

PACS numbers: 68.35.Np, 81.07.Pr, 81.16.Dn, 82.33.Pt, 82.65.+r, 82.80.Gk, 82.80.Pv

## **Формирование биомиметического гидроксиапатита на поверхности титана**

А. Л. Петрановская, М. П. Турелик, Е. В. Пилипчук, П. П. Горбик,  
А. М. Кордубан\*, О. М. Ивасишин\*

*Институт химии поверхности им. А. А. Чуйко НАН Украины,  
ул. Генерала Наумова, 17,  
03164 Киев, Украина*

*\*Институт металлофизики им. Г. В. Курдюмова НАН Украины,  
бульв. Акад. Вернадского, 36,  
03680, ГСП, Киев-142, Украина*

Материалы на основе гидроксиапатита (ГА) широко применяются в костной пластике и протезировании. Создавая уникальные материалы на основе титана и биомиметически выращенного на его поверхности ГА, можно снизить риск отторжения имплантатов. Разработана методика модифицирования поверхности титана полимерными модификаторами с последующим формированием самосборкой слоя биомиметического гидроксиапатита из среды модельной физиологической жидкости. Исследованиями при помощи ИК-фурье- и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопий подтверждено образование покрытия из гидроксиапатита на поверхности титановых пластин.

Матеріали на основі гідроксиапатиту (ГА) широко застосовуються в кістковій пластичі і протезуванні. Створюючи унікальні матеріали на основі титану і біоміметично вирощеного на його поверхні ГА, можна знизити ризик відторгнення імплантатів. Розроблено методику модифікування поверхні титану полімерними модифікаторами з подальшим формуванням через самоскладання шару біоміметичного гідроксиапатиту з середовища модельної фізіологічної рідини. Дослідженнями за допомогою ІЧ-Фур'є- та Рентгенової фотоелектронної спектроскопії підтверджено утворення покриття з гідроксиапатиту на поверхні титанових зразків.

Materials based on hydroxyapatite (HA) are widely used in bone grafting and prosthetics. Creating unique materials based on titanium and biomimetically grown HA, we can reduce the risk of rejection of implants. A method of modifying the surface of titanium with polymeric modifiers (for fabrication of functional groups on the surface) followed by self-assembling formation of

the biomimetic-hydroxyapatite layer within the medium of model physiological fluid is developed. The FTIR and XPS spectroscopies' investigations confirm the formation of hydroxyapatite coatings on titanium surface.

**Ключевые слова:** гидроксипатит, биомиметические покрытия, поверхность титана, функциональные группы, химическое модифицирование.

*(Получено 28 октября 2013 г.)*

## 1. ВВЕДЕНИЕ

Уникальные свойства биологических материалов, синтезируемых живыми организмами, всегда привлекали внимание исследователей с точки зрения возможностей их практического использования [1]. Подавляющее большинство опорно-двигательных, ориентационных и защитных функций аппаратов и систем живых организмов построено на использовании биоминеральных материалов, которые являются сложными композитными веществами. В их состав входят две основные компоненты: органическая и минеральная, взаимосвязь которых обеспечивает структурированность биологических композитов на нано-, микро- и макроуровнях, что в сочетании обеспечивает уникальные характеристики живых систем, а также представляет значительный интерес для моделирования при создании новых материалов.

Систематизированы и выделены основные «строительные» блоки, составляющие микро- и наноуровень биологических материалов. Это аминокислоты, белки (коллаген, кератин, эластин и т.п.), полисахариды (хитозан, Na-альгинат, и др.), а также минералы, связанные органической матрицей в биоминерализованные композитные структуры. Поэтому они являются предметом активных междисциплинарных исследований, объединенных развивающимся направлением материаловедения — биомиметикой [2, 3]. Наибольшее количество исследований биоминерализованных структур связано с изучением их химических, биохимических и механических свойств.

В современной медицине широко используются и исследуются биотехнические изделия и системы, в которых различные элементы и части взаимодействуют с биологическими жидкостями, мягкими и твердыми тканями организма. Трансплантация чужеродного материала неизбежно сопровождается супрессивной терапией, которая резко ограничивает восстановление поврежденных тканей. В связи с этим, перспективным решением проблемы биосовместимости может являться формирование на имплантатах наноструктурных покрытий на основе гидроксипатита (ГА) и оксидных соединений, наиболее совместимых по всем параметрам (физическим,

химическим, биологическим, биомеханическим) с биологическими тканями организма [4].

Сейчас в области фундаментальных и прикладных исследований отмечается возрастающий интерес к созданию новых наноматериалов медико-биологического назначения, в частности для имплантации в биологических системах. Научно-исследовательские лаборатории разрабатывают и совершенствуют методики создания имплантатов с уникальными биологически активными поверхностями, способными стимулировать рост костной ткани.

