

Т.Д. Попрыгина, Н.И. Пономарева
**АНАЛИЗ КОСТНЫХ ФОСФАТОВ КАЛЬЦИЯ В СОСТАВЕ
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК КОМПАНИИ «ТЯНЬШИ»**

ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, каф. химии

Резюме. Методами рентгенофазового анализа (РФА), сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), локального рентгеноспектрального микроанализа (ЛРСМА) и инфракрасной спектроскопии (ИКС) исследованы костные фосфаты кальция в составе биологически активных добавок производства корпорации «Тяньши» (Tiens, КНР). Доказано, что основным неорганическим компонентом порошков «Высокое содержание кальция» является гидроксиапатит, который, однако, не относится к нанокристаллическим материалам. По данным элементного анализа и ИКС, порошки содержат органические компоненты, но заявленные в рекламных материалах компании микроэлементы (магний, железо, йод, медь, марганец, селен и др.) в пробах отсутствуют. Исследованный материал предложен в качестве импрегнирующего компонента костных имплантов.

Ключевые слова: гидроксиапатит, костные фосфаты кальция, биологически активные добавки.

Актуальность. Применение фосфатов кальция для восстановления костной ткани является одной из актуальных проблем репаративной медицины [1-6]. К сожалению, биокерамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция уступают костной ткани не только по уровню структурной организации, но и по целому ряду физико-механических и биологических показателей. С другой стороны, существует целый ряд альтернативных имплантов, соответствующих костной ткани по прочности, но абсолютно биоинертных. Одним из них является наноуглеродный имплантационный материал «ГАРГО» [7-9]. Идея насыщения (импрегнирования) пористых имплантов соединениями, стимулирующими образование и рост костной ткани, не является новой [10-12]. Возможно, использование фосфатов кальция, микроэлементов, витаминов и белков-факторов роста откроет новые возможности для более активного восстановления костной ткани. В данной работе уделяется внимание биологически активным композициям компании «Тяньши» (Tiens) как потенциально возможным импрегнирующим смесям и\или среде для выращивания кристаллов на самих имплантах.

Выбор анализируемого материала продиктован следующими соображениями. Компания «Tiens» много лет работает с европейскими дистрибьюторами и хорошо зарекомендовала себя на российском рынке. В интернете содержатся противоречивые сведения о результатах применения добавок этой корпорации, что, в принципе, вполне естественно и зачастую продиктовано обычными предрассудками. Однако не вызывает сомнения тот факт, что многие с удовольствием пользуются этой продукцией и единственное, что сдерживает в данном случае увеличение объема продаж – это цена. При сравнении различных рекламных материалов компании обнаружены несоответствия, касающиеся состава продукции, при этом в научной литературе и интернете отсутствуют результаты научных исследований и данные химических анализов. Известно, что к БАДам предъявляются те же требования, что к пищевым продуктам, а химический и физико-химический анализ БАДов является

серьезной проблемой ввиду отсутствия дорогостоящего оборудования, стандартных образцов, отработанных и зарегистрированных методик, и т.д.

Таким образом, для планирования дальнейших экспериментов в области усовершенствования костных имплантатов и кальцийфосфатных порошковых материалов, применяемых в стоматологии и восстановительной хирургии, требуется проведение научного исследования, результаты которого могут быть интересны как медикам, так и материаловедам-разработчикам новой медицинской продукции, а также обычным потребителям, и, возможно, самой компании.

Материалы и методы исследования. Для проведения испытаний были подготовлены образцы порошков «Тяньши с высоким содержанием кальция» (далее «образец №1»). С целью удаления органических веществ часть материалов выдерживали 1 час при температуре 400°, затем охлаждали в эксикаторе (далее «образец №2»).

