устройств, доставки лекарственных средств, генной терапии и регенерации тканей.

Настоящее изобретение также относится к применению постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, в качестве электродов.

Настоящее изобретение также относится к применению постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, для легирования полимеров.

Настоящее изобретение также относится к применению постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, в качестве катализатора, предпочтительно в качестве фотоэлектрокатализатора или электрокатализатора. Предпочтительно применение в качестве катализатора осуществляют в реакции синтеза органических молекул, в частности аминокислот, предпочтительно природных аминокислот. Постоянно поляризованный гидроксиапатит обладает преимуществом, состоящим в способности проявлять превосходные каталитические свойства и высокую адсорбционную емкость, как дополнительно показано ниже.

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, или композиция или материал, содержащие указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, можно применять в качестве компонента в слоистой, в частности, трехслойной каталитической системе на основе (цирконий) аминотриметиленфосфоновой кислоты, которая позволяет катализировать синтез природных аминокислот, таких как глицин и аланин. Этот синтез происходит в твердой фазе со значительным выходом и без образования обнаружимых побочных продуктов, как продемонстрировано с помощью ЯМР-спектроскопии. Реакция может проводиться при относительно низкой температуре (75-105°C), в течение короткого времени (например, менее 24 ч) и при низком давлении (например, менее 50 бар), но воздействие УФизлучения является обязательным. Катализатор способен связывать молекулярный азот, выполняющий роль источника азота, и адсорбировать СО₂. Углекислый газ и метан участвуют в получении карбоксильных групп и как метиленовых, так и метильных групп, соответственно. Вода также влияет на катализатор, изменяя его диэлектрическое поведение и способствуя ионной подвижности. Эти результаты очень интересны, поскольку обеспечивается новый и чистый способ синтеза органических молекул, таких как аминокислоты, который может протекать в твердой фазе, исключая растворение реагентов в больших

объемах воды, как в ранее предложенном пребиотическом синтезе. Способность связывать молекулярный азот и использование слабо восстановительной атмосферы (N_2 , CO_2 , H_2O и CH_4) также являются достойными внимания особенностями новой каталитической системы. Эта неожиданная область применения открывает возможность использования этого семейства катализаторов для получения аминокислот из слабо восстановительной атмосферы (то есть, содержащей H_2O , CH_4 , N_2 и CO_2) вместо менее перспективной восстановительной атмосферы (H_2O , CH_4 , NH_3 и H_2). Кроме того, применение этого катализатора путем адсорбции CO_2 позволяет получать органические соединения (например, получать аминокислоты, как показано в разделе примеров), при этом снижая количество CO_2 в атмосфере, что представляет собой очевидный вклад в решение существующих экологических проблем, вызванных высокими объемными концентрациями CO_2 в атмосфере (парниковый эффект).

Этот катализатор основан на эффективной трехслойной системе оксихлорида циркония и аминотриметиленфосфоновой кислоты, далее сокращенно обозначаемой как Phos-Zr-Phos. Тем не менее, соединение, выступающее в роли носителя для трехслойной системы, должно играть определяющую роль, так как оно должно правильно закреплять первый фосфонатный слой. Эта особенность также будет оценена путем сравнения результатов для слоистого силиката (например, монтмориллонита натрия), слоистого алюмосиликата (например, слюды) и соединения фосфата кальция (ГАп, (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂)), способного устанавливать сильные ионные взаимодействия между его ионами кальция и осажденным фосфонатным слоем. Применение термостимулированной поляризации к ГАп усилило электрохимическую активность и стабильность, а также электропроводность, в то же время значительно увеличив адсорбцию фосфатов и фосфонатов (в частности, аминотриметиленфосфоновой кислоты, АТМФ) по сравнению с необработанными частицами ГАп (без последующей обработки). (Для получения дополнительных сведений об этом способе см. раздел примеров).

Настоящее изобретение также относится к применению постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, в качестве носителя, предпочтительно для адсорбции, органических молекул. Предпочтительно указанные молекулы выбраны из углеводов, аминокислот, липидов, ДНК, РНК, биополимеров и АТФ. В более предпочтительном варианте указанные биополимеры выбраны из полимолочной кислоты (PLA), сополимера молочной и гликолевой кислот (PGLA), полигидроксибутирата (PHB), полидиоксанона (PDO), полисахаридов и белков и металлоорганических соединений.

Настоящее изобретение также относится к применению постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, в качестве носителя, предпочтительно для адсорбции, фосфорсодержащих соединений, таких как пирофосфат, трифосфат, трифосфонат и/или полифосфаты. Полифосфаты предпочтительно выбраны из любых полифосфатов, имеющих от 1 до 50000 мономерных звеньев, или любой их комбинации.

Настоящее изобретение также относится к применению постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, в качестве носителя, предпочтительно для адсорбции, металлоорганических соединений, предпочтительно фосфонатов металлов. Металлоорганические соединения предпочтительно представляют собой соединения, содержащие ионы металлов, где ионы металлов выбраны из группы, состоящей из переходных металлов, лантаноидов и их комбинаций. В более предпочтительном варианте металлоорганические соединения представляют собой соединения, содержащие ионы металлов, где ионы металлов выбраны из группы, состоящей из Sr, Mg, Fe, Mn, Zr, Au, Ti и смесей по меньшей мере двух из указанных соединений.

Настоящее изобретение также относится к применению постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, для молекулярного распознавания, предпочтительно разделения рацематов.

Настоящее изобретение также относится к постоянно поляризованному гидроксиапатиту, как определено в настоящем документе, или композиции или материалу, содержащим указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, для применения в лечении деградации костной ткани и/или злокачественных новообразований костей, таких как остеопороз. Настоящее изобретение также относится к способу лечения деградации костной ткани и/или злокачественных новообразований костей, таких как остеопороз, у субъекта, предпочтительно человека, включающему введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе. Фраза "терапевтически эффективное количество" означает количество данного вещества, которое оказывает определенное требуемое местное или системное действие при разумном соотношении польза/риск, применимое к любому виду лечения. Терапевтически эффективное количество данного вещества может различаться в зависимости от субъекта и патологического состояния, подлежащего лечению, массы тела и возраста субъекта, тяжести патологического состояния, способа введения и т.д., и может быть легко определено специалистом в данной области техники. Например, некоторые композиции согласно настоящему изобретению могут быть введены в количестве, достаточном для достижения разумного соотношения польза/риск, применимого к данному виду лечения.

Настоящее изобретение также относится к ДНК/РНК для применения в лечении заболеваний, причем ДНК/РНК вводят с помощью постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции, или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе. Настоящее изобретение также относится к способу лечения заболеваний у субъекта, предпочтительно человека, включающему введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества ДНК/РНК, где ДНК/РНК вводят с помощью постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции, или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе. ДНК/РНК предпочтительно выбрана из группы, состоящей из двухцепочечных или одноцепочечных последовательностей, содержащих ДНК или РНК, связанных с заболеваниями (т.е. раком, нейрональными заболеваниями или заболеваниями, связанными с кальцинозом), и смесей по меньшей мере двух из указанных ДНК/РНК. Заболевания предпочтительно выбраны из группы, состоящий из наследственных заболеваний, включающих, не ограничиваясь перечисленным, хондродистрофию, дефицит альфа-1-антитрипсина, антифосфолипидный синдром, аутизм, аутосомно-доминантный поликистоз почек, рак молочной железы, болезнь Шарко-Мари-Тута, рак толстой кишки, синдром кошачьего крика, болезнь Крона, муковисцидоз, болезнь Деркума, синдром Дауна, синдром Дуэйна, миодистрофию Дюшенна, Лейденскую мутацию фактора V, семейную гиперхолестеринемию, семейную средиземноморскую лихорадку, синдром ломкой Х-хромосомы, болезнь Гоше, гемохроматоз, гемофилию, голопрозэнцефалию, болезнь Хантингтона, синдром Клайнфельтера, синдром Марфана, миотоническую дистрофию, нейрофиброматоз, синдром Нунан, несовершенный остеогенез, болезнь Паркинсона, фенилкетонурию, синдром Поланда, порфирию, прогерию, рак предстательной железы, пигментный ретинит, тяжелый комбинированный иммунодефицит (ТКИД), серповидноклеточную анемию, рак кожи, спинальную мышечную атрофию, болезнь Тея-Сакса, талассемию, триметиламинурию, синдром Шерешевского-Тернера, велокардиофациальный синдром, синдром WAGR (синдром опухоли Вильмса с аниридией), болезнь Вильсона), и заболеваний, связанных с кальцинозом, включающих, не ограничиваясь перечисленным, заболевания, связанные с мелкими и крупными артериями, сердечными клапанами, мозгом (в этом случае заболевание известно как кальциноз головного мозга), суставами и сухожилиями, например, коленными суставами и сухожилиями мышцы-вращателя плеча, мягкими тканями, такими как молочные железы, мышцы и жировая ткань, почками, мочевым пузырем и желчным пузырем.

Настоящее изобретение также относится к применению постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, в качестве компонента твердотельной батареи. В контексте настоящего документа твердотельная батарея представляет собой батарею, имеющую как твердые электроды, так и твердые электролиты. В целом эти материалы являются очень хорошими проводниками ионов, что необходимо для высокой эффективности процессов в электролите и электродах, но плохими проводниками электронов, что хорошо в электролитах, но нежелательно в электродах. Высокая ионная проводимость сводит к минимуму внутреннее сопротивление батареи, тем самым обеспечивая высокую удельную мощность, в то время как высокое сопротивление переноса электронов минимизирует скорость саморазряда, тем самым повышая удержание заряда.

Настоящее изобретение также относится к применению постоянно поляризованного гидроксиапатита, определенного в настоящем документе, или композиции или материала, содержащих указанный постоянно поляризованный гидроксиапатит, определенный в настоящем документе, в качестве компонента чипа, аккумулирующего энергию, который представляет собой чип, способный генерировать свою собственную энергию. Аккумуляция энергии определена как преобразование энергии окружающей среды в полезную электрическую энергию. По сравнению с энергией, хранящейся в обычных накопительных элементах, таких как батареи и тому подобное, окружающая среда представляет собой относительно неисчерпаемый источник энергии. Следовательно, способы сбора (т.е. извлечения) энергии должны характеризоваться их удельной мощностью, а не плотностью энергии.

Настоящее изобретение далее будет дополнительно проиллюстрировано со ссылкой на следующие примеры, которые не предназначены для ограничения объема изобретения.

Примеры

Способ получения постоянно поляризованных ГАп и АФК

Материалы. Гидрофосфат аммония [(NH₄)₂HPO₄; чистота \geq 99,0%], 30% раствор гидроксида аммония (NH₄OH; чистота: 28-30%), пирофосфат натрия (Na₄P₂O₇)), трифосфат натрия (полиФ) и АТМФ были приобретены у Sigma-Aldrich. Нитрат кальция [Ca(NO₃)₂; чистота \geq 99,0%] был приобретен у Panreac (Барселона, Испания). Этанол (C₂H₅OH; чистота \geq 99,5%) был получен от Scharlab (Барселона, Испания). Фетальная бычья сыворотка (ФБС) для измерения краевого угла смачивания была приобретена у Gibco.

Синтез ГАп и АФК. Для получения образцов АФК и кГАп использовали простую процедуру, единственное различие заключалось в применении к реакционной смеси последующей термической обработки.³⁵ Количества реагентов корректировали для получения соотношения Са/Р величиной 1,67. Как в случае АФК, так и в случае кГАп к 25 мл 0,5 М раствора Са(NO₃)₂ в этаноле по каплям (скорость 2 мл/мин⁻¹) и при перемешивании (400 об/мин) добавляли 15 мл 0,5 М (NH₄)₂HPO₄ в деионизированной воде (pH доводили до 11 с помощью раствора аммиака концентрацией 30 мас.%). После этого реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч путем размешивания (400 об/мин) при комнатной температуре. В случае АФК полученную суспензию выдерживали в течение 24 ч при 37°С, а для получения кГАп применяли гидротермальные условия в течение 24 ч. В гидротермальном синтезе выращивание кристаллов проводят в устройстве, состоящем из стального сосуда под давлением, называемого "автоклав", куда подается питательное вещество вместе с водой. В данном случае температура составляла 150°С, а давление составляло 200 бар.

