

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА БИОМАТЕРИАЛОВ $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2/\text{CaO}$ СО СФЕРИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ ЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ КАТИОНИТА ТОКЕМ-200

© Л. П. Борило, Е. С. Лютова*, В. В. Козик

Национальный исследовательский Томский государственный университет, химический факультет,
634050, г. Томск, пр. Ленина, д. 36

* E-mail: lyutova.tsu@mail.ru

Поступила в Редакцию 13 апреля 2020 г.

После доработки 17 декабря 2021 г.

Принята к публикации 21 декабря 2021 г.

Золь-гель методом из растворов синтезированы биоматериалы на основе катионита Токем-200, содержащие частицы сферической формы. Внешний каркас частиц представлен $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$, внутренняя часть заполнена CaO (образец $\text{TiO}_2\text{-SiO}_2/\text{CaO}$). Карбоксильный катионит Токем-200 характеризуется высокой избирательностью по отношению к ионам Ca^{2+} , что дает возможность использовать его при разработке биоматериалов, так как кальций участвует в образовании костной ткани. Установлены условия термообработки образцов с целью получения однородной структуры материала: термообработка (сушка при 60°C), отжиг при 150 , 250 , 350°C в течение 30 мин на каждой температурной ступени, отжиг при 600°C в течение 6 ч. В качестве связующей добавки предложено использование желатина.

Ключевые слова: сферические частицы; композиционный материал; золь-гель синтез; кальций-фосфатный материал

DOI: 10.31857/S0044461822010029

Кальций-фосфатные материалы находят широкое применение в медицинской практике благодаря способности формировать апатитоподобные структуры, эквивалентные по составу и строению минеральной фазе костной ткани [1]. Недостатками подобных материалов являются низкая растворимость в жидкостях организма и высокая хрупкость [2]. Модификация неорганическими компонентами, в частности кремнием и титаном, позволяет повысить технологическую ценность материалов [2, 3]. Так, присутствие кремния и титана в составе материала ускоряет сращивание имплантата с костью (остеоинтеграцию) и существенно повышает скорость остеогенеза *in vivo* при имплантировании [4, 5]. Частичное замещение фосфатных групп силикатными уменьшает размер и

изменяет структуру зерен кальций-фосфатных материалов [4].

В последние годы в клинической практике для заполнения костных дефектов широко используются материалы, содержащие частицы сферической формы (диаметр до 0.7 мм) [6, 7]. Использование золь-гель метода синтеза позволяет контролировать размер и форму частиц, образующих сферы на основе оксидов титана и кремния, что позволяет сохранить пористость материала и обеспечить доступ физиологических жидкостей ко всему объему костной ткани [8].

Цель работы — получение материалов на основе катионита Токем-200, изучение их состава, морфологии и биологической активности в растворе искусственной плазмы крови.

Экспериментальная часть

Исходные реагенты: бутиловый спирт (х.ч., АО «Экос-1»), тетраэтоксисилан (ос.ч., АО «Экос-1»), H_3PO_4 (ос.ч., ООО «СГС Хим»), $Ca(NO_3)_2$ (ч.д.а., ООО «Компонент-Реактив»), тетрабутоксититан (ос.ч., Acros Organics BVBA), NaOH (ос.ч., ООО «СГС Хим»), $NaNO_3$ (ч.д.а., ОАО «ОХК «Уралхим»), мурексид (ТОО «Алита»), $NaHCO_3$ (ос.ч., ООО «Компонент-Реактив»), Na_2SO_4 (ос.ч., ООО «Компонент-Реактив»), NaH_2PO_4 (ч.д.а., АО «Реатэкс»), $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (ос.ч., «ООО Компонент-Реактив»), NaCl (ос.ч., АО «Кольская ГМК»).

