

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СУЛЬФАТЗАМЕЩЕННОГО ГИДРОКСИЛАПАТИТА

Евдокимов Павел, студент 3-го курса ФНМ

Кафедра неорганической химии, лаборатория неорганического материаловедения

Руководители: асс. ФНМ, к.х.н. Вересов А.Г.

Актуальность темы

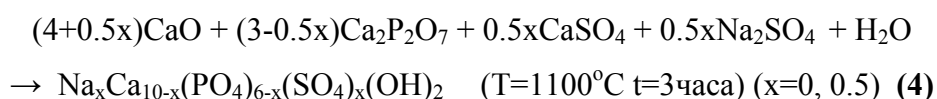
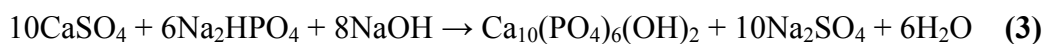
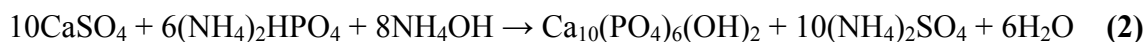
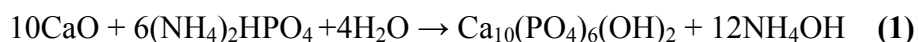
Миллионы людей подвержены поражениям костных тканей в результате аварий и патологических заболеваний. Современная хирургия позволяет спасти жизнь многим пациентам, но часто такое вмешательство приводит к значительным послеоперационным дефектам [1]. Основной проблемой является выбор материала для изготовления имплантата. В идеальном случае материал должен быть биологическим совместимым с тканью: не должен быть токсичным, не должен вызывать отрицательных иммунных и других реакций со стороны организма, не должен отторгаться организмом как инородное тело. Так же он должен быть биологически активным, то есть вступать в непосредственную связь с биологической системой организма и со временем замещаться костной тканью. В идеале имплантат должен иметь близкие к костным или зубным механические характеристики (прочность и трещиностойкость) и схожую микроструктуру.

В настоящее время, большинство работ направлено на улучшение биоактивных свойств гидроксилapatитных материалов путем получения двухфазных керамических материалы на основе гидроксилapatита и более растворимого трикальциевого фосфата. Другой подход подразумевает химическую модификацию апатита. В силу специфики использования материала в медицине выбор возможных допантов крайне ограничен. Сульфатные анионы могут быть предложены в качестве возможного модификатора синтетического гидроксилapatита, так как они являются естественным компонентом человеческого организма (межтканевой жидкости). Большинство работ, связанных с изучением сульфатсодержащего апатита, относится к минералогическим работам. Возможность синтеза сульфатзамещенного апатита изучена крайне мало.

Основными задачами данной работы являлись: синтез сульфатзамещенных гидроксилapatитов при различных условиях, получение керамических материалов и их исследование с помощью рентгенофазового анализа, ИК-спектроскопии, термогравиметрии, растровой электронной микроскопии (и РСМА), в работе оценка биоактивных свойств полученных керамик осуществлялась с помощью ионометрии (растворимость материала) и РЭМ (образование нового слоя ГАП на поверхности керамик).

Эксперимент

Для синтеза сульфатзамещенного и незамещенного ГАП использовали стандартный метод осаждения из растворов, согласно реакциям (1) – (4):



Марка всех используемых реактивов не ниже "ХЧ": CaO, CaSO₄, NaOH, Na₂HPO₄, (NH₄)₂HPO₄, NH₄OH (конц). Количество реагентов рассчитывали на 10 грамм конечного продукта. Для реакций (1)-(3) реактивы растворяли в дистиллированной воде при 80°C, после окончательного растворения растворы смешивали и выдерживали при постоянном перемешивании в течении 7 дней, при этом поддерживали постоянный pH раствора (pH=9÷11). Осадок отбирался после 3 и 7 дней синтеза. Осадок отфильтровывали и промывали дистиллированной водой до нейтральной реакции. Полученный порошок отжигали при температуре 1100°C в течении 3 часов. Для твердофазной реакции (4) предварительная механо-активация исходных реагентов была проведена с помощью планетарной мельницы (Fritsch) в течение 30 минут в ацетоне. Полученные порошки измельчали в фарфоровой ступке, а затем перетирали через сито, так, что конечный размер частиц был меньше 100 мкм. Из полученного порошка были спрессованы таблетки при одноосном одностороннем прессовании. Получали образцы размером 5x10 мм при давлении 100-150 МПа. Далее полученные бруски отжигали в печи при температуре 1200°C в течении 2 часов.