В обоих случаях осадок отделяли центрифугированием и последовательно промывали деионизированной водой и (дважды) смесью этанола и воды в соотношении 60/40 об./об. После лиофилизации получали белый порошок. АФК и кГАп, полученные этим способом, были обозначены как образцы "без последующей обработки", далее сокращенно обозначаемые АФК/п и кГАп/п, соответственно.

Спекание и процесс термостимулированной поляризации. Спеченные образцы кГАп и АФК, далее обозначаемые как кГАп/с и АФК/с, соответственно, получали нагреванием ранее синтезированных порошков при 1000°С в течение 2 ч на воздухе. Эта температура ниже, чем использованная Yamashita и соавторами.^{14,15} Затем порошки подвергали одноосному прессованию при 620 МПа в течение 10 мин с получением плотных дисков, подходящих для определения характеристик. Эти образцы имели следующие размеры: диаметр 10 мм, толщина 1,68 мм.

Для получения поляризованных при термостимуляции АФК и кГАп (АФК/тсп и кГАп/тсп, соответственно) диски из спеченных образцов помещали между пластинами из нержавеющей стали (AISI 304), нагревали до 1000°С на воздухе и одновременно поляризовали в течение 1 ч при применении постоянного напряжения постоянной величины (В). Эта температура поляризации, раскрытая в настоящем документе, выходит за рамки значений температуры (т.е.<700°С), использованных Yamashita и соавторами,^{14,15} которые сообщают, что температуры выше 450°С оказывают негативное влияние на процесс поляризации, приводя к снижению силы тока в поляризованных образцах. Затем образцы охлаждали до комнатной температуры, поддерживая постоянное напряжение постоянной величины. Предварительные анализы проводили с использованием значений В в диапазоне от 250 до 2000 В (т.е. электрического поля постоянной величины от 1,49 до 11,9 кВ/см), наилучшие результаты были получены для 500 В (т.е. 2,98 кВ/см). Соответственно, все эксперименты, описанные в данной работе, соответствуют образцам АФК/тсп и кГАп/тсп, поляризованным при В = 500 В.

Характеристика постоянно поляризованных ГАп и АФК

Рентгенодифракционный анализ. Кристалличность и структуру изучали методом широкоугольной дифракции рентгеновских лучей (WAXD). Рентгенограммы получали с использованием прибора от Вruker модели D8 Advance с излучением CuK α (λ =0,1542 нм) и геометрией Брэгга-Брентано, тета-2 тета. Использовали одномерный детектор Lynx Eye. Образцы испытывали при 40 кВ и 40 мА в диапазоне 2-тета 10-60°, с шагом измерения 0,02° и временем счета одного шага 2-8 с. Профили дифракционных пиков обрабатывали с использованием программного обеспечения PeakFit v4 (Jandel Scientific Software), а графическое представление данных выполняли с использованием программного обеспечения OriginPro v8 (OriginLab Corporation, CША).

Размер кристаллитов (L) в направлении, перпендикулярном плоскостям (211), получали из дифракционных рентгенограмм с учетом измерения ширины пика (211) и уширения линий по уравнению Шеррера:³⁶

(1)

$$L = \frac{0.9\lambda}{\beta\cos\theta}$$

где λ - длина волны (СиК α),

β - полная ширина пика (211) на половине максимальной высоты,

θ - угол дифракции и 0,9 - коэффициент формы частиц.

Кристалличность (χ_c) получали с помощью следующего выражения:³⁷

$$\chi_c = 1 - \frac{V_{112/300}}{I_{300}} \tag{2}$$

где I_{300} - интенсивность дифракционного пика (300) и

V_{112/300} - интенсивность впадины между дифракционными пиками (112) и (300), которая исчезает в некристаллических образцах.

Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (РФЭС). Анализы РФЭС выполняли в системе SPECS, оборудованной высокоинтенсивным двуханодным Mg/Al источником рентгеновского излучения XR50 (1253 эВ/1487 эВ), работающим при 150 Вт, расположенным перпендикулярно оси анализатора, и с использованием детектора Phoibos 150 MCD-9 XP. Размер рентгеновского пятна составлял 650 мкм. Установленная энергия пропускания составляла 25 и 0,1 эВ для обзорного и узкого сканирования, соответ-

ственно. Компенсацию заряда достигали с помощью комбинации электронной пушки и ионной аргоновой пушки. Энергия и ток эмиссии электронов составляли 4 эВ и 0,35 мА, соответственно. Для аргоновой пушки энергия и ток эмиссии составляли 0 эВ и 0,1 мА, соответственно. Спектры регистрировали с энергией пропускания 25 эВ с шагом 0,1 эВ при давлении ниже 6×10⁻⁹ мбар. Эти стандартные условия компенсации заряда давали к отрицательный, но совершенно равномерный статический заряд. Пик C1s использовали в качестве внутреннего стандарта с энергией связи 284,8 эВ. Спектры РФЭС высокого разрешения получали с помощью аппроксимации кривой Гаусса-Лоренца после вычитания фона по методу Ширли. Состав поверхности определяли с использованием факторов чувствительности от производителя.

ИК-Фурье спектроскопия. Инфракрасные спектры поглощения регистрировали на спектрометре Fourier Transform FTIR 4100 Jasco в диапазоне 1800-700 см⁻¹. Использовали установку нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) модели MKII Golden Gate от Specac с крышкой с нагреваемой алмазной призмой Diamond ATR Top-Plate.

Морфология. Исследования с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) проводили с использованием микроскопа со сфокусированным электронным пучком Zeiss Neon40, работающего при 5 кВ, оборудованного системой энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС). Образцы наносили на кремниевый диск, закрепленный серебряной краской на штырьках из алюминия, и покрывали напылением тонким слоем углерода для предотвращения проблем, связанных с заряжением образца.

Контактная профилометрия. Шероховатость поверхности (Rq) полученных дисков ГАп определяли с помощью стилусного профилометра (Veeco, Плейнвью, Нью-Йорк, США).

Краевой угол смачивания. Измерения проводили с использованием метода лежащей капли при комнатной температуре на OCA 15EC с программным обеспечением SCA20 (Data-Physics Instruments GmbH, Фильдерштадт, Германия). В качестве растворителей в этих экспериментах использовали деионизированную воду и ФБС, краевые углы смачивания определяли как для первой, так и для второй капли (θ и θ', соответственно). Для измерений θ лежащую каплю аккуратно наносили на поверхность дисков образцов, используя микрометрический шприц с подходящей металлической иглой (Hamilton 500 мкл). Для аппроксимации измеренного контура капли математической функцией использовали метод эллипса. Этот способ состоит в приближении контура капли к линии эллипса, где отклонения от истинной формы капли находятся в диапазоне нескольких процентов. Метод эллипса обеспечивает точное измерение краевого угла смачивания и обладает тем преимуществом, что он чрезвычайно быстро выполняется. Для каждого растворителя исследовали не менее десяти капель. Измерения θ' проводили этим же способом, однако после нанесения второй капли на первую выдерживали время установления равновесия, составлявшее 1 мин.

Определение содержания воды. Диски ГАп сушили в сушильном шкафу (100°С) в течение 15 ч. После этого образцы достигали комнатной температуры в эксикаторе и были немедленно взвешены. Далее образцы погружали в деионизированную воду на 1 ч. Образцы извлекали, промакивали безворсовой тканью и взвешивали. Содержание воды, выраженное в массовых процентах, рассчитывали следующим образом:

$$M_W(\%) = \frac{(W_W - W_D)}{W_D} \times 100$$
 (1)

где M_W - содержание воды в образце,

W_W - масса влажного образца, W_D - масса высушенного образца.

W_W и W_D определяли с помощью аналитических микровесов Sartorius CPA26P.

Циклическая вольтамперометрия (ЦВА). Электрохимическое поведение определяли с помощью ЦВА, используя прибор Autolab PGSTAT302N, оборудованный модулем ЭХД (электрохимического детектора) (Ecochimie, Нидерланды) с трехэлектродной ячейкой в атмосфере азота (чистота 99,995%) при комнатной температуре. В качестве электролита в трехэлектродной ячейке использовали 0,1 M раствор натрий-фосфатного буфера (PBS; pH=7,2, скорректированный с помощью NaOH). Рабочий отсек был заполнен 30 мл раствора электролита. В качестве рабочего электрода и противоэлектрода использовали стальные листы AISI 316 размером $1 \times 1,5 \text{ см}^2$ (толщина 0,1 см), а в качестве электрода сравнения использовали электрод AgIAgCl, содержавший насыщенный водный раствор KCl (смещение потенциала относительно стандартного водородного электрода, $E^0=0,222$ В при 25°C). Все потенциалы, приведенные в данном отчете, указаны относительно этого электрода. Диски ГАп, полученные, как описано выше, закрепляли на рабочем электроде с помощью двухсторонней липкой углеродной ленты. Начальный и кончный потенциалы составляли -0,40 В, тогда как реверсивный потенциал был равен 0,80 В. Скорость сканирования составляла 50 мВ/с.

Электроактивность, которая определяет способность обратимо изменять заряд, оценивали путем изучения сходства между анодной и катодной областями контрольной вольтамперограммы. Электрохимическую стабильность (т.е. потерю электроактивности, LEA), которая уменьшается с областями окисления и восстановления последовательных контрольных вольтамперограмм, определяли с помощью следующего выражения:

$$LEA = \frac{\Delta Q}{Q_{II}} 100^{SC} = \frac{i\Delta t}{\Delta V}$$
(2)

где ΔQ - разница вольтам
перометрического заряда между вторым циклом и последним циклом,

 $Q_{\rm H}$ - вольтамперометрический заряд, соответствующий второму циклу. В данной работе все значения LEA относились к 1000 последовательных циклов окисления-восстановления.

Удельную емкость (SC; в Ф/г) ГАп в электроде рассчитывали как:

$$SC = \frac{Q}{\Delta Vm}$$
(3)

где Q - вольтамперометрический заряд, определяемый путем интегрирования либо окислительной, либо восстановительной частей кривой циклической вольтамперограммы,

 ΔV - диапазон изменения потенциала,

m - масса полимера на поверхности рабочего электрода. Последнее определяют из протекшего тока и поляризационного заряда.³⁸

Спектроскопия электрохимического импеданса (СЭИ). Измерения с помощью СЭИ выполнялись с использованием устройства AUTOLAB PGSTAT302N в диапазоне частот от 10 кГц до 10 мГц, амплитуда синусоидального напряжения составляла 10 мВ. Все эксперименты проводились при комнатной температуре. Пленки подходящего размера прессовали в формате диска и помещали между двумя электродами из нержавеющей стали (диаметр =1,5 см), установленными в держатель из изолирующей смолы.³⁹ Ячейку затягивали винтами, чтобы обеспечить постоянное удерживающее давление. Толщина пленок, определенная микрометром, составляла от 1,68 до 2,00 мм, а площадь составляла примерно 1,766 см². Перед проведением анализа образцы предварительно высушивали нагреванием при 100°С в сушильном шкафу в течение ночи. После сбора данных результаты СЭИ обрабатывали и аппроксимировали электрической эквивалентной схемой (ЭЭС).

Адсорбция на обработанном кГАп. Концентрация адсорбата в рабочих растворах составляла 100 мМ для $P_2O_7^{4-}$ и 200 мМ как для полиФ, так и для АТМФ, а рН в этом исследовании во всех случаях составляла 7. Концентрация $P_2O_7^{4-}$ составляла половину от концентрации, использованной для двух других адсорбатов, из-за его ограниченной растворимости. Для инкубации 500 мкл рабочего раствора с адсорбатом помещали на 50 мг кГАп. После перемешивания в течение ночи при 25°С аддукты отделяли центрифугированием при 6500 об/мин в течение 5 мин при 4°С. Осадочные вещества повторно суспендировали в дистиллированной воде. После этого процесса, который повторяли два раза, полученные осадки замораживали при -80°С в течение 3 ч, а затем высушивали с помощью лиофильной установки.

