

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

# **Medicinální aplikace hydroxyapatitu**

Markéta Žofáková

Bakalářská práce

2020

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Markéta Žofáková**  
Osobní číslo: **C16111**  
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**  
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**  
Název tématu: **Medicínální aplikace hydroxyapatitu**  
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**


### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Literární rešerše zaměřená na přípravu a vlastnosti hydroxyapatitu.
2. Literární rešerše zaměřená na přípravu tenkých vrstev hydroxyapatitu.
3. Literární rešerše zaměřená na využití hydroxyapatitu v medicínálních aplikacích.
4. Výsledky zpracujte formou závěrečné zprávy.


Rozsah grafických prací:  
Rozsah pracovní zprávy:  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**  
Seznam odborné literatury:  
**Všechna dostupná chemická literatura.**

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Marek Bouška, Ph.D.**  
Katedra polygrafie a fotofyziky

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2019**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2019**

  
prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.  
děkan

L.S.

  
prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

## **Prohlašuji:**

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. X/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 12. 7. 2020

Markéta Žofáková

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce doc. Ing. Marku Bouškovi, Ph.D. za skvělou spolupráci, cenné rady, velmi rychlé odpovědi a čas strávený při vedení této práce.

## **Anotace**

Předmětem této bakalářské práce je teoretická rešerše zaměřená na hydroxyapatit, jeho vlastnosti, přípravy a medicínální využití. Nejdříve je zmíněna keramika a její dělení. Dále je podrobněji rozebrán samotný hydroxyapatit a přípravy tenkých vrstev hydroxyapatitu. Poslední kapitola je zaměřena na využití hydroxyapatitu v medicínálních aplikacích.

## **Klíčová slova**

Keramika, biokeramika, hydroxyapatit, medicínální aplikace

## **Title**

Medical applications of hydroxyapatite

## **Annotation**

This bachelor thesis is a theoretical research focused on hydroxyapatite, his properties, preparation and medical use. First, ceramics and its division are mentioned. Next, the hydroxyapatite itself in more details and the preparation of thin layers of hydroxyapatite. The last chapter is focused on the use of hydroxyapatite in medical applications.

## **Keywords**

Ceramic, bioceramic, hydroxyapatite, medicinal applications

# Obsah

Úvod.....	10
1 Keramika.....	11
1.1 Historie keramiky.....	11
1.2 Zpracování.....	12
1.3 Vlastnosti.....	12
1.3.1 Rozdělení biokeramiky podle její bioaktivity.....	13
1.4 Dělení.....	14
1.4.1 Technická speciální keramika.....	15
2 Biokeramika.....	17
2.1 Biomateriál.....	17
2.2 Biokeramika.....	17
2.2.1 Vývoj biokeramiky.....	18
2.2.2 Charakteristika biokeramiky.....	18
3 Hydroxyapatit.....	19
3.1 Náhrada.....	21
3.2 Vlastnosti hydroxyapatitu.....	22
3.2.1 Testy biokompatibility.....	24
4 Příprava hydroxyapatitu.....	26
4.1 Historické přípravy.....	28
4.1.1 Srážení.....	28
4.1.2 Hydrotermální metoda.....	28
4.2 Suché metody.....	28
4.2.1 Syntéza v pevném stavu.....	28
4.2.2 Mechanochemická metoda.....	29

4.3	Mokré metody .....	30
4.3.1	Srážení .....	31
4.3.2	Sol – gel metoda .....	32
4.3.3	Hydrotermální a solvotermální metody .....	33
4.3.4	Emulzní metoda .....	35
5	Využití hydroxyapatitu .....	36
5.1	Tenké vrstvy hydroxyapatitu - povlaky .....	36
5.1.1	Antibakteriální nátěry pro hydroxyapatitové části.....	36
5.2	Využití nanofázového hydroxyapatitu .....	37
5.2.1	Nosiče pro dodání léčiv, proteinů a genů .....	38
5.2.2	Plniva .....	38
5.3	Další použití .....	38
5.3.1	Chromatografie .....	38
5.3.2	Použití v archeologii .....	39
5.3.3	Defluoridace.....	39
6	Závěr .....	40
7	Zdroje:.....	41



## Seznam obrázků

Obrázek 1 Rozložení vody při sušení .....	12
Obrázek 2 Rozdělení biokeramiky podle její bioaktivity .....	14
Obrázek 3 Druhy keramiky .....	15
Obrázek 4 Struktura biokeramiky .....	18
Obrázek 5 Chemická struktura hydroxyapatitu .....	20
Obrázek 6 Vzorec hydroxyapatitu .....	20
Obrázek 7 Průřez morfologie lidské kosti .....	22
Obrázek 8 Výroba hydroxyapatitu v pevném stavu (upraveno - přeloženo) .....	29
Obrázek 9 Výroba hydroxyapatitu mechanochemickým postupem (upraveno - přeloženo) ...	29
Obrázek 10 Výroba hydroxyapatitu metodou srážení .....	31
Obrázek 11 Příprava hydroxyapatitu metodou sol – gel .....	33
Obrázek 12 Vliv pH, teploty na morfologii a tvar krystalů HA .....	34
Obrázek 13 Tři hlavní druhy emulgace .....	35

## Seznam zkratk

HA, HAp – hydroxyapatit

nHA – nanofázový hydroxyapatit

HA/TCP – hydroxyapatit a fosforečnan vápenatý

SBF – simulated body fluid – simulovaná tělní tekutina

AAS – atomic absorption spectroscopy - atomová absorpční spektrometrie

R.T. – room temperature – laboratorní teplota

CMC – critical micelle concentration - kritická koncentrace micel

CP – coprecipitation – kopretace

CAP – calcium phosphates – fosforečnan vápenatý

## Úvod

Opěrná soustava je velmi odolná, avšak nemoci či úrazy mohou pohyb a fungování lidského těla znepříjemnit. Při správně zvoleném materiálu nahrazování původních lidských částí za nové není žádná překážka. Materiálů se nabízí mnoho. Avšak nezáleží pouze na volbě materiálu, ale také na povrchu a vlastnostech materiálu a implantované části těla. Každá skupina je něčím specifická, má své výhody, ale i nevýhody. Nabízí se uhlík a jeho alotropy, kovové materiály (titan, chirurgická ocel), polymerní materiály a další. Dalším z často využívaného materiálů je i keramika. Keramika se nejčastěji využívá při náhradách zubů, kloubních jamek či lebečních kostí. Obecně řečeno v mechanicky nízko zátěžových aplikacích, neboť se řadí mezi křehký materiál. Další využití jsou povlaky na kovové implantáty. Mezi nejvyužívanější biomateriály patří biosklo, vápenaté fosfáty nebo hydroxyapatit.

Již ve starověku byly nalezeny umělé části těla, jako například oči, uši, zuby. Největší vývoj této medicíny byl až ve dvacátém století.

Hydroxyapatit je velmi významný biokeramický materiál. Minerál, který se skládá z přirozené formy vápníku a fosforu je nejčastěji zkoumaným fosfátem. Čistý hydroxyapatitový prášek je bílý, avšak přirozeně vyskytující se apatity mohou mít zabarvení podle příměsí do hněda, žluta či zelena.

Hydroxidové nanočástice jsou jedny z hlavních minerálních složek tvrdých tkání lidského těla. Obsahují většinu části lidské kosti, čímž se stávají vhodným materiálem pro náhradu původní tkáně. Jejich časté využití a výhody spočívají v biokompatibilitě, biologické aktivitě, nízké rozpustnosti ve vodě a schopností nevyvolávat zánětlivé a toxické reakce v lidském těle. I tyto částice mají nevýhody, těmi jsou špatné mechanické vlastnosti, jako je nízká tažnost a křehkost. [1,2]

Hydroxyapatit je přírodní minerální látka, která se dá syntetizovat mnoha metodami. Zahrnuje různé postupy, techniky a chemické reakce, jako například příprava suchou cestou, mokrou cestou nebo vysokoteplotními procesy. [2] Nanočástice hydroxyapatitu mohou významně zvyšovat biologickou kompatibilitu a bioaktivitu umělých náhrad. Proto jsou nanočástice stále více žádané a vývoj neustále vzrůstá. Bylo vyvinuto mnoho syntetických cest, které zahrnují jak vědecky, tak ekonomicky výhodné postupy.

# 1 Keramika

Jako keramické materiály jsou označeny nekovové, ve vodě nerozpustné polykrystalické látky, získávané z anorganických nekovových surovin. [3]

## 1.1 Historie keramiky

Historie prvních keramických forem započala mnoho let před naším letopočtem. Vedle předmětů ze dřeva a kamene se objevily i předměty z keramiky. Keramické výrobky patří k nejstarším řemeslným dovednostem. [4,5]

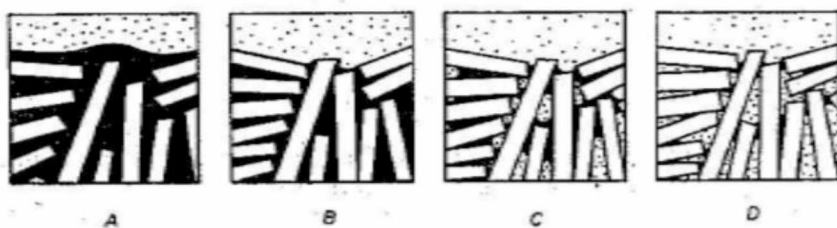
Nejstarší keramický artefakt je datován z dob pozdního paleolitu. Další byly nalezeny v Číně přibližně 10 000 let před naším letopočtem. První formy předmětů měly zpočátku tvar košíku či misky. Všechny výrobky byly z přírodní zeminy, ručně tvarované. Tyto předměty byly z červeno hnědé hlíny s hrubozrnným, pórovitým, křehkým střepelem, nejčastěji z jílu s příměsí písku. [4,5]

Jakmile lidé zjistili, že se dá jíl nalézt ve velkém množství a ještě ke všemu zformovat do předmětů, zrodil se klíčový průmysl. V českých zemích první obory týkající se výroby z keramiky byly hrnčířství, později kamnářství a následovala výroba pálených cihel. [4,5]

V 15. Století byly v Evropě vyvinuty vysoké pece, které byly schopné dosahovat vysokých teplot, až 1500°C. Původně byly vyrobeny z přírodních materiálů, v dalším století byly vyvinuty syntetické materiály s lepší odolností vůči vysokým teplotám (nazývané žáruvzdorné materiály). Tyto žáruvzdorné materiály vytvořily nezbytné podmínky pro tavení kovů a skla v průmyslovém měřítku a to pro výrobu koksu, cementu, chemikálií a keramiky. Od té doby prošel keramický průmysl hlubokou transformací. Průmyslová výroba začala v 19. století. Díky vývoji a studiím se keramika nevyužívá jen jako stavební či užitkový materiál. Jedinečné vlastnosti využívá i lékařství. [4,5]

## 1.2 Zpracování

Po fyzickém či strojovém zpracování a vytvarování hmoty se výrobky nejprve vysuší. Je to energeticky i technologicky náročný proces. Aby byl průběh sušení úspěšný, nesmí během něj dojít k deformacím nebo vzniku trhlin. Sušení je fyzikální proces, během kterého se postupně snižuje obsah vody působením tepla. Nemění se chemické složení, ale nastávají rozměrové změny. Na dobu sušení má vliv teplota, tlak, velikost a tvar sušeného tělesa. Další podmínky jsou tepelné vlastnosti samostatného materiálu. [3,6]



Obrázek 1 Rozložení vody při sušení

Následně se vypalují v žáruvzdorných pecích. Během vypalování dochází k slinování<sup>1</sup>, díky čemuž se zpevní struktura a získají se požadované fyzikální a mechanické vlastnosti. Dochází k snižování Gibbsovy energie. Mění se fázové rozhraní z tuhé – fáze plyn na tuhá fáze – tuhá fáze. U slinování materiálu je nutné nastavit vhodné podmínky – vypalovací teplota, atmosféra v peci, která může být oxidační nebo redukční. [6]

Vypálením produktu vzniká keramická hmota, které se též nazývá keramický střepek. [7]

## 1.3 Vlastnosti

Keramika je velmi využívaný materiál v mnoha odvětví. Vlastnosti se odvíjejí od chemického a fázového složení a technologického zpracování. [8]

Nízká elektrická a tepelná vodivost a pevnost patří k výhodám tohoto materiálu. Další kladné vlastnosti jsou plasticita, tvrdost, houževnatost a degradace pevnosti v čase. Avšak vynikající odolnost proti vysokým teplotám, korozi a chemickým vlivům patří mezi nejlepší vlastnosti.