Биоактивность образцов, полученных по реакциям (1)-(3), была исследована в ходе термостатирования компактных образцов в растворе, моделирующем состав межтканевой жидкости организма (в англ. литературе "SBF" – Simulated Body Fluid), пересыщенном относительно ГАП при pH = 7.4. Таблетки фосфатов кальция массой 0.1 г помещали в 20 мл раствора SBF на срок от 3 до 7 суток при 37 °C. Раствор обновляли один раз в сутки.

Основные результаты

По данным рентгенофазового анализа можно судить, что по реакциям (1)-(3) был получен однофазный продукт – гидроксилapatит кальция $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. При чем различия между трех дневной пробой и семидневной в степени кристалличности порошков практически нет (рис. 1, 2).

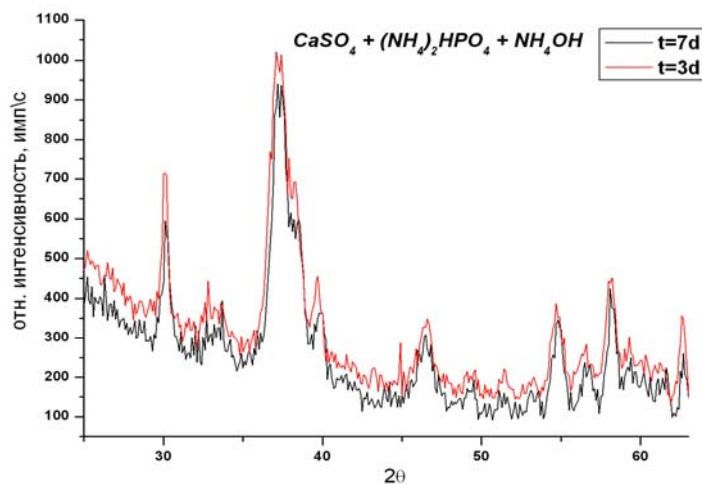


Рис.1. РФА образца, полученного по реакции (2)

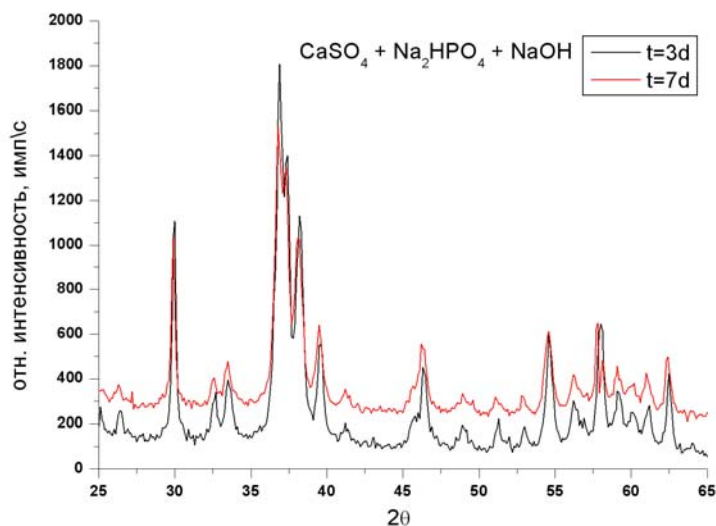


Рис.2. РФА образца, полученного по реакции (3)

Результаты ИК-спектроскопии (рис. 3, 4) показали, что при гетеровалентное замещение PO_4 -групп на SO_4 стабилизируется более мелкой группой CO_3 (адсорбция CO_2 из воздуха в щелочную реакционную среду): $\text{Ca}_{10-0.5x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SO}_4, \text{CO}_3)_x(\text{OH})_2$. Возможна реализация вакансионного механизма замещения, катион аммония (синтез с использованием аммонийной соли) не встраивается в структуру апатита в позиции кальция из-за слишком

большой разницы ионных радиусов. При использовании натриевой соли при синтезе предполагается другой механизм замещения - без образования вакансий в кальциевой подрешетке $\text{Na}_x\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6-x(\text{SO}_4, \text{CO}_3)_x(\text{OH})_2$.

