

УДК 681.2

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОАКТИВНОСТИ И СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ НАНОРАЗМЕРНОГО КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩЕГО ГИДРОКСИАПАТИТА

Трубицын М.А., Габрук Н.Г., Олейникова И.И., Ле Ван Тхуан, Доан Ван Дат,
Хоанг Вьет Хунг

*Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород,
e-mail: gabruk@bsu.edu.ru*

Приведены результаты исследования биоактивности и сорбционных свойств синтетических образцов наноразмерного кремнийсодержащего гидроксиапатита (Si-ГАП) двумя разными методами. Установлено, что оба используемых метода исследования биоактивности дают сопоставимые результаты. Выявлено, что образцы Si-ГАП имеют повышенную биоактивность по сравнению с немодифицированным гидроксиапатитом, и биоактивность образцов Si-ГАП имеет прямую зависимость от содержания ионов кремния. Внедрение биосовместимых силикат-ионов кремния в кристаллическую решетку гидроксиапатита вызывает существенное уменьшение его размера и, следовательно, повышение удельной поверхности, что приводит к увеличению его сорбционной активности по отношению к ионам меди. Предельная сорбция ионов меди на различных образцах Si-ГАП составляет от 0,69–1,27 моль/г. Доказано, что одним из механизмов данной сорбции является ионно-обменный. Полученные результаты исследования дают основание полагать, что наноразмерный кремнийсодержащий гидроксиапатит является перспективным биоматериалом для ортопедического и дентального протезирования.

Ключевые слова: гидроксиапатит, кремнийсодержащий гидроксиапатит, биоактивность, сорбционная способность

RESEARCH BIOACTIVITY AND SORPTION PROPERTIES OF NANOSILICATE-SUBSTITUTED HYDROXYAPATITE

Trubitsyn M.A., Gabruk N.G., Oleynikova I.I., Le Van Thuan, Doan Van Dat,
Hoang Viet Hung

Belgorod the state national research university, Belgorod, e-mail: gabruk@bsu.edu.ru

An investigation was undertaken to explore of bioactivity of nano-sized silicon samples of synthetic hydroxyapatite (Si-HA). Were used two methods to study the sorption of copper ions on them. The study provides strong evidence that both methods give comparable results that the samples Si-HA have an increased bioavailability as compared to the unmodified hydroxyapatite. With increasing silicon content in the samples of Si-GAP increases their bioactivity. The introduction of biocompatible silicate ions in the silicon crystal lattice of hydroxyapatite causes a significant reduction in its size and thus increasing the specific surface area, which leads to an increase in its sorption capacity for copper ions. This volume also increases with increasing silicon content. The limiting sorption of copper ions in different samples of Si-HAP is from 0,69–1,27 mol/g. It is proved that one of the mechanisms of this sorption is an ion-exchange. The obtained results of the study suggest that a silicon nanoscale hydroxyapatite promising biomaterial for orthopedic and dental prosthesis.

Keywords: hydroxyapatite, silicate-substituted hydroxyapatite, bioavailability, sorption capacity

В настоящее время гидроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (ГАП) представляет значительный интерес в качестве синтетического материала для костной трансплантации. Главное преимущество такого материала состоит в том, что он обладает высокой биологической совместимостью и остеокондуктивностью *in vivo*, имеет большое сходство по составу с костью животных и людей, не вызывает аллергических реакций и не токсичен [4]. Однако его клиническое применение остается ограниченным из-за высокой хрупкости и низкой скорости резорбции при контакте с межтканевыми жидкостями в организме по сравнению с некоторыми биологически активными стеклами и стеклокерамикой. Рассмотрение сложной химии костной ткани дает объяснение медленной остеоинтеграции имплантатов на основе ГАП. Несмотря на то, что

костная ткань по существу имеет кальций-фосфатный состав, она также содержит значительные концентрации других ионов, способных к замещению на различные катионы и анионы, присутствующие в апатитовой структуре. Тип и количество ионов замещения в апатитовой фазе варьируются от нескольких массовых процентов (например, CO_3^{2-}) до сотых и тысячных долей процента (например, Mg^{2+} или Sr^{2+}). Эти ионные замещения приводят к формированию сложных структур на кристаллохимическом уровне и оказывают важное влияние на скорость растворения и биологическую активность костной ткани [5–6].