---

<sup>1</sup> slinování – proces zpevňující disperzní systémy za vysoké teploty

Jako každý materiál, i tento má určité nevýhody. Těmi jsou křehkost, nízká pružnost a v značné míře i smrštitivost při vypalování.

Bylo zjištěno, že žádný cizí materiál umístěný v lidském těle není zcela kompatibilní. Jediné látky, které se zcela přizpůsobí, jsou látky autogenní, tedy látky vyrobené samotným tělem. Jakákoli jiná látka nahrazená v těle je považována za cizí a tkáň reaguje na implantát různými způsoby v závislosti na typu materiálu. [9]

### 1.3.1 Rozdělení biokeramiky podle její bioaktivity

#### a) Bioinertní (viz obrázek 2a)

- Tyto náhrady jsou organismem tolerovány, ale nevytvářejí s tkání chemickou nebo biologickou vazbu
- Jsou vhodné pro výrobu trvalých kostních náhrad, které se vystavují trvalému zatížení, například kostní, kolenní či kyčelní endoprotézy, zubní implantáty
- Patří sem korundová keramika, či keramika na bázi oxidu titaničitého či zinečnatého, nerezová ocel a titan [9]

#### b) Bioaktivní (viz obrázek 2b)

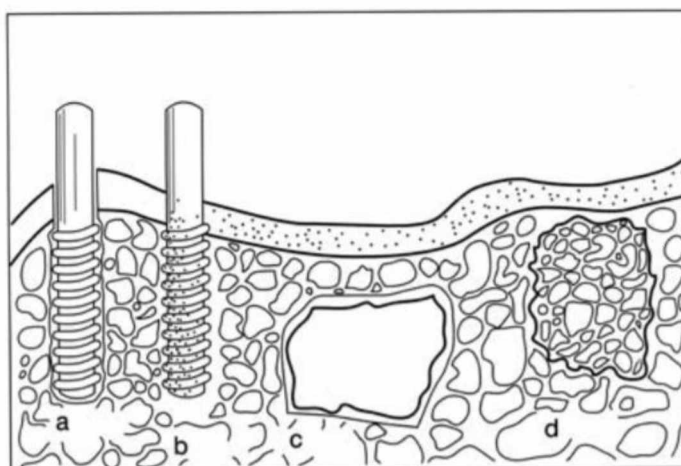
- Opak bioinertního materiálu, tento materiál po umístění do lidského těla je schopný přímo vytvářet pevnou vazbu mezi implantátem a kostí, v některých případech dokonce i s měkkou tkání
- Je aplikován do kontaktu s kostí nebo také slouží jako povlak na kovový dentální implantát
- Měkká tkáň z nepoškozené tkáně vrostle do pórů implantátu a tím zajistí dobrou fixaci a pevnou vazbu mezi implantátem a tkání, v některých případech je nahrazovaný materiál vstřebán organismem a postupně nahrazen živou tkání (například při použití hydroxyapatitových skafoldů)
- Patří sem sklokeramika, hydroxyapatit, sklo, bioskla, dvoufázová keramika HA/TCP, bioaktivní kompozity [9]

c) Povrchově aktivní (viz obrázek 2c)

- Stejně vlastnosti jako bioaktivní materiál
- Patří sem například biosklo

d) Vstřebatelný (viz obrázek 2d)

- Bioresorbovatelný materiál se začne po umístění do lidského těla rozpouštět (absorbovat) a pomalu nahrazovat tkání
- Slouží jako přechodná náhrada kostí a k rekonstrukci přirozeného kostního tkaniva, ale hlavní funkce je poskytování stavebního materiálu v osifikačním procesu, neboli v procesu obnovy a růstu kostní tkáně
- Z násobují tok iontů potřebných na přirozenou tvorbu kostní tkáně, oproti jejich běžnému metabolickému přísunu
- Příklad biologicky vstřebatelných materiálů je difosforečnan trivápenatý  $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$  a kopolymery kyseliny mléčné a polyglykolové [9]



Obrázek 2 Rozdělení biokeramiky podle její bioaktivity [9]

## 1.4 Dělení

a) Podle nasákavosti střepeu

- Pórovitá – hmotnost nasákavosti  $E > 10 \%$
- Polohutná – hmotnost nasákavosti  $E = 6 - 10 \%$
- Hutná – hmotnost nasákavosti  $E = 3 - 6 \%$
- Poloslinutá – hmotnost nasákavosti  $E = 1,5 - 3 \%$
- Slinutá – hmotnost nasákavosti  $E < 1,5 \%$

b) Podle struktury zrnitosti střepeu

- Jemná – jedná se o laboratorní, technickou a zdravotnickou keramiku
- Hrubá – především cihlářská keramika a žárovzdorné výrobky

c) Podle využití

- Stavební keramika
- Zdravotnická keramika
- Technická keramika [3,7]

Podle chemického složení	
<b>Oxidová keramika</b>	$\text{Al}_2\text{O}_3$ , $\text{SiO}_2$ , $\text{ZrO}_2$ , $\text{MgO}$ , $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , $\text{BeO}$ , $\text{CaO}$ , $\text{TiO}_2$ , $\text{SnO}_2$ , $\text{ThO}_2$ , $\text{PuO}_2$ , $\text{UO}_2$ , oxidy vzácných zemin
<b>Neoxidová keramika</b>	karbidy ( $\text{SiC}$ , $\text{B}_4\text{C}$ , $\text{TiC}$ , $\text{ZrC}$ , $\text{Mo}_2\text{C}$ , $\text{VC}$ , $\text{WC}$ , $\text{ThC}$ , $\text{HfC}$ , $\text{NbC}$ )
	nitridy ( $\text{BN}$ , $\text{Si}_3\text{N}_4$ , $\text{TiN}$ , $\text{ZrN}$ , $\text{TaN}$ , $\text{UN}$ , $\text{ThN}$ , $\text{SiAlON}$ )
	boridy ( $\text{Ti}_2\text{B}$ , $\text{ZrB}_2$ , $\text{TaB}_2$ , $\text{HfB}_2$ , $\text{ThB}_2$ )
	silicidy ( $\text{MoSi}_2$ , $\text{ZrSi}$ , $\text{ZrSi}_2$ , $\text{Ti}_3\text{Si}_3$ , $\text{TaSi}_2$ , $\text{TiSi}_2$ )
<b>Titaničitá keramika</b>	$\text{BaTiO}_3$ , $\text{SrTiO}_3$ , $\text{CaTiO}_3$
<b>Sulfidová keramika</b>	$\text{BaS}$ , $\text{CeS}$ , $\text{US}$ , $\text{ThS}$ , $\text{CdS}$ , $\text{ZnS}$

Chemické funkce		
<b>Senzory plynu</b>	$\text{ZnO}$ , $\text{SnO}_2$ , $\text{Fe}_2\text{O}_3$	detektory, poplašná zařízení, ventilátory
<b>Vlhkostní senzory</b>	$\text{MgCrO}_2\text{-TiO}_2$	kontrolní zařízení mikrovlnných plicek
<b>Nosiče katalyzátoru</b>	$\text{Al}_2\text{O}_3$ , $\text{BaTiO}_3$	kontrola emise, adsorbce, katalýza
<b>Elektrody</b>	$\text{CaTiO}_3$ , $\text{SrTiO}_3$ , $\text{BaS}$ , $\text{TiB}_2$	pro elektrolýzu, pro MHD, fotochemické procesy

Obrázek 3 Druhy keramiky

## 1.4.1 Technická speciální keramika

### 1.4.1.1 Žárovzdorná keramika a velmi tvrdá keramika

Žárovzdorná keramika je taková, která má schopnost trvale odolat vysokým teplotám dosahujícím více než  $1500^\circ\text{C}$ , aniž by došlo k nějakému poškození. Je vyráběna převážně na bázi směsi oxidů. Z neoxidických látek lze použít pouze karbid křemíku ( $\text{SiC}$ ) nebo uhlík v různých formách. [7]

Oxidová keramika je tvořena jedním oxidem nebo směsí několika oxidů. Jedná se o anorganické sloučeniny kovových (Al, Zr, Ti, Mg) nebo metaloidních (Si) prvků. Nejčastěji se používají oxidy hliníku a zirkonu. Oxidy mohou být kombinovány s dusíkem nebo uhlíkem za vzniku komplexnějších oxynitridových nebo oxykarbidových keramik. Vlastnosti oxidové keramiky jsou vysoké teploty tání a pevnost, nízká odolnost proti opotřebování. Používá se jako součást vysokoteplotních zařízení, izolátor, materiál pro tavicí kelímky i jako konstrukční materiál. Minerály používané k výrobě těchto keramických materiálů se rozdrtí nebo rozemelou na jemný prášek, který se čistí přidáním do roztoku za vzniku chemické sraženiny. Ta se potom odděluje od roztoku, zahřeje a vzniká vysoce čistý prášek. [6,7]

Druhy oxidové keramiky:

Korundová keramika na bázi oxidu hlinitého ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), který je jeden z nejdůležitějších materiálů, využívaným v průmyslové výrobě. Specifické jsou jeho fyzikální vlastnosti jako tvrdost za vysokých teplot či odolnost vůči korozi. Další výhodou je chemická odolnost proti kyselinám a zásadám. [6]

Keramika na bázi oxidu zirkoničitého ( $\text{ZrO}_2$ ) je další rozšířený materiál, díky vysokému bodu tání  $2710^\circ\text{C}$ . Samotný oxid zirkoničitý je nejodolnější materiál oxidové keramiky. Hlavními výhodami tohoto materiálu jsou vynikající chemická a korozní odolnost. [6]

Neoxidová keramika: patří sem karbidy, nitridy, boridy a další, lze je považovat za nekovové skupiny. Opět mají vynikající vlastnosti, jako jsou vysoká tvrdost, tepelná a elektrická vodivost. Mají vysokou teplotu tání – nad  $1800^\circ\text{C}$ . [7]