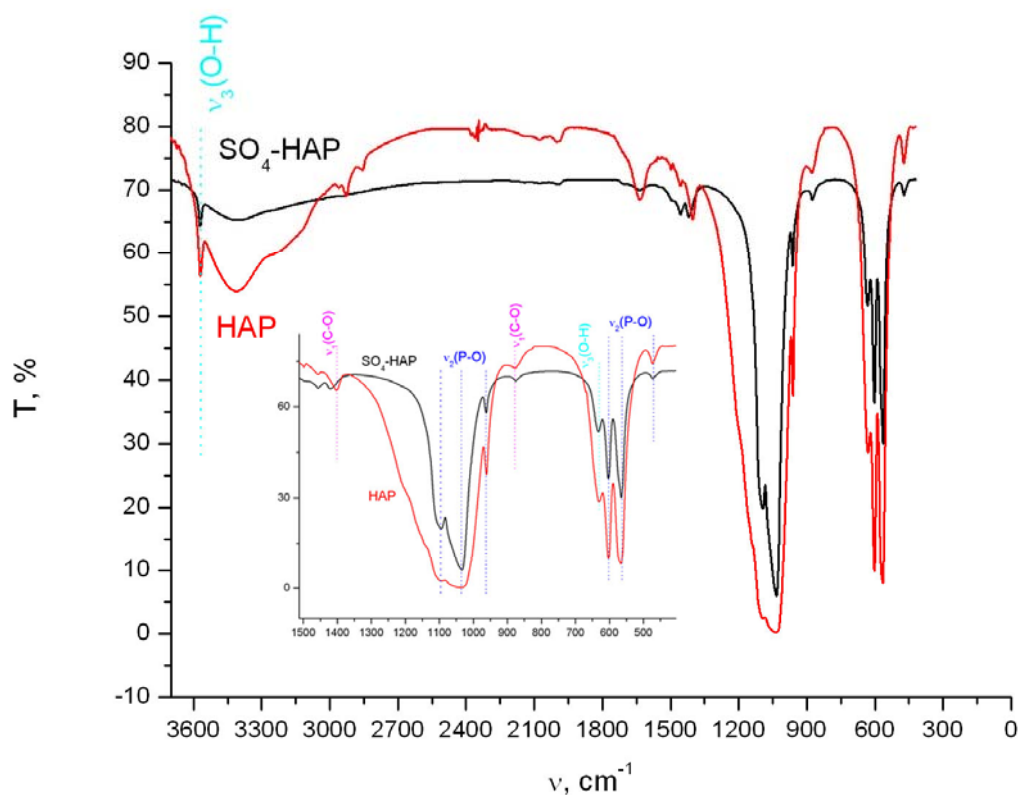


Рис.3. ИК- спектры образцов, полученных по реакции (1) и (2)

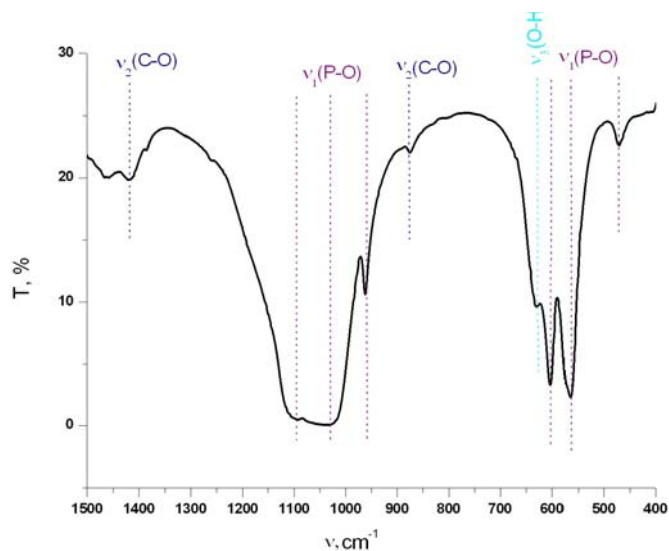


Рис.4. ИК- спектр образца, полученного по реакции (3)

Карбонат содержащий гидроксилapatит ($\text{Ca/P} > 1.67$) термически не стабилен (при $T > 900^\circ\text{C}$ происходит распад соединения с образованием CaO и стехиометрического апатита) [3]. А образец полученный, полученный по реакции (3), после термической обработки при 1100°C в течение 3 часов остается однофазным.