Характеристика химических свойств и выбор образцов для

исследований электрохимических и адсорбционных свойств

Сравнение ИК-Фурье спектров исследованных образцов кГАп и АФК, которые демонстрируют типичные полосы $PO_4^{3^-}$ в области между 950 и 1200 см⁻¹, приведено на фиг. 1. Спектры кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп демонстрируют характерные колебательные моды $PO_4^{3^-}$ при $v_1 = 962$ см⁻¹ и $v_3 = 1016$, 1087 см⁻¹, при этом сходство между тремя спектрами указывает на то, что кГАп/п не подвергается значительным структурным изменениям при спекании и поляризации. Напротив, появление новых полос и плеч (т.е. при 970 и 1037 см⁻¹), а также сдвиги в существующих полосах (т.е. с 963 и 1090 см⁻¹ до 947 и 1098 см⁻¹, соответственно) в спектрах АФК/с и АФК/тсп свидетельствуют о важных структурных преобразованиях в АФК/п после термической и поляризационной обработки. Образцы порошка АФК, нагретые при температурах от 600 до 1000°С, были охарактеризованы Raynaud et al.⁴⁰ Появление новых полос в ИК-Фурье спектрах объяснили образованием структуры, состоящей из фаз кГАп и трикальцийфосфата (ТСР).

Структурные анализы частиц кГАп и АФК методом WAXD были направлены на пики при 2θ=32°-34°, характерные для дифракционных пиков (211), (112) и (300) ГАп. Хотя в результате сравнения дифрактограмм, полученных для кГАп/п и кГАп/тсп, видны небольшие структурные изменения (фиг. 2a), процесс термостимулированной поляризации вызывает значительное увеличение как кристалличности (χ_c), так и размера кристаллитов (L). Таким образом, χ_c образцов кГАп/п и кГАп/тсп составила 0,42±0,01 и 0,75±0,02, соответственно, а размер кристаллитов кГАп/тсп, L=86±2 нм, был примерно на 40% больше, чем у кГАп/п (L=61±2 нм). Изменение χ_c и L объяснили образованием дефектов OH⁻. Fujimori et al. ⁴¹ сообщают, что ионы ОН выходят из матрицы ГАп при температуре выше 800°С, этот процесс дегидратации обусловливает образование вакансий и ионов O²⁻. Помимо образования небольшого количества дефектов ОН-, при применении такой обработки происходит термический фазовый переход из моноклинной в гексагональную фазу. 42-44 Гексагональная фаза становится наиболее устойчивой при комнатной температуре из-за фазового перехода от упорядоченного к неупорядоченному состоянию, который объясняется изменением положения ионов ОН. 42-44 Хотя структурные различия между моноклинным и гексагональным ГАп невелики (фиг. 2a), их достаточно, чтобы оказать сильное влияние на некоторые из его свойств (см. следующие подразделы). Дифрактограмма, полученная в данной работе для кГАп/с $(\chi_c=0.65\pm0.02$ и L=86±3 нм), сравнивается на фиг. 10 с таковой для кГАп/п.

На фиг. 3 приведено сравнение характеристических спектров РФЭС в областях Р 2p, Ca 2p и O 1s

для кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп. В случае кГАп/п одиночный пик P2p с центром при 132,2 эВ, вызванный анионами PO₄^{3-,45,46} претерпевает небольшое смещение в сторону более высоких и более низких энергий (Δ_{3c} =+0,4 и -1,0 эВ) после применения спекания и термостимулированной поляризационной обработки, соответственно. Энергии связи пиков Ca 2p_{3/2} и Ca 2p_{1/2}, детектируемые при 346,1 и 349,6 эВ, соответственно, для кГАп/п,^{45,47} претерпевают смещения до 346,5 и 350,0 эВ для кГАп/с и до 345,1 и 348,6 эВ для кГАп/тсп. Эти изменения полностью согласуются с существованием структурных изменений, связанных с фазовыми переходами. Кроме того, исследование химического состава методом РФЭС, представленное в табл. 1, согласуется с образованием вакансий ОН⁻, вызванных нагревом. Таким образом, содержание кислорода в кГАп/с и кГАп/тсп примерно на 2 мас.% ниже по сравнению с кГАп/п. Интересно, что молярное соотношение Ca/P в образцах кГАп/п очень близко к стехиометрическому значению 1,67. Тем не менее, кГАп/с и кГАп/тсп демонстрируют некоторое снижение по сравнению с этим идеальным значением, что подтверждает теорию появления вакансий. С другой стороны, азот, содержащийся в кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп, содержание которого составляет от 0,28 до 0,40 мас.%, объяснили адсорбцией N₂ из атмосферы.

Таблица 1. Концентрация Са, Р, О, Na и N (мас.%) и молярные отношения Са/Р, определенные с помощью анализа РФЭС образцов кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп

	Са (масс.%)	Р (масс.%)	О (масс.%)	Na (масс.%)	N (масс.%)	Са/Р (молярное)
кГАп/п	38,76	18,09	42,86	0,00	0,29	1,66
кГАп/с	39,76	19,01	40,95	0,00	0,28	1,62
кГАп/тсп	40,12	18,95	40,53	0,00	0,40	1,64
кГАп/с + P ₂ O ₇ ⁴	39,67	22,76	31,67	5,58	0,32	1,59
кГАп/с + полиФ	38,76	18,95	35,62	6,38	0,29	1,32
кГАп/с + АТМФ	39,23	19,27	38,32	0,00	3,18	1,48
кГАп/тсп + $P_2O_7^{4-}$	39,54	22,56	25,64	11,91	0,35	1,35
кГАп/тсп + полиФ	40,03	27,34	22,58	9,84	0,21	1,13
кГАп/тсп + АТМФ	39,12	24,08	32,72	0,00	4,08	1,26

Сравнение дифрактограмм, полученных для образцов АФК без последующей обработки и после проведения процесса термостимулированной поляризации (АФК/п и АФК/тсп, соответственно), приведено на фиг. 2b. В этом случае изменения являются радикальными, что также отражено увеличением χ_{C} и L с 0,05±0,02 и 5±1 нм для АФК/п до 0,74±0,03 и 52±3 нм для АФК/тсп. Структура, демонстрируемая кристаллической фракцией АФК/п, идентична структуре, наблюдаемой для кГАп/п. Однако процесс спекания провоцирует появление β-трикальцийфосфата (β-TCP: β-Ca₃(PO₄)₂) в качестве преобладающей фазы. Хотя высокие пики при 2θ=31,3° и 34,6° хорошо совпадают с пиками дифрактограммы β-TCP (#09-0169) в базе Объединенного комитета порошковых дифракционных стандартов (JCPDS), сосуществование кГАп как второстепенной фазы в АФК/тсп обнаружено по постоянным положениям пиков при 20=31,9°, 32,3°, 33,0° и 34,3°. Эти результаты свидетельствуют о том, что процесс термостимулированной поляризации вызывает частичное разложение АФК/п, что приводит к образованию β-ТСР. Разные авторы сообщали о подобном поведении спеченного АФК (АФК/с) при 1100°С (т.е. без применения ка-кого-либо электрического поля),^{5,47,48} и оно подтверждается дифрактограммами, полученными авторами изобретения для образцов, полученных в данной работе путем нагревания АФК/п до 1000°С в течение 2 ч на воздухе (не показано). Микрофотографии, полученные с помощью СЭМ, показанные на фиг. 10, отражают радикальные структурные изменения, претерпеваемые образцами АФК/п при термической и электрической обработке.

Из-за преобладания фазы β-TCP в переходе АФК/тсп остальная часть данной работы (т.е. поверхностные и электрохимические свойства, а также адсорбционная способность) была направлена на сравнение кГАп/п и кГАп/тсп. Для полноты картины такое сравнение также провели в отношении спеченных образцов кГАп (названных кГАп/с).

Характеристика поверхности

Сравнение морфологий поверхности образцов кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп приведено на фиг. 4. Как можно видеть, микрофотографии, полученные с помощью СЭМ, подтверждают ранее обсуждавшиеся результаты WAXD. Образцы кГАп/п состоят из ламинарных кристаллов и веретенообразных стержней, эти же элементы также обнаружены в кГАп/с и кГАп/тсп. Однако количество таких элементов увеличивается при применении внешней обработки, особенно термостимулированной поляризации.

Таким образом, кристаллы в ГАп/тсп имеют больший размер по сравнению с кГАп/п и к/ГАп/с, что согласуется с изменением χ_c, обсуждаемым выше. С другой стороны, микрофотографии ясно показывают, что размер кристаллитов увеличивается с увеличением количества кристаллов (т.е. результаты WAXD показали, что L изменяется следующим образом: кГАп/тсп>кГАп/с>кГАп/п).

В табл. 2 показано, что, хотя шероховатость поверхности (Rq) образцов кГАп/п практически не изменилась при применении поляризационной и/или термической обработки, поверхностная энергия изменилась значительно. Краевой угол смачивания воды ($\theta_{воды}$) составлял ~4° для кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп, что указывает на то, что эти три материала являются очень гидрофильными, как и ожидалось из-за их поверхностного заряда. Напротив, краевой угол смачивания в ФБС ($\theta_{\Phi 5C}$) был значительно ниже для кГАп/с и кГАп/тсп, чем для кГАп/п (табл. 2). Это изменение в смачивании дает основания предполагать, что реорганизация ионов, вызванная термической и, особенно, поляризационной обработками, увеличивает вклад полярной составляющей в поверхностную энергию. Для подтверждения относительного увеличения вклада дисперсионной составляющей относительно полярной был определен краевой угол смачивания второй капли воды и ФБС ($\theta'_{воды}$ и $\theta'_{\Phi 5C}$, соответственно) для трех поверхностей (см. раздел "Методы"). Хотя поверхности были менее смачиваемыми, чем при смачивании первой каплей, поведение было практически идентично описанному выше (табл. 2). Таким образом, три гидрофильных материала привели к очень схожим значениям $\theta'_{воды}$, тогда как различия между значениями $\theta'_{\Phi 5C}$ были аналогичны полученным для $\theta_{\Phi 5C}$.

Таблица 2. Шероховатость (Rq), краевой угол смачивания первой и второй капель воды

 $(\theta_{\text{волы}} \, u \, \theta'_{\text{волы}})$, краевой угол смачивания первой и второй капель ФБС $(\theta_{\Phi \text{БС}} \, u \, \theta'_{\Phi \text{БС}}) \, u$

C	определенные для образцов кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп			
Образец	Rq (нм)	$ heta_{\scriptscriptstyle {\it \it bodbl}}$ (°) / $ heta'_{\scriptscriptstyle {\it \it bodbl}}$ (°)	$ heta_{arphi b C}$ (°) / $ heta'_{arphi b C}$ (°)	M _W (%)
кГАп/п	851±194	3±1 / 6±1	81±2 / 96±2	-
кГАп/с	863±158	4±1 / 4±1	61±2 / 71±2	7±1
кГАп/тсп	882+92	4+1 / 4+1	51+2 / 62+2	13+1

содержание воды после погружения в деионизированную воду (M_W),

Чтобы дополнить эту информацию, были проведены анализы адсорбции воды с использованием процедуры, описанной в разделе "Методы" (уравнение 1). К сожалению, диски кГАп/п сломались сразу после погружения в воду, и в этом случае измерение было невозможно. Однако содержание воды, определенное для образцов кГАп/с и кГАп/тсп после погружения в деионизированную воду, показанное в табл. 2, полностью соответствовало значениям $\theta_{\Phi bC}$ и $\theta'_{\Phi bC}$ Соответственно, адсорбция воды была на 5% выше для ГАп/тсп по сравнению с ГАп/с.

Электрохимические и электрические свойства

Сравнение циклических вольтамперограмм, записанных в PBS для кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп, закрепленных на стальных листах, приведены на фиг. 5а. Как можно видеть, электрохимическая активность кГАп/п выше, чем у стали, которую использовали в качестве контроля. Тем не менее, электроактивность значительно увеличивается при термической и электрической обработке (т.е. 46% и 150%, соответственно). В случае кГАп/тсп такой очевидный эффект сопровождается значительным увеличением силы анодного тока при реверсивном потенциале. Такое поведение свидетельствует о том, что структурные изменения, вызванные термостимулированной поляризационной обработкой, облегчают диффузию ионов через неорганическую матрицу и, следовательно, электрохимический ответ при окислительновосстановительных процессах. С другой стороны, плотность тока кГАп/тсп, полученного с использованием температур поляризации в диапазоне, как описано в настоящем документе, на несколько порядков выше, чем достигнутая Yamashita и соавторами¹⁴ с использованием температуры поляризации 350-400°С (~10⁻⁵ А/см² и ~10⁻⁹ А/см², соответственно), что доказывает успех обработки, предложенной авторами изобретения. Стоит отметить, что этот результат был неожиданным, так как Yamashita и соавторы¹⁴ обнаружили, что плотность тока уменьшается в интервале от 450 до 700°С. Успех обработки, проведенной авторами изобретения, был объяснен сочетанием температуры спекания, более низкой, чем использованная Yamashita и соавторами¹⁴, и позволяющей избежать некоторых нежелательных фазовых переходов, и очень высокой температурой поляризации (от 700 до 1200°С).