#### **1.4.1.2 Chemicky odolná stavební keramika**

Využívá se v chemickém či potravinářském průmyslu, všude tam, kde tekuté či plynné chemické sloučeniny přicházejí do kontaktu s keramikou. Jedná se jednak o nádoby různých tvarů a velikostí, využívané k uskladnění či transportu látek. Dále pak přístroje laboratorních až průmyslových měřitek, například chladiče, vany, kotle. [7]



## **2 Biokeramika**

### **2.1 Biomateriál**

Předpona bio, označuje syntetické materiály, které jsou schopny nahradit původní část lidského těla nebo k fungování v těsném kontaktu s živou tkání. Podle definice je označován jako nedrogová látka, která rozšiřuje nebo nahrazuje funkci tělesných tkání či orgánů bezpečným, spolehlivým, ekonomickým a fyziologicky přijatelným způsobem. Již před stoletím byly umělé materiály vyvinuty do bodu, kdy mohly nahradit různé složky lidského těla. Tyto materiály jsou schopné být v kontaktu s tělem po dlouhou dobu, aniž by vyvolávaly velké nežádoucí účinky. [9,10]

Poradní výbor Clemenson University formálně definoval rozdíl mezi biomateriálem a biologickým materiálem. Biomateriál je označen jako systémově a farmakologicky inertní látka, určená k implantaci do živých systémů nebo k začlenění do nich. Naproti tomu biologický materiál je například kost, kůže nebo tepna produkovaná biologickým systémem. [10]

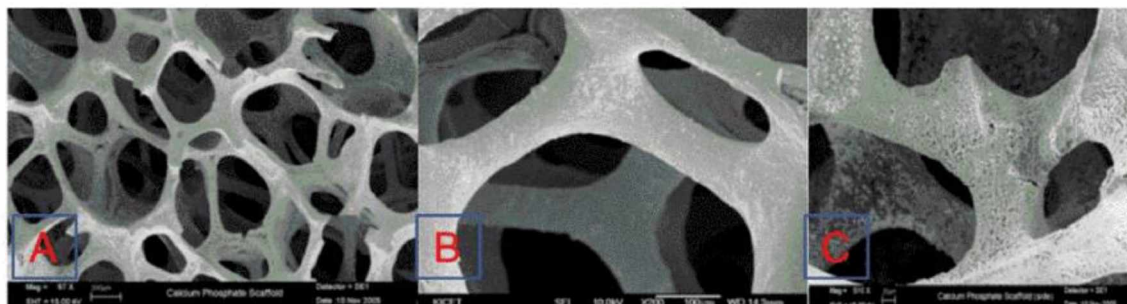
### **2.2 Biokeramika**

Při bolestech kloubů, zubů, kostí je hlavní pomoc úleva od bolesti a návrat ke zdravému funkčnímu životnímu stylu. Aby tato úleva nastala, je často nutný chirurgický zákrok, ať už oprava či výměna kosterní části (kolena, kyčle, klouby prstů, lokty, obratle, zuby či čelisti). Tyto výměny nahrazuje právě jedna z nejvýznamnějších skupin – biokeramika. [9]

Biomateriály a tkáňové inženýrství se v posledním desetiletí významně vyvinuly díky zvyšujícím se požadavkům na vývoj syntetických materiálů [11]

Keramická biokeramika (biokeramika) je vysoce biokompatibilní a má několik vynikajících vlastností a velmi dobrých výsledků při implantacích. Mohou mít strukturální funkce jako náhrady kloubů nebo tkání, mohou být použity jako povlaky ke zlepšení biologické kompatibility implantátů či mohou umožnit růst buněk a tkání v nich. Lepší chemická a tepelná stabilita, pevnost, odolnost proti opotřebení a trvanlivost činí z keramiky vynikající náhrady pro chirurgické zákroky. Hlavní nevýhody jsou křehkost, nízká pevnost v tahu. Během použití může dojít k mechanickému selhání a při poškození se nedá opravit. Biokeramika má ve své struktuře vyšší pórovitost (obrázek 3), což je kritický parametr pro růst a integraci buněk a tkání v těle. [12]

Obrázek 3 znázorňuje lešení ukazující hromadnou architekturu (A), mikrokryсталický povrch (B) a nanokryсталický povrch (C). [12]



Obrázek 4 Struktura biokeramiky

### 2.2.1 Vývoj biokeramiky

V Japonsku v roce 1970 přišla zásadní změna pro aplikaci amorfního skla v medicíně. Výzkum prokázal silnou vazbu mezi lidskou kostí a amorfní látkou s obsahem bioskla  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$  s přidavkem oxidu boritého ( $\text{B}_2\text{O}_3$ ) a fluoridu vápenatého ( $\text{CaF}_2$ ). Jednalo se o sklo-keramický materiál, který se mohl kompletovat jako kostní náhrady v lidském těle. O pár let později, v rozmezí 1980 – 1990 ukázaly nové studie objev hydroxyapatitu. [6]

### 2.2.2 Charakteristika biokeramiky

U implantátů z biomateriálu je hlavní, aby byly biofunkční a biokompaktibilní s lidskou tkání, aby nevyvolávaly nežádoucí účinky a negativní reakce v těle. Důležitá je i chemická povaha implantátu, například druh atomů a vazeb a dále struktura povrchu. Další důležitá vlastnost při nahrazování tvrdých tkání je i biodegradabilita, což znamená, že implantát současně s vrůstáním a tvorbou nových buněk degraduje – je organismem vstřebán. [6]

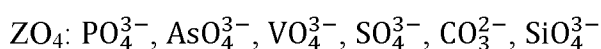
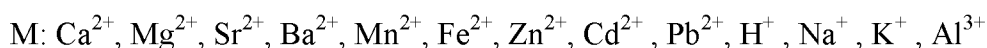
*„V organismu dochází k degradaci chemické struktury implantátů a uvolňování iontů, které umožní plnohodnotně doplnit biogenní prvky ve fyziologickém prostředí lidského organismu. Mezi tyto ionty patří ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ) a také ionty s minimálním obsahem toxicity pro lidskou tkáň (jako  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ti}^{2+}$ ).“ [6]*

### 3 Hydroxyapatit

Hydroxyapatit (zkratka HA, HAp) je minerál, který se přirozeně vyskytuje v přírodě v několika zbarvení. Můžeme ho nalézt se žlutým, zeleným či nejčastěji s hnědým zbarvením. Syntetický hydroxyapatitový prášek v čisté podobě je bílý.

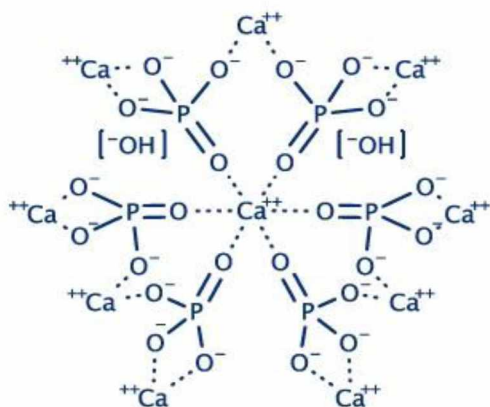
Teprve v 70. letech byl syntetický hydroxyapatit přijat jako potencionální biomateriál, který vytváří silnou chemickou vazbu s kostí a zůstává v lidském těle stabilní. [9]

Řadíme ho do skupiny fosforečnanů vápenatých, respektive apatitů. Apatit je obecný termín pro krystalické minerály, který mají obecný vzorec  $M_{10}(ZO_4)_6X_2$ . Každá složka ve vzorci může být nahrazena velkým počtem různých iontů uvedených zde: [13]



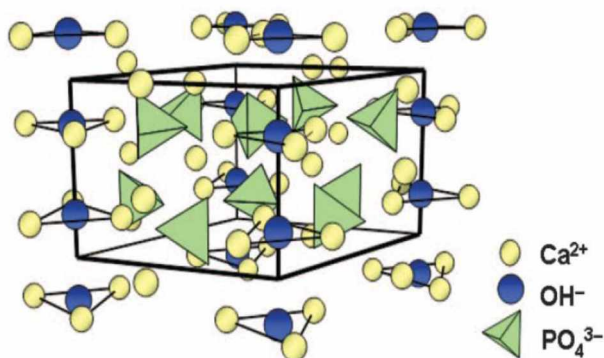
Pod pojmem apatit v mineralogii biokeramiky nalezneme skupinu třech minerálů – hydroxyapatit  $Ca_5(PO_4)_3(OH)$ , chlorapatit  $Ca_5(PO_4)_3Cl$  a fluorapatit  $Ca_5(PO_4)_3F$ . Nazývají se podle přítomných iontů hydroxy, chloro či fluoro skupiny v krystalové mřížce. Apatity nacházíme v malém množství ve mnoha horninách. Jako anorganické sloučeniny jsou apatity nedílnou složkou rostlin a živočichů. V kostech jich je přibližně 60%, nejvíce však v zubní sklovině, téměř 90%. [14]

Chemický vzorec skutečné struktury je  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ . Krystalová buňka obsahuje dvě molekuly, základ tedy tvoří  $Ca_5(PO_4)_3(OH)$ . Molární poměr vápníku a fosforu je přibližně  $Ca/P = 1,67$ . Odchytky v molárním poměru mohou při výrobě nastat, pokud se jedná o minimální hodnoty, nic se neděje, v opačném případě mohou nastat nežádoucí účinky.



Obrázek 5 Chemická struktura hydroxyapatitu

Šesterečná neboli hexagonální symetrie v krystalové mřížce obsahuje tři hlavní a tři vedlejší osy, celkem šest stejně dlouhých os osového kříže ležících v jedné rovině, které mezi sebou svírají úhel 60°. Sedmá osa je kolmá k rovině a není stejně dlouhá. [15]



Obrázek 6 Vzorec hydroxyapatitu

Zdroje hydroxyapatitu jsou dva. Přírodní a syntetický. Přírodní zdroje hydroxyapatitu jsou například kosti - skotu, rybí či lidské, dále pak vaječné skořápky, korály a další. Hydroxyapatit se z korálů získá hydrotermální přeměnou (uhličitan vápenatý je ve formě kalcitu). Z hovězích kostí se apatity získávají odstraněním organické matrice buď s následným spékáním či bez něj. Použití přírodního hydroxyapatitu v medicínských aplikacích má určitá rizika, neboť obsahuje nežádoucí příměsové prvky (například těžké kovy: olovo, rtuť, měď). I stopové prvky by způsobily nepříjemné nežádoucí reakce a otravy. Aby došlo k vyvarování se před infekcemi a dalšími riziky, používá se syntetický hydroxyapatit. [16]

### 3.1 Náhrada

Každý rok, více než 2,2 milionu lidí na celém světě vyžaduje štěpování kostí a operace k opravě velkých kostních defektů vyplývajících z nehod, traumat nebo nemocí (jako je například resekce nádoru). Tím, že má hydroxyapatit podobný chemický vzorec a vlastnosti jako anorganické složky kostí a zubů, je už nějakou dobu využíván jako biomateriál pro ortopedické a stomatologické aplikace. [17]