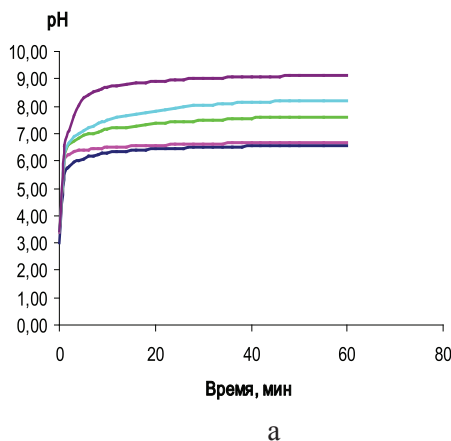
Исследование роли кремния в костной ткани ведется с начала 1970-х годов. Карлайл [8] сообщал, что кремний (~5% масс.) содержится в активных зонах роста, таких как остеоиды молодых костей

мышей и крыс, а дефицит кремния приводит к аномальному развитию скелета. Подобные исследования Шварца и Милна [7] на крысах показали, что дефицит кремния приводит к деформации черепа в результате формирования несовершенных минеральных кристаллов, а также доказали прямую зависимость между долей кремния и минерализацией кости. На физиологическом уровне кремний играет положительную роль в кальцификации костей и обмене веществ, поэтому предполагается, что включение сопоставимых количеств силикатных ионов в структуру ГАП может также повысить биоактивность этих имплантатов. Биоактивность – комплексная характеристика совместимых с организмом материалов, учитывающая помимо биологических процессов роста и дифференциации клеток скорость растворения материала в слабнокислой среде, создаваемой определенными группами клеток и скорость осаждения гидроксиапатита из межтканевой жидкости организма на поверхности материала [1]. Кроме того, сорбционная способность тоже является важной характеристикой для биоматериалов.

Цель работы – исследование биоактивности и сорбционных свойств различных синтетических образцов наноразмерного Si-ГАП.

Материалы и методы исследования

Различные образцы наноразмерного Si-ГАП ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$, $0 \leq x \leq 2$) были синтезированы методом осаждения из растворов, описанным в работе [2]. В качестве реагентов были использованы насыщенный раствор гидроксида кальция, раствор ортофосфорной кислоты. В качестве реагента – «поставщика» аниона SiO_4^{4-} выбрали тетраэтоксисилан. Средний размер кристаллов полученных порошков определили методом Williamson–Hall на дифрактометре Rigaku Ultima IV, а их удельную поверхность – методом низкотемпературной адсорбции и термодесорбции азота (метод БЭТ) на газо-адсорбционном анализаторе TriStar II 3020.



Для оценки биоактивности Si-ГАП были выбраны два метода исследования:

1) динамический метод – путем фиксации изменения значений pH при растворении образцов Si-ГАП в разбавленной соляной кислоте. Навеску 0,1 г образца Si-ГАП с точностью 0,0002 г помещали в 50 мл раствора хлороводородной кислоты с $C(1/1\text{HCl}) = 10^{-3}$ М и измеряли значение pH раствора с помощью pH-метра Metter Toledo с периодичностью 2 минуты при непрерывном перемешивании.