Для получения биоматериалов были выбраны кальцийсодержащие образцы катионита Токем-200 (слабокислотный пористый катионит на основе акрил-дивинилбензола с размером зерна 0.315–1.600 мм, ООО «НПО Токем») из-за высокой селективности по отношению к Ca^{2+} . Полную обменную и сорбционную емкости катионитов определяли сорбционными методами. Для определения влагосодержания навеску катионита Токем-200 помещали в предварительно высушенный до постоянной массы взвешенный бюкс. Бюкс с катионитом взвешивали на аналитических весах (AND GR-200) и помещали в сушильный шкаф. Высушивали до постоянной массы при $100^\circ C$ в сушильном шкафу, охлаждали до комнатной температуры и вновь взвешивали. Массовую долю влаги в катионите W (%) рассчитывали по формуле

$$W = \frac{(m_1 - m_2)}{m_1} \cdot 100,$$

где m_1 — масса набухшего ионита (г), m_2 — масса сухого ионита (г).

Содержание Ca^{2+} определяли методом комплексонометрического титрования с индикатором мурексид. Катионит Токем-200 массой 0.1 г титровали раствором 0.1 М NaOH. После установления равновесия (~5 ч) измеряли pH растворов на pH-метре ИТАН (ООО «НПП Томьаналит»). Избирательность поглощения катионита Токем-200 к Ca^{2+} изучена методом построения изотерм сорбции в интервале концентраций ионов $(0.1-1) \cdot 10^{-2}$ ммоль·мл⁻¹ из растворов нитратов металлов с pH ~ 4.5. Ионную силу раствора поддерживали постоянной 0.1 добавлением $NaNO_3$.

Растворы для получения материалов по золь-гель технологии готовили смешиванием растворителя (бутанола) и кислотного катализатора поликонденсации — фосфорной кислоты ($c = 2.5 \cdot 10^{-3}$ моль·л⁻¹). Затем в раствор бутанол-фосфорная кислота вносили смесь тетрабутоксититана ($c = 0.1$ моль·л⁻¹) и тетраэтоксисилана ($c = 2.2 \cdot 10^{-2}$ моль·л⁻¹). Созревание зо-

лей проводили при комнатной температуре в течение 3 сут. Растворы для приготовления материалов хранили при $25^\circ C$. Кальцийсодержащие образцы катионита Токем-200 погружали в агрегативно-стабильный золь на 12 ч с последующей экстракцией и сушкой при $60^\circ C$ в течение 60 мин. После сушки каждый образец подвергали ступенчатой термообработке при 150, 250, $350^\circ C$ в течение 30 мин на каждой температурной ступени и при $600^\circ C$ в течение 6 ч.

Инфракрасные спектры образцов были получены с помощью Фурье-спектрометра Nicolet 6700 (Thermo Scientific) в области $4000-400$ см⁻¹. Термический анализ проводили на анализаторе TGA/DSC/DTA STA 449C (Jupiter) при линейном нагреве до $1000^\circ C$ (скорость нагрева 10 град·мин⁻¹) в потоке воздуха 100 мл·мин⁻¹. Структуру и химический состав образцов исследовали методами сканирующей электронной микроскопии, энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии с помощью электронного микроскопа Hitachi TM-3000 (Thermo Fisher Scientific) с приставкой ShiftED 3000 для микрорентгеноспектрального анализа.

Оценку способности формировать кальций-фосфатный слой на поверхности полученных материалов изучали *in vitro*, выдерживая образцы в растворе искусственной плазмы крови при температуре $37^\circ C$ и pH 7.4 в течение 14 сут по методике, предложенной Кокубо [9].

Обсуждение результатов

В основу выбора катионита для получения материалов со сферической формой частиц были положены результаты исследований физико-химических свойств Токем-200 и его избирательности к Ca^{2+} . Установлено, что значение полной обменной емкости катионита Токем-200 10.25 ± 0.27 ммоль·г⁻¹, а сорбционной емкости — 8.60 ± 0.08 ммоль-экв·г⁻¹,

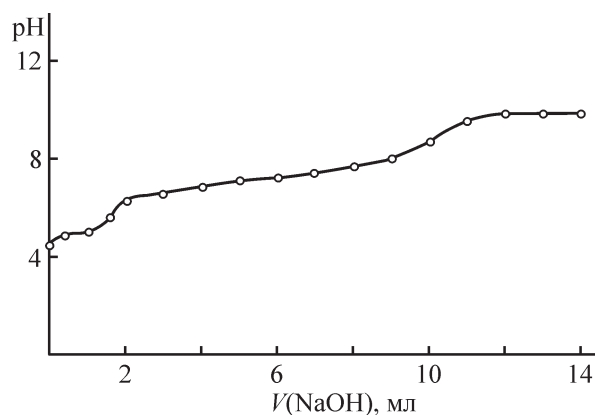


Рис. 1. Кривая pH-метрического титрования катионита Токем-200.