Reakce organismu na přítomnost materiálu závisí na mnoha faktorech. Důležitá je chemická povaha materiálu (druhy atomů a vazeb) a charakter (struktura) jeho povrchu. Ideální by měl mít dynamickou strukturu povrchu, která vyvolá histologické změny na mezifázovém rozhraní implantátu, které by v organismu nastaly za nepřítomnosti implantátu spontánně. [14]

Hydroxyapatit je bioaktivní (osteokonduktivní), což znamená, že může povzbudit růst kostí podél jeho povrchu. Musí být umístěn v blízkosti životaschopné kosti nebo diferencovaných buněk, tvořící kosti. Původní koncept biokeramika/polymerní kompozit byl představen společností Bonfield. Kortikální kost sama o sobě měla zahrnovat zesílenou organickou matici s minerální složkou. Kostní analog HAp/ polymerní kompozit je komerčně dostupný, pod obchodním názvem HAPEX. Je složen z HAp (přibližně 50 obj. %) smíchaných v polyethylenové matici, která poskytuje tuhost a biologickou aktivitu HAp a houževnatost polyethylenu. [13]

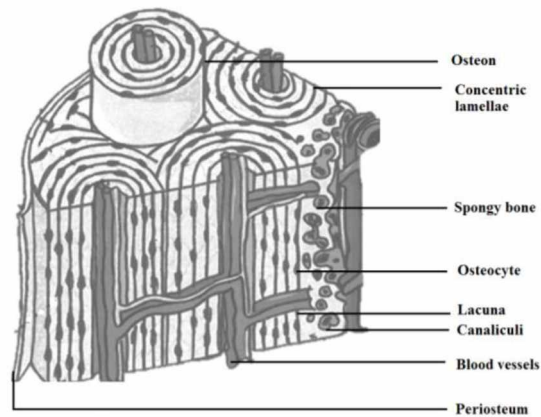
Povrch materiálu by měl být zvrásněný minimálně do hloubky 3 až 5  $\mu\text{m}$ . Zvrásnění umožňuje fibroblastickým buňkám (tzv. pravé vazivové buňky, které se při procesu kostnatění mění na kostní buňky – osteoblasty) kontinuálně kolonizovat povrch biomateriálu. Stupeň akceptace implantátu se projeví v charakteru a v hloubce rozhraní mezi implantátem a živým organismem. V případě snížené akceptace dochází na fázovém rozhraní k tvorbě měkkého fibrózního tkaniva obalujícího implantát. [14]

V případě ztráty kosti se používá štěpování kostí a roztoky se volí na základě požadovaných biochemických vlastností, chemickém složení a velikostí místa poškození. Metod roubování kostí je několik, například autograft (sponziózní/kortikální kost), aloštěp (spongiózní/demineralizovaná kostní matrice), a náhražky kostního štěpu (hydroxyapatit/trikalciumfosfát) [18]

### 3.2 Vlastnosti hydroxyapatitu

Hydroxyapatit ( $C_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ) je hlavní biominerální složkou kostí a zubů obratlovců. Další složky jsou voda, organická fáze, která je primárně ve formě kolagenu. Kolagen dodává kosti pružnost a působí jako matrice pro ukládání a růst minerálů. [17,19]

Kost (obrázek 7) se skládá ze dvou základních forem. Porézní (spongiózní kost) a hustá část (kortikální kost). Spongiózní kost obsahuje hemocytoblasty, proeryoblasty a kostní dřev a má nižší Youngův modul a je pružnější ve srovnání s kortikální kostí. Pórovitá struktura je z velikostí pórů v rozmezí 200 – 500 mikrometrů. Kortikální kost je vnější vrstva kosti, která pomáhá zajišťovat tvar kosti a tvoří 80% kostry. [18]



Obrázek 7 Průřez morfologie lidské kosti

Lidské tělo je přesyceno uhličitánem vápenatým a hydroxyapatitem, jakožto minerálem kostí a zubů. Dostupnost fosforu v živém prostředí je omezená. Kost pravděpodobně působí jako rezervoár fosforu a je v podstatě polymerní matricový kompozit vyztužený proužky hydroxyapatitu. Zub má podobnou strukturu jako kost, avšak se liší mechanismem mineralizace. [20]

Kosti jsou na ultrastrukturální úrovni kompozity s vynikajícími mechanickými vlastnostmi. Slouží jako šablona pro vývoj materiálů vhodných jako náhrady kostí. Výzkum biomateriálů analogických s kostmi byl zahájen na počátku 80 let 20. století. Inkorporace, neboli včlenění bioaktivních částic do biokompatibilních polymerů za účelem získání náhrad kostí. Hydroxyapatit zesílený polyethylenem o vysoké hustotě je jedním z takových materiálů a úspěšně se používá jako náhrady lidského těla. [21]

Kosti jsou komplexní systém složený z hydroxyapatitu a kolagenových fibrilů. HA tvoří 70% kostí, zatímco kolagen tvoří 20% a voda zbylých 10%. U savců je hlavní minerální formou takzvaný biologický apatit, což je apatit s nedostatkem hydroxylových skupin a uhličitanem s Ca/P poměrem nižším než 1,67. [19]

Syntetický HAp má vynikající biokompatibilitu, afinitu k biopolymerům a vysoký osteogenní potenciál. Bylo dobře zdokumentováno, že hydroxyapatit podporuje nový růst kostí prostřednictvím mechanismu osteokondukce, která nezpůsobuje zánět, toxicitu nebo negativní odezvu cizího tělesa. [17]

Když je implantována keramika na bázi hydroxyapatitu, vytvoří se na jejím povrchu vrstvička bez vláknité tkáně, obsahující sypaný apatit, což přispívá k dřívější stabilizaci implantátu a lepší fixaci implantátu do okolních tkání. [17]

Změnou množství HA v kompozitu je možné získat řadu mechanických vlastností a biologických reakcí na materiál. Zvýšení procenta objemu HA vedlo ke zvýšení Youngova modulu, smykovému modulu a pevnosti HA v tahu. [21]

Nejen změna množství HA, ale i morfologie částic a průměrná velikost částic HA ovlivňuje mechanické vlastnosti. Hydroxyapatit má hodnotu Youngova modulu 5,54 GPa, což se blíží ke spodní hranici kortikální kosti. Kompozity, obsahující 40 obj. % se ukázaly jako vhodné pro klinické použití v kostech. Skutečný kompozit, který se má použít, však závisí na povaze kosti a předpokládané fyziologické zátěži. [21]

Pomocí přístrojů pro měření nárazu bylo zjištěno, že zvýšený obsah HA vedl ke snížení dopadu energie a tím zabránění vzniku zlomeniny, avšak malý účinek pro maximální síle na lom, protože tato síla byla téměř stejná s kompozity různých složení. Při tomto typu nárazu selhání kompozitů obsahující různá množství HA byla klasifikována jako křehká, protože neexistovaly žádné důkazy o hrubé plastické deformaci ve srovnání s prasknutím samotného matricového polymeru. [21]

Jako hlavní minerální složka lidských tvrdých tkání má HA vynikající biokompatibilitu s kostmi, zuby, kůží a svaly, a to jak in vitro a in vivo. [11]

### 3.2.1 Testy biokompatibility

Biokompatibilita je klíčový koncept pro pochopení reakce hostitele na implantáty a biomateriály a také nezbytná pro vývoj lékařských implantátů a pro zlepšení jejich výkonnosti. [22]

U implantovaných materiálů je nezbytné prokázat, že jsou biokompatibilní s hostitelskou tkání. Je dobře známo, že reakcí těla na implantát je vytvoření vláknité kapsle, která může být časem remodelována. Pokud je materiál toxický, zvětší se tloušťka vláknité kapsle, pokud je materiál inertní, bude mít vláknitá kapsle konstantní tloušťku. Nicméně s bioaktivním materiálem jako je hydroxyapatit, který uvolňuje vápenaté a fosforečné ionty ze svých povrchů a podporuje ukládání apatitové vrstvy na povrch implantátu, vláknitá kapsle se ztenčí a zmizí. Biologická výkonnost implantovaných materiálů může být hodnocena několika způsoby: testy in vitro s použitím simulované tělní tekutiny nebo buněčných kultur nebo hodnocením in vivo. [21]

Nejprve je potřeba testovat in vitro (laboratorně), až poté je pokračuje testování in vivo. Začíná se na laboratorních zvířatech, následují klinické testy lidského organismu. Pokud je materiál nezávadný, začne se používat při nahrazování lidských částí. [21]

#### 3.2.1.1 Test in vitro s použitím SBF

Jednou z nejslibnějších metod bylo zavedení simulovaných tělních tekutin (SBF). Jedná se o laboratorní testování, kde se sleduje interakce materiálu s tělními tekutinami, buňkami a to vždy v jednom prostředí. Tato syntetická tělesná tekutina simuluje složení krevní plazmy a je vysoce přesycena vápenatými a fosforečnanovými ionty vzhledem k apatitu za normálních podmínek. Rozpuštěním iontů vápníku v SBF médiu se stanovuje atomovým absorpčním spektrometrem. Metodou sol-gel připravené hydroxyapatitové nanoprášky mají vynikající bioresorpci a podobnou chemickou a krystalovou strukturu jako přírodní kostní apatit. Pokud má tedy materiál funkční skupinu účinnou pro nukleaci apatitu na svém povrchu může tvořit spontánně apatit. Všeobecně se uznává, že základní požadavek, aby se umělý materiál navázal na živou tkáň, je vytvoření apatitové vrstvy na jejím povrchu. [21,22]



Tvorba kostní apatitové vrstvy na bioaktivních materiálech může být produkována v simulované tělesné tekutině. S koncentracemi iontů téměř stejnými jako v lidské krevní plazmě. Většina současných výzkumů biokeramiky využívá toto řešení k měření biologické aktivity umělého materiálu zkoumáním schopnosti tvorby apatitu na jeho povrchu v roztoku SBF. [9]

Hydroxyapatitové vrstvy lze snadno vyrábět na různých organických nebo anorganických substrátech v SBF. Po ponoření do SBF se ukázalo, že široký rozsah biomateriálních povrchů velmi jemné krystaly apatitu obsahující uhličitanové ionty. Bylo prokázáno, že osteoblasty proliferují (množí se) a diferencují se na této apatitové vrstvě. [9]

V experimentech *in vitro* s použitím primárních kultur lidských osteoblastů bylo pozorováno, že osteoblastové buňky se připojily k takzvaným ostrůvkům HA v kompozitu a následně polyferovaly, což jasně dokazuje biologickou kompatibilitu a bioaktivitu hydroxyapatitu. [21]

### **3.2.1.2 *In vivo***

U těchto testů se prokazuje toxicky nezávadný materiál pro buněčné organismy nejprve na zvířatech (myši, krysy), později v lidském organismu, kde se prokáže nejpřesněji biokompatibilita.

## 4 Příprava hydroxyapatitu

Syntetické hydroxyapatity se připravují různými způsoby, zahrnující různé postupy a techniky. Vývoj těchto postupů stále pokračuje, což dokazují vědecké i ekonomické pokroky.