Согласно рекламным материалам компании, включающим брошюры и информацию на сайтах [13], 10г БАД «Тяньши с высоким содержанием кальция» содержат: порошок кальция (?) — 2400,0 мг, сухое обезжиренное молоко – 3180,0 мг; растительные сливки – 500,0 мг; какао-порошок – 200 мг, мультивитамины (ретинол (витамин А) – 0,16 мг, холекальциферол (витамин D3) – 0,002 мг, L-аскорбиновая кислота (витамин С)); аспартам (Е 951) – 40,0 мг) и микроэлементы – магний, железо, йод, медь, марганец, кремний, фосфор, калий, селен и др. БАД рекомендуются в качестве дополнительного источника кальция и витаминов. Согласно другим данным, в состав порошков входят и другие важные компоненты: витамины (В1, В2, В5, В6, В12, Е, фолиевая кислота), белки, аминокислоты (8 видов) и 17 микроэлементов. В качестве основных преимуществ кальциевых продуктов торговой марки «Тяньши» (TIENS) выступают высокая биологическая усвояемость, биодоступность, безопасность применения. Следует отметить, что рекламные материалы содержат ошибки (сохранены также в описании) и нуждаются в коррекции.

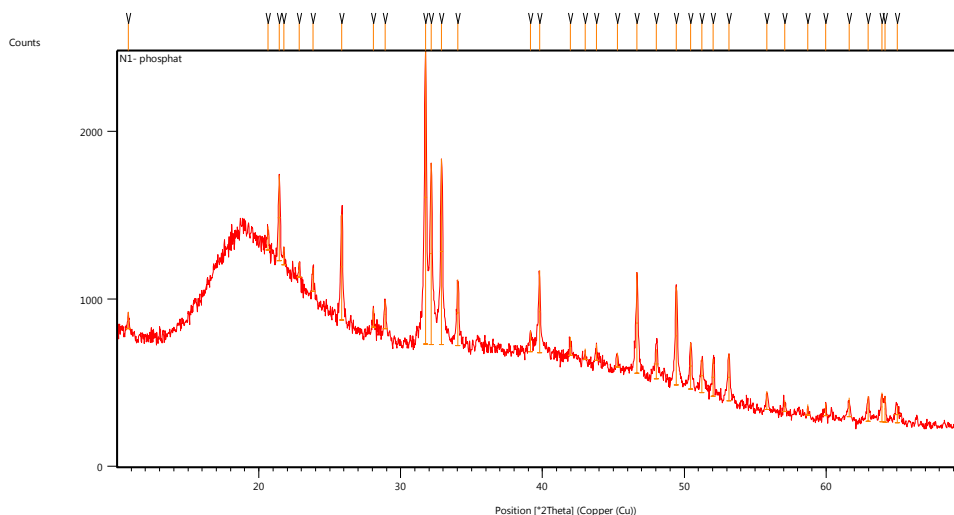
Дифрактограммы образцов получены на автоматическом дифрактометре PANalytical EMPYREAN с использованием излучения Cu K α 1 (гибридный Ge{111} монохроматор на первичном пучке) и позиционно-чувствительного детектора PIXcel1D Измерение проводили в режиме отражения, $\theta/2\theta$ сканирование с шагом 0.02° по 2 θ . Диапазон измерения 10 – 60° 2 θ .

Расчет межплоскостных расстояний и интегральных интенсивностей проводился по данным профильного анализа (метод Паули) экспериментальных дифрактограмм с использованием комплекса программ HighScore Plus, Version:3.0.t (3.0.5), Date 30-01-2012. Produced by: PANalytical B.V. Amelo, The Netherland.

Для получения СЭМ-изображений и проведения элементного анализа использовали растровый электронный микроскоп JSM-6380 (фирма JEOL) с системой рентгеновского энергодисперсионного анализа INCA-260 (Oxford Analytical).

ИК-спектры в интервале 4000-400 см⁻¹ снимали на ИК-спектрометрах Инфралюм ФТ-02, Спекорд-IR-75, образцы прессовали в таблетки с KBr.