Одной из ключевых задач инженерии костной ткани является создание структур, способных функционально заменить фрагмент кости на время, достаточное для регенерации собственной ткани пациента. К синтетической структуре предъявляются жесткие требования биосовместимости, способности к биодеградации. Кроме того, необходимо создать поверхность материала, способную поддерживать клеточную адгезию, пролиферацию и дифференциацию. Биосовместимые полимеры, используемые для этих целей, как правило, не обладают необходимой биологической активностью.

Гидроксиапатит является основной минеральной составляющей костной ткани и служит базовым компонентом синтетических материалов для ортопедии и стоматологии. Пленочные покрытия на основе ГА в ортопедическом и зубном протезировании наносят на биологически инертные материалы, обеспечивающие необходимую механическую прочность имплантата. Покрытие из гидроксиапатита способствует росту костной ткани, что позволяет успешно пройти биологический этап фиксации имплантата: клетки не чувствуют различий между гидроксиапатитом и поверхностью кости, что указывает на химическое подобие материалов. Кроме того, гидроксиапатитовые покрытия являются оптимальными для адсорбции молекул воды, белков и коллагена, а потому способствуют регенерации тканей. Применение гидроксиапатита при высоких механических напряжениях ограничивается его прочностными характеристиками. По этой причине гидроксиапатит часто применяется как покрытие металлических протезов и имплантатов, изготовленных из титана и его сплавов или нержавеющей стали.

Совокупность указанных свойств позволяет покрытию из гидроксиапатита параллельно с механической функцией обеспечивать вращение клеток и сосудов в структуру имплантата с последующим формированием костной ткани. Нанесение на металлические медицинские имплантаты кальций-фосфатных покрытий, которые не только по своему составу, но и по морфологии совпадают со свойствами натуральной костной ткани, значительно ускоряет процесс приживления и снижает риск отторжения имплантата.

В качестве наиболее актуального направления исследований и разработок можно рассматривать синтез композитных наноматери-

алов, подобных по структуре и свойствам костной ткани, гибридных органо-неорганических фаз с участием фосфатов кальция, предназначенных для использования в регенеративной хирургии — инженерии костной ткани с применением клеточных технологий [2].

Систематизирование экспериментальных данных и принципов построения и моделирования природных биоминеральных структур раскрывает потенциальные возможности определения взаимосвязи биологической и минеральной составляющей, обеспечивающей структурированность биологических композитов на нано-, микро- и макроуровнях.

К ключевым принципам построения биоминеральных структур относятся иерархичность структурной организации, мультифункциональность, самоорганизация и самосборка. Выделяются основные направления биомиметического подхода к разработке нанотехнологий и наноматериалов. При этом рассматриваются основные пути достижения результата: биохимический и химический.

Биохимическое моделирование основано на поиске и выделении органической матрицы (белков или их активных фрагментов) и последующем синтезе на их основе биоминеральных структур.

Химическое направление биомиметики основано на синтезе материалов, моделирующих конкретные свойства природных биоминеральных структур.

Перспективным направлением биомиметического моделирования является использование самоорганизации и самосборки — базовых принципов существования живых систем [5]. В настоящее время разработан простой и потенциально эффективный метод биомиметического синтеза наноструктурированных материалов посредством самоорганизации полимеров и/или наноразмерных неорганических частиц на поверхности подложки [6].

Значительный прогресс достигнут при использовании биологически активных материалов на основе веществ, изначально близких к костной ткани по химическому и фазовому составу, либо способных к образованию таких веществ на своей поверхности в результате биомиметических процессов взаимодействия с окружающими тканями и жидкостями организма. К биоактивным материалам для костной имплантации относятся некоторые ортофосфаты кальция, структура, технология и свойства которых изучались в течение многих лет [7–10], а также являются предметом интенсивных исследований в настоящее время.

**Биомиметическое формирование покрытий.** Связь имплантируемого материала с костной тканью развивается через стадию биомиметического формирования биологически активного слоя карбонатсодержащего апатита на поверхности материала для имплантата. Образование такого слоя инициируется переходом ионов кальция из имплантируемого материала в жидкость, моделирующую по сво-

ему составу внеклеточную жидкость организма (модельная физиологическая жидкость — МФЖ). Такая жидкость обычно близка по составу к плазме крови и содержит фосфат- и карбонат-ионы. В результате изменения произведения ионных активностей апатита в жидкости и при наличии соответствующих центров, происходит биомиметическая кристаллизация апатита на поверхности материала. Биомиметические апатитовые покрытия могут быть сформированы и на инертном, устойчивом к растворению материале, например полимерном. В этом случае материал последовательно погружают в МФЖ для создания центров кристаллизации (обычно в МФЖ с размещенными в ней гранулами биостекла, содержащего Са и кремнезем) и затем в раствор, пересыщенный по отношению к апатиту для кристаллизации последнего на созданных центрах. Толщина биомиметического слоя возрастает во времени, скорость его формирования увеличивается со степенью пересыщения МФЖ.