Chemická složka minerálních složek kostí a zubů je velmi důležitá při syntéze biomateriálů na bázi hydroxyapatitu. Anorganické fáze přítomné v tvrdých tkáních obsahují většinou  $\text{Ca}^{2+}$  a P, značné množství  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  a také  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$  a  $\text{H}_2\text{O}$ . Všechny tyto druhy, pokud jsou aplikovány ve vhodném množství, by měly být v implantátu dobře snášeny okolními tkáněmi. [23]

V roce 1999 bylo publikováno 28 článků zabývajících se přípravou HA, v roce 2011 již vyšlo 75 článků. Bylo také provedeno několik vyšetřování, aby se určilo, jak kritické vlastnosti HAp lze účinně řídit pouhou změnou parametrů při zpracování. I přesto příprava HA zůstává zajímavá výzva, zejména kvůli možnosti tvorby meziproductů. Nové metody mají přesnější kontrolu nad krystalografickou a chemickou strukturou hydroxyapatitového prášku. [16]

V každé metodě lze podmínky zpracování měnit, napříč širokým rozsahem, což vede k několika dílčím metodám. Příklady syntetických cest jsou srážení, reakce v tuhé fázi nebo sol-gel metoda. Příprava suchou cestou (s dvěma podskupinami), mokrou cestou (se šesti podskupinami), vysokoteplotními procesy (se dvěma podskupinami), metody syntézy založené z biogenních zdrojů či kombinací předešlých postupů patří k základnímu rozdělení. [17]

Nejvíce využívaná je konvenční příprava chemickým srážením. Kombinované metody a hydrotermální proces jsou další nejznámější metody přípravy HAp. Statistický průzkum odhalil, že metoda v pevném stavu přijala nejméně pozornost v literatuře, pravděpodobně kvůli jeho vlastním omezením při syntéze a nedostatečné kontrole mikrostrukturálních vlastností prášku. [17,24]

Proto hlavní výzvou při přípravě krystalických prášků je přesná kontrola růstu krystalů, která přímo souvisí s velikostí a geometrickým tvarem konečných částic. Jak již bylo zmíněno, kritické vlastnosti částic HA jako je síla, toxicita pro buňky, biologická

vstřebatelnost silně závisí na jejich mikrostruktuře a to hlavně na morfologii, stechiometrii, krystalové struktuře a fázové čistotě. [17,24]

Chemicky připravované částice hydroxyapatitu mohou mít různou morfologii, jako například kuličky, jehličky, destičky, vlákna nebo tyčinky.

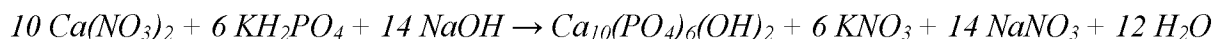
#### Rozdělení metod vhodných na přípravu hydroxyapatitu [25]

Metoda	Výchozí materiály	Podmínky	Poznámky
Reakce v pevném stavu	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaCO}_3$ $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{CaCO}_3$	900 – 1300°C  S použitím vodní páry	Velká zrna nepravidelného tvaru
Mokrý chemický metody	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  $\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{H}_3\text{PO}_4$	RT – 100°C  pH: 7 – 12	Jemné krystaly nepravidelného tvaru
Hydrotermální metoda	Ostatní fosforečnany vápenaté	100 – 200°C tlak 1 – 2 Mpa  300 – 600°C tlak 1 – 2 Kbar	Homogenní  Jemné monokrystaly
Metoda růstu gelu	$\text{Gel} + \text{Ca}^{2+} + \text{PO}_4^{2-}$	RT – 60°C  pH: 7 – 10	
Metoda růstu toku	$\text{CaF}_2, \text{CaCl}_2, \text{Ca}(\text{OH})_2$	1325°C	Velké krystaly s malým napětím mřížky

## 4.1 Historické přípravy

### 4.1.1 Srážení

Tato metoda patří k nejčasnějším přípravám. Srážení v silně alkalickém prostředí. Poprvé byl takto připravený hydroxyapatit v roce 1941 a to podle rovnice: [9]



### 4.1.2 Hydrotermální metoda

Byla poprvé použita v roce 1974, pro tvorbu hydroxyapatitu přímo z korálů Royem a Linnehanem. V roce 1996 byl popsán přesný popis získání hydroxyapatitu z indického korálu pomocí hydrotermálního procesu. Výsledný materiál byl ve formě prášku a další zpracování si vyžadovalo tvarování a slinování tohoto prášku. [9]

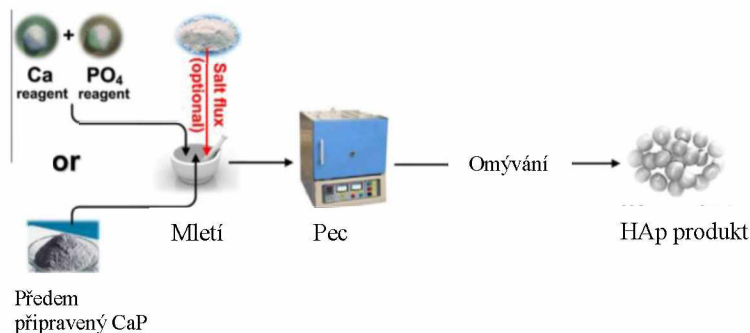
## 4.2 Suché metody

Rozdíl od mokrých metod je takový, že tyto nepoužívají rozpouštědlo a hydroxyapatitový prášek má nepravidelný tvar a velkou velikost částic. Díky jednodušší přípravě, která nevyžaduje přesně řízené podmínky, se využívá při výrobě prášku ve větším množství, ale výsledek není úplně ideální. [16]

Syntéza za sucha obvykle vede ke stechiometrickým a dobře krystalizovaným produktům. Vyžadují relativně vysoké teploty (obvykle nad 700°C) a dlouhý čas přípravy. Kromě toho se hydroxyapatit musí namlít a tím získat nanočástice. [13]

### 4.2.1 Syntéza v pevném stavu

Syntéza v tuhé fázi představuje relativně jednoduchý postup, který se hromadně využívá při výrobě prášku. Prekurzory, jako jsou vápník a chemikálie obsahující fosfáty různých typů nebo dříve připravená sůl CaP se nejprve pomelou, poté kalcinují při velmi vysokých teplotách (například 1000°C). Vysoká teplota kalcinace vede k vytvoření dobře krystalizované struktury. Nevýhody tohoto jednoduchého procesu je, že prášek syntetizovaný reakcí v pevném stavu často vykazuje heterogenitu fázového složení s malou difuzí iontů. [17]



Obrázek 8 Výroba hydroxyapatitu v pevném stavu (upraveno - přeloženo)

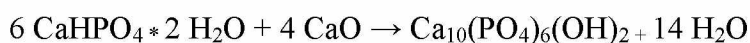
#### 4.2.2 Mechanochemická metoda

Tato metoda je známá také pod pojmem mechanické legování. Jedná se o jednoduchou suchou metodu, která se využívá pro výrobu různých pokročilých materiálů, jako například nanokrystalické slitiny a keramika. [17]

Dobře definovaná struktura heterogenních částic se nejprve namele na planetárním mlýně. Molární poměr mezi činidly se udržuje na stechiometrickém poměru.

Proces se dá ovlivnit různými činidly, mlecím médiem, atmosférou, dobou mletí, rychlostí otáčení či hmotnostním poměrem prášku. [17]

Některé zjednodušené reakce přípravy hydroxyapatitu jsou:



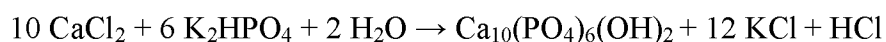
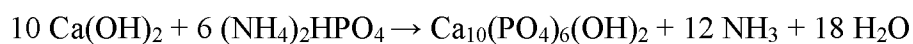
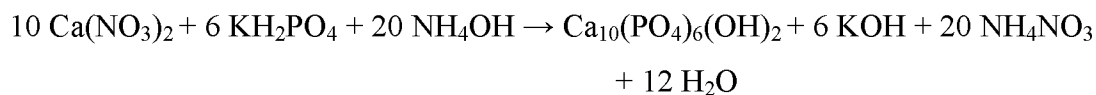
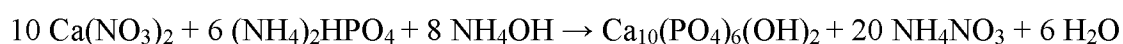
Obrázek 9 Výroba hydroxyapatitu mechanochemickým postupem (upraveno - přeloženo)

### 4.3 Mokr  metody

HAp  stice mají strukturu s pravidelnou morfologií. Proto se tato metoda častěji využívá. Mokr  metody jsou snadno proveditelné a jsou realizovány v organických rozpouštědlech nebo nejčastěji ve vodě. Mají výhody ve schopnostech kontrolovat morfologii a velikost prášku, podmínky růstu lze přímo řídit úpravou reakčních parametrů. Navíc reakce mohou být prováděny řadou technických postupů zahrnujících r zn  chemikálie, pomocn  přísady a přístroje. Na základě mnoha experimentálních dat jsou nejstabilnějšími technikami pro výrobu hydroxyapatitu. Každá reakce můţe být využita k vytvoření specifické metody pro přípravu hydroxyapatitu. [17]

Jednou z hlavních potencionálních nevýhod je nízká teplota při přípravě, coţ má za následek generování jiných fází CaP než hydroxyapatitu. Kromě toho r zn  ionty ve vodn m roztoku mohou být začleněny do krystalov  struktury, což vede ke stopám nečistot. [17]

Některé známé chemické reakce pro přípravu hydroxyapatitu mokrou syntézou:



Mezi mokr  cesty patří precipitace (sráţení), hydrolytick  metoda, metoda sol-gel, hydrotermální, emulzní a sonochemická metoda. Hydro, solvo a tepelné zpracování zahrnují pouţití rozpouštědla (s prekurzory rozpuštěných iontů). Které se zahřívají v uzavřené nádobě.