что составляет 84% от полной обменной емкости, влагосодержание составляет $54.0 \pm 0.5\%$. Данные результаты свидетельствуют о том, что большая часть функциональных групп катионита участвует в сорбционном процессе.

На кривой рН-метрического титрования сорбента Токем-200 (рис. 1) присутствуют хорошо выраженные две точки перегиба, что можно объяснить энергетической неоднородностью ионогенных групп [6]. Небольшой подъем на начальном участке кривой связан с наличием внутримолекулярного взаимодействия функциональных групп. Точка перегиба в щелочной области свидетельствует о слабокислотном характере активных групп.

Можно выделить ряд процессов, протекающих в ходе термической обработки полученных материалов со сферической формой частиц (рис. 2). При $T_{\max} = 190^\circ\text{C}$ (рис. 2, а) происходит сгорание катионита с образованием воды и оксида углерода(IV). При температурах выше 400°C структура катионита разрушается, что сопровождается экзотермическим эффектом при 461°C .

При разложении катионита, содержащего Ca^{2+} (рис. 2, б), фиксируется дополнительный пик ($T_{\max} = 542^\circ\text{C}$), что свидетельствует об образовании CaO . Термограмма образца катионита Токем-200 с Ca^{2+} и нанесенным золев (рис. 2, в) практически не отличается от термограммы разложения катионита Токем-200 в отсутствие золя (рис. 2, б), что, возможно, связано с незначительным количеством осажденного золя. Температура разложения образца Токем-200 с Ca^{2+} и нанесенным золев составляет 600°C .

Наличие характерных полос на ИК-спектрах (рис. 3) доказывает присутствие воды и органических соединений в образцах после термической обработки и при 60°C , и при 600°C . Полосы поглощения в интервале $1794.3\text{--}1540.0\text{ см}^{-1}$ соответствуют колебаниям молекулы воды. Полосы поглощения в диапазоне $1448.2\text{--}1319.3\text{ см}^{-1}$ соответствуют деформационным колебаниям —CH_2 , —CH_3 . Это свидетельствует о том, что из материала выделяется адсорбированная вода, которая инициирует реакцию гидролиза полисилоксанов, находящихся на поверхности [8, 10].

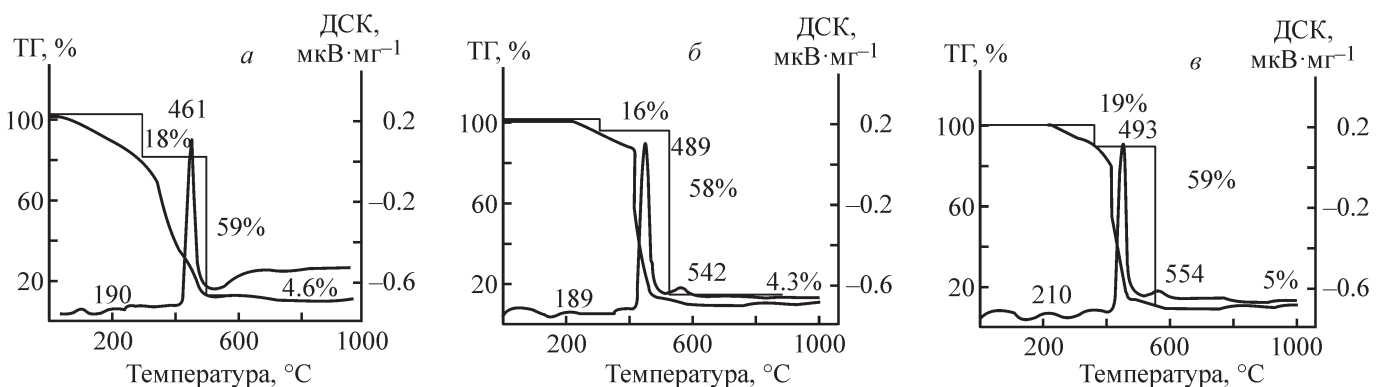


Рис. 2. Данные термогравиметрического анализа образцов Токем-200 (а), Токем-200 с Ca^{2+} (б), Токем-200 с Ca^{2+} и нанесенным золев (в).