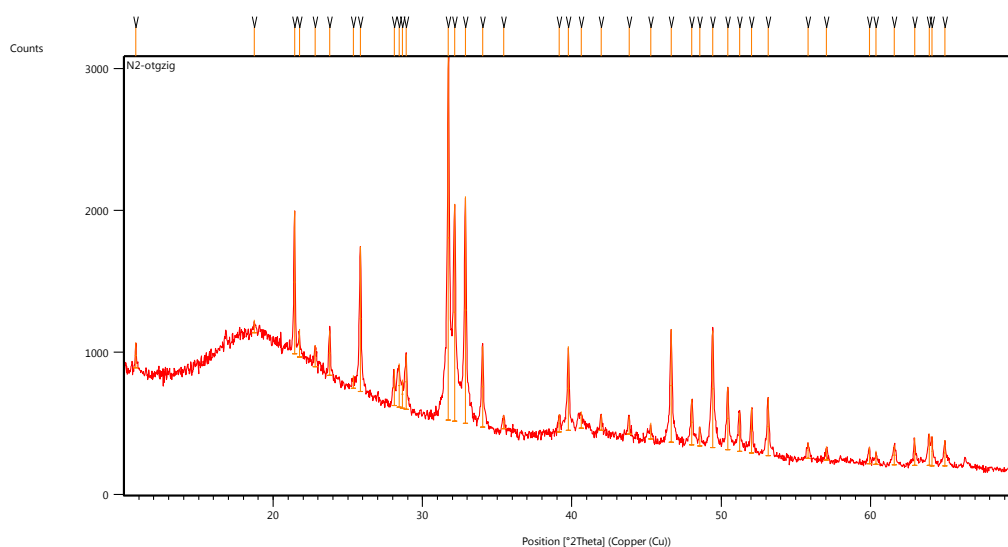
Полученные результаты и их обсуждение. Результаты анализа экспериментальных порошковых дифрактограмм исследованных соединений №1-2 показывают, что исследованные образцы содержат большое количество аморфной составляющей, при этом основной кристаллической фазой является гидроксиапатит, имеющий характерные рефлексы от плоскостей с $d = 3.44, 2.82, 2.78, 2.72, 2.63, 2.26, 1.94, 1.84 \text{ \AA}$ на фоне галодиффузионного рассеяния (см. рис.1, 2 с таблицами пиков спектра).



Координаты пиков

Pos. [$^{\circ}$ 2Th.]	Height [cts]	FWHM Left [$^{\circ}$ 2Th.]	d-spacing [\AA]	Rel. Int. [%]
10.7891	99.79	0.0900	8.19350	5.64
20.6503	141.34	0.0900	4.29772	7.98
21.4445	510.67	0.1872	4.14031	28.84
21.7578	107.51	0.0900	4.08140	6.07
22.8401	90.22	0.0900	3.89039	5.09
23.8218	139.19	0.0900	3.73225	7.86
25.8480	632.22	0.1560	3.44409	35.70
28.0881	112.13	0.0900	3.17430	6.33
28.9187	171.23	0.0900	3.08499	9.67
31.7537	1770.86	0.1872	2.81573	100.00
32.1560	1084.09	0.1560	2.78141	61.22
32.8920	1112.45	0.1872	2.72083	62.82
34.0289	392.72	0.2496	2.63248	22.18
39.1726	124.65	0.0900	2.29785	7.04
39.7869	492.16	0.1248	2.26377	27.79
41.9665	108.35	0.0900	2.15110	6.12
43.0110	65.54	0.0900	2.10125	3.70
43.8165	95.84	0.0900	2.06447	5.41
45.2763	87.20	0.0900	2.00124	4.92
46.6748	602.54	0.1248	1.94449	34.03
48.0190	177.80	0.3744	1.89315	10.04
49.4465	586.03	0.1560	1.84178	33.09
50.4617	278.09	0.2496	1.80708	15.70
51.2454	201.25	0.2496	1.78127	11.36

