

НЕКОТОРЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГРАНУЛ ИЗ ТРИКАЛЬЦИЯ ФОСФАТА, ВОЛЛАСТОНИТА И ЖЕЛАТИНА

SOME CHARACTERISTICS OF TRICALCIUM PHOSPHATE, WOLLASTONITE AND GELATINE GRANULES

А. Е. Шевченко, А. П. Солоненко, А. А. Жуковская

Омский государственный медицинский университет, г. Омск, Россия

A. E. Shevchenko, A. P. Solonenko, A. A. Zhukovskaya

Omsk State Medical University, Omsk, Russia

Аннотация. По эмульсионной технологии получена серия композитных гранул из синтетических порошков, содержащих трикальций фосфат и волластонит в различных соотношениях, а также желатин, выступающий в качестве связующего компонента. Установлено, что экспериментальные материалы содержат только целевые компоненты (83–87 масс.% β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в смеси с β - CaSiO_3) и желатин (13–17 масс.%)). Гранулы имеют среднюю плотность не менее 1 г/см³, истинную плотность не менее 2.2 г/см³ и открытую пористость 40–50 %. Они могут быть использованы в травматологии и ортопедии для заполнения и восстановления дефектов костной ткани человека.

Ключевые слова: биоматериалы, гранулы, волластонит, трикальций фосфат, желатин.

Abstract. A series of composite granules was obtained using the emulsion technology from synthetic powders containing tricalcium phosphate and wollastonite in various ratios, and gelatine, which acts as a binder. The experimental materials contain only the target components (83–87 wt.% β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ in a mixture with β - CaSiO_3) and gelatine (13–17 wt.%). The granules have an average density of at least 1 g/cm³, a true density of at least 2.2 g/cm³, and an open porosity of 40–50%. They can be used in traumatology and orthopedics to fill and restore defects in human bone tissue.

Keyword: biomaterials, granules, wollastonite, tricalcium phosphate, gelatin.

I. ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия в травматологии и ортопедии большой интерес с точки зрения возможности применения для восстановления целостности и объема твёрдых тканей вызывают материалы на основе синтетических биосовместимых веществ. Их в определенной степени стремятся приблизить к костной ткани человека. Известно, что кость состоит из минеральной фазы (нанокристаллы карбонатгидроксиапатита), органической составляющей (90–95 % коллагена и 3–5 % неколлагеновых белков) и воды [1]. Коллаген определяет механические свойства кости, предотвращает развитие хрупкости костного вещества. Поэтому присутствие органических веществ в составе биоматериалов способствует улучшению их физико-химических и механических свойств, а также увеличению скорости растворения *in vivo*, что является благоприятным фактором в рамках регенерационной концепции. Чаще всего в качестве органической составляющей используют коллаген, желатин, полисахариды (хитин, хитозан, крахмал, гиалуроновую кислоту, хондроитинсульфат и т.д.), а также синтетические полимеры: полилактиды и их сополимеры с полигликолидами, поликапролактон и некоторые другие [1]. Так, в работе [2] получен биокомпозит на основе гидроксиапатита (ГА , $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) и коллагена, имеющего пористую структуру и состав, приближенный к нативной кости по массовому соотношению коллаген – ГА. Также коммерческие гранулы «Коллапан» включают коллаген [3]. Гранулы «Биальгин» содержат аморфный ГА в полисахаридной матрице альгината натрия [4]. В работах [5, 6] описаны материалы, содержащие желатин в качестве органического связующего. Известно, что желатин является продуктом частичного гидролиза коллагена и не обладает потенциально опасными для организма человека свойствами.