Обработка также влияет на электростабильность, что отражается в изменении LEA (уравнение 2) в зависимости от количества последовательных циклов окисления-восстановления (фиг. 5b). Как можно видеть, во всех случаях электрохимическая стабильность быстро снижается в течение первых 100-150 циклов окисления-восстановления, причем снижение LEA в течение следующих циклов происходит значительно медленнее. После 1000 циклов электроактивность снизилась на 72%, 67% и 60% для кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп, соответственно, что свидетельствует о том, что структурные изменения, вызванные процессом термостимулированной поляризации, также повышают стабильность электрохимических свойств. Поведение, наблюдаемое для удельной емкости (С в уравнении 3), полностью соответствует поведению электроактивности. Таким образом, хотя С во всех случаях очень мала, способность кГАп/п накапливать заряд (C= $16 \times 10^5 \, \Phi/r \cdot cm^2$) на 71% и 82% меньше по сравнению с кГАп/с и кГАп/тсп (C= 56×10^{-5} и $89 \times 10^{-5} \, \Phi/r \cdot cm^2$, соответственно). Изменение удельной емкости в зависимости от количества циклов окисления-восстановления (фиг. 5с) было аналогично описанному выше для LEA.

Для оценки ионной проводимости внутри полученных образцов ГАп проводили измерения с помощью СЭИ. Таким образом, с помощью этой методики будет получена информация о влиянии внутренних поверхностей раздела, создаваемых внутри материала в результате процесса термостимулированной поляризации, на электрические свойства. На фиг. 6 приведено сравнение репрезентативных графиков Найквиста, полученных для кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп. На графике Найквиста первый полукруглый отклик соответствует сопротивлению переноса электронов в более высоком диапазоне частот, которое отражает кинетику переноса электронов окислительно-восстановительного зонда на границе электрод-твердый диск. Диаметр полукруга определяет сопротивление переноса электронов, обычно называемое объемным сопротивлением (Rb). График Найквиста, полученный для кГАп/п (фиг. 6а), демонстрирует только одно время диэлектрической релаксации (т), которое соответствует одному переносу заряда через твердый диск, что указывает на то, что материал имеет высокое объемное сопротивление (т.е. низкую ионную проводимость) в сухом состоянии. Графики Боде (фиг. 6b) демонстрируют фазовые углы, близкие к 80°, соответствующие резистивным материалам в сухом состоянии. Диаметр полукруга на графиках Найквиста (фиг. 6а) значительно меньше для кГАп/с и особенно для кГАп/тсп, даже несмотря на то, что появляется вторая постоянная времени. Эта особенность была связана со значительной структурной модификацией внутри кристаллов ГАп, которая позволяет быстро переносить заряд через диск. Согласно наблюдениям, сделанным с помощью WAXD и CЭМ, образцы кГАп/с и кГАп/тсп имеют более высокую концентрацию кристаллов, а также более крупные кристаллы, чем кГАп/п. Следовательно, этап термической обработки способствует росту кристалла, в то время как термостимулированная поляризационная обработка отвечает за определение хороших путей для переноса заряда. Это отражено в численной оценке результатов СЭИ (табл. 3).

Образцы	R _b	Q _{dl}	n	Qb	n
	(Ω cm ²)	(Ф см ⁻² с ⁿ⁻¹)		$(\Phi \ cm^{-2} \ c^{n-1})$	
кГАп/п ^а	134,6 × 10 ⁻⁶	-	-	$8,180 imes 10^{-10}$	0,76
кГАп/с	6,43 × 10 ⁻⁶	1,248 × 10 ⁻⁸	0,77	$1,215 \times 10^{-5}$	0,44
кГАп/тсп	0,67 × 10 ⁻⁶	4,558× 10 ⁻⁷	0,71	$4,863 \times 10^{-5}$	0,55
кГАп/с + поли Φ	0,42 × 10 ⁻⁶	5,076 × 10 ⁻⁸	0,81	1,573 × 10 ⁻⁵	0,43
$\kappa\Gamma A\pi/c + P_2O_7^{4-}$	$1,00 \times 10^{-6}$	3,647 × 10 ⁻⁸	0,73	$1,309 \times 10^{-5}$	0,50
$\kappa\Gamma A\pi/c + ATM\Phi$	0,95 × 10 ⁻⁶	2,159 × 10 ⁻⁸	0,76	$1,009 \times 10^{-5}$	0,42
кГАп/тсп + поли Φ	$66,7 \times 10^{-3}$	5,550 × 10 ⁻⁸	0,81	$7,792 \times 10^{-4}$	0,63
$\kappa\Gamma A\pi/т c\pi + P_2 O_7^{4-}$	0,35 × 10 ⁻⁶	1,373 × 10 ⁻⁸	0,79	3,812 × 10 ⁻⁵	0,49
к Γ Ап/тсп + АТМФ	69,9 × 10 ⁻³	5,699 × 10 ⁻⁸	0,73	$5,204 \times 10^{-5}$	0,48

Таблица 3. Данные результатов СЭИ, полученные из электрической эквивалентной схемы (ЭЭС), показанной на фиг. 6с, для сухих дисков^а кГАп/с и кГАп/тсп после воздействия нескольких процессов обработки и после адсорбщии неорганических молекул фосфатов

^аЭЭС для кГАп/п $R_s(R_bQ_b)$

Электрическая эквивалентная схема (ЭЭС), использованная для аппроксимации экспериментальных данных, представлена на фиг. 6с. ЭЭС содержит три важных элемента: R_b , представляющий собой объемное сопротивление; и Q_b и Q_{dl} , которые описывают идеальные емкости как толстой пленки кГАп, так и двойного слоя между поверхностями металла и диска, соответственно. R_s соответствует сопротивлению раствора электролита, хотя его считали равным ~0 $\Omega \cdot cm^2$ из-за отсутствия жидкого электролита. Реальная емкость CPE_b учитывает неравномерную диффузию между пленками, приклеенными к поверхности электрода. Реальная емкость CPE_{dl} обычно связана с реакционной способностью поверхности, неоднородностью и шероховатостью поверхности, которые, в свою очередь, связаны с геометрией и пористостью электрода. Кроме того, импеданс CPE, который был выражен как $Z_{cpe}=[Q(j\omega)^n]^{-1}$, представляет собой идеальный конденсатор и идеальный резистор для n=1 и n=0 соответственно, в то время как при n~0,5 он связан с процессом диффузии. Все данные импеданса, представленные на фиг. ба, были аппроксимированы ЭЭС, представленной на фиг. 6с, за исключением данных, полученных для кГАп/п. Для использованной ЭЭС последние образцы не имеют емкостного отклика от двухслойной пленки и соответствуют [$R_s(R_bQ_b)$].

Согласно табл. 3 R_b является очень низким (6,7×10⁵ Ω ·см²) для образца кГАп/тсп по сравнению с образцом кГАп/с (6,4×10⁶ Ω ·см²), что указывает на то, что ионная проводимость увеличивается на один порядок при сочетании термической обработки с поляризационной. Другим важным изменением являет-ся появление второй постоянной времени (τ) при получении более крупных кристаллов и их поляризации при 500 В (фиг. 6а). Эта особенность указывает на создание путей переноса заряда внутри твердого тела,

что отражено СРЕ_b. Последнее наблюдение полностью согласуется как с микрофотографиями, полученными с помощью СЭМ, так и с электрохимическим откликом, определенным с помощью ЦВА. Согласно Chaudhuri и соавторам,⁴⁹ проводящие участки в сухом ГАп следует рассматривать как каналы, по которым ионы могут перемещаться за счет термически активированного прыжкового механизма (например, ионы ОН⁻ или протоны в столбиках), в то время как емкостные участки являются неподвижными ионами. Напротив, Lukic et al.,⁵⁰ который обнаружил, что проводимость ГАп увеличивается с повышением температуры, объяснил это поведение геометрическими факторами, такими как увеличение размера зерна. Liu и Shen⁵¹ продемонстрировали значительное дегидроксилирование во время спекания кГАп при температуре выше 900°С, при этом ионы ОН⁻ отвечают за проводимость при высоких температурах (т.е. в диапазоне 700-1000°С).

Адсорбция пирофосфата, трифосфата и трифосфоната

В одном из недавних исследований авторы изобретения исследовали адсорбцию $P_2O_7^{4-}$, поли Φ и амино-АТМ Φ на кГАп/п.¹² Чтобы изучить, как термическая и электрическая обработка влияют на адсорбцию этих неорганических соединений, было проведено полное исследование с использованием образцов кГАп/с и кГАп/тсп в качестве субстратов. Согласно предыдущей работе авторов изобретения концентрация адсорбата в рабочих растворах составляла 100 мМ для $P_2O_7^{4-}$ и 200 мМ как для поли Φ , так и для АТМ Φ , что обеспечивало четкие сигналы адсорбции для кГАп/п при рН 7.

На фиг. 7а приведено сравнение краевых углов смачивания для первой и второй капли ФБС ($\theta_{\Phi b C}$ и $\theta'_{\Phi b C}$, соответственно), определенных для кГАп/с и кГАп/тсп до и после инкубации в присутствии неорганических адсорбатов. Как можно видеть, смачиваемость ФБС двух субстратов повышалась при инкубации, что позволяет предположить, что три неорганических адсорбата были успешно адсорбированы. Кроме того, уменьшение краевого угла смачивания адсорбата происходило для двух субстратов кГАп аналогичным образом: поли $\Phi < P_2O_7^{4*} \approx ATM\Phi$. Соответственно, поверхностная энергия становится выше при адсорбции поли Φ , чем при адсорбции $P_2O_7^{4*}$ и ATM Φ , независимо от обработки, применяемой к частицам кГАп.

Адсорбцию P₂O₇⁴⁻, полиФ и АТМФ также исследовали методом РФЭС. В результате сравнения характеристического спектра РФЭС в области Na1s для кГАп/с и кГАп/тсп до и после инкубации в присутствии неорганических адсорбатов обнаруживается пик с центром при 1074,2 эВ для образцов, обработанных P₂O₇⁴⁻ и полиФ (фиг. 12). Этот сигнал, идентичный сигналам, о которых сообщают Gaskell et al.^{52,53} для Na₄P₂O₇·10H₂O и Na₅P₃O₁₀, подтверждает включение этих соединений на поверхность двух обработанных кГАп. Напротив, содержание Na в неинкубированных образцах и образцах, инкубированных в присутствии АТМФ, является нулевым (табл. 1). Соотношения, полученные с использованием составов с атомным процентом Na1s, показывают, что адсорбция P₂O₇⁴⁻ и полиФ соответственно в ~2 и ~1,5 раза выше для кГАп/тсп, чем для кГАп/с. Аналогичная стратегия была использована для определения адсорбции АТМФ, которая явным образом обнаруживается по пикам в области N1s (фиг. S4). Таким образом, содержание N в неинкубированных образцах и образцах, инкубированных в присутствии $P_2O_7^{4-}$ и полиФ, составляет ≤0,40 мас.%, увеличиваясь до 3,18 и 4,08 мас.% для образцов кГАп/с и кГАп/тсп, инкубированных в присутствии АТМФ (табл. 1). Исходя из того, что количество N₂, адсорбированного из атмосферы, одинаково для инкубированных и неинкубированных образцов, адсорбция АТМФ в ~1,4 раза выше для кГАп/тсп, чем для кГАп/с. Два пика, обнаруженные при 404,3 и 402,5 эВ (фиг. 13) в последних образцах, были отнесены на счет атомов азота АТМФ с различным химическим окружением (т.е. свободных и связанных с водородом).⁵⁴

На фиг. 8 приведено сравнение ИК-Фурье спектров кГАп/п, кГАп/с и кГАп/тсп после инкубации в растворе с $P_2O_7^{4-}$, полиФ и АТМФ при нейтральном рН. ИК-Фурье спектры $P_2O_7^{4-}$, полиФ и АТМФ были описаны в предыдущей работе авторов изобретения.¹² В случае полиФ слабое плечо, идентифицированное при примерно 890 см⁻¹ для кГАп/п (фиг. 8а), что соответствует асимметричному растяжению P-O-P, превращается в четко определенную полосу адсорбции для кГАп/с и особенно кГАп/тсп. Эта особенность полностью согласуется с наблюдениями посредством РФЭС, что подтверждает, что применение термических процессов и процессов термостимулированной поляризации значительно увеличивает способность кГАп адсорбировать полиФ. На основании ИК-Фурье спектров, представленных на фиг. 1 и 8, была оценена способность образцов кГАп адсорбировать полиФ с использованием отношения интегрированной площади пика при 1016 см⁻¹ (относится к минералу) и интегрированной площади пика при 890 см⁻¹ (относится к полиФ). Результаты показали, что адсорбция полиФ на кГАп/п была в 2,0 и 2,6 раза ниже, чем на кГАп/с и кГАп/тсп, соответственно, что хорошо согласуется с результатами РФЭС.