2) статический метод – путем аналитического определения концентрации катионов кальция при растворении образцов Si-ГАП в ацетатном буферном растворе с разным временем экспозиции. Навески Si-ГАП массой $0,1 \pm 0,0002$ г помещали в химические стаканы, содержащие 50 мл ацетатного буферного раствора с pH = 5,5, перемешивали и оставляли. По окончании требуемого времени экспозиции в коническую колбу отбирали точно 10 мл исследуемого раствора, добавляли 20 мл бидистиллированной воды, 2–4 капли концентрированного раствора аммиака и титровали раствором $C(1/2 \text{ ЭДТА}) = 5 \cdot 10^{-3}$ М в присутствии эриохрома черного – T до перехода окраски в точке эквивалентности от красного до синего. Массовый процент выхода кальция в раствор в зависимости от исходного содержания кальция в образце Si-ГАП рассчитывали по формуле

$$\eta = 1625 V_T$$

где V_T – объем титранта, израсходованный на титрование, мл.

С целью оценки сорбционной способности образцов Si-ГАП в качестве сорбата выбрали ионы меди. Навески Si-ГАП массой $0,3 \pm 0,0020$ г помещали в химические стаканы, содержащие 25 мл раствора сульфата меди с концентрацией ионов меди от 0,01 до 0,1 М. Время экспозиции составило 3 часа. Равновесные концентрации растворов меди были определены спектрофотометрическим методом по методике [3] при длине волны 610 нм в кюветках толщиной 10,02 мм на спектрофотометр LEKI SS1104.

Результаты исследования и их обсуждение

На рис. 1 представлены результаты исследования биоактивности ГАП ($x = 0,5; 1,0; 1,5; \text{ и } 2,0$) двумя методами.

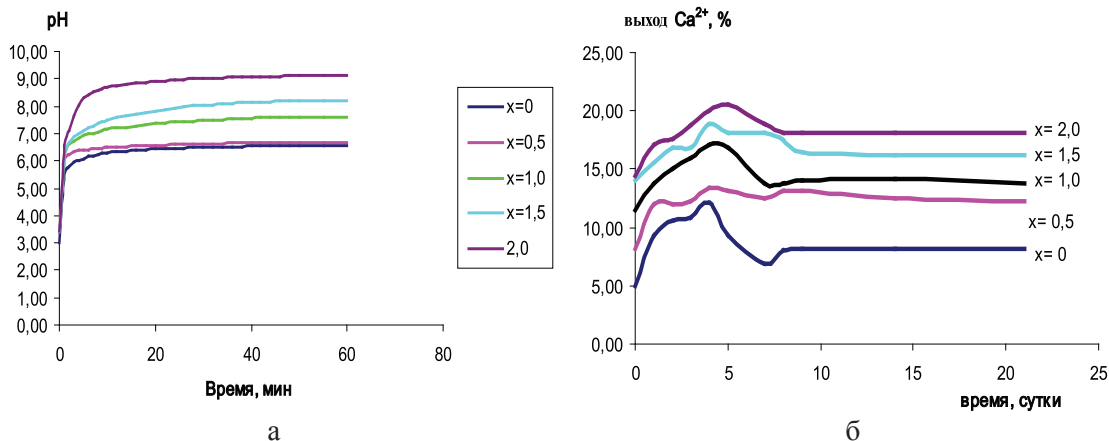


Рис. 1. Динамика растворения образцов Si-ГАП в HCl (а) и ацетатном буферном растворе (б)

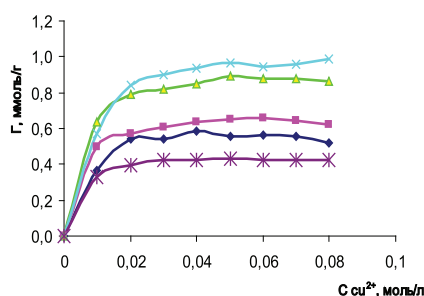
Диаграммы, приведенные на рис. 1, а и б, показывают, что оба метода дают сопоставимые результаты. Образцы Si-ГАП имеют повышенную резорбируемость по сравнению с немодифицированным ГАП. Это подтверждает, что внедрение силикат-ионов в решетку ГАП приводит к увеличению его биоактивности и зависит от содержания ионов кремния в образце. Самой высокой биоактивностью обладает Si_{2,0}-ГАП (рис. 1, а). Интересно отметить, что выход кальция образцов Si-ГАП в ацетатный буферный раствор быстро растет в начальное время исследования и через 4 суток достигает максимального значения, после которого содержание кальция в растворе уменьшается до восьмидесяти суток и далее удерживается постоянным (рис. 1, б). Объяснение выявленного факта требует дополнительного

