

УДК 546.41-185

МИНЕРАЛ-ПОЛИМЕРНЫЕ КОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ ГИДРОКСИАПАТИТА С ПОЛИВИНИЛПИРРОЛИДОНОМ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

И. В. Фадеева^{1,*}, Ф. И. Грабовенко², А. С. Фомин¹,
член-корреспондент РАН С. М. Баринов¹, Ф. Ф. Мурзаханов³,
А. И. Ахмед³, Г. В. Мамин³

Поступило 24.04.2019 г.

Химическим осаждением из растворов нитратов солей и кислого фосфата аммония в растворе поливинилпирролидона (ПВП) синтезированы нанокомпозиты в системе гидроксиапатит (ГА)—поливинилпирролидон с соотношением ГА/ПВП 3,6–14,5. Изучены фазовый состав, размер областей когерентного рассеяния, размер и морфология частиц ГА после термической обработки продуктов синтеза. Методом фотоиндуцированной ЭПР-спектроскопии при воздействии лазерного излучения с длиной волны 355 нм установлено химическое взаимодействие компонентов композита.

Ключевые слова: гидроксиапатит, поливинилпирролидон, минерал-полимерные композиты.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524873270-274>

ВВЕДЕНИЕ

Фосфаты кальция (ФК) являются основным неорганическим компонентом костной и зубной ткани [1]. В связи с этим материалы на основе ФК — керамик и композиты — используют в медицине для замещения и восстановления повреждённых костных тканей [2]. Фосфаты кальция присутствуют в костных тканях в виде нанокристаллов. Известно, что проведение синтеза ФК в присутствии полимеров (коллаген, желатин, крахмал, хитозан и др.) приводит к формированию нанокристаллов ФК с контролируемым размером и морфологией. Так, были получены игольчатые кристаллы гидроксиапатита (ГА) в водном растворе поливинилпирролидона (ПВП) осаждением при 60 °С из растворов нитрата кальция и ортофосфорной кислоты [3]. Показано, что количество кристаллов ГА, сформировавшихся на поверхности полимера, зависит от количества отрицательных зарядов на этой поверхности и рН реакционной среды [4]. На основании такого подхода могут быть получены композиты полимер — нанокристаллы ФК *in situ*, без операции смешения компонентов, подобно тому, как это происходит в организме в процессе ремоделирования костной ткани. В работе [5] подобный

композит был получен биомиметическим осаждением ГА на матрице ПВП. Колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток (МТТ-тест) показал, что композиты являются биосовместимыми и могут использоваться для заполнения костных дефектов. Очевидно, свойства композитов полимер—ФК зависят от химического взаимодействия компонентов. Однако для композитов ПВП с ГА вопрос о взаимодействии остаётся открытым. Поэтому целью настоящей работы являлось изучение особенностей формирования композиционных материалов ГА с ПВП при больших содержаниях ГА (ГА/ПВП от 3,6 до 14,5), исследование взаимодействия компонентов композиционных материалов и свойств порошков ГА, полученных из композитов после выжигания полимера. Впервые для выяснения взаимодействия ПВП с ГА был применён метод ЭПР-спектроскопии. Полученные композиты могут быть использованы в качестве материалов для реконструктивно-восстановительной хирургии.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для синтеза порошков композитов ГА с ПВП использовались растворы $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (хч, “Pan-Reac AppliChem”), $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (хч, “Химмед”) и поливинилпирролидона (“Boai NKY Pharmaceuticals Ltd.”, $M_w = 12$ кДа).

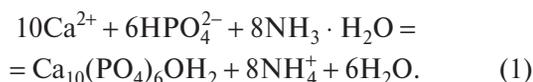
Осаждение фосфатов кальция проводили при комнатной температуре (20–25 °С) при рН 11,5 в соответствии с уравнением

¹ Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова Российской Академии наук, Москва

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

³ Казанский (Приволжский) федеральный университет

*E-mail: fadееva_inna@mail.ru



Для получения композитов ГА/ПВП синтез проводили в растворах ПВП концентрации 2,76; 5,52 и 11 г/моль. Для регулирования кислотности использовали 10%-й водный раствор аммиака. Отжиг полученных композитов проводили при 400 и 900 °С в муфельной печи.