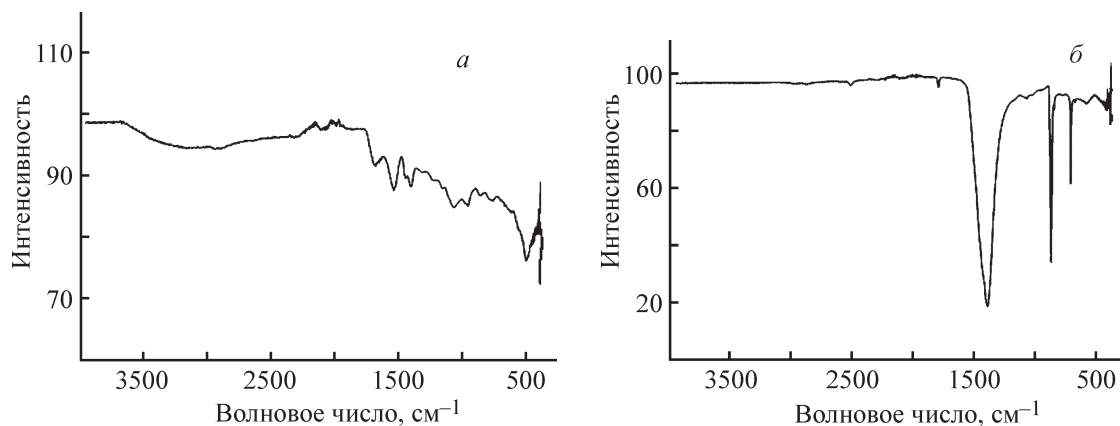


Рис. 3. ИК-спектры Токем-200 с Ca^{2+} и нанесенным золев после термической обработки при 60°C (а), 600°C (б).

Полосы поглощения в интервалах 871–859, 1060–1038 cm^{-1} соответствуют валентным асимметричным колебаниям Si—O—Si, валентным симметричным колебаниям Si—O—P. При температурной обработке 600°C фиксируется полоса поглощения 712.1 cm^{-1} ,

соответствующая валентным симметричным колебаниям Si—O—Si и P—O—P.

После термической обработки образцов Токем-200 с Ca^{2+} и нанесенным золев при 60°C фиксируется полоса поглощения 769.3 cm^{-1} , характерная для валентных