изучения. Предполагается, что в ацетатном буферном растворе образцы Si-ГАП постепенно растворяются и выделяются ионы Ca²⁺. Когда концентрация Ca²⁺ достигает насыщения в данном растворе, происходит сорбция этих ионов на оставшихся частях Si-ГАП. Считается, что размер частиц и их удельная поверхность являются определяющими фактами для сорбционной способности данного материала. Из табл. 1 видно, что размер кристаллов частиц Si-ГАП примерно в 3 раза меньше, чем немодифицированного ГАП. При повышении содержания кремния в образцах Si-ГАП наблюдается уменьшение размера кристаллов и увеличение их удельной поверхности, и, соответственно, улучшает сорбционные свойства ГАП, что подтверждается результатами исследования сорбции на них ионов меди (рис. 2).

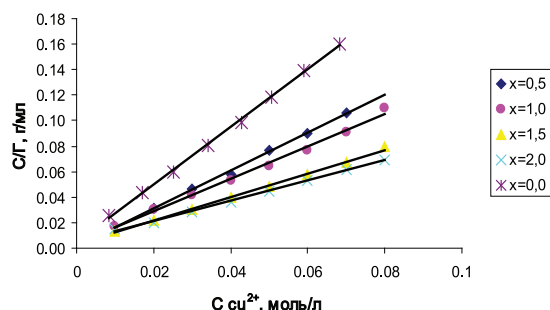
Таблица 1

Размер кристаллов и удельная поверхность образцов Si-ГАП

x	Содержание Si в образце, %	Размер кристаллов, нм	Удельная поверхность, м ² /г
0,0	0,00	65,51	27,70
0,5	1,40	19,29	59,07
1,0	2,85	12,78	65,99
1,5	4,31	11,37	108,97
2,0	5,81	11,68	122,22



а



б

Рис. 2. Изотерма (а) и линейризованная изотерма (б) сорбции ионов меди на образцах Si-ГАП

Полученные изотермы сорбции ионов меди на образцах Si-ГАП полностью соответствуют изотермам мономолекулярной адсорбции Лэнгмюра (рис. 2, а). Результаты исследования показывают, что Si-ГАП оказывает повышенную сорбционную способность по сравнению с немодифицированным ГАП, и эта величина прямо зависит от содержания кремния. Наилучшей сорбционной активностью по отношению к сорбату обладает Si_{2,0}-ГАП.

Из линейризованной изотермы (рис. 2, б) определили величину предельной сорбции Γ_{∞} образцов Si-ГАП по формуле

$$\Gamma_{\infty} = \frac{1}{\text{tg}\alpha},$$

где $\text{tg}\alpha$ – тангенс угла наклона линейризованной изотермы (табл. 2). Величина предельной сорбции Si_{2,0}-ГАП по меди составляет 1,27 ммоль/г, что примерно в 3 раза больше предельной сорбции немодифицированного ГАП.