Рентгенофазовый анализ проводился на приборе ДРОН-3М, $\text{CuK}\alpha$ -излучение ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$). Средний размер кристаллитов (область когерентного рассеяния, ОКР) рассчитывали по формуле Шеррера

$$d = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta}, \quad (2)$$

где d — средний размер кристаллов (область когерентного рассеяния), K — безразмерный коэффициент, зависящий от формы кристаллов, λ — длина волны рентгеновского излучения, β — ширина пика на половине высоты (в радианах по шкале 2θ), θ — угол рефлекса (в градусах). Расчёт производили для пика ГА (002) при $2\theta = 34,92^\circ$ (JCPDS № 9-432).

Электронную микроскопию проводили на просвечивающем микроскопе LEO 912 AB OMEGA. Пробоподготовка заключалась в следующем: готовили разбавленную суспензию порошков в воде, небольшое количество которой помещали на медную сетку, покрытую коллодиевой подложкой, и высушивали.

ИК-спектры соединений изучали в смесях с бромидом калия на спектрометре Nicolet Avatar-330 ("Thermo Scientific") в интервале 400–4000 cm^{-1} .

Спектры электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) регистрировали с помощью спектрометров фирмы "Bruker" ElexSys 680 (W-диапазон) и ESP-300 (X-диапазон), оснащённых системами гелиевой продувки и термостатирования для создания и поддержания заданных температур в диапазоне от 6 до 300 К. Количественная оценка концентрации парамагнитных центров проводилась путём сравнения интегральных интенсивностей (двойное интегрирование) спектров изученных образцов и контрольного порошка дифенилпикрилгидразила (ДФПГ) с известной концентрацией парамагнитных центров в двойном резонаторе типа ER4105DR.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБУЖДЕНИЕ

Согласно данным РФА, композиты ГА-ПВП после синтеза являются рентгеноаморфными. В результате термической обработки при 400 °С происходит формирование апатитовой структуры, а после

термообработки при 900 °С все образцы — хорошо закристаллизованный гидроксиапатит без примесей иных фаз.

На основании анализа ИК-спектров (рис. 1) установлено, что в образце без термообработки, несмотря на перекрывание полос ПВП и фосфатных групп, можно выделить полосы, относящиеся к ПВП. Наиболее интенсивные полосы при 1660 cm^{-1} соответствуют валентным колебаниям карбонильной группы (C=O) в лактаме. В спектрах, содержащих ГА, присутствуют колебания, соответствующие группе PO_4^{3-} (триплеты валентных колебаний при 1090, 1053 и 965 cm^{-1} и при 632, 572 и 472 cm^{-1}). Кроме того, следует отметить интенсивную полосу колебаний группы OH^- при 3570 cm^{-1} , которая присутствует даже в образце без термообработки, что может свидетельствовать о начале формирования структуры гидроксиапатита. С ростом температуры отжига интенсивность этой полосы значительно возрастает, что связано с формированием кристаллической структуры ГА. Также увеличиваются интенсивность и разрешение полос, соответствующих группе PO_4^{3-} . Следует отметить, что полосы ПВП практически исчезают после термообработки при 400 °С и полностью исчезают после 900 °С.

По результатам исследований ПЭМ установлено, что форма частиц, из которых состоят образцы, округлая, наблюдаются агломераты, образованные несколькими частицами. Размер этих агломератов 100–200 нм. Также следует отметить, что для образца, содержащего 11 г/моль ПВП, агломераты выглядят более плотными. Таким образом, отжига при температуре 400 °С достаточно для образования