Первоначально, биомиметический метод был применен для формирования апатитовых слоев на биостеклах и биоситаллах, которые сами являются источниками ионов кальция, переходящих в МФЖ.

В работе [11] изучали нанесение покрытия на тантал, который не обладает биоактивностью по отношению к образованию связи с костной тканью. Выдержка Та в МФЖ приводит к образованию связей Та–ОН на его поверхности, эффективных для последующего инициирования осаждения апатита, что, однако, требует длительного периода времени (28 суток в описанном эксперименте). Обработка тантала 0,5 М раствором NaOH при 60°C перед погружением его в МФЖ приводила к существенному ускорению процесса, что обусловлено образованием поверхностного слоя гидрогеля танталата натрия. Полагают, что ионы натрия легко переходят из гидрогеля в раствор в результате ионного обмена с  $H_3O^+$  в МФЖ, процесс сопровождается образованием Та–ОН связей на поверхности и повышением концентрации групп  $OH^-$  в растворе. Связи Та–ОН индуцируют нуклеацию апатита, причем процесс ускоряется за счет увеличения произведения ионных активностей. Для повышения механической стабильности, гидрогель может быть подвергнут термической обработке при 300°C на воздухе для перевода его в аморфный танталат натрия и, далее, при 500°C — для его кристаллизации. Однако апатитообразующая способность слоя снижалась с повышением температуры обработки выше 300°C. Предлагается использовать данный процесс для обработки стоматологических и ортопедических материалов перед их имплантацией.

Метод может быть использован и для обработки других металлов, образующих соли натрия при их обработке щелочью. Проведены эксперименты по биомиметическому формированию ГА-покрытий на чистом титане [12]. Обработку титана в 1,5 и 10 М растворе NaOH

проводили в автоклаве при 130°C в течение от 1 до 6 часов, с последующей термообработкой при 600°C на воздухе. Затем образцы обрабатывали в МФЖ при физиологической температуре в течение 4 недель. Установлено, что слой диоксида титана, присутствующий изначально на поверхности титана, трансформируется в титанат натрия при гидротермальной обработке. Из МФЖ происходит гетерогенное осаждение карбонат-содержащего ГА на отрицательно заряженную поверхность гидротермально-обработанного титана. Растрескивание покрытий снижалось с уменьшением их толщины. Покрытие представляло собой смесь кристаллов ГА и диоксида титана.

Существуют и другие методы нанесения фосфатно-кальциевых покрытий на биологически инертные материалы, которым присущи те или иные недостатки и достоинства. Например, экономичным является процесс электрофоретического осаждения покрытий [13]. Он может быть реализован для изделий сложной формы, позволяет получать покрытия толщиной от менее 1 мкм до более 100 мкм. Осажденное покрытие необходимо подвергать термической обработке для уплотнения и спекания. При этом возникают проблемы отслаивания покрытия из-за разности температурных коэффициентов расширения с материалом подложки. При обжиге покрытия для спекания может происходить его растрескивание, особенно при осаждении тонкодисперсных порошков ГА.

Покрытия ГА на титановом сплаве с 6% Al и с 4% V (катод) получали электролизом в ванне из раствора состава 0,168 М  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  и 0,1 М  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  при разности потенциалов от 1 до 10 В и температуре от 25 до 65°C [14]. Полученные покрытия состава  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  затем обрабатывали в автоклаве при температурах от 110 до 150°C и pH 10–11 для конверсии их в ГА. Кинетика формирования ГА при гидротермальной обработке описывалась законом Аррениуса с кажущейся энергией активации процесса 94,4 кДж/моль. Получены качественные покрытия со структурой нитевидных кристаллов.

Биомиметические методы формирования покрытий ГА при низких температурах основаны на наблюдениях природных процессов образования роста минеральной фазы в костных структурах. В природе формирование минеральной фазы кости происходит при условии преобладания гетерогенной нуклеации над гомогенной. Модифицирование подложки биологически инертного металла органическими функциональными пленками индуцирует минерализацию кристаллов апатита [15].

Для формирования кристаллического ГА требуется организованная, гидрофильная и отрицательно заряженная поверхность. Покрытие формируется кристаллизацией несколько недель [15, 16].

Образование кристаллов в водном растворе зависит от многочисленных факторов, в том числе от концентрации ионов, температу-

ры, степени насыщения и межфазной энергии.