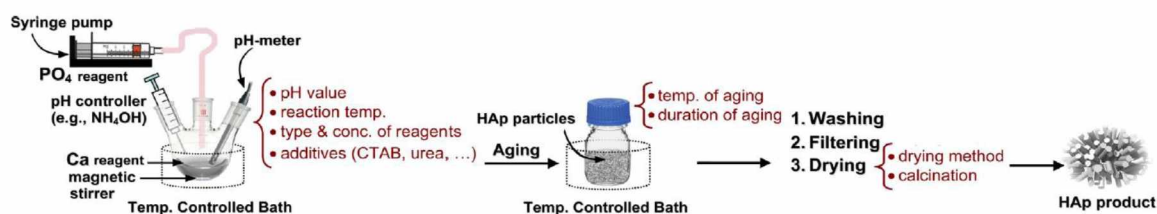
### 4.3.1 Srážení

Precipitace je jednou z nejrozšířenějších metod, díky její jednoduchosti, dostupnosti a použití relativně levných surovin. V kombinaci s použitím nízkých reakčních teplot jsou provozní náklady minimální. [26]

Chemické srážení je založeno na skutečnosti, že při pokojové teplotě a pH 4,2 je HAp nejméně rozpustný. Srážecí reakce se obvykle provádí při hodnotách pH vyšších než 4,2 a teplotním rozmezí mezi teplotou místnosti a teplot blízkých bodu varu vody. K výrobě hydroxyapatitu dochází díky smíchání různých činidel obsahující vápník a fosfát, například hydroxid vápenatý nebo dusičnan vápenatý jako zdroj  $\text{Ca}^{2+}$  a kyselina ortofosforečná jako zdroj  $\text{PO}_4^{4-}$ . Molární poměr prvků Ca/P se udržuje ve stejném poměru jako HAp a to 1,67. [26]

Nicméně, kvůli současnému výskytu nukleace a růstu krystalů či aglomeraci nelze srážení hydroxyapatitu považovat za triviální. Reakce vyžaduje lehké doladění, aby se optimalizovala morfologie a minimalizoval se růst krystalů. Přesycení je klíčem k jakémukoli procesu srážení. Přesycení je charakterizováno jako množství rozpuštěné látky, které je více, než by mělo být množství v rovnováze. Jakmile je roztok přesycen, dochází k nukleaci a růstu krystalů. V případě přípravy hydroxyapatitu se jedná o titrování fosfátu do roztoku vápníku za stálého lehkého míchání a za vzniku suspenze vysrážených částic. [26]

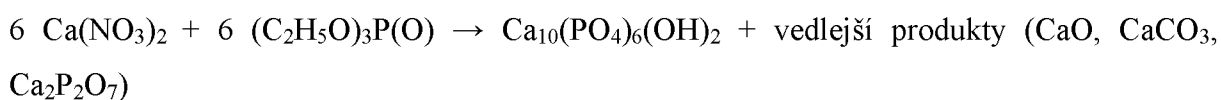
Konečné složení a morfologie (tvar a velikost) závisí na podmínkách srážení, jako je koncentrace reakčních složek, iontové síle, pH, a teplotě. Důležitá je i podmínka míchání pro dva vodné roztoky (vápník a orthofosfát). Proto musí být tyto reakční parametry kontrolovány, aby se vytvořil homogenní produkt. Vysrážený prášek je typicky kalcinován při 400 – 600°C. Micely se tvoří, pokud je koncentrace povrchově aktivní látky molekuly vyšší, než kritická koncentrace micel (CCM). V některých případech se plně krystalizovaný HA netvoří, dokud nebude slinován při teplotách do 1200°C [13, 26]



Obrázek 10 Výroba hydroxyapatitu metodou srážení

### 4.3.2 Sol – gel metoda

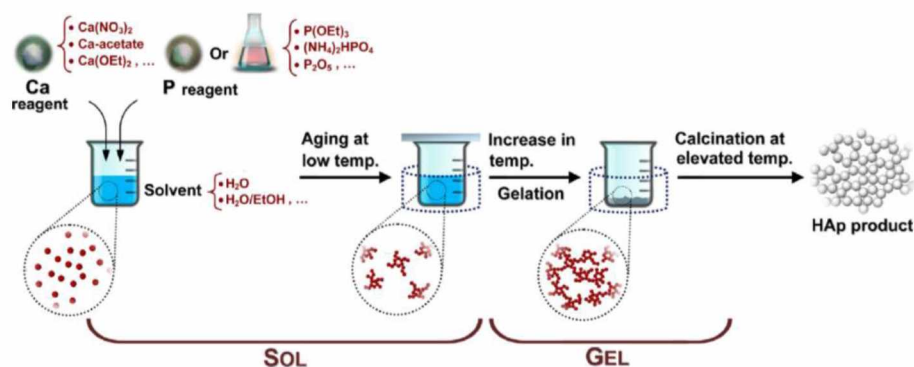
Sol –gel metoda byla jedna z prvních navrhovaných metod přípravy mokrou syntézou hydroxyapatitu. Tato metoda nabízí výhodu míchání reaktantů vápníku a fosforu na molekulární úrovni, což zlepšuje chemickou homogenitu výsledného prášku a snižuje teplotu tvorby výsledného hydroxyapatitu. Typickým prekurzorem je alkoxid kovu, který podléhá hydrolyze a polykondenzačním reakcím pevné fáze. Sol neboli vodní médium je emulgované v rozpouštědle (olejovém médiu) v přítomnosti povrchově aktivních látek do kapiček za stálého míchání. Gelovatění kapiček solu je dosaženo přidáním gelovacího činidla a udržováním požadovaného pH. Po sušení dochází k kalcinaci, což je postup pro odstranění organických zbytků z výsledného sušeného gelu tepelným zpracováním. [28]



Produkty se získávají ve slinuté polykrystalické formě, a proto je obvykle nutné dokončit výrobu mletím nebo frézováním. Získaný prášek vykazuje stechiometrickou strukturu s velkou povrchovou plochou a malou velikostí shluků. Studie in vitro uvádějí, že biologická resorbovatelnost gol – gel HAp je vyšší než konvenční prášek a je blízko biologickému apatitu. Mezi nevýhody patří tvorba sekundární fáze, nejčastěji oxidu vápenatého (CaO) a vysoké náklady některých výchozích látek (nejčastěji těch na bázi alkoxidu). Sekundární CaO fáze je škodlivá pro biologickou kompatibilitu. Odstranění je možné buď promytím kalcinovaného prášku nebo za použití zředěného kyselého roztoku (hlavně HCl). [17]

Metoda sol – gel je příznivá pro syntézu jemných částic a pro výrobu tenkých vrstev na kovové či keramické materiály. Výhodami tohoto postupu jsou nehomogenní molekulární míchání, nízká teplota při zpracování a schopnost generovat nanokrystalické prášky, amorfni monolitické pevné látky a tenké filmy. [25]





Obrázek 11 Příprava hydroxyapatitu metodou sol – gel

### 4.3.3 Hydrotermální a solvotermální metody

Hydrotermální zpracování, formování a zahušťování byly zcela pochopeny, což umožňuje kontrolu chemického složení a mikrostrukturu hustých i porézních keramik na bázi HAp. Tyto procesy zahrnují několik technik krystalizace ve vodním médiu při vysokých teplotách (obvykle 100 – 350°C a tedy pod vysokým tlakem par). Lze použít mikrovlnné záření místo konvenčního ohřevu v tlakově odolných nádobách. [13, 23]

Tyto tepelné metody zahrnují použití rozpouštědla (s prekurzory rozpustných iontů), které se zahřívají v uzavřených nádobách. Jsou environmentálně významné, protože mohou být prováděny v podstatně nižších teplotách než reakce v pevném stavu. Další rozdíl oproti ostatním metodám je, že krystalický HA může být produkován v jednom kroku, pomocí hydro a solvotermální syntézy, na rozdíl od ostatních, které vyžadují krystalizaci po tepelném zpracování. [26,27]

Hydrotermální syntéza používá jako rozpouštědlo vodu. Teplota rozpouštědla se může zvýšit nad bod varu, protože autogenní tlak v nádobě překračuje okolní tlak. Změnou vlastností rozpouštědla a reaktantů lze lépe předvídat děj reakce a krystalovou nukleaci a růst krystalů. Hydrotermální proces obvykle produkuje částice HAp s větší velikostí (do milimetrového rozsahu). Mírnější reakční podmínky, jako je teplota, se pohybuje obvykle do 350°C. Ukázalo se, že typický tvar prášku syntetizovaný tímto způsobem jsou částice jehlicového tvaru 100 – 160 nm dlouhé a 20 až 40 nm v průměru. [27]

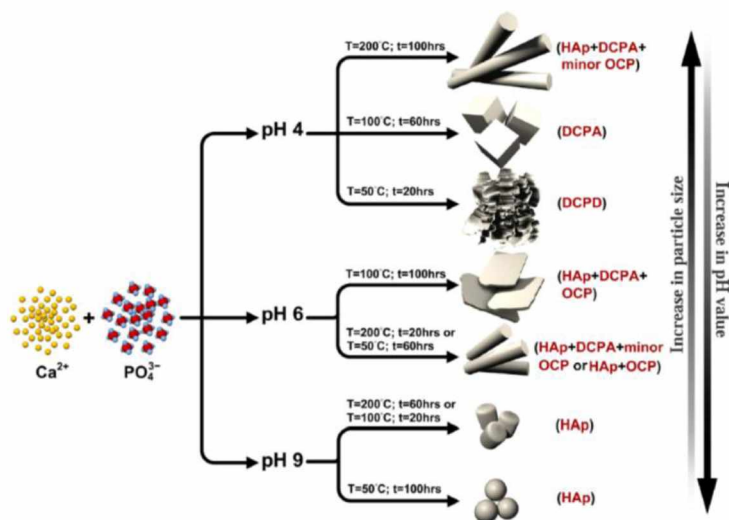
Příklad jedné výroby hydroxyapatitu touto metodou: Jednofázové krystaly hydroxyapatitu byly syntetizovány pomocí hydrotermální metody při 200°C pod tlakem nasycené vodní páry po dobu 24 hodin. Sraženina vytvořená smícháním  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  a destilované vody. Delší zpracování vedlo k produkci sekundární fáze monetitu ( $\text{CaHPO}_4$ ). Doba zpracování však neměla žádný vliv na morfologii nebo velikost částic a to v časovém rozmezí 24 – 72 hodin. [27]

Hydrotermální přeměna – hydrolyza jiných fosforečnanu vápenatých ( $\text{CaHPO}_4$ ,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) ve vodném prostředí, obvykle pomocí zdrojů vápníku a fosfátů [13]

Hydrotermální zpracování materiálů zahrnuje procesy jako syntéza, růst krystalů. Zpracování, výroba, lisování za tepla a další za hydrotermálních podmínek.

Růst krystalů – zahrnuje posthydrotermální ošetření pro připravené nanočástice HAp s nízkou krystalinitou (připraveno mokrým chemickým srážením) ve vodném médiu. Rozměry srážených nanočástic HAp se zvyšují za vroucího nebo stálého stárnutí v matečné tekutině. [13]

Teplota a pH jsou nejdůležitější faktory ovlivňující strukturu a morfologii výsledného hydroxyapatitu a trvání hydrotermálního ošetření na morfologii a velikost částic CaP. Vysoká hodnota pH znamená, že krystaly mohou růst a vytvářet sférické nanočástice. S poklesem hodnoty pH dochází k anizotropnímu růstu, což znamená, že krystaly vyrostou v jednorozměrné nanorody nebo dvourozměrné nanopláty. [17]



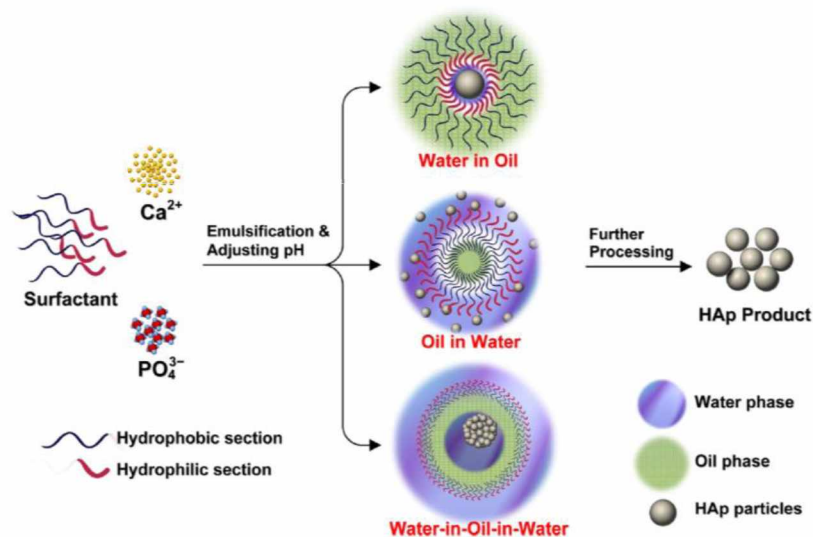
Obrázek 12 Vliv pH, teploty na morfologii a tvar krystalů HA