К сожалению, для $P_2O_7^{4-}$ эта характеристика была гораздо менее ясна. Так, полоса при 890 см⁻¹ оставалась недетектируемой в спектрах, представленных на фиг. 8b, где единственным свидетельством адсорбции является очень слабое плечо при 740-750 см⁻¹ для кГАп/с и кГАп/тсп, которое было объяснено симметричным растяжением P-O-P. Следует отметить, что атомный процент Na1s, обнаруженный с помощью РФЭС в образцах кГАп, инкубированных с полиФ, значительно выше, чем в образцах, инкубированных с $P_2O_7^{4-}$ (табл. 1), что согласуется с наблюдениями методом ИК-Фурье. Кроме того, предыдущие квантово-механические расчеты в отношении граней (100) и (001) кГАп показали, что адсорбция полиФ является предпочтительной по сравнению с адсорбцией P₂O₇^{4-.¹⁸} Таким образом, способность адсорбата приспосабливать свою геометрию к кристаллографическим положениям ионов на поверхностях кГАп повышается с увеличением размера фосфатной цепи.

Следовательно, было обнаружено, что адсорбированный $P_2O_7^{4-}$ значительно деформирован по сравнению с адсорбированным поли Φ .

Результаты ИК-Фурье спектроскопии для различных образцов кГАп, инкубированных с АТМФ (фиг. 8с), демонстрируют закономерности, аналогичные наблюдаемым для полиФ. Так, плечо, идентифицированное для кГАп/п при 900 см⁻¹, что соответствует асимметричным колебаниям алкилфосфоновой кислоты,⁵⁵ превращается в относительно интенсивный и четко определенный пик для кГАп/с и особенно кГАп/тсп. Это изменение согласуется с результатами РФЭС, указывающими на то, что способность различных образцов кГАп адсорбировать АТМФ увеличивается следующим образом: кГАп/п<кГАп/с<кГАп/тсп. Адсорбция АТМФ на кГАп/с и кГАп/тсп была оценена соответственно в 2,2 и 3,0 раза выше, чем на кГАп/п, что подтверждается данными РФЭС.

Индуцированная адсорбцией электрохимическая защита и повышенная электропроводность

Циклические вольтамперограммы, полученные для кГАп/п, инкубированного в присутствии полиФ, $P_2O_7^{4-}$ и АТМФ (фиг. 14а), очень похожи на представленные на фиг. 5а, что позволяет предположить, что количество адсорбата на поверхности минерала недостаточно для изменения окислительновосстановительного поведения. Напротив, циклические вольтамперограммы инкубированного кГАп/с и особенно кГАп/тсп значительно отличаются от циклических вольтамперограммы, полученные для инкубированных образцов. Это отчетливо видно на фиг. 9а и 9b, где сравниваются вольтамперограммы, полученные для инкубированных и неинкубированных образцов. Таким образом, электроактивность инкубированных образцов кГАп/с и кГАп/тсп выше, чем у неинкубированных образцов, на ~60% и ~40%, соответственно, что позволяет предположить, что адсорбированные молекулы облегчают обмен ионами между минеральной матрицей и раствором электролита PBS в ходе процессов окисления и восстановления.

Однако наиболее поразительная особенность относится к изменению электроактивности в зависимости от количества циклов окисления-восстановления. Так, сравнение LEA (уравнение 2), измеренной для инкубированного и неинкубированного кГАп/п (фиг. 14b), показывает, что электрохимическая стабильность последнего ниже (на ~10%), чем у образцов с адсорбированным полиФ, $P_2O_7^{4+}$ или АТМФ. Эта характеристика, позволяющая предположить, что молекулы адсорбата обеспечивают электрохимическую защиту минерала, значительно усиливается в случае кГАп/с и кГАп/тсп, как показано на фиг. 9с и 9d, соответственно. Так, после 1000 циклов окисления-восстановления потеря электроактивности неинкубированных кГАп/с и кГАп/тсп выше, чем у инкубированных образцов, на ~20% и ~25%, соответственно. Значения LEA для инкубированного кГАп/тсп являются особенно поразительными (т.е. 21%, 27% и 29% для полиФ, $P_2O_7^{4+}$ и АТМФ, соответственно). Эти низкие значения свидетельствуют о том, что применение термостимулированной поляризационной обработки повышает не только адсорбционную емкость, но также улучшает электрохимическую активность и стабильность.

Результаты СЭИ (табл. 3) отражают положительное влияние адсорбированного полиФ и АТМФ на ионную проводимость обработанных образцов кГАп по сравнению с адсорбированным $P_2O_7^{4-}$. Это явление особенно примечательно для кГАп/тсп, который демонстрирует самое низкое объемное сопротивление (66,7 и 69,9 к Ω ·см² для образцов с адсорбированными полиФ и АТМФ, соответственно), что свидетельствует о том, что полиФ и АТМФ способствуют подвижности носителей заряда внутри сухой пленки. Таким образом, структурные изменения, вызванные термостимулированной поляризационной обработкой, способствуют взаимодействию минерала как с полиФ, так и с АТМФ, содействуя подвижности электронов внутри сухой пленки. Выравнивание ионов ОН вдоль оси с в образцах кГАп/тсп, повидимому, играет решающую роль в создании такого взаимодействия. На фиг. 15 и 16 сравниваются графики Найквиста и Боде, полученные для кГАп/с и кГАп/тсп, соответственно, с тремя исследованными адсорбатами.

Особенности применения постоянно поляризованного гидроксиапатита в

качестве компонента катализатора в синтезе аминокислот

Синтез аморфного (аГАп) и кристаллического гидроксиапатита (кГАп)

К 25 мл 0,5 М раствора Ca(NO₃)₂ в этаноле по каплям (скорость 2 мл·мин⁻¹) и при перемешивании (400 об/мин) добавляли 15 мл 0,5 М (NH₄)₂HPO₄ в деионизированной воде (pH доводили до 11 с помощью раствора аммиака концентрацией 30 мас.%). После этого реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч путем размешивания (400 об/мин) при комнатной температуре. Суспензию выдерживали в течение 24 ч при 37°С для получения аГАп, а для получения кГАп затем применяли гидротермальную обработку (200 бар при 150°С в течение 24 ч). Осадок отделяли центрифугированием и последовательно промывали деионизированной водой и (дважды) смесью этанола и воды в соотношении 60/40 об./об. После лиофилизации получали белый порошок с расчетным соотношением Ca/P 1,67.

Процесс спекания

Затем порошки аГАп, кГАп и монтмориллонита спекали, сначала нагревая их в лабораторной печи (Carbolite ELF11/6B/301) при 1000°С в течение 2 ч в атмосфере воздуха и, наконец, одноосно прессовали

при 620 МПа в течение 10 мин. В результате получали диски диаметром 100 мм и толщиной 1,7 мм. Процесс термостимулированной поляризации

Для получения поляризованных при термостимуляции систем ГАп, Nanofil 757 и LM диски соответствующих образцов помещали между пластинами из нержавеющей стали (AISI 304), нагревали в печи до 1000°С на воздухе и одновременно поляризовали в течение 1 ч при применении постоянного напряжения постоянной величины 500 В, ранее описанного как оптимальное в анализах адсорбции, проведенных с поляризованным ГАп.² Поляризованные образцы назвали п-кГАп, п-аГАп, п-N757 и п-LM. Следует отметить, что ГАп не мог быть поляризован, если образец не был предварительно спечен, поскольку диск не имел достаточной плотности и разрушался в процессе поляризации.

Осаждение слоев фосфоната и оксихлорида циркония (ZrOCl₂)

Трехслойную систему, состоящую из слоев АТМФ, оксихлорида циркония и АТМФ, последовательно осажденных на соответствующий субстрат (т.е. слюду, спеченный аГАп и кГАп или силикат до и после проведения поляризации), получали погружением в соответствующие водные растворы при комнатной температуре в течение 5 ч. Концентрации растворов АТМФ для получения первого и второго слоев АТМФ составляли 5 мМ и 1,25 мМ, соответственно, тогда как концентрация оксихлорида циркония различалась в отдельных экспериментах (т.е. от 1 мМ до 10 мМ, соответственно). После каждого погружения образцы сушили при 37°С в течение 3 ч. Для полноты картины также рассматривали двухслойные и однослойные системы (т.е. Phos-ZC, Phos, ZC).

Синтез аминокислот

Для осуществления синтеза аминокислот (AA) использовали реактор высокого давления из нержавеющей стали. Разработанный реактор был оборудован манометром, электронагревателем с термопарой и внешним регулятором температуры. Реактор также характеризовался инертной реакционной камерой из тефлона (120 мл), куда вводили катализатор и воду, тремя независимыми впускными клапанами для N₂, CH₄, CO₂ и выпускным клапаном для выпуска газообразных продуктов реакции. Также в середину реактора была помещена ультрафиолетовая лампа (GPH265T5L/4, 253,7 нм) для непосредственного облучения твердого образца, представлявшая собой лампу, защищенную прозрачной для УФ-излучения кварцевой трубкой. Она была покрыта тонкой тефлоновой пленкой, чтобы избежать какого-либо контакта между реакционной средой и силикатом и, следовательно, исключить прочие каталитические эффекты.

Реакции проводили при температуре 75-105°С в течение от 2 до 96 ч. Твердые образцы весили приблизительно 150 мг, и в реакционную камеру на начальном этапе при необходимости вводили 0,5 мл деионизированной жидкой воды. Камеру тщательно продували первым выбранным газом, чтобы устранить исходно содержащийся воздух (т.е. N_2 или CO_2). Каждый выбранный газ вводили для увеличения давления в реакционной камере (измеряемого при комнатной температуре) на две или три атмосферы (т.е. конечное давление при комнатной температуре всегда составляло 6 бар).

Измерения

Синтез аминокислот регулярно контролировали тестом с нингидрином (2,2-дигидроксииндан-1,3дионом) на первичные амины. Для этого 0,5 мг твердого вещества, выделенного после реакции, погружали в пробирку, содержащую 0,2 мас./об.% раствора нингидрина в ацетоне, и затем нагревали до 75°С в сушильном шкафу. Образование растворов фиолетового цвета указывало на образование хромофора 2-(1,3-диоксоиндан-2-ил)иминоиндан-1,3-диона. Растворы желто-оранжевого цвета, напротив, были характерны для основания Шиффа, образованного в результате реакции со вторичными аминами, в то время как неокрашенные растворы получали из третичных аминов, таких как АТМФ.

Спектры ЯМР получали с помощью спектрометра Bruker Avance III-400, работавшего на частотах 400,1, 100,6 и 161,9 МГц для ¹H, ¹³C и ³¹P, соответственно. Химические сдвиги для ¹H и ¹³C были откалиброваны с использованием тетраметилсилана в качестве внутреннего стандарта. Образцы растворяли в дейтерированной воде, содержащей 100 мМ HCl и 50 мМ NaCl.