Сильное влияние свойств поверхности на формирование покрытия означает, что ключевым шагом в любом биомиметическом методе является химическое модифицирование поверхности для достижения оптимальных условий гетерогенной нуклеации.

Формирование покрытий осуществляется по механизму самоорганизации монослоев. Самоорганизующиеся монослои (СОМ) — это компактные и высокоорганизованные монослои, которые образуются за счет химической адсорбции (рис. 1). Структура одной молекулы СОМ включает три основных элемента: функциональную группу, якорную группу и алкильную цепь между ними [17].

Функциональными группами для СОМ могут служить  $-\text{CH}_3$ -,  $-\text{NH}_2$ -,  $-\text{OH}$ -,  $-\text{SH}$ -,  $-\text{SO}_3\text{H}$ -,  $-\text{COOH}$ -,  $-\text{PO}_4\text{H}_2$ -группы.

При высоком сродстве якорной группы с гидроксильрованной подложкой образуется прочное соединение за счет полярной ковалентной или ионной связи.

Авторами [18] были исследованы поверхности:  $\text{Si-OH}$ ,  $\text{Ti-OH}$ ,  $\text{Zr-OH}$ ,  $\text{Nb-OH}$  и  $\text{Ta-OH}$ . Показано, что гидроксильные функциональные группы, благодаря своим гидрофильным свойствам, обладают хорошей способностью инициировать рост ГА на исследованных поверхностях. Однако лучшие результаты были получены при силианизации поверхности такими модификаторами как триалкил-, трихлор- или триалкосиланом [19].

Приведенные примеры иллюстрируют лишь некоторые аспекты актуальности тематики и многообразия возможных способов получения биосовместимых фосфатно-кальциевых покрытий на биологически инертных материалах для придания им биоактивности. Существует возможность варьирования структуры, морфологии и показателей свойств покрытий в широких пределах в зависимости от конкретных предъявляемых требований к имплантату. Следует отметить относительно малое количество известных исследований

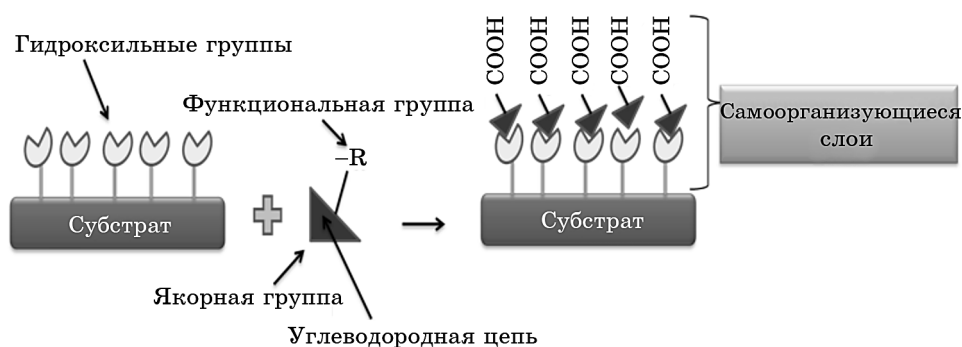


Рис. 1. Формирование СОМ.

*in vitro* и *in vivo*, результаты которых могли бы в значительной степени определить рациональный выбор технологии.

Комплексные исследования характеристик природных биоминералов, направленные на поиск путей их биомиметического моделирования, имеют существенное значение для развития технологий получения новых биомиметических композитных наноструктур и материалов с заданными свойствами и характеристиками.

В настоящее время, несмотря на усилия исследователей, остаются дискуссионными механизмы зародышеобразования и роль природы функциональных групп в формировании искусственной костной ткани.

Целью настоящей работы является проведение сравнительных исследований влияния природы поверхностных функциональных групп на процессы биомиметического синтеза и формирование слоя гидроксиапатита на поверхности титана.

В основу биомиметического синтеза и формирования слоя гидроксиапатита на поверхности титана положен метод имитации процесса биоминерализации, происходящей в организме человека [20].

## 2. МЕТОДИКИ СИНТЕЗА И ИССЛЕДОВАНИЙ

Сущность метода моделирования гидроксиапатита с природными свойствами и формирования его слоя на поверхности титана заключается в создании центров кристаллизации путем модифицирования его поверхности активными функциональными группами и осуществлении биомиметической минерализации в модельной физиологической жидкости, близкой по составу к плазме крови человека.

Методика синтеза слоя гидроксиапатита на поверхности титана включает следующие этапы: предварительная подготовка поверхности образцов титана (очистка, окисление); получение реакционно-способных функциональных групп на поверхности титановых пластин методом химического модифицирования; подготовка среды модельной физиологической жидкости — химического аналога плазмы крови человека, в которой происходит формирование гидроксиапатита; формирование слоя гидроксиапатита на поверхности титана в результате биомиметических процессов взаимодействия его функционализированной поверхности с окружающей физиологической жидкостью.