#### 4.3.4 Emulzní metoda

Přesná kontrola nad morfologií, velikostí a distribucí velikostí částic je velmi důležitá. Emulzní zpracování částic HAp byly původně vymyšleny k upřesnění shlukování a omezení tvorby tvrdých aglomerátů. Nyní se tato metoda využívá pro kontrolu přesnou mikrostruktury a morfologii výsledných částic a také pro výrobu keramického prášku bez aglomerátů. [17]

Bifázický proces na bázi povrchově aktivní látky. Tento proces zahrnuje krystalizaci a růst krystalů v omezeném prostoru, který je obecně připraven procesem emulze (typ voda v oleji, olej ve vodě či voda v oleji ve vodě). Nejčastěji prostřednictvím systému voda v oleji. Emulzní proces silně závisí na typu použitého povrchově aktivního činidla a koncentraci povrchově aktivní látky přítomné v kapalném médiu. [17]

Emulze voda v oleji – každá micela se skládá z kapiček roztoku obklopených určitými molekulárními skupinami povrchově aktivních látek, které tvoří „vodní nádrž“ olejové fáze. Po přidání druhé mikroemulze obsahující další činidlo štěpení mezi micely způsobuje reakci mezi ionty vápníku a fosfátu. Konečná morfologie a velikost částic HAp bude stejná jako tvar a velikost micel. Výsledná krystalinita prášku může být upravena. [17]



Obrázek 13 Tři hlavní druhy emulgace

## **5 Využití hydroxyapatitu**

### **5.1 Tenké vrstvy hydroxyapatitu - povlaky**

Většina implantátů je vyrobena z titanu nebo jeho slitin díky dobrým mechanickým vlastnostem, vytrvalosti, nízké hustotě a chemické stabilitě v tělních tekutinách. Kovové implantáty mají dobrou tvrdost a mechanickou sílu. Nevýhodou je jejich biokompatibilita a osteointegrace. Aby se zlepšila vlastnost těchto kovových implantátů, hydroxyapatit je důkladně testován jako povlak právě těchto kovových náhrad, díky své veliké biologické kompatibilitě, chemické stabilitě a osteokontaktivitě. [19]

Povlaky HA na povrchu implantátu mohou být připraveny mnoha technikami, jako například: plazmové stříkání, elektroforetická depozice, pulzní laserová depozice, depozice sol-gel zvláknování, technika naprašování a mnoho dalších. Vlastnosti povlaků silně závisí na použitém výrobním postupu. Mechanické vlastnosti závisí na mnoha parametrech, jako je hustota, chemické složení (krystalinita) a především dobrá přilnavost k substrátu. [19]

Technika plazmového stříkání je komerčně dostupná ekonomická metoda pro povlakování kovových implantátů. Rozdíly ve struktuře (mikrotrhliny na povrchu), slabá vazebná pevnost mezi povlakem a povrchem kovového implantátu, rozdílná tloušťka může být výsledkem nežádoucích komplikací. [19]

Technika sol – gel jako metoda přípravy tenkého filmu umožňuje získání chemicky homogenních filmů s jemnozrnnou strukturou konečného produktu. Ve srovnání s jinými metodami je tato metoda jednoduchá vzhledem k nízké teplotě zpracování. [19]

Pulzní laserová depozice je slibná technika, která produkuje krystalické, velice přilnavé filmy.

#### **5.1.1 Antibakteriální nátěry pro hydroxyapatitové části**

Po umístění implantátu se mohou do těla dostat bakteriální buňky, které způsobují záněty a infekce. Proto se klade důraz nejen na biokompatibilitu, ale také na antibakteriální účinek, který zajišťují různé koncentrace stříbra. Vysoká rychlost uvolňování stříbra během prvních 24 hodin snižuje počáteční přilnavost bakterií k povrchu implantátu. [19]

Hydroxyapatit má problém, který souvisí s nedostatečnou ochranou před imunitním systémem, což vede k vysokému riziku infekce. Ve skutečnosti je asi 50% infekcí získaných v nemocnici spojeno s chirurgií implantátů, přičemž se v budoucnu očekává vyšší důsledek, neboť roste využívání implantátů. Je velmi důležité, aby začlenění materiálů do tkání začala před jakoukoli bakteriální adhezí (přilnavostí). Bakterie se stávají vzdorující na antibakteriální látky, jako jsou antibiotika. [29]

Rozvoj materiálů s antibakteriálními vlastnostmi je proto jedním z nejdůležitějších postupů při implantacích. Počáteční práce týkající se ortopedických aplikací byly založeny na nanosení antibiotik do materiálů pro výplně kostí a kostní cementy. Zvyšuje se odolnost vůči antibiotikům a občas je nutné odstranění implantovaného zařízení v případě závažných infekcí. Nové preventivní postupy jako je začlenění stříbrných iontů se snaží tyto negativní dopady odstranit. Stříbrné ionty jsou schopny inhibovat bakteriální růst vazbou thiolové skupiny enzymů nebo které inhibují vychytávání fosfátů, vedou k deaktivaci patogenů. [29]

Byly vyvinuty různé metodiky pro začlenění stříbrných iontů: srážení, postřik, způsoby potahování. První z nich spočívá v procesu koprecipitace (= společné vylučování dvou nebo více těžko rozpustných látek z roztoku srážením). Aby proběhlo CP, přidává se po kapkách fosfátový prekurzor do směsi prekurzorů vápníku a stříbra. Alternativně může být HAp ponořen do stříbra. Tyto dva procesy ovlivňují distribuci stříbra a logicky i antibakteriální vlastnosti. [29]

## **5.2 Využití nanofázového hydroxyapatitu**

Tkáňové inženýrství se snaží vyvinout biologické náhražky, které udržují, zlepšují nebo obnovují funkčnost tkání a orgánů poškozených chorobou, traumatem nebo vrozenými vadami. Inženýrství kostní tkáně se snaží zejména po resekci rakoviny nahradit kosti s použitím kostruktů naočkovaného buňkami, které obvykle zahrnují použití vhodného řešení kombinovaného s vhodnými růstovými faktory. Nanotechnologie nebo použití nanofázových materiálů může poskytnout řešení napodobením vlastností přírodních kostí nanokompozitem. Skládá se především z matrice měkkého hydrogelu na bázi bílkovin (kolagen) a tvrdé anorganické keramické fáze. Hydroxyapatit je chemická a krystalografická matrice. [30]

Velikost částic hydroxyapatitu ovlivňuje biologické aktivity buněk. Nanočástice HAp o velikosti 20 nanometrů mají největší potenciál pro stimulaci kostní regenerace a inhibice růstu buňky osteosarkomu in vivo. [24]

Syntéza nanofázového hydroxyapatitu je důležitá v oblasti biomateriálů a inženýrství kostních tkání. Bioaktivní a osteokonduktivní vlastnosti nHA jsou velmi výhodné pro širokou škálu biomedicínských aplikací, jako je výroba konstruktů vytvořených pomocí kostní tkáně, potahování lékařských implantátů nebo jako nosič pro plazmidovou DNA při dodávání genu. Částice o velikosti méně než 100 nm se vyrábí nízkoteplotní dispergační srážkovou reakcí. Reakce je opět ovlivněna pH, rychlostí míchání reaktantu, použitím sonikace, koncentracemi primárních reaktantů a pořadím přidávání reaktantů. [30]

### **5.2.1 Nosiče pro dodání léčiv, proteinů a genů**

Nanokrystalický hydroxyapatit je kvůli jeho povrchu a netoxicitě využíván i jako dodávka léčiva s řízeným uvolňováním léčiva. Nosič pro dodávání léků jako například antibiotika a protirakovinná léčiva. Kyselé žaludeční prostředí může degradovat HA, proto se používá hlavně jako doručovací systém u kostních poruch (jako je osteoporóza, kostní nádory) než jako perorální léčiva. Porézní HA naplněná vhodným lékem umožňuje jeho přesné dodání do postižené oblasti. Hydroxyapatit se používá hlavně k přímému podávání antibiotik na tvrdé tkáně a k podání protirakovinných látek. Další využití je k podávání vitamínů, hormonů či bílkovinám. Lokální a trvalé uvolňování léků umožňuje zkrácení terapie a může urychlit proces hojení a minimalizovat rozsah odstranění postižené kosti. [19]

### **5.2.2 Plniva**

Opravné materiály a plniva pro dentální kompozity. Aplikace hydroxyapatitu k opravě poškozeného smaltu v poslední době přitahuje značná pozornost v zubním oboru kvůli chemické látce a strukturální podobnosti HA s minerály zubů.

## **5.3 Další použití**

### **5.3.1 Chromatografie**

Mechanismus hydroxyapatitové chromatografie je komplikovaný. Zahrnuje iontové interakce mezi pozitivně nabitými skupinami na biomolekule (často proteinu) a fosfátovými skupinami v hydroxyapatitu a kovovou chelataci mezi hydroxyapatitovým vápenatými ionty a záporně nabitými fosfátovými nebo karboxylovými skupinami na biomolekule. [31]

Může být obtížné předpovědět účinnost hydroxyapatitové chromatografie na základě fyzikálních a chemických vlastností požadovaného proteinu, který má být purifikován. Pro eluce se obvykle používá pufr se zvyšující se koncentrací fosfátů nebo neutrálních solí. [31]

### **5.3.2 Použití v archeologii**

V archeologii lze hydroxyapatit z lidských a zvířecích ostatků analyzovat, aby rekonstruovali starověkou stravu, migraci a paleoklima. Minerální frakce kosti a zubů působí jako rezervoár stopových prvků, včetně uhlíku, kyslíku a stroncia. Stabilní izotopová analýza lidského a faunálního hydroxyapatitu může být použita k označení toho, zda strava měla převážně suchozemskou nebo mořskou povahu (uhlík, stroncium), geografický původ. Depoziční změna kosti může přispět k degradaci kostního kolagenu, proteinu potřebného pro stabilní analýzu izotopů. [31]

### **5.3.3 Defluoridace**

Hydroxyapatit je potenciálním adsorbentem pro defluoridaci pitné vody, protože tvoří fluorapatit ve tříkrokovém procesu. Hydroxyapatit odstraňuje  $F^-$  z vody, aby nahradil fluorapatit tvořící OH. Během procesu defluoridace se však HA rozpustí a zvyšuje koncentraci pH a fosfátových iontů, což způsobuje, že defluorizovaná voda není vhodná k pití. Nedávno byla navržena defluoridační technika „modifikovaného vápníku a hydroxyapatitu“ k překonání vyluhování fosfátů z HA. [31]

## 6 Závěr

V posledních pěti desetiletích došlo k obrovskému pokroku v oblasti biomateriálů a to včetně keramiky, biokeramiky, skla a kovových slitin. Neustálá inovace v kmenových buňkách, biomateriálech, umělých orgánech ukazují na jasný vývoj člověka a biologické vědy.