Анализы с помощью рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС) выполняли на системе SPECS, оборудованной высокоинтенсивным двуханодным Mg/Al источником рентгеновского излучения XR50 (1253 эB/1487 эВ), работающим при 150 Вт, расположенным перпендикулярно оси анализатора, и с использованием детектора Phoibos 150 MCD-9 XP. Размер рентгеновского пятна составлял 650 мкм. Установленная энергия пропускания составляла 25 и 0,1 эВ для обзорного и узкого сканирования, соответственно. Компенсацию заряда осуществляли с помощью комбинации электронной пушки и ионной аргоновой пушки. Энергия и ток эмиссии электронов составляли 4 эВ и 0,35 мА, соответственно. Для аргоновой пушки энергия и ток эмиссии осставляли 0 эВ и 0,1 мА, соответственно. Спектры регистрировали с энергией пропускания 25 эВ с шагом 0,1 эВ при давлении ниже 6×10⁻⁹ мбар. Эти стандартные условия компенсации заряда приводили к отрицательному, но совершенно равномерному статическому заряду. Пик C1s использовали в качестве внутреннего стандарта с энергией связи 284,8 эВ. Спектры РФЭС высокого разрешения получали с помощью аппроксимации кривой Гаусса-Лоренца после вычитания фона по методу Ширли. Состав поверхности определяли с использованием факторов чувствительности от производителя.

Исследования с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) проводили с использованием микроскопа со сфокусированным электронным пучком Zeiss Neon40, работающего при 5 кВ, оборудованного системой энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС). Образцы наносили на кремниевый диск, закрепленный серебряной краской на штырьках из алюминия, и покрывали напылением тонким слоем углерода для предотвращения проблем, связанных с заряжением образца.

Инфракрасные спектры поглощения регистрировали на спектрометре Fourier Transform FTIR 4100 Jasco в диапазоне 1800-700 см⁻¹. Использовали установку нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) модели МКІІ Golden Gate от Specac с крышкой с нагреваемой алмазной призмой Diamond ATR Top-Plate. Рентгеновские порошковые дифрактограммы были получены в пучке синхротронного излучения BL11-NCD на синхротроне ALBA (Серданьола-дель-Вальес, Барселона, Испания) с использованием длины волны 0,100 нм и детектора WAXS LX255-HS от Rayonix, который был откалиброван по дифракционным пикам стандарта, представлявшего собой образец Cr₂O₃.

Результаты

Образцы, полученные в результате реакций с использованием трехслойного катализатора Phos-ZC-Phos, нанесенного на носитель из поляризованного кГАп, и восстановительной атмосферы, состоящей из N_2 , CO_2 , CH_4 и H_2O (серия 1 в табл. 4), дали положительные результаты в тестах с нингидрином, что позволяет предположить образование первичных аминов. Фактически, фиолетовые пятна образовывались внутри извлеченных твердых частиц после реакции, указывая на то, что соединения амина в основном абсорбируются на твердой субстрат. Эти соединения хорошо растворялись в растворе ацетона после интенсивного перемешивания, в отличие от неокрашенного твердого вещества/растворов, наблюдаемых для других исследованных условий реакции (например, серия 2 и серии 4-13 в табл. 4).

Серия	Условия ^а	Тест с	Наблюдения
		нингидрином	
1	п-кГАп/Phos-ZC-Phos	+	Сигналы Gly и Ala в спектрах ЯМР.
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ , H ₂ O /		Увеличение отношения AA/Phos
	УФ		при увеличении
			продолжительности реакции.
			Увеличение отношения AA/Phos
			при увеличении
			продолжительности реакции.
			Увеличение отношения AA/Phos
			при увеличении содержания Zr.
2	п-кГАп/Phos-ZC-Phos	-	УФ-излучение является
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ , H ₂ O		обязательным.
3	п-аГАп/Phos-ZC-Phos	+	Кристаллическая структура ГАп не
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ , H ₂ O /		является обязательной для
	УФ		реакции.
4	кГАп/Phos-ZC-Phos	-	Поляризация НА ГАп р является
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ , H ₂ O /		обязательной.
	УФ		
5	п-N757/Phos-ZC-Phos	-	Важен тип поляризованного
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ , H ₂ O /		носителя.
	УФ		
6	п-LM/Phos-ZC-Phos	-	Важен тип поляризованного
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ , H ₂ O /		носителя.
	УФ		
7	п-кГАп/Phos-ZC	-	Трехслойная система является
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ , H ₂ O /		обязательной.
	УФ		
8	п-кГАп/ZC-Phos	-	Трехслойная система является
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ , H ₂ O /		обязательной.
	УФ		
9	п-кГАп/Phos	-	Трехслойная система является
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ , H ₂ O /		обязательной.
	УФ		
10	п-кГАп/ZС	-	Трехслойная система является
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ , H ₂ O /		обязательной.
	УФ		
11	Phos	-	АА не могут быть получены
			простым разложением Phos c
			использованием ZC в качестве
			катализатора.
12	Phos-Zr	-	АА не могут быть получены
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ , H ₂ O /		простым разложением Phos.
	УФ		
13	п-кГАп/Phos-ZC-Phos	-	Субстрат способен связывать
	СH ₄ , CO ₂ , H ₂ O / УФ		молекулярный азот. Молекулярный
	–		азот является обязательным.
14	п-аГАп/Phos-ZC-Phos	-	СН₄ является источником углерода
	N ₂ , CO ₂ , H ₂ O / ΥΦ		для групп CH ₂ и CH ₃ .
15	п-кГАп/Phos-ZC-Phos	-	СО ₂ является источником
	N ₂ , CH ₄ , H ₂ O / YΦ		карбоксильных групп.
16	п-кГАп/Phos-ZC-Phos	_	Н ₂ О играет важную роль в
	N ₂ , CH ₄ , CO ₂ / YΦ		механизме

Габлица 4. Краткое описание	экспериментов и результатов,
полученных для синтеза	аминокислот (AA) ^a

^аСокращения обозначают носитель (п-аГАп, аГАп, п-N757, п-LM) и порядок нанесения различных слоев на его поверхность (Phos и ZC для фосфоната и оксихлорида циркония, соответственно). УФ обозначает, что эксперименты проводились под воздействием ультрафиолетового излучения.

Спектры ЯМР ¹Н (фиг. 19а) после реакции показали наличие только метиленовой группы фосфоната (т.е. дублет при 3,79-3,76 ppm) и сигналы, соответствующие метиленовым протонам глицина (синглет при 3,65 ppm) и как метиновой (квадруплет при 3,91-3,85 ppm), так и метановой (дублет при 1,54-1,52 ppm) группам аланина. Эти же соединения были также обнаружены в спектре ЯМР ¹³С (фиг. 19b), где были об-

наружены только пики, отнесенные к фосфонатным (54,34 и 53,00 ppm), глициновым (171,95 и 41,26 ppm) и аланиновым (175,25, 50,25 и 16,01 ppm) звеньям. Следует отметить, что не наблюдалось каких-либо побочных продуктов, что говорит о том, что разработанный процесс получения глицина и аланина является очень чистым.

Проводили анализ спектров ЯМР ¹Н для образцов, полученных в результате реакций различной продолжительности (т.е. от 2 до 96 ч), что позволило найти соотношения между глициновыми и фосфонатными звеньями (Gly/Phos), аланиновыми и фосфонатными звеньями (Ala/Phos) и, разумеется, между глициновыми и аланиновыми звеньями (Gly/Ala). А именно, учитывали области сигналов, соответствующих протонам CH₂ при 3,65 и 3,79-3,76 ppm и протонам CH₃ при 1,54-1,52 ppm:

Gly/Phos =
$$(3 \times A_{3,65}) / A_{3,79\cdot376}$$
(1)Ala/Phos = $(2 \times A_{1,54\cdot1,52}) / A_{3,79\cdot376}$ (2)Gly/Ala = $(1,5 \times A_{3,65}) / A_{1,54\cdot1,52}$ (3)

Результаты, представленные на графике на фиг. 20a, позволяют сделать вывод, что сначала образуется глицин, после чего из этой простой аминокислоты образуется аланин. Таким образом, отношение Gly/Ala уменьшается с 5,4 до 2,2, тем не менее, при этом наблюдается постоянное увеличение отношения Gly/Phos с увеличением продолжительности реакции (т.е. с 0,8 до 4,5).

На основании фиг. 20b можно оценить влияние температуры проведения реакции и, в частности, то, что для получения обнаружимого количества аминокислот спустя 24 ч реакции необходимо минимальное значение (т.е. 75°С). Отношение Ala/Phos непрерывно увеличивалось с увеличением температуры проведения реакции, в то время как отношение Gly/Phos начало уменьшаться при максимальной исследованной температуре (105° С) в результате превращения глицина в аланин. Тем не менее, соотношение между общим содержанием аминокислот и содержанием фосфоната при этой температуре все еще увеличивается.

На фиг. 20с показано, что содержание оксихлорида циркония практически не влияет на отношения Gly/Phos и Ala/Phos, как и предполагается для катализатора. Тем не менее, образцы, полученные из растворов с очень низкой концентрацией ZrOCl₂ (1 мМ), привели к значительно более низким соотношениям вследствие дефектной трехслойной системы. Логично, что в этом случае аланин был более неблагоприятной аминокислотой (т.е. отношение Gly/Ala было максимальным).

Был также проведен анализ экспериментов без воздействия ультрафиолетового излучения (серия 2), и в этом случае образование аминокислот оказалось неуспешным. Таким образом, длительное воздействие УФ-излучения логически представляется основной проблемой для получения радикалов (например, CH₃) для дальнейшей реакции с образованием аланина и даже глицина.

Анализ РФЭС имел основополагающее значение для подтверждения того, что аминокислоты были получены из молекулярного азота, а не в результате возможного разложения фосфонатного соединения. Необходимо отметить, что этот вывод не может быть сделан на основании спектров ЯМР, так как увеличение Gly/Phos также могло быть связано с процессом разложения. На фиг. 21a представлены спектры РФЭС в области N1s для различных примеров образцов, и, в частности, показан пик при примерно 399 эВ, когда фосфонат захватывается поверхностью п-кГАп. Этот пик связан с азотом в связи С-N и наблюдается практически с одинаковой интенсивностью, когда имеют место как отрицательные, так и положительные реакции. Только в последнем случае наблюдались дополнительные пики, соответствующие депротонированным (NH₂) и протонированным (NH₃⁺) аминогруппам, при 400,3 эВ и 403,8,4 эВ, соответственно.³² Количество азота увеличивалось с 0% до 2,75-2,97% при осаждении трех слоев Phos-Zr-Phos на субстрат п-кГАп, и до 6,2% после положительной реакции (т.е. серия 1 в течение 24 ч при 95°С). Спектры РФЭС позволили определить уменьшение отношения Са/Р для ГАп от обычного значения 1,64 до 1,26-1,29 при осаждении трех слоев на поверхность ГАп. Спектры РФЭС также демонстрировали сигналы Zr (фиг. 21b), проявившиеся в виде разрешенного спинового дублета при энергиях связи 182,6 (3d5/2) и 185 эВ (3d3/2). Измеренное содержание Zr составляло 1,26-1,29% для всех образцов, имеющих три слоя Phos-Zr-Phos, полученные из 5 мМ раствора оксихлорида циркония, и это содержание не зависело от хода реакции.

Осаждение трехслойной системы на ГАп привело к шероховатой и относительной неравномерной поверхности диска, как показано на микрофотографии, полученной с помощью СЭМ, соответствующей поляризованному образцу (фиг. 22a). Эта поверхность слегка изменилась после реакции, так как было выявлено образование единичных регулярных кристаллов. На фиг. 22b показан рост микрометрических призматических структур, в которых основная гексагональная плоскость стремилась к положению, параллельному поверхности диска. Известно о способности органофосфонатных пленок индуцировать кристаллизацию и рост ориентированных молекулярных сит. Таким образом, стабильные, вертикально ориентированные и одномерные кристаллы фосфата алюминия могли расти над гибридными слоями. Были образованы системы каналов, которые могли бы применяться в качестве новых каталитических мембран с истинной молекулярной селективностью и даже для контроля доступа определенного размера к поверхности сенсора. В любом случае, настоящие результаты демонстрируют, что кристаллы аминокислот также могут расти на поверхности трехслойного катализатора, но следует также учитывать, что тест с

нингидрином выявил присутствие поглощенных аминокислот внутри образца диска.