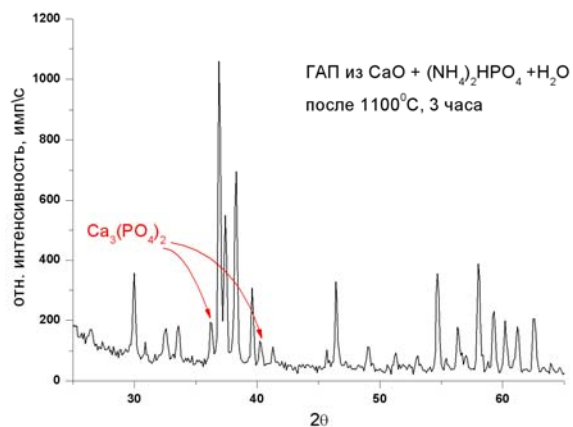


Рис. 5. РФА образца полученного по реакции (1)

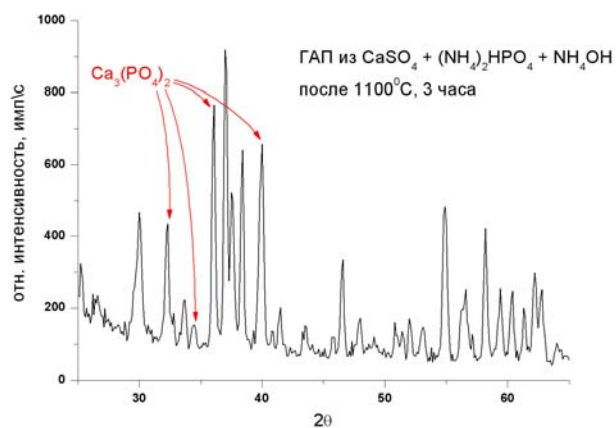


Рис. 6. РФА образца полученного по реакции (2)

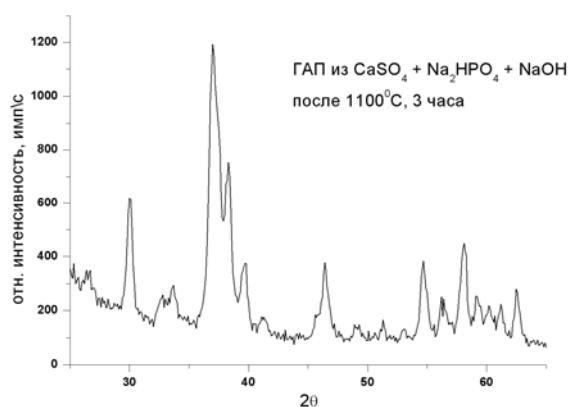
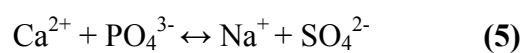


Рис. 7. РФА образца полученного по реакции (3)

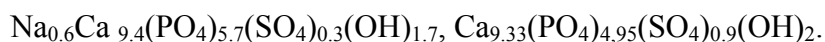
Полученные данные о термической стабильности порошков хорошо согласуются с предложенным механизмом компенсации заряда посредством вхождением Na⁺ в структуру ГАП в образце, полученный по реакции (3).



Известно, что кальцийдефицитные апатиты (например, нестехиометрический ГАП $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$) термически нестабильны, при отжиге выше 700°C распадаются с образованием $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и стехиометрического ГАП. Стехиометрический устойчив вплоть до 1400°C . В нашем случае кальцийдефицитный сульфатзамещенный ГАП распадается с образованием большого ($\sim 40\%$ вес.) количества $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (рис. 5, 6), термически стабилен порошок ГАП только в случае двойного замещения (уравнение 5) (рис. 7). Частичный распад немодифицированного порошка ГАП (уравнение 1, рис. 5) связан с высокой летучестью оксидов фосфора в условиях отжига.