Минеральная фаза подобных материалов состоит, главным образом, из фосфатов кальция, чаще всего ГА и трикальция фосфата (ТКФ, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). Материалы на основе ТКФ обладают высокой биосовместимостью и способны стимулировать остеокондукцию и остеоинтеграцию [7]. Также в последние года наряду с фосфатами кальция активно исследуются силикаты кальция (СК) как перспективные стимуляторы процессов репаративного остеогенеза [8]. Отмечается, что ионы SiO_3^{2-} усиливают пролиферацию клеток, а также активизируют процессы остеогенеза и ангиогенеза. В этой связи представляет интерес получение и исследование свойств материалов, сочетающих в своем составе органический биосовместимый компонент (желатин) с трикальция фосфатом и метасиликатом кальция (волластонитом, ВТ, $\beta\text{-CaSiO}_3$).

II. ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ

Задача данной работы – получение и физико-химическое исследование гранул на основе трикальция фосфата, волластонита и желатина с различными пропорциями компонентов минеральной составляющей.

III. ТЕОРИЯ

Порошки ТКФ и ВТ синтезировали по реакциям осаждения (1 - 2) и (3 - 4), соответственно. Далее их механически смешивали в массовых пропорциях ТКФ/ВТ 80/20, 60/40, 40/60 и 20/80 и использовали для формирования гранул. Также получены гранулы из порошков ТКФ и ВТ.

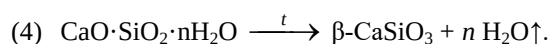
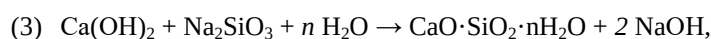
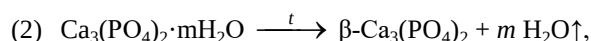
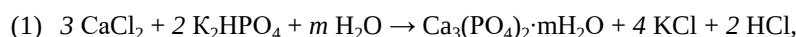


Схема получения объемных материалов приведена на рис. 1. Керамические порошки с заданным массовым соотношением ТКФ/ВТ смешивали с 15 % водного раствора желатина, разогретого до 40 °С, в пропорции 1: 1.2–1.8 г/мл и перемешивали до получения однородной суспензии. Далее ее добавляли по каплям в растительное масло, перемешиваемое при помощи магнитной мешалки со скоростью 1000 об/мин. Образовавшиеся под действием центробежной силы сферические гранулы охлаждали, отмывали от масла изопропиловым спиртом и высушивали при комнатной температуре в течение 24 часов.

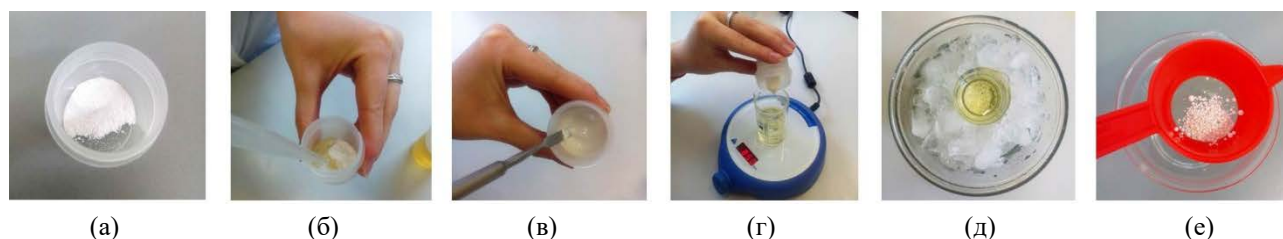


Рис. 1. Схема получения гранул:

- а – подготовка порошка, б – прибавление желатина, в – смешение порошка и желатина,
г – прикапывание суспензии к маслу при перемешивании, д – выдерживание гранул на холоде,
е – отмывка гранул от масла и высушивание на воздухе

ИК-спектры поглощения образцов (в виде таблеток с KBr) регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре «ФТ-801» (Simex). Содержание желатина в материалах определяли по величине массовых потерь образцов различного состава при их прокаливании на воздухе в интервале температур 200–500 °С в муфельной печи «ЭКПС-5» (СКТБ СПУ). Для оценки средней плотности отбирали серию гранул (не менее 30 шт.), для каждой из которых определяли массу, измеряли диаметр и рассчитывали значение плотности как отношение массы к объёму, исходя из предположения о сферической форме частиц [9]. Истинную плотность и пористость устанавливали пикнометрическим методом. Расчёт пористости проводили по значениям средней и истинной плотности [9].