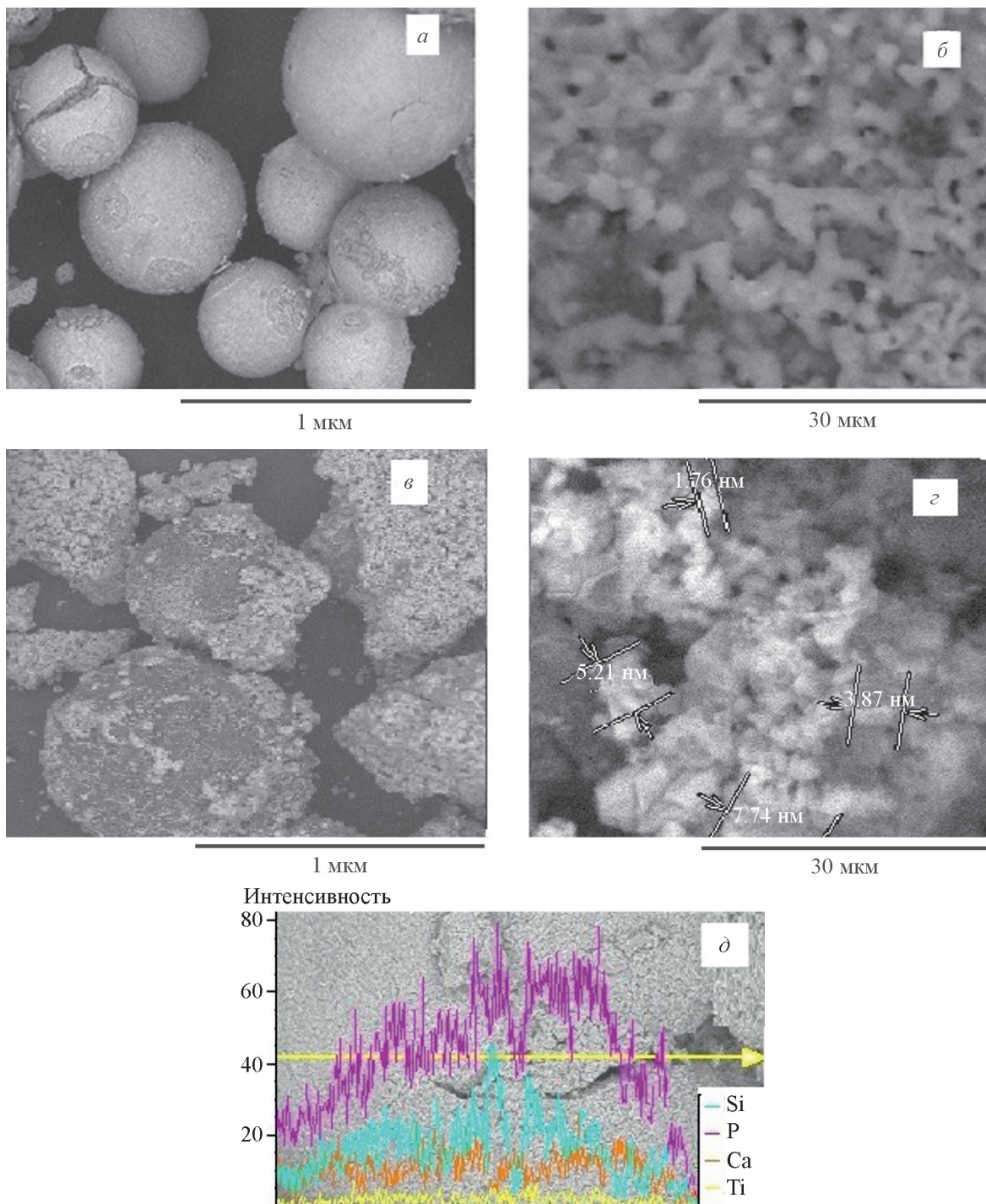


Рис. 4. Микрофотографии образцов Токем-200 с Ca^{2+} и нанесенным золев до (а, б) и после (в, г) погружения в раствор искусственной плазмы крови, и распределение элементов по поверхности образцов до погружения в раствор искусственной плазмы крови (д).

колебаний Ti—O, после термической обработки образцов Токем-200 с Ca²⁺ и нанесенным золев при 600°C фиксируется полоса поглощения 456.3 см⁻¹, которая соответствует деформационным колебаниям Ti—O.

Полосы поглощения 1078–1040, 965–930, 950–920, 620–590, 380 см⁻¹ соответствуют ν_{sym} Si—O—Ti. Группа полос в области 680–780 см⁻¹ отнесена к симметричным колебаниям мостиковых связей Si—O—Si в [SiO₄]-тетраэдрах. Полосы поглощения в низкочастотной области 550–400 см⁻¹ связаны с деформационными колебаниями концевых связей O—Si—O и колебаниями связей кальция с кислородом в [CaO₆]-октаэдрах [10].

Полученный материал характеризуется регулярной структурой со сферической формой частиц (рис. 4, а, б) TiO₂–SiO₂, каркас равномерно закреплен на катионите (рис.4, д). Термическая обработка гибридных мезоструктур приводит к формированию мезопористых материалов со специфической регулярной структурой в нанометровом диапазоне и высоко-развитой поверхностью, что важно для закрепления биологических клеток на поверхности материалов при введении в биосреду.

На поверхности образцов, погруженных в раствор искусственной плазмы крови, присутствуют рыхлые частицы, наличие которых благоприятно для формирования прочного соединения имплантата с костью (рис. 4, в, з). После выдержки образцов в искусственной плазме крови происходит минерализация и осаждение кристаллов кальций-фосфатных соединений на активных центрах поверхности покрытия, о чем свидетельствует рост содержания ионов кальция и фосфора в образце Токем-200 с Ca²⁺ и нанесенным золев (рис. 5).