Таблица 2
Величины предельной сорбции образцов Si-ГАП

x	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00
$\text{tg}\alpha$, г/ммоль	2,27	1,45	1,28	0,93	0,79
Γ_{∞} , ммоль/г	0,44	0,69	0,78	1,08	1,27

Одним из предполагаемых механизмов сорбции является ионный обмен. Предпосылкой для этого является то, что ионы кальция в кристаллической решетке Si-ГАП могут быть замещены на катионы бивалентных металлов близкого радиуса. Для уточнения механизма сорбции меди на Si-ГАП

измерялась концентрация ионов кальция в растворе после сорбции на образце $\text{Si}_{2,0}$ -ГАП методом комплекснометрического титрования, который описан выше. Масса навески $\text{Si}_{2,0}$ -ГАП составила $0,5 \pm 0,0020$ г. Разные концентрации растворов сульфата меди были выбраны так, чтобы ионы меди полностью сорбировались на навесках $\text{Si}_{2,0}$ -ГАП. В данной работе концентрации растворов сульфата меди составили 0,0050; 0,0075; 0,0100; 0,0150 и 0,0200 моль/л. В качестве холостого раствора, не содержащего ионы меди, использовали бидистиллированную воду. Результаты исследования представлены на рис. 3.

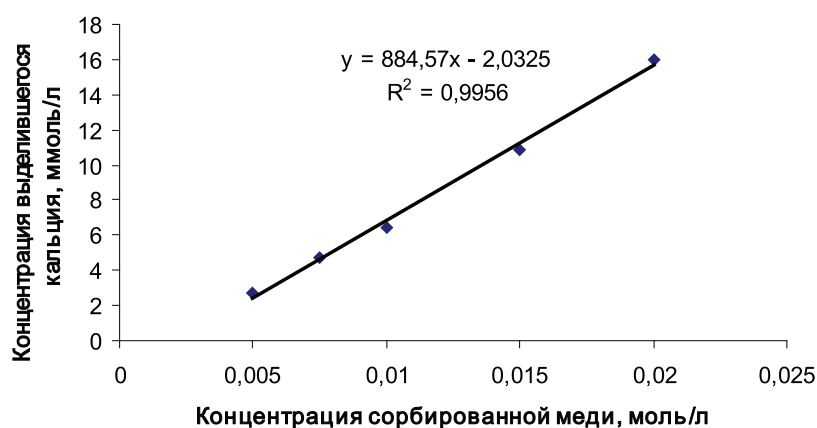


Рис. 3. Зависимость концентрации выделившегося Ca^{2+} в результате сорбции ионов меди на образце $\text{Si}_{2,0}$ -ГАП от концентрации сорбированных ионов меди

Линейная зависимость между количеством сорбированных ионов Cu^{2+} и выделившихся Ca^{2+} является доказательством о ионно-обменном механизме сорбции ионов меди на Si-ГАП. Тем не менее ионный обмен – только один из возможных механизмов сорбции, т.к., согласно результатам аппроксимации полученных данных, только примерно половины выделившихся ионов кальция замещаются на ионы меди.

Выводы

1. Внедрение силикат-ионов в кристаллическую решетку ГАП повышает его биоактивность, которая имеет прямую зависимость от содержания кремния в образцах Si-ГАП.

2. По сравнению с немодифицированным ГАП образцы Si-ГАП имеют повышенную сорбционную активность к ионам меди, которая возрастает при увеличении содержания кремния. Предельная сорбция ионов меди на различных образцах Si-ГАП составляет от 0,69–1,27 ммоль/г. Установле-

но, что одним из механизмов данной сорбции является ионно-обменный.

3. Полученные результаты исследования дают основание полагать, что наноразмерный кремнийсодержащий гидроксипатит является перспективным биоматериалом для ортопедического и дентального протезирования.

Работа выполнена в рамках договора об условиях предоставления и использования субсидии на реализацию комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства, выполняемого с участием российского высшего учебного заведения № 13.G25.31.0006 от 07.09.2010 г. «Биосовместимые композиционные и кальцийсодержащие остеопластические и лечебно-профилактические материалы для медицины».

Список литературы

1. Вересов А. Г., Путляев В. И., Третьяков Ю. Д. Химия неорганических биоматериалов на основе фосфатов кальция // Рос. хим. ж (Ж. Рос. Хим. Об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2004. – т. XLVIII. – № 4. – С. 52–64.