Do skupiny biokeramiky patří hydroxyapatit, který je velmi využíván díky podobnému složení jako má lidská kost. Současné aplikace biokeramiky jsou kostní štěpy, páteřní fúze, kostní opravy, výplně kostí, které se provádí v celkové anestezii.

Hydrogenovaný hydroxyapatit s nedostatkem vápníku je hlavním minerálem, ze kterého se skládá zubní sklovina a dentin. Krystaly hydroxyapatitu se vyskytují také v malých kalcifikacích, v epifyze a dalších strukturách.

Hydroxyapatit může být syntetizován několika metodami, jako je mokrá chemická cesta, suchá chemická cesta a jejich podskupiny. Několik studií dokázalo, že syntéza hydroxyapatitu mokrou cestou může být zlepšena pomocí vysoce výkonného ultrazvuku. Tato metoda umožňuje výrobu nanokrystalického hydroxyapatitu.

Současná potřeba dlouhotrvajících implantátů a náhrad kostí charakterizovaných biokompatibilitou, bioaktivitou a mechanickými vlastnostmi bez imunitního odmítnutí je pro vědce velkou výzvou. Tyto kosti by měly být připraveny pro jednotlivé pacienty jednotlivě a se všemi detaily kontrolovanými na mikrometrové úrovni.

Vývoj materiálu, který je vhodný pro vytvoření povlaků na kovové implantáty (například při náhradě kyčle či zubního implantátu) a pro systémy dodávající léčiva, stále roste. Avšak hydroxyapatit, který je hlavní minerální složka kostí a zubů je pro tyto účely vynikajícím materiálem.

Velký zájem je nejen o náhrady kostí, ale i o netoxické, biologicky kompatibilní systémy cíleného dodávání léčiv, které umožňují regulovat rychlost a dobu podávání léčiva a zároveň umožňují eliminovat toxické a vedlejší účinky na zdravou tkáň.



## 7 Zdroje:

- [1] Hydroxyapatite. In: Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2020-03-28]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Hydroxyapatite#cite\\_note-4](https://en.wikipedia.org/wiki/Hydroxyapatite#cite_note-4)
- [2] VOJTÍŠEK, Jan. *Pokročilá keramika pro tkáňové inženýrství*. Brno, 2016. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce Ing. Eva Bartoníčková, Ph.D. Dostupné z: <https://core.ac.uk/download/pdf/44398808.pdf>
- [3] JIRÁSEK, J., VAVRO, M.: *Nerostné suroviny a jejich využití*. Ostrava: Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy ČR & Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2008. ISBN 978-80-248-1378-3
- [4] HANYKÝŘ, V., KUTZENDÖRFER, J.: *Technologie keramiky*. Hradec Králové: Vega, 2000, 287 s.
- [5] *Ceramic and Glass Materials' Role in Civilization. A Brief History of Ceramics and Glass* [online]. Westerville: The American ceramic society, 2018 [cit. 2020-06-03]. Dostupné z: <https://ceramics.org/about/what-are-engineered-ceramics-and-glass/brief-history-of-ceramics-and-glass>
- [6] OVČAČÍKOVÁ, Hana a Jozef VLČEK. *Speciální keramické materiály* [online]. Ostrava: Copyright, 2013 [cit. 2020-03-29]. ISBN 978-80-248-3365-1. Dostupné z: [https://www.fmfi.vsb.cz/export/sites/fmfi/modin/cs/studijni-opory/resitelsky-tym-2-metalurgie/specialni-keramicke-materialy/Ovcacikova\\_Specialni-keramicke-materialy.pdf](https://www.fmfi.vsb.cz/export/sites/fmfi/modin/cs/studijni-opory/resitelsky-tym-2-metalurgie/specialni-keramicke-materialy/Ovcacikova_Specialni-keramicke-materialy.pdf)
- [7] SVOBODA, Luboš a spol. *Stavební hmoty* [online]. 3. Praha: Copyright, 2013 [cit. 2020-05-14]. ISBN 978-80-260-4972-2. Dostupné z: <http://people.fsv.cvut.cz/~svobodal/sh/SH3v1.pdf>
- [8] KRATOCHVÍL, Bohumil, Václav ŠVORCÍK a Dalibor VOJTĚCH. *Úvod do studia materiálů* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2005 [cit. 2020-05-14]. ISBN 978-80-7080-568-8. Dostupné z: [https://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/publikace?uid=uid\\_isbn-80-7080-568-4](https://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/publikace?uid=uid_isbn-80-7080-568-4)
- [9] HENESS, G. a B. BEN-NISSAN. *Innovative bioceramics* [online]. Sydney, 2004, 27, 104-114 [cit. 2020-06-04]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/profile/Besim\\_Ben-Nissan/publication/267403594\\_Innovative\\_Bioceramics/links/55c007ff08aec0e5f4476d96.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Besim_Ben-Nissan/publication/267403594_Innovative_Bioceramics/links/55c007ff08aec0e5f4476d96.pdf)

- [10] PARK, John B. a Roderic S. LAKES. *Biomaterials* [online]. New York: Springer, 2007 [cit. 2020-06-04]. ISBN 978-0-387-37880-0. Dostupné z: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-0-387-37880-0>
- [11] HYOUN, Kim Ee a Kim Won HAE. *Nanofiber generation of hydroxyapatite and fluor-hydroxyapatite bioceramics* [online]. 2. New York: Wiley online library, 2005 [cit. 2020-05-18]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbm.b.30376>
- [12] BAILEY, Vince, Beckwith W. SCOTT a Adrienne STROHMEYER. *Society for the Advancement of Material and Process Engineering* [online]. Wichita: SAMPE Tech, 2013 [cit. 2020-06-14]. ISBN 978-1-68015-436-8.
- [13] OKADA Masahiro, FURUZONO Tsutomu. Hydroxylapatite nanoparticles: fabrication methods and medical. *Science and Technology of Advanced Materials*. 2012. 13
- [14] ONDREJKOVIČOVÁ a spol. *Spoločná budúcnosť chémie a biológie* [online]. Bratislava: STU, 2006 [cit. 2020-05-18]. ISBN 80-227-2456-4. Dostupné z: [https://www.fchpt.stuba.sk/buxus/docs/doc/pedagogika/chemia\\_a\\_biologia.pdf](https://www.fchpt.stuba.sk/buxus/docs/doc/pedagogika/chemia_a_biologia.pdf)
- [15] Krystalografická soustava. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2020-05-24]. Dostupné z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Krystalografick%C3%A1\\_soustava#%C5%A0estere%C4%8Dn%C3%A1\\_\(hexagon%C3%A1ln%C3%AD\)](https://cs.wikipedia.org/wiki/Krystalografick%C3%A1_soustava#%C5%A0estere%C4%8Dn%C3%A1_(hexagon%C3%A1ln%C3%AD))
- [16] ČIHÁK, Marek. *Nanočástice hydroxyapatitu a jejich příprava* [online]. Liberec, 2016 [cit. 2020-06-15]. Dostupné z: [https://dspace.tul.cz/bitstream/handle/15240/24178/BP\\_Nanocastice\\_hydroxyapatitu\\_Marek\\_Cihak.pdf?sequence=-1&isAllowed=y](https://dspace.tul.cz/bitstream/handle/15240/24178/BP_Nanocastice_hydroxyapatitu_Marek_Cihak.pdf?sequence=-1&isAllowed=y) Bakalářská práce. Technická univerzita v Liberci
- [17] SHOJAI Mehdi Sadat, KHORASANI Mohammad Taghi, KHOSHDARGI Ehsan Dinpanah, JAMSHIDI Ahmad. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomaterial*. **2013**. 9 (8), 7591-7621
- [18] PRAKASAM, Mythili, Kristine Salma-Ancane SALMA-ANCANE a Janis LOCS. Fabrication, Properties and Applications of Dense Hydroxyapatite: A Review. *Journal of Functional Biomaterials*. 2015, (6), 1099-1140. DOI: 10.3390/jfb6041099. ISSN 2079-4983.
- [19] SZCZEŚ Aleksandra, H OŁYSZ Lucyna, CHIBOWSKI Emil. Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*. **2017**. 321-330.

- [20] Mortensen, A.. (2007). *Concise Encyclopedia of Composite Materials (2nd Edition) - Automotive Body Materials*. Elsevier. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00U06AT3/concise-encyclopedia/automotive-body-materials>
- [21] HIN, Teoh Swee. *Engineering materials for biomedical applications* [online]. 1. Singapore: World Scientific, 2004 [cit. 2020-06-16]. ISBN 978-1-59124-983-2. Dostupné z: [https://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpEMBA0001/viewerType:toc//root\\_slug:engineering-materials-2/url\\_slug:hydroxyapatite-mechanical?q=properties%20hydroxyapatite&b-subscription=true&b-group-by=true&b-sort-on=default&b-content-type=all\\_references&include\\_synonyms=no&issue\\_id=kt003VB3IC](https://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpEMBA0001/viewerType:toc//root_slug:engineering-materials-2/url_slug:hydroxyapatite-mechanical?q=properties%20hydroxyapatite&b-subscription=true&b-group-by=true&b-sort-on=default&b-content-type=all_references&include_synonyms=no&issue_id=kt003VB3IC)
- [22] RATNER, Buddy D. *Chapter 3 - The Biocompatibility of Implant Materials* [online]. 2015, , 37-51 [cit. 2020-06-17]. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800196-7.00003-7>.
- [23] Hydrothermal processing. *Chemical technology and the environment*. 1. New Jersey: Wiley, 2007, s. 293-305. ISBN 978-0-470-10540-5.
- [24] CAI Y, LIU Y, YAN W, HU Q, TAO J, ZHANG M, et al. *Role of hydroxyapatite nanoparticle size in bone cell proliferation*. [online]. *Journal of Materials Chemistry*, 2007.17, 3780–3787. Dostupné z: DOI: 10.1039/b705129h
- [25] YOSHIMURA, Masahiro a K. BYRAPPA. *Handbook of Hydrothermal Technology*. 1. United States: William Andrew, 2001. ISBN 9780815514459.
- [26] COX, Sophie. Synthesis methods of hydroxyapatite. *JOUR* [online]. *Ceram*, 2014, (1), 1-9 [cit. 2020-06-23].
- [27] EARL, J. S., D. J. WOOD a S. J. MILNE. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite. *Journal of Physics: Conference Series*. UK, 2006, (26), 268-271 [cit. 2020-06-26]. DOI: 10.1088/1742-6596/26/1/064.
- [28] SARANYA, K., KOWSHIK, M. & RAMANAN, S.R. Synthesis of hydroxyapatite nanopowders by sol-gel emulsion technique. *Bulletin of Materials Science*. 2011.34, 1749–1753. DOI: 10.1007/s12034-011-0386-8
- [29] KUMAR, Thakur Vijay. *Biopolymer Grafting - Applications*. 1. United States: Elsevier, 2018. ISBN 978-0-12-810462-0.

- [30] CUNNIFFE GM, O'BRIEN FJ, PARTAP S, LEVINGSTONE TJ, STANTON KT, DICKSON GR. The synthesis and characterization of nanophase hydroxyapatite using a novel dispersant-aided precipitation method. *J Biomed Mater Res A*. 2010. 95(4):1142-1149. DOI:10.1002/jbm.a.32931
- [31] Hydroxyapatite: Uses. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2020-07-13]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Hydroxyapatite>