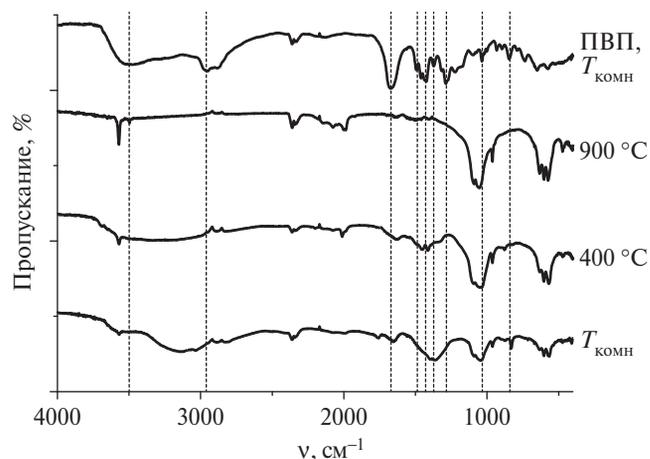


Рис. 1. ИК-спектры образца с наибольшим содержанием ПВП (11 г/моль), отожжённого при различных температурах, и спектр плёнки ПВП при комнатной температуре. Пунктирные линии соответствуют основным пикам ПВП.

Таблица 1. Размерные характеристики порошков, полученных из композитов ГА–ПВП после термообработки ($T = 400\text{ }^\circ\text{C}$), полученные методами ПЭМ, БЭТ и РФА

№ п/п	Содержание ПВП, г	Соотношение ГА/ПВП	Удельная площадь поверхности, $\text{м}^2/\text{г}$	ОКР, нм	Размер частиц ПЭМ, нм
1	0	—	18	32	35
2	0,69	14,5	19	18	30
3	1,38	7,2	37	20	33
4	2,75	3,6	17	18	45

устойчивых агломератов из кристаллических частиц ГА.

В табл. 1 приведены результаты определения различными методами размерных характеристик полученных материалов.

Введение ПВП снижает размер ОКР почти в два раза, однако количество введённого ПВП практически не влияет на размер ОКР.

Хотя ПВП и ГА ранее по отдельности изучались методом ЭПР, чёткого понимания природы всей совокупности наблюдаемых в них парамагнитных центров (радикалов) и их стабильности до сих пор нет [7–10]. В необлученных образцах композитов ГА–ПВП сигнала ЭПР не наблюдается, следовательно, в изученных образцах отсутствуют парамагнитные ионы. После рентгеновского облучения композитов с дозой около 5 кГр в спектре появляется сигнал от азотного радикала NO_3^{2-} (рис. 2), обязанный присутствию примесных анионов NO_3^- в ГА [11]. Различий между спектрами ГА и композита ГА с ПВП не обнаружено, что свидетельствует о том, что введение ПВП не приводит к образованию дополнительных радикалов/примесей. Поскольку известно, что облучение светом видимого диапазона не приводит к образованию стабильных радикалов в ГА [10], но может приводить к появлению радикалов в полимерной цепи ПВП [8], был применён фотоиндуцированный ЭПР (рис. 3).

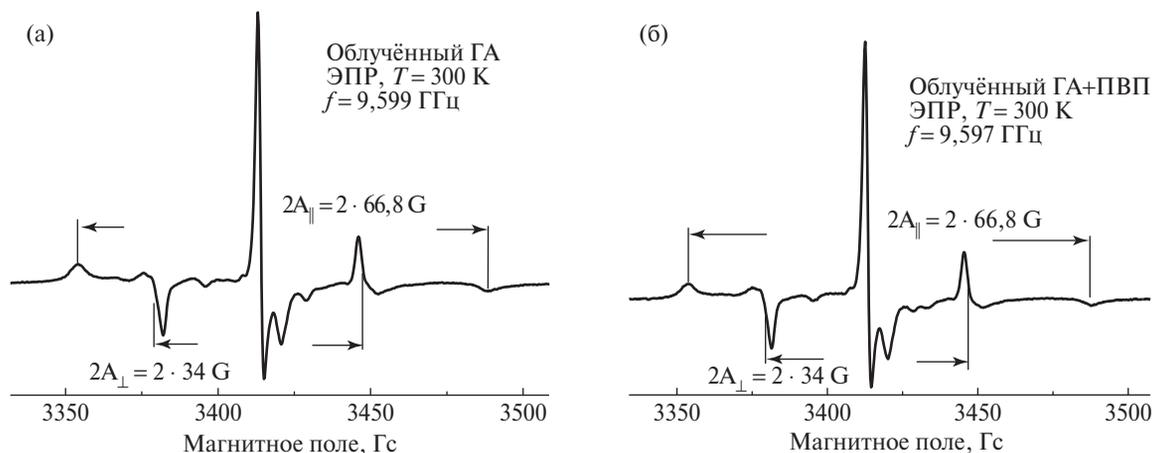


Рис. 2. ЭПР-спектры после рентгеновского облучения при комнатной температуре (с дозой около 5 кГр): а — ПВП; б — композит ГА–ПВП.