Подготовку поверхности моделей имплантатов — титановых пластин проводили следующим образом. Для исследований использовали полосу химически чистого титана. Сначала проводили нарезку пластин титана (1,5×2 см) и их механическую очистку, затем обезжиривали ацетоном и выдерживали в ультразвуковой бане 6–10 минут для полного удаления органики. Далее поверхность об-



разцов гидроксилировали в реакционной смеси  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%): $\text{H}_2\text{SO}_4$  (конц.) = 1:1 (по объему) при перемешивании в течение 10–15 минут при комнатной температуре. После подготовки пластины промывали дистиллированной водой.

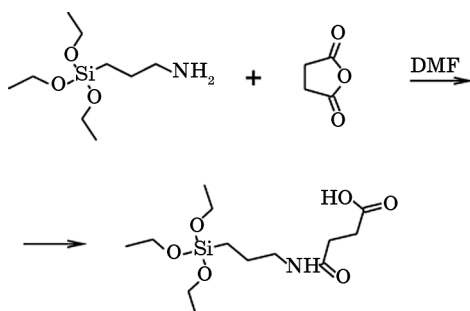
**Модифицирование поверхности функциональными группами.** С целью создания реакционно-способных функциональных групп, поверхность предварительно подготовленных титановых пластин модифицировали тетраэтоксисиланом (ТЭОС) для получения силанольного покрытия  $\text{Ti}|\text{=Si-OH}$  и (триэтоксисилилпропил-карбамоил)бутановой кислотой (ТЭСПКБ) — для создания функциональных карбоксильных ( $\text{Ti}|\text{-COOH}$ ) групп.

Применения указанных модификаторов для создания на поверхности титана функциональных групп в качестве активных центров зародышеобразования с последующим формированием самосборкой слоя биомиметичного гидроксиапатита из среды модельной физиологической жидкости, являющейся аналогом плазмы крови человека, в научных источниках мы не обнаружили, поэтому полагаем, что использованный подход представляет новизну работы.

Силанолизацию поверхности титановых пластин проводили выдерживанием их в безводном толуоле (35 мл) с ТЭОС (15 мл) в течение 24 часов при комнатной температуре. Пластины размещали в реакционной смеси таким образом, чтобы реакция модифицирования проходила равномерно по всей площади пластины. В конце процесса пластины троекратно промывали этанолом, дистиллятом.

Синтез реакционноспособных карбоксильных групп на поверхности титана осуществляли модифицированием (триэтоксисилилпропил-карбамоил)бутановой кислотой (ТЭСПКБ), которая образуется при взаимодействии  $\gamma$ -аминопропилтриэтоксисилана с глутаровым ангидридом.

В 20 мл безводного диметилформамида (ДМФА) растворяли  $\gamma$ -аминопропилтриэтоксисилан (4,7 мл) и добавляли глутаровый ангидрид (2,28 г). В результате реакции образуется ТЭСПКБ:



Модифицирование пластин титана проводили выдерживанием их в растворе ТЭСПКБ в ДМФА в течение 24 часов при комнатной температуре. Образцы с синтезированным покрытием промывали

этанолом и дистиллятом.

Таким образом были синтезированы образцы  $\text{Ti|}-\text{OH}$ ,  $\text{Ti|}=\text{Si}-\text{OH}$ ,  $\text{Ti|}-\text{COOH}$ . Модельную физиологическую жидкость, являющуюся химическим аналогом плазмы крови человека, готовили растворением солей в дистиллированной воде (1 л): 8 г  $\text{NaCl}$ ; 0,353 г  $\text{NaHCO}_3$ ; 0,224 г  $\text{KCl}$ ; 0,174 г  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,305 г  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ; 0,278 г  $\text{CaCl}_2$ ; 0,071 г  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Добавлением 0,1 М  $\text{HCl}$  доводили pH раствора до 7,4.

С целью формирования слоя гидроксиапатита, титановые пластины, содержащие различные функциональные группы, погружали в модельную физиологическую жидкость для осуществления процесса минерализации. Покрытие формировали в течение трех недель.

Исследования поверхности образцов проводили методами ИК-фурье спектроскопии (спектрометр «Perkin Elmer», модель 1720X) и рентгеновской фотоэлектронной (РФ) спектроскопии (электронный спектрометр ЭС-2402 с энергоанализатором PNOIBOS-100, SPECS).