Рис. 1. Дифрактограмма образца №1 с таблицей пиков спектра



Координаты пиков

Pos. [$^{\circ}2\text{Th.}$]	Height [cts]	FWHM Left [$^{\circ}2\text{Th.}$]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
10.8040	177.52	0.1139	8.18221	6.89
18.7396	91.58	0.0960	4.73140	3.55
21.4256	1006.13	0.1248	4.14394	39.04
21.7480	197.37	0.0960	4.08322	7.66
22.8218	151.90	0.0960	3.89346	5.89
23.7743	315.39	0.1248	3.73959	12.24
25.3565	91.64	0.0960	3.50973	3.56
25.8356	1021.56	0.1560	3.44572	39.64
28.0995	256.09	0.1151	3.17303	9.94
28.4213	306.99	0.1151	3.13783	11.91
28.6530	201.84	0.1151	3.11298	7.83
28.9040	388.34	0.1151	3.08652	15.07
31.7392	2577.23	0.1560	2.81698	100.00
32.1454	1531.08	0.1560	2.78230	59.41
32.8718	1597.72	0.1248	2.72246	61.99
34.0172	569.20	0.1248	2.63337	22.09
35.4390	93.95	0.0936	2.53091	3.65
39.1529	126.42	0.0936	2.29896	4.91
39.7690	593.57	0.1248	2.26475	23.03
40.6212	118.27	0.0936	2.21919	4.59
41.9685	108.20	0.0936	2.15100	4.20
43.8341	126.47	0.0936	2.06368	4.91
45.2851	113.85	0.0936	2.00087	4.42
46.6540	797.41	0.1248	1.94531	30.94
48.0425	324.42	0.1248	1.89228	12.59
48.5845	136.54	0.0936	1.87243	5.30
49.4353	824.22	0.1248	1.84217	31.98
50.4485	440.15	0.1248	1.80753	17.08
51.2305	276.41	0.1560	1.78176	10.73
52.0459	321.49	0.1560	1.75574	12.47
53.1419	407.99	0.1248	1.72209	15.83
55.8393	111.31	0.0936	1.64512	4.32

Рис.2. Дифрактограмма образца №2 с таблицей пиков спектра

Сравнивая дифрактограммы гидроксиапатита, входящего в состав исследованных композитов, с аналогичными данными для костных материалов следует отметить, что порошки «Тяньши» содержат гораздо меньшее количество аморфной составляющей, гидроксиапатит при этом не является нанокристаллическим и приготовлен по особой технологии, являющейся, по-видимому, секретом компании.

ИКС подтверждает наличие характерных для гидроксиапатита полос валентных колебаний гидроксильной группы при $\nu=3617$ см⁻¹, валентных и деформационных колебаний фосфатной группы при $\nu=1047, 604, 569$ см⁻¹, однако анализ спектров затруднен присутствием колебаний органических функциональных групп. При этом обнаружено, что образцы №2 после прокаливания все еще содержат органические вещества, т.е. необходимо увеличить температуру и/или время для более полного удаления заявленных компонентов (рис. 3).

Элементный анализ показывает, что соотношение Ca:P = 1.78 - 1.80, что превышает стехиометрическое соотношение кальция и фосфора в гидроксиапатите, равное 1.67, порошки не содержат микроэлементов, заявленных в рекламных материалах (магний, железо, йод, медь, марганец, селен и др.). Отсутствие азота однозначно указывает на отсутствие аминокислот и белков (таблица 1).

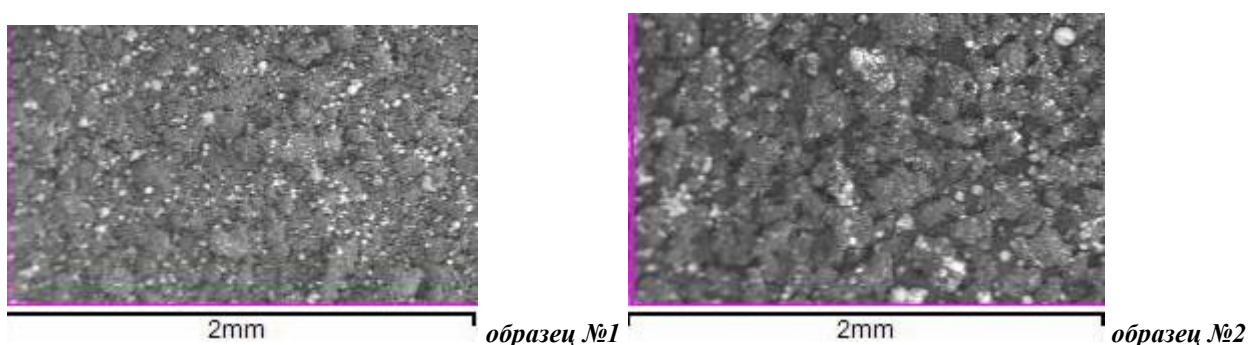


Рис.3. Микрофотография поверхности образцов

Таблица 1.