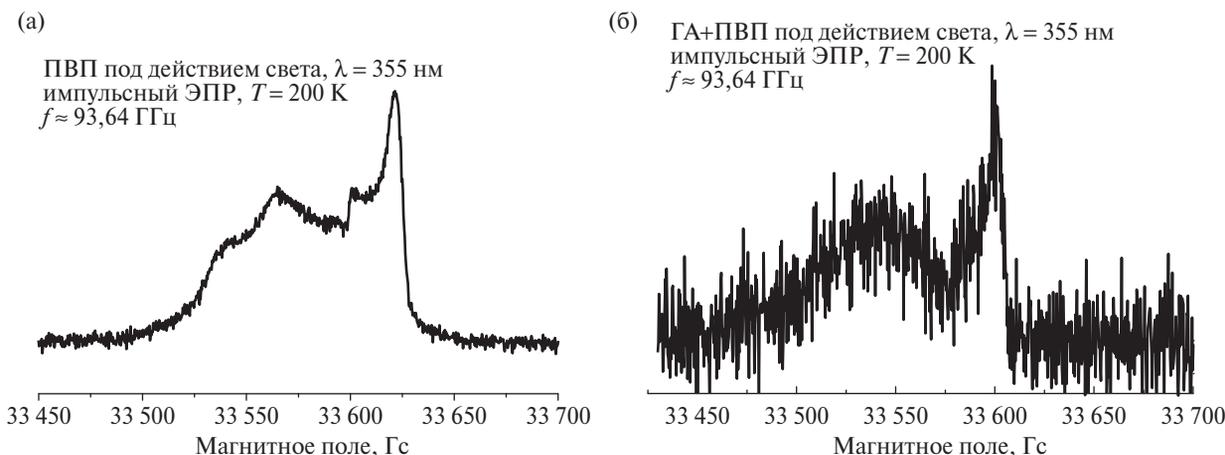


Рис. 3. Импульсные спектры ЭПР при $T = 200\text{ K}$ под облучением светом с длиной волны 355 нм: а — ПВП; б — композит ГА–ПВП.

Под действием облучения материалов лазерным излучением с длиной волны 355 нм в ПВП образуются стабильные радикалы, спектр которых в импульсном режиме на частоте 95 ГГц (W-диапазон) представлен на рис. 3а. Применение импульсной высокочастотной техники позволило селективно зафиксировать эти же центры и в композите ГА с ПВП (рис. 3б). Зная массу исследованных образцов по отдельности и в виде композита, из сравнения интегральных интенсивностей сигналов ЭПР, нормированных на массу образцов, можно оценить количество “свободного” ПВП в ГА+ПВП. Выявлено, что количество свободного ПВП, не связанного с ГА, составляет не более 1/10 от его введённого количества. Данный факт может свидетельствовать, что большая часть ПВП образует связи с ГА.

Таким образом, на основании ЭПР-спектроскопических исследований композитов ГА с ПВП выявлено образование химической связи ГА и ПВП, что может быть использовано в технологии для регулирования свойств композита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Осаждением из водных растворов синтезированы композиты ГА с ПВП с соотношением ГА/ПВП 3,6–14,5. Полученные материалы изучены с применением методов РФА, ИК-, ЭПР-спектроскопии, ПЭМ. По результатам ПЭМ выяснено, что при отжиге композитов при 400 °С образуются небольшие агломераты, состоящие из отдельных кристаллических частиц ГА, в результате чего размер частиц (по данным ПЭМ) несколько больше ОКР. С применением метода фотоиндуцированного ЭПР установлено наличие взаимодействия между ГА и ПВП.