После погружения в раствор искусственной плазмы крови на поверхности образца обнаруживаются ионы натрия, что свидетельствует об осаждении компонентов раствора на поверхность образца. Ионы

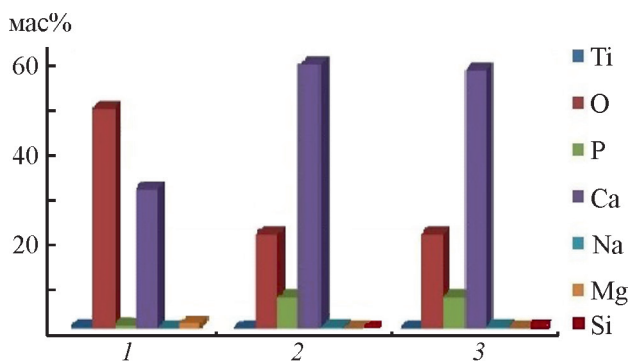
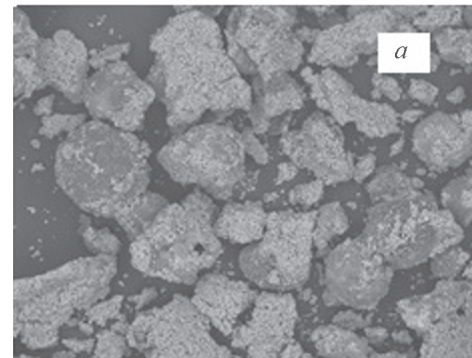


Рис. 5. Элементный состав поверхности образцов Токем-200 с Ca²⁺ и нанесенным золев до (1) и после (2, 3) погружения в раствор искусственной плазмы крови: без добавок (1, 2), в присутствии желатина (3).

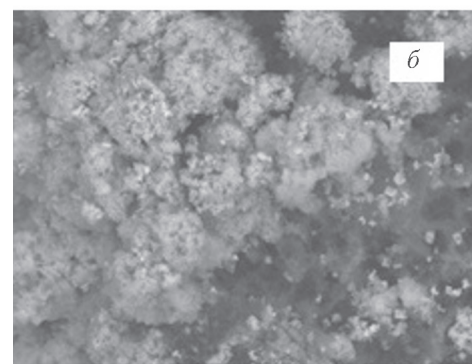
натрия и кремния способствуют ускорению процесса восстановления костной ткани [8].

На поверхности материала, находящегося в растворе искусственной плазмы крови, происходят как химические, так и структурные изменения, что ведет к увеличению pH раствора, находящегося вблизи поверхности материала. В момент погружения образцов в физиологический раствор наблюдался стремительный рост pH среды: в первые сутки pH вырос до 8.9, затем возрастание было не столь существенным (до 9.5). Рост pH свидетельствует о высокой реакционной способности исследуемых образцов и кристаллизации кальций-фосфатного слоя на поверхности материала [11, 12].

Для скрепления сферических частиц между собой при введении в биосреду необходима связующая добавка. В данной работе в качестве связующей добавки был выбран желатин из-за инертности последнего по отношению к исследуемому образцу. Исследуемые образцы помещали в желатин, а затем погружали в раствор искусственной плазмы крови, что привело к формированию на поверхности образцов высокопористых рыхлых частиц, поверхностный состав при этом



1 мкм



30 мкм

Рис. 6. Микрофотографии поверхности образцов Токем-200 с Ca²⁺ и нанесенным золев после погружения в раствор искусственной плазмы крови в присутствии желатина.

не изменяется (рис. 5, 6). Таким образом, желатин допустимо использовать в качестве связующей добавки.

Выводы

Золь-гель методом получены материалы на основе катионита Токем-200 с Ca^{2+} и нанесенным золев, характеризующиеся регулярной структурой и высококоразвитой поверхностью. На поверхности образцов Токем-200 с Ca^{2+} и нанесенным золев находятся активные центры (Si^{4+} , Ti^{4+}), которые способствуют минерализации и осаждению кристаллов кальций-фосфатных соединений на поверхность материалов в биологических средах. В качестве связующей добавки для скрепления сферических частиц между собой при введении в биосреду допустимо использовать желатин, так как он не влияет на поверхностный состав образцов.