Результаты ЛРСМА образцов

Элемент	образец №1		образец №2	
	Весовой %	Атомный %	Весовой %	Атомный %
C	57,53	69.71	35,39	44.33
O	25.71	23.39	54.81	51.54
Na	1.27	0.80	0.57	0.37
Si	0.19	0.10	–	–
P	3.40	1.60	2.32	1.13
Cl	1.04	0.43	0.46	0.20
K	3.00	1.12	1.03	0.40
Ca	7.85	2.85	5.42	2.03
Итоги	100.0	100.0	100.0	100.0

Выводы. Проведенные исследования БАД «Тяньши с высоким содержанием кальция» показали, что основным неорганическим компонентом порошков является гидроксиапатит, приготовленный по особой технологии: материал не является нанокристаллическим, содержит хорошо сформированные кристаллы с размерами порядка 500нм. Порошки содержат органические компоненты, однако микроэлементы (магний, железо, йод, медь, марганец, селен и др.) в пробах отсутствуют. На основании проведенных испытаний предложено использовать данную продукцию компании

«Tiens» для импрегнирования костных имплантационных материалов и/или для выращивания кристаллов гидроксиапатита на пористых углеродных имплантах.

Литература

1. Баринов С.М. Биокерамика на основе фосфатов кальция / С.М. Баринов, В.С. Комлев. - М.: Наука, 2005. - 204с.
2. Фадеева И.В. Медицинская керамика из замещенных фосфатов кальция / И.В. Фадеева. – М.: Университет, 2016. - 141с.
3. Базикян Э.А. Современные остеопластические материалы / Э.А. Базикян. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 96с.
4. Dorozhkin S.V. Multiphasic calcium orthophosphate bioceramics and their biomedical applications / S.V. Dorozhkin // *Ceramics International*. – 2016. - Vol. 42, Issue 6. - P. 6529-6554.
5. Путляев В.И. Современные биокерамические материалы / В.И. Путляев // *Соровский образовательный журнал*. – 2004. - Т.8., №1. - С. 44-50.
6. Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphates: occurrence and properties / S.V. Dorozhkin // *Progress in biomaterials*. – 2016. – Vol. 5, Issue 1. - P. 9-70.
7. Борзунов Д.Ю. Анализ опыта применения углеродных наноструктурных имплантов в травматологии и ортопедии / Д.Ю. Борзунов, В.И. Шевцов, М.В. Стогов, Е.Н. Овчинников // *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Пирогова*. - 2016. - №2. - С.77-81.
8. Рудской А.И. Углеродные наноструктурные импланты для замещения костных дефектов и технология их изготовления / А.И. Рудской, И.М. Белов, С.К. Гордеев // *Металловедение и термическая обработка металлов*. - 2018. - №1 (751) - С. 20-25.
9. Резник Л.Б. Результаты применения различных видов имплантов при замещении остеомиелитических дефектов длинных костей в эксперименте / Л.Б. Резник, И.В. Стасенко, Д.А. Негров // *Гений ортопедии*. - 2016. - №4. - С. 81-87.
10. Полесский М.Г. Экспериментальное обоснование применения лиофилизата комплекса аутогенных тромбоцитарных факторов роста (АУТОЛТФР) для лечения больных с ложными суставами трубчатых костей нижней конечности. / М.Г. Полесский, В.Г. Самодай, С.В. Рябинин // *Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фармация*. - 2016. - №1. - С. 109-111.
11. Попрыгина Т.Д. Биологически активные композиции на основе гидроксиапатита / Т.Д.Попрыгина, Н.И.Пономарева // *Тез.докл. VII Междунар.науч.-метод.конф. «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств»*. - Воронеж, 2018. – С. 572-575.
12. Беляев М.В. Использование многофункциональных углеродных имплантов в хирургии воспалительных заболеваний позвоночника / М.В. Беляев, В.Н. Гусева, А.Ю. Мушкин // *Хирургия позвоночника*. - 2010. - №1. - С. 57-61.
13. <http://tiens5.com.ua/katalog-produkcii/badi/poroshok-vysokim-soderzhaniem-kalciya-tianshi>

Abstract.

T.D. Poprygina, N.I. Ponomareva

THE ANALYSIS OF BONE CALCIUM PHOSPHATES CONTAINED IN BIOACTIVE COMPOSITIONS PRODUCED BY “TYANSHI” CORPORATION

Voronezh State Medical University

The bone calcium phosphates of biologically active compositions produced by “Tyanshi” corporation (Tiens, China) have been investigated with the help of XRD, SEM, LRSMA, IRS methods.