Для уточнения состава полученных образцов сульфатзамещенных апатитов был использован метод РСМА. Метод является полуколичественным для анализа легких элементов. Поэтому были приготовлены керамические стандарты ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, CaSO_4) с разным атомным соотношением Ca/P и Ca/S. По результатам РСМА был построен градуировочный график. Отношения Ca/P были рассчитаны из отношения площадей пиков K α для Ca, P и S (пики описывались Лоренцианом).

Используя полученное уравнение: $(\text{Ca/P})_{\text{реальное}} = 0.127 + 0.918 * (\text{Ca/P})_{\text{полученное}}$ (6) и реальное отношение Ca/S=0.8 (для CaSO_4) были рассчитаны составы сульфатзамещенного гидроксилapatита:



РФА образцов (рис. 8), полученных твердофазным методом (реакция (4)), свидетельствует формировании оксида кальция и трикальциевого фосфата в качестве примеси к гидроксилapatиту. Исходные реагенты брались в стехиометрии Ca/P = 1.67, неоднородность образцов связана с плохой гомогенизацией реагентов, что характерно для данного метода синтеза. В системе не наблюдали сульфатсодержащих компонентов после отжига, что связано с разложением сульфата кальция еще на стадии синтеза. Присутствие CaO как примеси в керамике нежелательно, образование CaCO_3 и $\text{Ca}(\text{OH})_2$ при деградации керамики приводит к изменению мольного объема включений и растрескиванию материала. Более того, присутствие CaO даже на уровне 5% негативно сказывается на жизнедеятельности клеток.

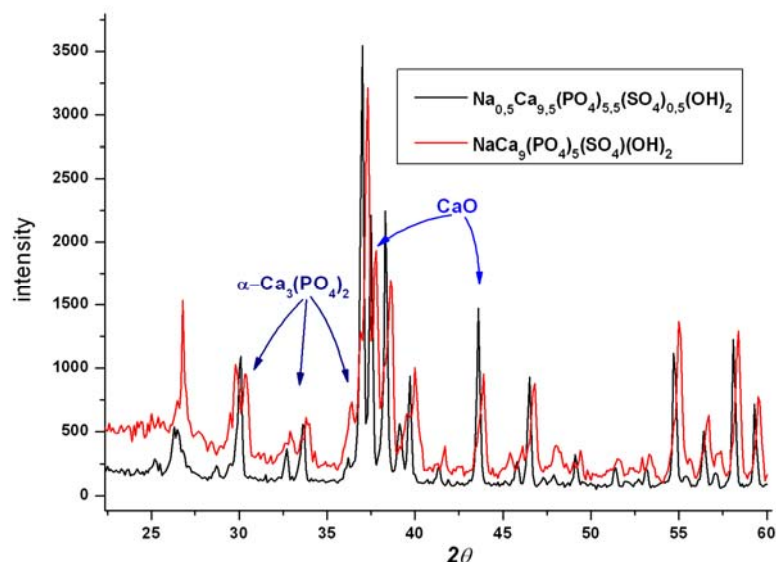


Рис.8. РФА образцов, полученных по реакции (4), после термической обработки $T=1100^{\circ}\text{C}$ $t=3$ часа

Термогравиметрический анализ двух смесей для реакции (4) ($x=0, 0.5$) и порошка полученного по реакции (3) свидетельствует о наличии двух типов воды в исходной смеси: адсорбционной и химически связанной ($T_{\text{разл. Ca(OH)}_2} \approx 580^{\circ}\text{C}$) (рис. 9-11).

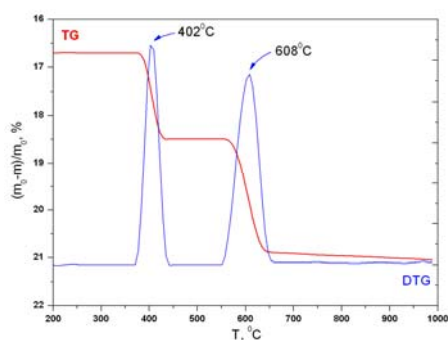


Рис.9. Данные ТГ для образца, полученного по реакции (4) ($x=0$)