Благодарности. Благодарим В.И. Морозова (ИОФХ им. А.Е. Арбузова РАН, г. Казань) за ценные замечания и консультации.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН П32.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Vallet-Regi M.* Ceramics for Medical Applications // *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 2001. № 2. С. 97–108.
2. *Баринов С.М.* Керамические и композиционные материалы на основе фосфатов кальция для медицины // *Успехи химии.* 2010. Т. 79. № 1. С. 15–32.
3. *Zhang Y., Lu J.* A Mild and Efficient Biomimetic Synthesis of Rodlike Hydroxyapatite Particles with a High Aspect Ratio Using Polyvinylpyrrolidone as Capping Agent // *Crystal Growth and Design.* 2008. V. 8. № 7. P. 2101–2107.
4. *Schöller K., Ethirajan A., Zeller A., Landfester K.* Biomimetic Route to Calcium Phosphate Coated Polymeric Nanoparticles: Influence of Different Functional Groups and pH // *Macromol. Chem. and Phys.* 2011. V. 212. P. 1165–1175.
5. *Langroudi M.M., Saravani M.G., Nouri A.* Surfactant-Assisted Synthesis of Polyvinylpyrrolidone-Hydroxyapatite Composites as a Bone Filler // *J. Appl. Biomaterials & Funct. Materials.* 2017. V. 15. № 4. P. 334–340.
6. *Сидельковская Ф.П.* Химия N-винилпирролидона и его полимеров. М.: Наука, 1970. 155 с.
7. *Ronfard H.J.C., Lablache C.A., Chachaty C.* Electron Spin Resonance of Gamma Irradiation Induced Free Radicals in Polyvinylpyridines // *J. Phys. Chem.* 1974. V. 78. № 9. P. 899–907.
8. *Пшежецкий С.Я., Котов А.Г., Милинчук В.К. и др.* ЭПР свободных радикалов в радиационной химии. М.: Химия, 1972. 480 с.
9. *Радциг В.А.* Механохимия полимеров глазами метода ЭПР (обзор) // *Хим. физика.* 2004. Т. 23. № 10. С. 70–109.
10. *Gabbasov B., Gafurov M., Starshova A., Shurtakova D., Murzakhanov F., Mamin G., Orlinskii S.* Conventional, Pulsed and High-Field Electron Paramagnetic Resonance for Studying Metal Impurities in Calcium Phosphates of Biogenic and Synthetic Origins // *J. Magnetism and Magnetic Materials.* 2019. V. 470. P. 109–117.
11. *Gafurov M., Biktagirov T., Mamin G., Orlinskii S.* A DFT, X- and W-Band EPR and ENDOR Study of Nitrogen-Centered Species in (Nano) Hydroxyapatite // *Appl. Magnetic Resonance.* 2014. V. 45. № 11. P. 1189–1203.

MINERAL-POLYMER COMPOSITES BASED ON HYDROXYAPATITE WITH POLYVINYLPYRROLIDON FOR MEDICINE

I. V. Fadeeva¹, F. I. Grabovenko², A. S. Fomin¹,

Corresponding Member of the RAS S. M. Barinov¹, F. F. Murzakhanov³,
A. I. Ahmed³, G. V. Mamin³

¹*Baikov Institute of Metallurgy and Material Science, Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russian Federation*

²*Department of Chemistry Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

³*Kazan Federal University, Kazan, Russian Federation*

Received April 24, 2019

Composites of hydroxyapatite (HA) with polyvinylpyrrolidone (PVP) were synthesized by precipitation in water solutions, mass relations of HA/PVP varied in region 3,6–14,5. The composite materials were investigated using XRD, IR, electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy and transmission electron microscopy (TEM). Based on the TEM results it was found that during calcination of composites at 400 °C small agglomerates consisting of individual crystalline HA particles were formed, resulting in a particle size (according to TEM) slightly larger than coherent scattering region. Using the method of photoinduced EPR spectroscopy confirmed the presence of interaction between HA and PVP. The resulting composites can be used as materials for reconstructive surgery.

Keywords: hydroxyapatite, polyvinylpyrrolidone, mineral-polymer composites.