IV. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Для верификации состава гранул выполнено их исследование методом ИК-Фурье-спектроскопии, поскольку данный метод позволяет определять органические и минеральные компоненты, в том числе находящиеся в аморфной форме. ИК-спектры гранул из порошков с различной пропорцией ТКФ/ВТ представлены на рис. 2. Установлено, что ИК-спектры гранул содержат все основные полосы поглощения валентных и деформационных колебаний, характерных для ТКФ, ВТ и желатина, то есть все исходные компоненты входят в состав материалов без изменений.

На присутствие в составе гранул ТКФ указывают максимумы поглощения при 545, 589 и 602 см^{-1} , соответствующие валентным колебаниям О-Р-О, а также моды валентных колебаний Р-О при 945, 972, 1035 и 1118 см^{-1} [10]. При 565 см^{-1} фиксируется пик деформационных колебаний О-Si-O, характерный для ВТ. Дублет 647 и 684 см^{-1} соответствует валентным симметричным колебаниям силоксановых мостиков Si-O-Si. Пики в области 850–1100 см^{-1} относятся к асимметричным валентным колебаниям связей Si-O в тетраэдрах SiO₄. Плечо при 1200 см^{-1} соответствует валентному асимметричному колебанию фрагмента Si-O-Si, соединяющего силикатные цепочки в β -CaSiO₃ [11]. Также в ИК-спектрах наблюдаются моды колебаний органических группировок, указывающих на присутствие желатина. В области 1260–1400 см^{-1} фиксируются полосы поглощения, вызванные колебаниями карбоксильных группировок в желатине I типа. При 1550 см^{-1} наблюдается мода деформационных колебаний связей N-H в амиде II. При 1650 см^{-1} проявляются полосы деформационных колебаний связей N-H и валентные колебания связей C=O и O-H [12].