Спектрометр ЭС-2402 оснащен ионной пушкой IQE-11/35 и источником медленных электронов FG-15/40 для компенсации зарядки поверхности диэлектриков. Источником излучения была рентгеновская трубка с магниевым анодом ( $\text{MgK}_\alpha$ ,  $E = 1253,6$  эВ,  $P = 300$  Вт). Калибровка спектрометра проводилась в трех точках энергетической шкалы по положению максимумов  $\text{Au}4f_{7/2}$ -,  $\text{Ag}3d_{5/2}$ - и  $\text{Cu}2p_{3/2}$ -линий.

Получены значения  $E_{\text{св}}(\text{Au}4f_{7/2}) = 84,0$  эВ,  $E_{\text{св}}(\text{Ag}3d_{5/2}) = 367,9$  эВ,  $E_{\text{св}}(\text{Cu}2p_{3/2}) = 932,6$  эВ, что соответствует стандартным значениям энергии связи  $E_{\text{св}}$  [21, 22]. Абсолютное разделение, измеренное по линии золота  $\text{Au}4f_{7/2}$ , составляло 0,9 эВ, точность определения положения максимума  $\text{Au}4f_{7/2}$ -линии —  $\pm 0,05$  эВ.

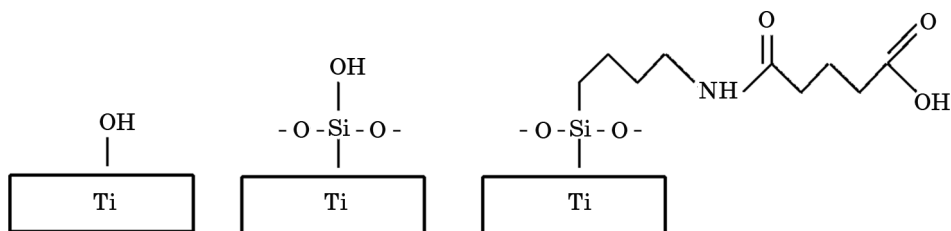
С учетом заряда, полученные значения пересчитывались на  $E_{\text{св}}(\text{C}1s) = 285,0$  эВ. Рабочий вакуум в аналитической камере спектрометра составлял  $2 \cdot 10^{-7}$  Па. Образцы готовились нанесением аэрогеля в смеси с гексаном на алюминиевые подложки  $10 \times 10$  мм.

Спектры  $\text{Ca}2p$ -уровней были разложены на связанные между собой компоненты с параметрами разницы энергий  $\Delta E_{3/2-1/2} = 3,56$  эВ и отношения интенсивностей  $I_{1/2}/I_{3/2} = 0,5$ , их ширина на половине высоты составляла  $\Delta E = 1,9$  эВ. Спектры  $\text{P}2p$ -уровней были разложены на одиночные компоненты с  $\Delta E = 2$  эВ. Разложение проводилось методом Гаусса–Ньютона. Площадь компонент определялась после вычета фона по методу Ширли [23].

Поверхность титановых образцов исследовали через 3, 7 и 21 день после их погружения в раствор МФЖ.

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Модели поверхности исследованных образцов, а именно, пластин титана с гидроксидированной поверхностью  $\text{Ti|}-\text{OH}$ , а также моди-



**Рис. 2.** Модели модифицированных и функционализированных поверхностей титана.

фицированных тетраэтоксисиланом  $Ti|≡Si-OH$  и триэтоксисилпропил-карбамоил бутановой кислотой  $Ti|-COOH$ , приведены на рис. 2.

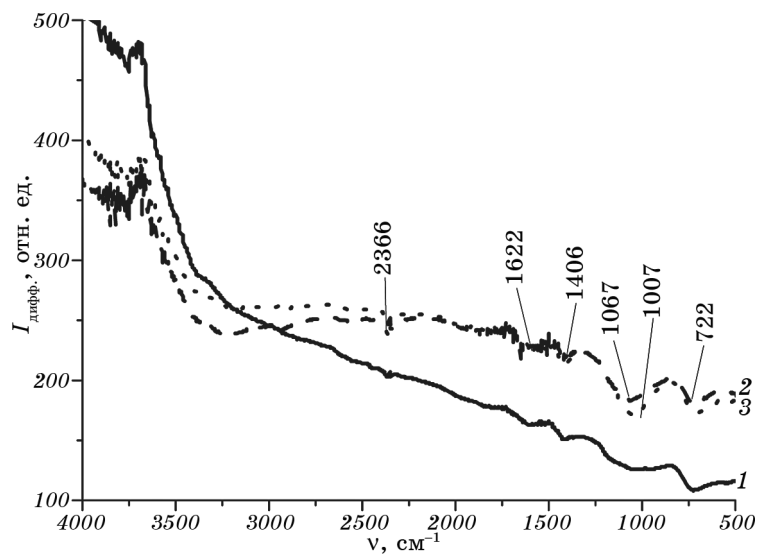
Формирование биологически-эквивалентного апатита может быть смоделировано в экспериментах с использованием МФЖ. Процессы биоминерализации включают образование центров кристаллизации и рост кристаллов новой минеральной фазы; эти процессы контролируются степенью пересыщения жидкости и локальными концентрациями ее компонентов.