В ИК-Фурье спектрах можно наблюдать существенные различия между образцами серии 1 до и после проведения реакции, несмотря на низкую чувствительность этого метода. Таким образом, широкие полосы с низкой интенсивностью в области 1600-1400 см⁻¹ можно было наблюдать только во втором случае (фиг. 23). Стоит отметить, что эта область является абсолютно плоской в спектрах образцов до проведения реакции, а также в спектрах образцов, давших отрицательный результат теста с нингидрином (например, образцы серии 2). Напротив, аминокислоты, такие как глицин и аланин, имеют наиболее интенсивное поглощение в этой области (см. вставку на фиг. 23). Логично, что ИК-Фурье спектры демонстрировали характерные пики ГАп и, в частности, всегда наблюдались три интенсивные полосы при 1093, 1033 и 962 см⁻¹, связанные с характерными колебательными модами PO₄³⁻.

Осаждение трехслойных систем на поляризованный к-ГАп не вызывало значительных изменений на дифрактограмме (фиг. 24a и 24b), тогда как после химической реакции можно наблюдать заметные изменения (фиг. 24b и 24c).

Влияние изменений каталитической системы и

поляризованного носителя на синтез аминокислот

Аминокислоты также были обнаружены при использовании п-аГАп вместо п-кГАп и поддержании условий эксперимента серии 1. Тем не менее, авторы предпочли настоять на использовании п-кГАп, поскольку аморфный образец подвергался частичному разложению во время процесса спекания, что приводило к образованию β-трикальцийфосфата (β-TCP: β-Ca₃(PO₄)₂) в качестве преобладающей фазы.

Были проведены различные анализы для оценки важности типа субстрата каталитической системы. Аминокислоты были обнаружены только при использовании поляризованного ГАп (например, серии 1 и 3 в табл. 4), при этом очень важны отрицательные результаты, полученные при использовании в качестве субстрата спеченного ГАп (серия 4), а также при тестировании других систем, таких как силикаты (например, Nanofil 757, серия 5) и алюмосиликаты (например, слоистая слюда, серия 5), даже после поляризации в условиях, аналогичных тем, которые применялись для п-кГАп.

Пригодность вклада ГАп интересна, поскольку он играет основополагающую роль в живых системах и, в частности, представляет собой наиболее распространенный в них неорганический компонент. Взаимосвязь между ГАп и биологическими молекулами (например, белками, такими как коллаген и даже ДНК, состоящая из фосфатного скелета) в настоящее время способствовала проведению интенсивных исследований по его применению для различных биомедицинских приложений (например, среди прочего, для доставки лекарственных средств и генов, восстановления костей и тканевой инженерии).

В этом смысле также примечательно, что слоистая система металл/фосфонат также способна к молекулярному распознаванию и, следовательно, может быть достигнуто селективное связывание энантиомерного соединения из раствора рацемата. Кроме того, высокая нерастворимость фосфонатов циркония и их стабильность в отношении термической обработки и химических реагентов открыли другие потенциальные области применения, такие как вирусные векторы для доставки генов.

Положительный заряд аминофункционализированных фосфонатов (например, аминоэтоксипроизводного) обеспечивает прямую интеркаляцию отрицательно заряженных молекул ДНК. Кроме того, связывание чувствительно к pH, поскольку было обнаружено, что конформация ДНК может практически сохраняться во время процессов интеркаляции и высвобождения.

Для полноты картины авторы также проанализировали эффективность двух возможных двухслойных (осаждение первого слоя Phos или Zr и последующее осаждение второго дополнительного слоя, серии 7 и 8, соответственно) и однослойных (серии 9 и 10) систем. Во всех случаях были получены отрицательные результаты, демонстрирующие, что стабильный комплекс Phos-Zr с зародышеобразующей активностью был достигнут только при использовании трехслойной структуры. Вероятно, растворение компонентов в водной реакционной среде также следует принимать во внимание при рассмотрении двухслойной и однослойной структур.

В табл. 4 также приведены результаты, полученные при введении в реактор только фосфоната (серия 11) и даже смеси фосфоната и оксихлорида циркония (серия 12) вместо поляризованного носителя с покрытием. Эти анализы также актуальны, поскольку помогают исключить процесс, основанный на разложении АТМФ. Следует отметить, что в этом случае количество АТМФ, подвергшейся воздействию УФ-излучения и способной взаимодействовать с выбранной восстановительной атмосферой, было намного выше, чем требуется в трехслойной системе.

Фигуры, демонстрирующие сравнение с уровнем техники

Вольтамперограммы, записанные после проведения 20 последовательных циклов окислениявосстановления, представлены на фиг. 25. Сходство между областями анодного и катодного сканирования, которые соответствуют процессам окисления и восстановления, соответственно, использовалось для определения электрохимической активности. Как можно видеть, область вольтамперограммы кГАп/тсп по меньшей мере на 20% больше, чем области, полученные для различных АФК/поляризованных образцов, что указывает на то, что первый материал обладает более высокой способностью обратимо накапливать заряд, чем последние образцы. Кроме того, также была обнаружена значительная разница в плотностях анодного и катодного тока при конечном и реверсивном потенциалах, соответственно. Плотности

тока значительно выше в абсолютных значениях для кГАп/тсп, чем для других образцов, что отражает более высокое движение заряда во время процессов окисления и восстановления. Эта особенность особенно заметна для плотности анодного тока. Так, плотность анодного тока, определенная для кГАп/тсп, составляет 16,8 мкА/см², тогда как этот параметр для других образцов составляет от 4 до 9 мкА/см².

На фиг. 26 показано изменение электрохимической активности в зависимости от количества циклов окисления-восстановления (электроустойчивость) относительно первого цикла. Результаты доказывают превосходные результаты кГАп/тсп по сравнению со всеми АФК/поляризованными образцами. После проведения 1000 последовательных циклов окисления-восстановления потеря электрохимической активности (LEA) для кГАп/тсп составляет по меньшей мере на 10% ниже, чем для других образцов. Более того, кГАп/тсп сохраняет самую высокую электростабильность во всех случаях, независимо от количества циклов, что свидетельствует о том, что это свойство присуще его структуре.

Результаты, представленные на фиг. 25 и 26, полностью соответствуют высокоорганизованной и регулярной структуре кГАп/тсп, что согласуется с результатами ЯМР-анализа. Таким образом, последний метод позволил авторам изобретения не только идентифицировать высококристаллическую организацию кГАп/тсп, но и доказать отсутствие протонированных поверхностных фосфатных групп, возникающих из-за неупорядоченного приповерхностного слоя, как это обычно наблюдается в остальных образцах, например, в синтезированном ГАп без последующей обработки и спеченном ГАп).

Наконец, сравнительная таблица на фиг. 27 демонстрирует, что удельное электрическое сопротивление кГАп/тсп на один порядок меньше, чем этот параметр для $A\Phi K/поляризованных$ образцов, который, в свою очередь, практически идентичен таковому для кГАп/с ($0,67 \times 10^7 \Omega \cdot cm^2$, как упомянуто выше). Эта особенность указывает на важность температуры на этапе электрической поляризации. Соответственно, температуры выше 900°С необходимы для полного устранения протонов вблизи поверхностных слоев, что облегчает создание как упорядоченной организации, так и дефектов заряда, способных двигаться вместе с электрическим полем. Напротив, сходство между кГАп/с и $A\Phi K/поляризованными образцами в отношении удельного электрического сопротивления отражает то, что эти свойства не достигаются при проведении поляризации при температурах ниже 900°С.$

Образцы, протестированные на фиг. 25 и 27, были оценены повторно спустя три месяца, как показано на фиг. 28 и 29, соответственно.

В частности, электрохимическое поведение всех образцов было оценено повторно (хранение осуществлялось при условиях окружающей среды, без каких-либо особых условий) с помощью циклической вольтамперометрии (см. фиг 28). Результаты показывают, что кГАп/тсп (согласно настоящему изобретению) остается практически неизменным, как видно из сравнения с вольтамперограммой, представленной на фиг. 25. Напротив, все остальные АФК/поляризованные образцы (согласно Nakamura et al. и Ueshima et al.) склонны к одному и тому же поведению, схожему с наблюдаемым для кГАп/с. Таким образом, электроактивность кГАп/тсп значительно выше, чем у АФК/поляризованных образцов. Эта особенность подтверждает важность температуры поляризации, а также постоянно поляризованного характера кГАп/тсп. Напротив, изменения, наблюдаемые в АФК/поляризованных образцах спустя три месяца, указывают на то, что поляризация, придаваемая при температурах <850°С, является не постоянной, а лишь временной.

Как показано на фиг. 29, удельная емкость (емкость на единицу массы, сокращенно SC) кГАп/тсп уменьшается на 8% спустя три месяца (хранение производилось в условиях окружающей среды, без каких-либо особых условий). Напротив, АФК/поляризованные образцы, полученные согласно Yamashita и соавторам (Nakamura et al. и Ueshima et al.), демонстрируют резкое снижение SC, варьирующее от 50% до 64%. Как видно из предыдущей таблицы (фиг. 27), SC для кГАп/тсп выше, чем для АФК/поляризованных образцов, на один порядок. Аналогичный эффект наблюдается для электрического сопротивления. Величина для кГАп/тсп увеличивается на 9% через 3 месяца, в то время как сопротивление АФК/поляризованных образцов, полученных способом согласно Yamashita и соавторам, увеличивается примерно на 60-70%.

Принимая во внимание вышеуказанные результаты, можно сделать вывод, что гидроксиапатит, полученный согласно настоящему изобретению, отличается от раскрытых в предшествующем уровне техники. Из экспериментальных данных очевидно, что гидроксиапатит согласно настоящему изобретению демонстрирует существенно отличное поведение и представляет собой постоянно поляризованный гидроксиапатит, тогда как гидроксиапатиты, раскрытые в предшествующем уровне техники, являются лишь временно поляризованными гидроксиапатитами.

Цитированные документы.

1. S. V. Dorozhkin and M. Epple, Angew. Chem., Int. Ed., 2002, 41, 3130.

2. L. C. Palmer, C. J. Newcomb, S. R. Kaltz, E. D. Spoerke and S. I. Stupp, Chem. Rev., 2008, 108, 4754.

3. M. Y.Ma, Y. J. Zhu, L. Li and S. W. Cao, J. Mater. Chem., 2008, 18, 2722.

4. K. W. Wang, L. Z. Zhou, Y. Sun, G. J. Wu, H. C. Gu, Y. R. Duan, F. Chen and Y. J. Zhu, J. Mater. Chem., 2010, 20, 1161.

5. Q. L. Tang, Y. J. Zhu, J. Wu, F. Chen and S. W. Cao, Nanomed.: Nanotechnol., Biol. Med., 2011, 7, 428.

6. H.-W. Kim, J. C. Knowles, and H.-E. Kim, Biomaterials 25, 1279 (2004).

7. W. Suchanek and M. Yoshimura, J. Mater. Res., 1998, 13, 94.

8. H. Zhou and J. Lee, Acta Biomater., 2011, 7, 2769.

9. J. C. Elliott, P. E. Mackie, and R. A. Young, Science 180, 1055 (1973).

10. G. Ma and X. Y. Liu, Cryst. Growth Des. 9, 2991 (2009).

11. N. Hitmi, C. LaCabanne, and R. A. Young, J. Phys. Chem. Solids 49, 541 (1988).

12. T. Ikoma, A. Yamazaki, S. Nakamura, and M. Akao, J. Mater. Sci. Lett. 18, 1225 (1999).

13. I. M. Kalogeras, A. Vassilikou-Dova, and A. Katerinopoulou, J. Appl. Phys. 92, 406 (2002).

14. N. Horiuchi, M. Nakamura, A. Nagai, K. Katayama and K. Yamashita, *J. Appl. Phys.*, 2012, 112, 074901.

15. N. Horiuchi, S. Nakaguki, N. Wada, M. Nakamura, A. Nagai, K. Katayama and K. Yamashita, *J. Appl. Phys.*, 2014, 116, 014902.

16. Nakamura, M.; Hori, N.; Namba, S.; Toyama, T.; Nishimiya, N.; Yamashita, K. *Biomed. Mater.* 2015, **10**, 011001.

17. M. Nakamura, A. Nagai, T. Hentunen, J. Salonen, Y. Sekilima, T. Okura, K. Hashimoto, Y. Toda, H. Monma, K. Yamashita, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2009, **1**, 2182.

18. M. Rivas, J. Casanovas, L. J. del Valle, O. Bertran, G. Revilla-López, P. Turón, J. Puiggalí, C. Alemán *Dalton Trans.*, 2015, **44**, 9980–9991.