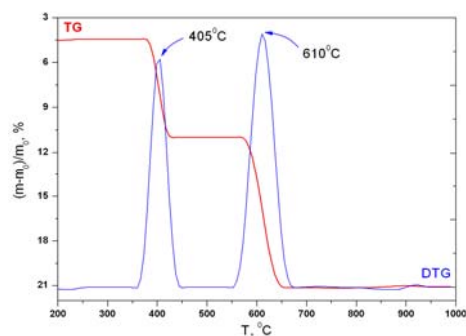


Рис.10. Данные ТГ для образца, полученного по реакции (4) ($x=0,5$)

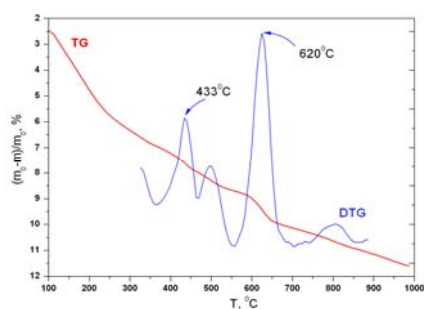


Рис.11. Данные ТГ для образца, полученного по реакции (3), $\text{Na}_{0.6}\text{Ca}_{9.4}(\text{PO}_4)_{5.6}(\text{SO}_4)_{0.3}(\text{OH})_2$

Во всех трех случаях температуры разложения близки. Следует отметить, что после 700°C Δm постоянно – т.е. если в ходе нагрева смеси получился сульфатзамещенный ГАП, то стабилен вплоть до 1000°C (рис. 9, 10).

Порошки, полученные по реакции (3), использовали для получения керамики при $T_{\text{спекания}} = 1100^{\circ}\text{C}$. Полученные керамические материалы имели геометрическую плотность

порядка 90% от теоретической. Микроструктура керамики приведена на рис.12,13. Средний размер зерен керамики не превышает 1 мкм.

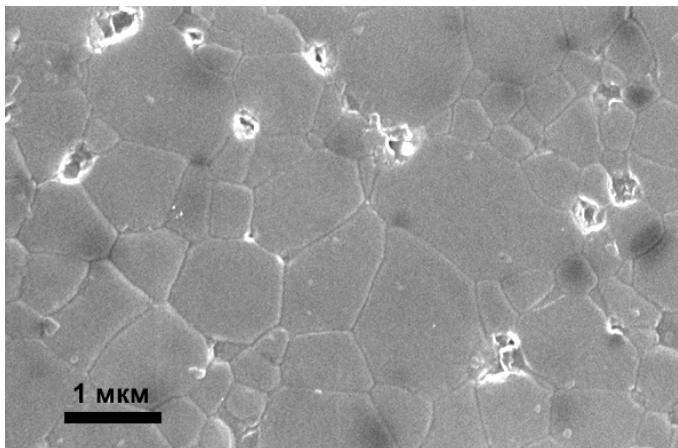


Рис.12. Микрофотография керамического материала на основе образца, полученного по реакции (3)

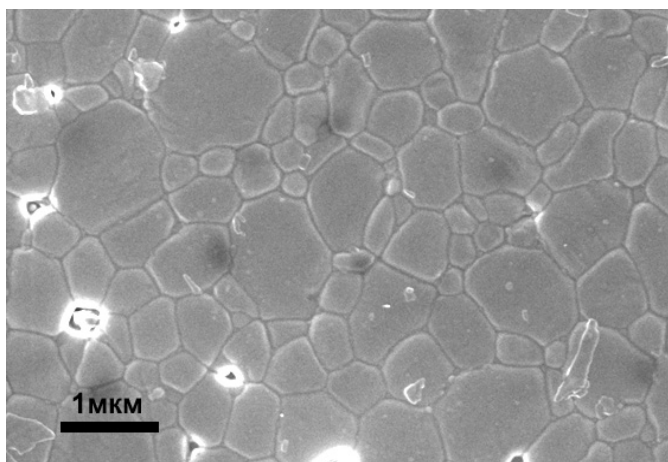


Рис.13. Микрофотография керамического материала на основе образца, полученного по реакции (3)

Биоактивность полученных образцов по реакциям (1)-(3) была исследована в ходе термостатирования компактных образцов в растворе, моделирующем состав межтканевой жидкости организма (в англ. литературе “SBF” – Simulated Body Fluid), пересыщенном относительно ГАП при $\text{pH} = 7.4$.