Финансирование работы

Результаты получены в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации, проект № 0721-2020-0037.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Информация об авторах

Борило Людмила Павловна, д.т.н., проф.,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8639-0198>

Лютова Екатерина Сергеевна, к.т.н.,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8493-4537>

Козик Владимир Васильевич, д.т.н., проф.,
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8112-258>

Список литературы

- [1] Przekora A. Current trends in fabrication of biomaterials for bone and cartilage regeneration: Materials modifications and biophysical stimulations // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. ID 435. <https://doi.org/10.3390/ijms20020435>.
- [2] Aslanidou M., Vaimakis T., Mitsionis A., Trapalis C. A novel approach on the preparation of biphasic calcium phosphate bioceramics under physiological conditions. The effect of the starting material // *Ceram. Int.* 2013. V. 39. P. 539–546. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2012.06.060>
- [3] Смирнов В. В., Антонова О. С., Смирнов С. В., Гольдберг М. А., Комлев В. С., Баринов С. М. Влияние замещений кальция на титан и цирконий на фазообразование и структуру трикальцийфосфата и гидроксиапатита // *Неорган. материалы.* 2017. Т. 53. № 12. С. 1284–1291 [Smirnov V. V., Antonova O. S., Smirnov S. V., Goldberg M. A., Komlev V. S., Barinov S. M. Effect of titanium and zirconium substitutions for calcium on the formation and structure of tricalcium phosphate and hydroxyapatite // *Russ. J. Inorg. Mater.* 2017. V. 53. N 12. P. 1254–1260. <https://doi.org/10.7868/s0002337x17120065>].
- [4] Ortega B., Gardner C., Roberts S., Chung A., Wang J., Buser Z. Ceramic biologics for bony fusion — a journey from first to third generations // *Crit. Rev. Musc. Medic.* 2020. V. 13. N 4. P. 530–536. <https://doi.org/10.1007/s12178-020-09651-x>
- [5] Li H., Chang J. Stimulation of proangiogenesis by calcium silicate bioactive ceramic // *Acta Biomater.* 2013. V. 9. P. 5379–5389. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.10.019>
- [6] Борило Л. П., Козик В. В., Лютова Е. С., Жаркова В. В., Бричков А. С. Получение и свойства сферических биоматериалов для системы TiO_2-SiO_2/CaO с использованием золь-гель метода // *Стекло и керамика.* 2019. Т. 76. № 8. С. 44–50 [Borilo L. P., Kozik V. V., Lyutova E. S., Zharkova V. V., Brichkov A. S. Sol-gel production and properties of spherical biomaterials for the system TiO_2-SiO_2/CaO // *Russ. J. Glass Ceram.* 2019. V. 76. N 7–8. P. 315–320. <https://doi.org/10.1007/s10717-019-00191-6>].
- [7] Li X., Wang M., Deng Y., Xiao Y., Zhang X. Fabrication and properties of Ca-P bioceramic spherical granules with interconnected porous structure // *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2017. V. 3. N 8. P. 1557–1566. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.7b00232>
- [8] Balamurugan A., Sockalingum G., Michel J., Faurü J., Banchet V., Wortham L., Bouthors S., Laurent-Maquin D., Balossier G. Synthesis and characterisation of sol gel derived bioactive glass for biomedical applications // *Mater. Lett.* 2006. N 60. P. 3752–3757. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2006.03.102>
- [9] Kokubo T., Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? // *Biomaterials.* 2006. V. 27. P. 2907–2915. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>
- [10] Vijayalakshmi U., Rajeswari S. Preparation and characterization of microcrystalline hydroxyapatite using sol gel method // *Trends Biomater. Artif. Org.* 2006. V. 19. N 2. P. 57–62.
- [11] Bjornoy S. H., Bassett D. C., Ucar S., Andreassen J.-P., Sikorski P. A. A correlative spatiotemporal microscale study of calcium phosphate formation and transformation within an alginate hydrogel matrix // *Acta Biomater.* 2016. N 44. P. 254–266. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.08.041>
- [12] Borilo L. P., Lyutova E. S., Spivakova L. N. Study of biological properties of thin-film materials on the basis of the $SiO_2-P_2O_5-CaO$ system // *Key Eng. Mater.* 2016. N 683. 427–432. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.683.427>