19. K. D. Kumble and A. Kornberg, J. Biol. Chem., 1996, 270, 5818–5822.

20. K. Doi, T. Kubi, R. Takeshita, S. Kajihara, S. Kato, Y. Kawazoe, T. Shiba and Y. Akagawa, *Dent. Mat. J.*, 2014, **33**, 179–186.

21. P.A. Comeau, H. Frei, C.Yang, G. Fernlund and F.M. Rossi, *J. Biomat. Appl.*, 2012, **27**, 267–275.

22. K. Siggers, H. Frei, G. Fernlund, and F. Rossi, *J. Biomed. Mat. Res. Part A*, 2010, **94**, 877–885.

23. K. Morita, K. Doi, T. Kubo, R. Takeshita, S. Kato and Y. Akagawa, *Acta Biomat.*, 2010, **6**, 2808–2815.

24. Q. Yuan, T. Kubo, K. Doi, K. Morita, R. Takeshita, S. Kato, T. Shiba and Y. Akagawa, *Acta Biomat.*, 2009, **5**, 1716–1724.

25. T. Shiba, D. Nishimura, Y. Kawazoe, Y. Onodera, K. Tsutsumi, R. Nakamura and M. Ohshiro, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 26788–26792.

26. Y. Kawazoe, T. Shiba, R. Nakamura, A. Mizuno, K. Tsutsumi, T. Uematsu, M. Yamaoka, M. Shindoh and T. Kohgo, *J. Dent. Res.*, 2004, **83**, 613–618.

27. Y. Hacchou, T. Uematsu, O. Ueda, Y. Usui, S. Uematsu, M. Takahashi, Y. Kawazoe,

T. Shiba, S. Kurihara, M. Yamaoka and K. Furusawa, J. Dent. Res., 2007, 86, 893–897.

28. H. Fleisch and S. Bisaz, Nature, 1962, 195, 911–911.

29. H. Fleish, R. Russel and F. Straumann, Nature, 1966, 212, 901–903.

30. S. Omelon, J. Georgiou, Z. J. Henneman, L. M. Wise, B. Sukhu, T. Hunt, C. Wynnyckyj,

D. Holmyard, R. Bielecki, and M. D. Grynpas, PLos One, 2009, 4, e5634.

31. S. S. Kamat and F. M. Raushel, Curr. Opin. Chem. Bio., 2013, 17, 589-596.

32. F. H. Ebetino and R. G. G. Russell, J. Bone Miner Res., 2005, 20, 259.

33. R. G. G. Russell and F.H. Ebetino, Osteoporos. Int., 2008, 19, 733-759.

34. N. Gronich and G. Rennet, Nat. Rev. Clin. Oncol., 2013, 10, 625–642.

35. L. J. del Valle, O. Bertran, G. Chaves, G. Revilla-López, M. Rivas, M. T. Casas, J. Casanovas, P. Turon, J. Puiggalí, C. Alemán *J. Mater. Chem. B*, 2014, **2**, 6953-6966.

36. H. Klug and L. Alexander in *X-Ray Diffraction Procedure for Polycrystallite and Amorphous Materials*, 2nd. Edition, John Wiley and Sons, New York, 1974).

37. E. Landi, A. Tampieri, G. Celotti and S. Sprio, *J. Eur. Ceram. Soc.*, 2000, **20**, 2377-2387.

38. F. Estrany, D. Aradilla, R. Oliver and C. Alemán, Eur. Polym. J., 2007, 43, 1876.

39. F. Müller, C. A. Ferreira, D. S. Azambuja, C. Alemán, E. Armelin, Measuring the Proton Conductivity of Ion-Exchange Membranes Using Electrochemical Impedance Spectroscopy and Through-Plane Cell, *J. Phys. Chem. B* 2014, 118, 1102-1112.

40. S. Raynaud, E. Champion, Bernache-Assollant, P. Thomas. *Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I: synthesis, characterization and thermal stability of powders*. Biomaterials, 23, 1065-1072 (2002).

41. H. Fujimori, H. Toya, K. Ioku, S. Goto, and M. Yoshimura, Chem. Phys. Lett. 325, 383 (2000).

42. J. C. Elliott, P. E. Mackie, and R. A. Young, Science 180, 1055 (1973).

43. N. Hitmi, C. LaCabanne, and R. A. Young, J. Phys. Chem. Solids 49, 541 (1988).

44. G. Ma and X. Y. Liu, Cryst. Growth Des. 9, 2991 (2009).

45. Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy (Eds.: J. F. Moulder, J. Chastain), Physical Electronics Division, PerkinElmer Corporation, 1995.

46. M. C. Chang, J. Tanaka, Biomaterials 2002, 23, 3879-3885.

47. Bertran, O.; del Valle, L. J.; Revilla-López, G.; Rivas, M.; Chaves, G.; Casas, M. T.; Casanovas, J.; Turon, P.; Puiggalí, J. *Chem. Eur. J.* **2015**, 21,2537-2546.

48. I. Ming-Hung, W.-J. Shih, M.-H. Hon, M.-C. Wang, *Int. J. Mol. Sci.* 2012, *13*, 13569-13586.

49. J.P. Gittings, C.R. Bowen, A.C.E. Dent, I.G. Turner, F.R. Baxter, J.B. Chaudhuri, Electrical characterization of hydroxyapatite-based bioceramics. Acta Biomaterialia 5 (2009) 743-754.

50. M. J. Lukic, C. Jovalekic, S. Markovic, D. Uskolovic. Enhanced high-temperature electrical response of hydroxyapatite upon grain size refinement. Materials Research Bulletin 61 534-538 (2014).

51. Y. Liu, Z. Shen. Dehydroxylation of hydroxyapatite in dense bulk ceramics sintered by spark plasma sintering. J. Eur. Ceram. Soc. 32 (11), 2691-2696 (2012).

52. S. Tarafder, S. Banerjee, A. Bandyopadhyay, S. Bose. Langmuir 2010, 26, 16625–16629.

53. K.J. Gaskell, A.L. Asunkis, P.M.A. Sherwood. *Sodium Pyrophosphate Decahydrate* (*Na4P2O7*·10H2O) by XPS. Surface Science Spectra, vol 9, 135-142(2004)

54. K.J. Gaskell, A.L. Asunkis, P.M.A. Sherwood. *Sodium Tripolyphosphate (Na5P3O10) by XPS*. Surface Science Spectra, vol 9, 166-173 (2004).

55. V. Dalmoro, J. H. Z. dos Santos, E. Armelin, C. Alemán and D. Azambuja, Appl. Surf. Sci., 2013, 273, 758–768.

56. M. Jarlbring and D. E. Sandström, Langmuir, 2006, 22, 4787.

57. Y. Wang, Nat. Mater., 2013, 12, 1144.

58. C. Jäger, Magn. Reson. Chem., 2006, 44, 573.

59. M. B. Osman, S. Diallo-Garcia, V. Herledan, D. Brouri, T. Toshioka, J. Kubo, Y. Millot and G. Costentin, *J. Phys. Chem. C*, 2015, **119**, 23008.

60. M. Nakamura, N. Hori, S. Namba, T. Toyama, N. Nishimiya and K. Yamashita, *Biomed. Mater.*, 2015, **10**, 011001.

61. T. Ikoma, A. Yamazaki, S. Nakamura and M. Akao, *J. Mater. Sci. Lett.*, 1999, **18**, 1225.

62. M. Nakamura, Y. Sekijima, S. Nakamura, T. Kobayashi, K. Niwa, K. Yamashita, *J. Biomed. Mater. Res.* 2006, 79A, 627-634.

63. M. Ueshima, S. Nakamura, M. Oghaki, K. Yamashita, *Solid State Ionics* 2002, 151, 29-34

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Постоянно поляризованный гидроксиапатит, характеризующийся тем, что его кристалличность составляет более 65% и соответствующий спектр ЯМР ³¹Р получен с твердым гидроксиапатитом с H₃PO₄ в качестве образца сравнения и демонстрирует уникальный пик при 2.6 ppm, соответствующий фосфатным группам гидроксиапатита, причем "постоянно поляризованный апатит" обозначает гидроксиапатит, обладающий удельной емкостью, которая уменьшается менее чем на 8% через 3 месяца.

2. Способ получения постоянно поляризованного гидроксиапатита по п.1, включающий следующие этапы:

(а) получение спеченных образцов гидроксиапатита и/или аморфного фосфата кальция при темпе-

ратуре от 700°С до 1200°С;

(b) приложение постоянного напряжения постоянной или изменяющейся величины в диапазоне от 250 В до 2500 В или эквивалентного электрического поля величиной от 1,49 кВ/см до 15 кВ/см в течение по меньшей мере 1 мин при температуре от 900 до 1200°С, или

приложение электростатического разряда величиной от 2500 В до 1500000 В или эквивалентного электрического поля величиной от 148,9 кВ/см до 8928 кВ/см в течение менее 10 мин при температуре от 900 до 1200°С;

(d) охлаждение образцов при одновременном приложении постоянного напряжения постоянной или изменяющейся величины или эквивалентного электрического поля или

охлаждение образцов при одновременном приложении электростатического разряда или эквивалентного электрического поля.

3. Способ по п.2, где спеченные образцы гидроксиапатита, полученные на этапе (а), выбраны из группы, состоящей из спеченных образцов кристаллического гидроксиапатита, спеченных образцов аморфного гидроксиапатита и смеси указанных спеченных образцов.

4. Способ по п.2 или п.3, где спеченные образцы, полученные на этапе (а), представляют собой спеченные образцы кристаллического гидроксиапатита и аморфного фосфата кальция.

5. Применение поляризованного гидроксиапатита по п.1 для биомедицинских приложений, где указанное биомедицинское приложение выбрано из цемента для зубов, костей, протезов, медицинских устройств, доставки лекарственных средств, генной терапии и регенерации тканей.

6. Применение поляризованного гидроксиапатита по п.1 в качестве электродов.

7. Применение поляризованного гидроксиапатита по п.1 для легирования полимеров.

8. Применение поляризованного гидроксиапатита по п.1 в качестве катализатора.

9. Применение по п.8, где указанный катализатор представляет собой фотоэлектрокатализатор или электрокатализатор.

10. Применение по п.8 или п.9, где указанное применение в качестве катализатора осуществляют в реакции синтеза органических молекул, в частности, природных аминокислот.

11. Применение поляризованного гидроксиапатита по п.1 для адсорбции органических молекул, где указанные органические молекулы выбраны из углеводов, аминокислот, липидов, ДНК, РНК, биополимеров, выбранных из полимолочной кислоты (PLA), сополимера молочной и гликолевой кислот (PGLA), полигидроксибутирата (PHB), полидиоксанона (PDO), полисахаридов и белков, и АТФ.

12. Применение поляризованного гидроксиапатита по п.1 в качестве компонента твердотельной батареи.

13. Применение поляризованного гидроксиапатита по п.1 в качестве компонента чипа, аккумулирующего энергию.





кГАп/п



Фиг. 5



Фиг. 7







Фиг. 12









Фиг. 18В





- 38 -





Фиг. 21



Фиг. 22





Фиг. 26

Система	Электрическое сопротивление (Ω∙см²)	Удельная емкость (мкФ/г)
кГАп/тсп	0,67·10 ⁶	386±16
Nakamura et al. 300 °C	0,45·10 ⁷	136±14
Nakamura et al. 800 °C	0,37·10 ⁷	173±27
Ueshima et al. (300 °C)	0,39·10 ⁷	153±15
Ueshima et al. (850 °C)	0,29·10 ⁷	249±9

ОБРАЗЦЫ БЕЗ ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ОБРАБОТКИ



Фиг. 28

ПОВТОРНАЯ ОЦЕНКА ТЕХ ЖЕ САМЫХ ОБРАЗЦОВ СПУСТЯ З МЕСЯЦА

Система	Электрическое сопротивление (Ω∙см²)	Удельная емкость (мкФ/г)
кГАп/тсп	0,73.106	356±7
Nakamura et al. 300 °C	0,76·10 ⁷	49±9
Nakamura et al. 800 °C	0,59·10 ⁷	71±12
Ueshima et al. 300 °C	0,63·10 ⁷	58±9
Ueshima et al. 850 °C	0,47·10 ⁷	94±12

Фиг. 29