2. Ле Ван Тхуан, Доан Ван Дат, Гулден Ерлановна Термирханова. Синтез и исследование морфологии кремний-замещенного наноразмерного гидроксилатапата // Научная инициатива иностранных студентов и аспирантов российских вузов: Сборник докладов IV Всероссийской научно-практической конференции. – Томск, 24–26 мая 2011 года. – Томск: Издательство ТПУ, 2011. – С. 346–349.

3. Садименко Л.П., Князева Т.В., Цыганков Е.М. Методическое пособие к практическим занятиям по аналитической химии. Количественный анализ. Ч. 5. Оптические методы анализа. – Ростов-на-Дону: Изд-во РГУ, 2004. – 31 с.

4. Трубицын М.А., Габрук Н.А., Олейникова И.И., Ле Ван Тхуан, Доан Ван Дат, Термирханова Г.Е. Синтез и исследование морфологии модифицированных наноразмерных гидроксилатапатов // Вестник: серия химическая. КазНУ им. аль-Фараби. – 2011. – № 3(63). – С. 163–167.

5. Arends J, Jongebloed WL. Dislocations and dissolution in apatites/ Theoretical considerations // *Calcif Tissue Res.* – 1977. – Vol 24. – P. 19–27.

6. Bigi A., Falini G., Foresti E. Magnesium influence on hydroxyapatite crystallization // *J. Inorganic Biochemistry.* – 1993. – Vol. 49. – P. 69–78.

7. De Groot K. Biocompatibility of Implant Materials. CRC Press, Boca Raton, Florida. – 1981. – Vol. 1. – P. 199.

8. Patel N., Brooks R.A., Clarke M.T., Lee M.T., Rush ton N. In vivo assessment of hydroxyapatite and silicate-substituted hydroxyapatite granules using an ovine defect model. *Journal of materials science: materials in medicine.* – 2005. – № 16. – P. 429–440.

References

1. Veresov A.G., Putlyaev V.I., Tretyakov Y.D. *Ros. Khi. J.*, 2004, no. 4, pp. 52–64.

2. Le Van Thuan, Doan Van Dat, Gulden Erlanovna Termirhanova. *Nauchnaja initsiativa inostrannyh studentov i aspirantov*

rossijskih vuzov: Sbornik dokladov IV Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii [Science Initiative of foreign undergraduate and graduate students of Russian universities: Proceedings of the IV All-Russian scientific-practical conference]. Tomsk, 2011, pp. 346–349.

3. Sadimenko L.P., Knjazeva T.V., Cygankov E.M. *Kolichestvennyj analiz. Ch. 5. Opticheskie metody analiza* [A quantitative analysis. Ch 5. Optical methods of analysis]. Rostov-na-Donu, 2004. 31 p.

4. Trubitsyn M.A., Gabruk N.A., Olejnikova I.I., Le Van Thuan, Doan Van Dat, Termirhanova G.E. *Vestnik: serija himicheskaja.* KazNU im. al' Farabi. No. 3(63), 2011, pp. 163–167.

5. Arends J, Jongebloed W.L. Theoretical consideration. *Calcif Tissue Res*, 1977, vol 24, pp. 19–27.

6. Bigi A., Falini G., Foresti E. *J. Inorganic Biochemistry*, 1993, vol. 49, pp. 69–78.

7. De Groot K. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1981. Vol. 1, pp. 199.

8. Patel N., Brooks R.A., Clarke M.T., Lee M.T., Rush ton N. *Journal of materials science: materials in medicine* 16 (2005) pp. 429–440.

Рецензенты:

Евтушенко Е.И., д.т.н., профессор, зав. кафедрой стекла и керамики, Белгородский государственный технологический университет им. В.Г. Шухова, г. Белгород;

Жилякова Е.Т., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической технологии, управления и экономики здравоохранения, ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород.

Работа поступила в редакцию 27.01.2014.