Микроструктуры ГАП покрытий после 7 дней в SBF у всех рассмотренных материалов идентичны: наблюдали ажурное покрытие, состоящие из пластинчатых кристаллов карбонатгидроксилапатита, размером до 3 мкм в плоскости кристалла (рис. 14-17). Образование такого слоя качественно свидетельствует о биоактивности материала.

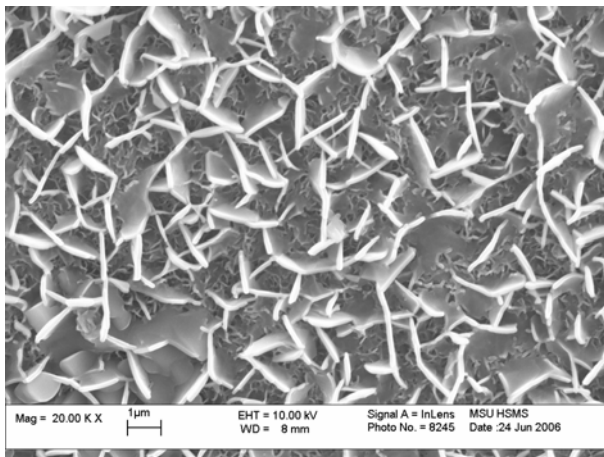


Рис.14. Микрофотография образца, полученного по реакции (1), после 7 дней в SBF

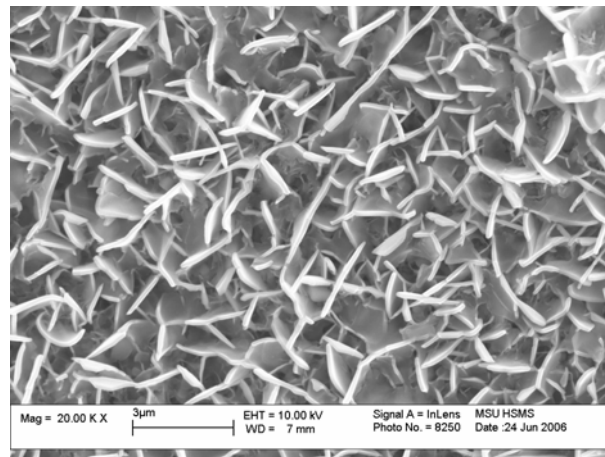


Рис.15. Микрофотография образца, полученного по реакции (2), после 7 дней в SBF

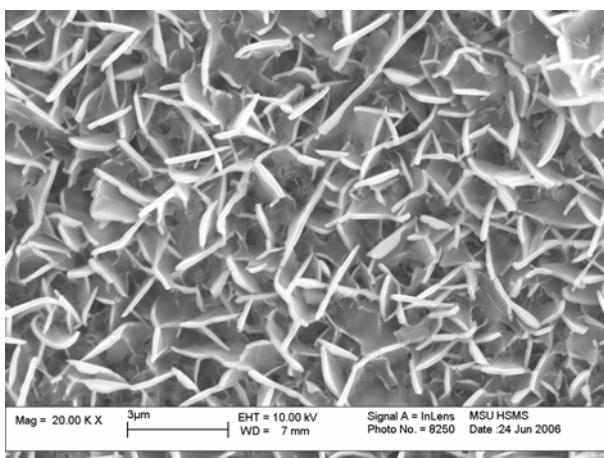


Рис.16. Микрофотография образца, полученного по реакции (3), после 7 дней в SBF

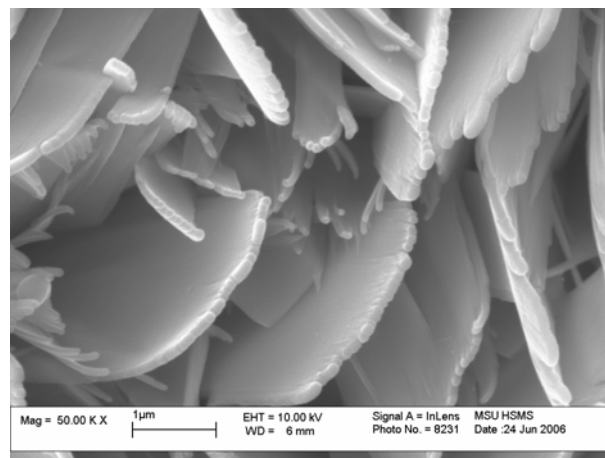


Рис.17. Детальная микроструктура образца, полученного по реакции (3), после 7 дней в SBF

Ионометрия растворов показала, что полученный сульфатзамещенный гидроксилapatит растворяется лучше (рис. 18), чем незамещенный гидроксилapatит.