В таблице приведен состав модельной физиологической жидкости для формирования гидроксиапатита. Для сравнения показан химический состав плазмы крови человека. Отличия состава МФЖ и плазмы крови человека обусловлены необходимостью создания пересыщенного раствора.

Титановые образцы, содержащие различные функциональные группы, погружали в модельную физиологическую жидкость для

**ТАБЛИЦА.** Концентрации ионов модельной физиологической жидкости и плазмы крови человека.

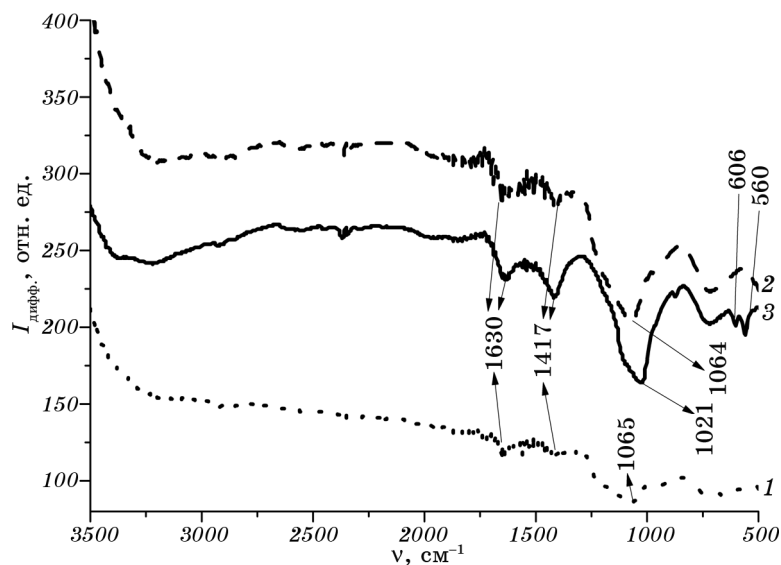
Ион	Концентрация (ммоль/мл)	
	Модельная физиологическая жидкость	Плазма крови человека
$Na^+$	142,0	142,0
$K^+$	5,0	5,0
$Mg^{2+}$	1,5	1,5
$Ca^{2+}$	2,5	2,5
$Cl^-$	148,8	103,0
$HCO_3^-$	4,2	27,0
$HPO_4^{2-}$	1,0	1,0
$SO_4^{2-}$	0,5	0,5



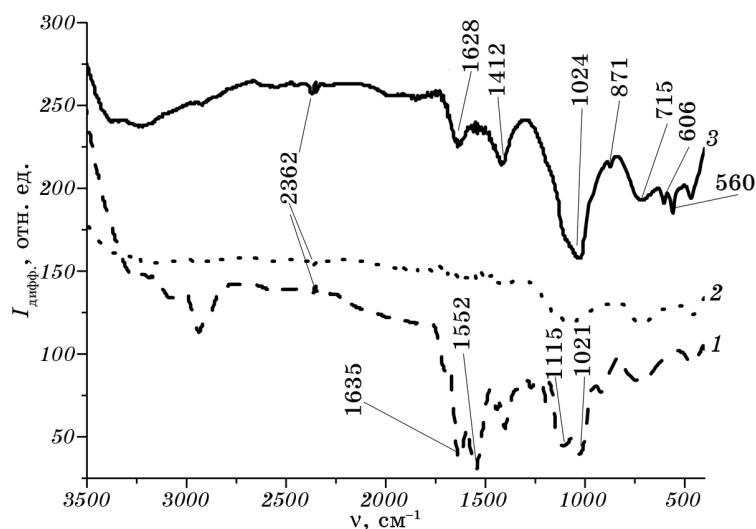
**Рис. 3.** ИК-Фурье-спектр образца  $\text{Ti|OH}$ : 1 — исходный образец, 2 — трехдневный слой, 3 — трехнедельный слой.

осуществления процесса минерализации.

Методом ИК-спектроскопии (см. рис. 3–5) исследовали покрытия, сформированные на поверхности титана в МФЖ в виде самоор-



**Рис. 4.** ИК-Фурье-спектр образца  $\text{Ti|SiOH}$ : 1 — исходный образец, 2 — трехдневный слой, 3 — трехнедельный слой.