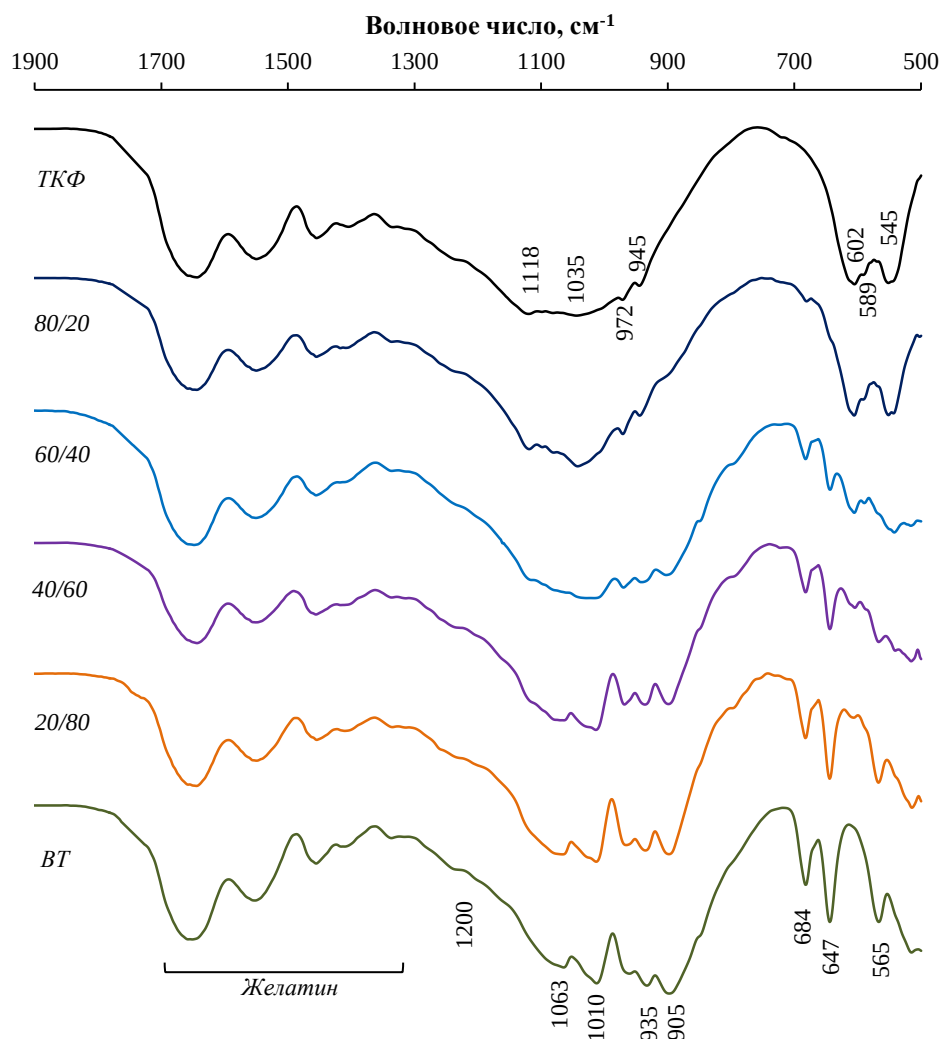


Рис. 2. ИК-спектры гранул с различной пропорцией ТКФ/ВТ

Оценка массовых потерь гранул при прокаливании показала, что в состав материалов входит 13–17 масс. % желатина (табл. 1), остальное – минеральная фаза (смесь ТКФ и ВТ в различных пропорциях). При этом доля органического компонента слабо возрастает по мере увеличения содержания ВТ в материалах. Аналогичная тенденция изменения зафиксирована для открытой пористости, тогда как средняя и истинная плотности снижаются при переходе к гранулам из ВТ (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1
ХАРАКТЕРИСТИКИ ГРАНУЛ

ТКФ/ВТ, масс. %	$W_{\text{жел}}$, масс. %	$\rho_{\text{ср}}$, г/см ³	$\rho_{\text{ист}}$, г/см ³	П, %
100 / 0	13.12 ± 0.27	1.57 ± 0.03	2.75 ± 0.07	42.9 ± 1.5
80 / 20	13.45 ± 0.08	1.44 ± 0.01	2.44 ± 0.10	40.9 ± 2.5
60 / 40	13.54 ± 0.44	1.39 ± 0.02	2.53 ± 0.05	45.3 ± 1.0
40 / 60	14.83 ± 0.37	1.27 ± 0.02	2.35 ± 0.04	46.0 ± 0.8
20 / 80	15.47 ± 0.34	1.29 ± 0.02	2.45 ± 0.09	45.5 ± 2.0
0 / 100	17.46 ± 0.13	1.09 ± 0.01	2.20 ± 0.01	50.5 ± 0.2

Обозначения: $W_{\text{жел}}$ – содержание желатина в гранулах, $\rho_{\text{ср}}$, $\rho_{\text{ист}}$ – средняя и истинная плотность гранул, П – открытая пористость гранул

V. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе выполнено формование синтетических керамических порошков с варьируемой пропорцией ТКФ/ВТ с применением эмульсионного метода. Получены полидисперсные образцы гранул с формой, близкой к сферической, и диаметрами до 3 мм.

Методом ИК-Фурье-спектроскопии верифицирован состав получаемых материалов. Зафиксировано наличие в составе исследуемых образцов ТКФ, ВТ и желатина, а также отсутствие примесных компонентов и/или реактивов, используемых на этапе синтеза и промывки гранул (растительное масло, изопропиловый спирт). Показано, что по мере увеличения доли ВТ в составе гранул, моды валентных и деформационных колебаний, характерных для силикатной фазы, ожидаемо, становятся более выраженными, тогда как интенсивность полос поглощения колебаний фосфат-ионов из состава ТКФ уменьшается. Полосы поглощения группировок органической составляющей имеют близкую интенсивность в ИК-спектрах гранул с различной пропорцией ТКФ/ВТ. Содержание желатина возрастает от 13 масс.% в гранулах из ТКФ до 17.5 масс.% в гранулах из ВТ, что может быть связано с разницей в дисперсности порошков фосфата и силиката кальция или их смачиваемости раствором желатина.