It was proved, that the main inorganic compound of the powders “High calcium content” is hydroxyapatite, which does not belong to nanocrystalline material though. In accordance with elemental analysis and IRS, the powders contain organic substances, but declared in commercial advertising microelements (magnesium, iron, iodine, copper, manganese, selenium etc.) were not found. The analyzed composition has been chosen as an impregnating component of bone implants for the future experiments.

Keywords: hydroxyapatite, bone calcium phosphates, biologically active compositions

References.

1. Barinov S.M. Calcium phosphates based bioceramics / S.M. Barinov, V.S. Komlev. - М.: Nauka, 2005. – 204p.

2. Fadeeva I.V. Medical ceramics produced from substituted calcium phosphates / I.V. Fadeeva. – M.: Universitat, 2016. – 141p.
3. Basikyan E.A. The modern osteoplastic materials / E.A. Basikyan. - M.: GEOTAR-Media, 2018. – 96p.
4. Dorozhkin S.V. Multiphasic calcium orthophosphate bioceramics and their biomedical applications / S.V. Dorozhkin // Ceramics International. – 2016.- Vol. 42, Issue 6. - P. 6529-6554.
5. Putlyaev V.I. The modern bioceramic materials / V.I. Putlyaev // Sorovskiy obrasovatelnyy zhurnal. – 2004. - Vol.8., №1. - P.44-50.
6. Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphates: occurrence and properties / S.V. Dorozhkin // Progress in biomaterials. – 2016. – Vol. 5, Issue 1. - P.9-70.
7. Borzunov D.Yu. The analysis of experimental application of carbon nanostructured implants in traumatology and orthopedics / D.Yu. Borzunov, V.I. Shevzov, M.V. Stogov, E.N. Ovchinnikov // Vestnik travmatologii i ortopedii N.N. Pirogova. - 2016. - №2. - P.77-81.
8. Rudskoy A.I. Carbon nanostructured implants for the substitution of bone defects and technology of their production / A.I. Rudskoy, I.M. Belov, S.K. Gordeev // Metallovedenie i termicheskaya obrabotka metallov. - 2018. - №1 (751) - P.20-25.
9. Resnik L.B. The results of application of different types of implants for the substitution of osteomyelitic defects of long bones in experiment / L.B. Resnik, I.V. Stasenko, D.A. Negrov // Geniy ortopedii. - 2016. - №4. - P.81-87.
10. Polesskiy M.G. The experimental grounds of application of lyophilizate complex of autogenous thrombocyte growth factors (AUTOLTGF) for the treatment of patients with false joints of cortical bone of lower extremity / M.G. Polesskiy, V.G. Samoday, S.V. Ryabinin // Vestnik VSU. Series: khimiya, biologiya, farmaciya. - 2016. - №1. - P.109-111.
11. Poprygina T.D. Biologically active compositions based on hydroxyapatite / T.D.Poprygina, N.I.Ponomareva // Tez.dokl. VII Mezhdunar.nauch.-method.konf. «Puti i formi sovershenstvovaniya farmacevticheskogo obrazovaniya. Aktualnye voprosy razrabotki i issledovaniya novykh lekarstvennykh sredstv». - Voronezh, 2018. – P. 572-575.
12. Belyaev M.V. The use of polyfunctional carbon implants in surgery of spinal inflammatory disease / M.V. Belyaev, V.N. Guseva, A.Yu. Mushkin // Chiruriya pozvonochnika. - 2010. - №1. - P.57-61.
13. <http://tiens5.com.ua/katalog-produkcii/badi/poroshok-vysokim-soderzhaniem-kalciya-tianshi>

Сведения об авторах: Попрыгина Татьяна Дмитриевна – к.х.н., ассистент кафедры химии ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, chemvma@yandex.ru; Пономарева Наталия Ивановна – д.х.н., проф., зав. каф. химии ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России.

Выходные данные: Т.Д. Попрыгина. Анализ костных фосфатов кальция в составе биологически активных добавок компании «Тяньши» / Т.Д. Попрыгина, Н.И. Пономарева // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2019. – Т. 22 -№ 2. – С. 69 – 75.