Разные конечные значения pH раствора свидетельствуют о том, что произошла не только адсорбция (или сегрегация) сульфатных ионов на поверхности, но произошло замещение по всему объему кристаллов.

Более высокая растворимость замещенного гидроксилapatита связана с микродеформациями, вносимыми ионом – заместителем в структуру ГАП (разница размеров ионов SO_4^{2-} и PO_4^{3-}).

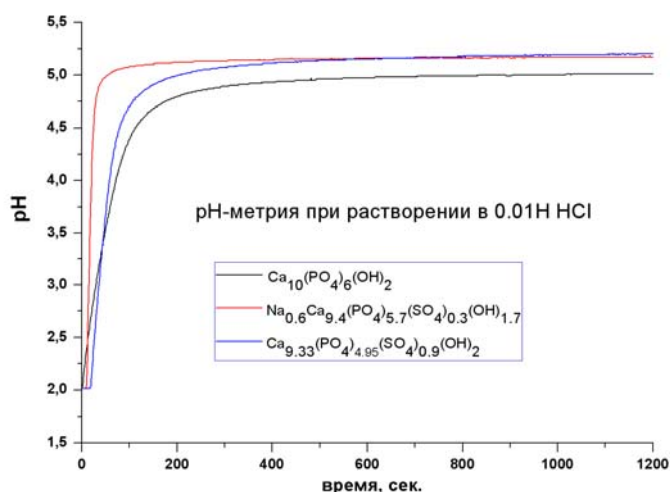


Рис.18. Данные по растворению образцов, полученных по реакции (1)-(3)

Выводы:

1. Методом осаждения в водных растворах получены порошки сульфатзамещенного гидроксилapatита состава $\text{Na}_{0.6}\text{Ca}_{9.4}(\text{PO}_4)_{5.7}(\text{SO}_4)_{0.3}(\text{OH})_{1.7}$ и $\text{Ca}_{9.33}(\text{PO}_4)_{4.95}(\text{SO}_4)_{0.9}(\text{OH})_2$. В случае двойного замещения по механизму $\text{Ca}^{2+} + \text{PO}_4^{3-} \leftrightarrow \text{Na}^+ + \text{SO}_4^{2-}$ полученные образцы стабильны вплоть до 1200 °С, кальцийдефицитный апатит распадается с образованием $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

2. Синтезированные на первом этапе порошки спекали при 1200 °С 2 часа, была получена керамика с геометрической плотностью не менее 90%.

3. Согласно тестам в растворе искусственной межтканевой жидкости все полученные керамические материалы являются биоактивными: в ходе минерализации на поверхности образуется слой карбонатсодержащего апатита. Растворимость образцов меняется в ряду $\text{Na}_{0.6}\text{Ca}_{9.4}(\text{PO}_4)_{5.7}(\text{SO}_4)_{0.3}(\text{OH})_{1.7} > \text{Ca}_{9.33}(\text{PO}_4)_{4.95}(\text{SO}_4)_{0.9}(\text{OH})_2 > \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, что объясняется микродеформациями структуры при замещении ионов в ГАП.

Использованная литература:

1. С.М. Баринов, В.С. Комлев Биокерамика на основе гидроксилapatита. Москва, «Наука», 2005
2. Каназава Т. Неорганические фосфатные материалы: Пер. с японского. Киев, Наукова думка, 1998.
3. Barralet J, Best S, Bonfield W. Carbonate substitution in precipitated hydroxyapatite: An investigation into the effects of reaction temperature and bicarbonate ion concentration. J. Biomed. Mater. Res. 1998, Vol. 41, p. 79-86