Установлено, что средняя и истинная плотности материалов составляют, соответственно, не менее 1.0 и 2.2 г/см³. Гранулы тяжелее воды, при смачивании водными растворами (к ним относятся все биологические жидкости) частицы тонут, что, в случае биомедицинского применения, позволит материалу оставаться в месте имплантации.

Все составы гранул имеют открытую пористость в интервале 40–50 %. Данные значения пористости обеспечивают проникновение в материал физиологических жидкостей, кровеносных сосудов и остеобластов, а также прорастание и фиксацию костной ткани *in vivo*.

VI. ВЫВОДЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Осуществлен синтез гранул из синтетических порошков, содержащих от 0 до 100 масс.% ТКФ в смеси с ВТ. Установлено, что полученные сферические частицы помимо $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и $\beta\text{-CaSiO}_3$ включают 13–17 масс. % желатина, выступающего в качестве связующего компонента, склеивающего керамические частицы. Гранулы характеризуются открытой пористостью в интервале 40–50 % и могут быть использованы в травматологии, ортопедии и стоматологии в качестве материалов для заполнения и восстановления дефектов костной ткани.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баринов С. М. Керамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция для медицины // Успехи химии. 2010. Т. 79, № 1. С. 15–32.
2. Горшнев В. Н., Телешев А. Т. Коллаген-гидроксиапатитовый композит медицинского назначения // Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФА-2015: материалы X междунар. науч.-техн. конф. 2015. С. 156–159.
3. Берченко Г. Н., Кесян Г. А., Микелаишвили Д. С. Применение биокомпозиционного наноструктурированного препарата Коллапан и обогащённой тромбоцитами аутоплазмы в инжиниринге костной ткани // Травма. 2010. Т. 11, № 1. С. 7–14.
4. Кирилова И. А., Садовой М. А., Подорожная В. Т. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства // Хирургия позвоночника. 2012. Т. 3. С. 72–83.
5. Пономарева Н. И., Попрыгина Т. Д., Карпов С. И. [и др.]. Синтез композитов гидроксиапатита с биополимерами с повышенной микротвёрдостью // Вестник ВГУ, серия: химия, биология, фармация. 2012. № 2. С. 82–86.
6. Yokota K., Matsuno T., Tabata Y., Mataga I. Evaluation of porous hydroxyapatite granule and gelatin hydrogel microsphere composite in bone regeneration // Journal of Hard Tissue Biology. 2017. Vol. 26 (2). P. 203–214.
7. Курманалина М. А., Ураз Р. М. Синтетические биоматериалы в стоматологии // Вестник КазНМУ. 2018. № 1. С. 538–541.
8. Wu C., Chang J. A review of bioactive silicate ceramics // Biomedical Materials. 2013. Vol. 8. 12 p.
9. Скрипникова Н. К., Тогидний М. Л. Методы определения основных свойств строительных материалов: методические указания к лабораторным работам. Томск: Изд-во Томского архитектурно-строительного ун-та, 2013. 20 с.
10. Rey C., Marsan O., Combes C. [et al.]. Characterization of calcium phosphates using vibrational spectroscopies // Advances in Calcium Phosphate Biomaterials. 2014. P. 229–266.
11. Handke M. FT-IR isotopic shifted spectra of calcium silicates // Fourier and computerized infrared spectroscopy. 1985. Vol. 553. P. 395–396.
12. Hossana M. J., Gafurb M. A., Kadirb M. R., Karima M. M. Preparation and characterization of gelatin-hydroxyapatite composite for bone tissue engineering // International Journal of Engineering & Technology IJET-IJENS. 2014. Vol. 14, no 1. P. 24–32.