**Рис. 5.** ИК Фурье-спектр образца Ti|COOH: 1 — исходный образец, 2 — трехдневный слой, 3 — трехнедельный слой.

ганизирующихся монослоев, содержащих гидроксильные (—OH), силанольные ( $\equiv\text{Si}-\text{OH}$ ) и карбоксильные (—COOH) концевые группы.

Функциональные группы, ассоциированные со структурой гидроксиапатита, идентифицируются в ИК-спектрах всех синтезированных образцов (рис. 3–5).

Полосы поглощения (ПП) спектра в области  $1000\text{--}1100\text{ см}^{-1}$  указывают на наличие валентных колебаний групп  $\text{PO}_4^{3-}$ , ПП  $870\text{--}880\text{ см}^{-1}$  — на деформационные колебания фосфатных групп, а ПП  $560$  и  $605\text{ см}^{-1}$  — на деформационные колебания тетраэдров  $\text{PO}_4^{3-}$ .

Широкая полоса поглощения спектра в области  $3400\text{--}3100\text{ см}^{-1}$  ассоциирована с присутствием молекул воды в образце, а слабая абсорбционная полоса на  $2300\text{--}2400\text{ см}^{-1}$  указывает на наличие бромида калия, который используется для приготовления образца.

Валентным колебаниям OH-групп также соответствует широкая полоса в области  $2800\text{--}3700\text{ см}^{-1}$ , что свидетельствует о наличии водородных связей. ПП на  $1400\text{--}1500\text{ см}^{-1}$  и  $871\text{ см}^{-1}$  принадлежат валентным колебаниям  $\text{CO}_3^{2-}$  [24].

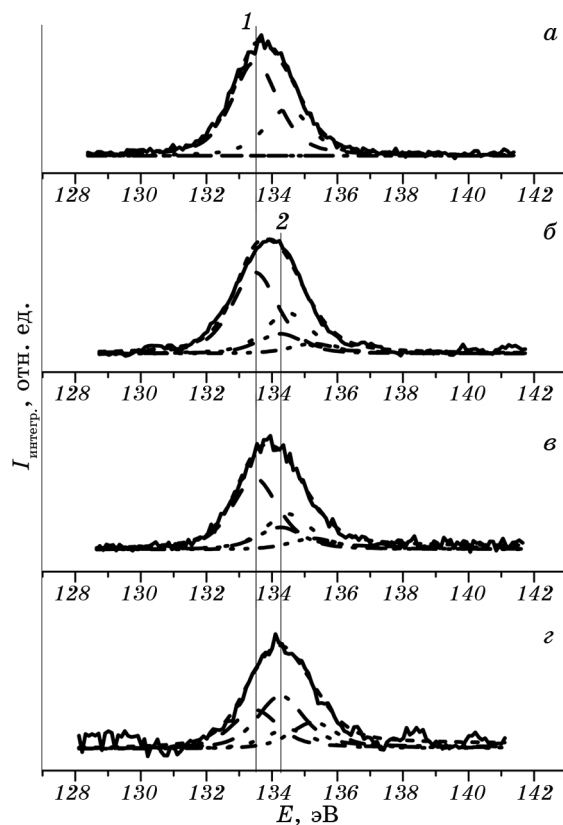
Анализ спектров образцов Ti|OH (рис. 3) показывает, что отчетливые полосы поглощения, которые появились после погружения в МФЖ, расположены в диапазонах  $650\text{--}720\text{ см}^{-1}$  и  $1000\text{--}1100\text{ см}^{-1}$ . Эти ПП соответствуют OH<sup>-</sup> и  $\text{PO}_4^{3-}$ -группам. На рассматриваемом спектре слабо проявились полосы поглощения, которые могут быть отнесены к  $\text{CO}_3^{2-}$  ионам.

На рисунках 4 и 5 можно видеть, как постепенно (в зависимости от времени) появляются дополнительные полосы поглощения

1400–1500  $\text{см}^{-1}$ , которые указывают на валентные колебания  $\text{CO}_3^{2-}$ , т.е. формирование слоя гидроксиапатита [25] на поверхности исследованных образцов титана, функционализированных группами  $\equiv\text{Si}-\text{OH}$  и  $-\text{COOH}$ .

В исследованиях [26] показано, что по характерному расщеплению полос 565/605 и 1070/1150  $\text{см}^{-1}$  можно судить о кристаллизации ГА. Считается, что резкость расщепления полосы 565/605  $\text{см}^{-1}$  также указывает на кристаллизацию ГА. В нашем случае это особенно присуще образцам титана с поверхностью, модифицированной карбоксильными группами (рис. 5).

Электронную структуру поверхности образцов трехнедельной выдержки в МФЖ исследовали методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФС). На рисунках 6 и 7 представлены РФС-спектры  $\text{Ca}2p$ - и  $\text{P}2p$ -уровней исходного ГА и образцов, содержащих различные функциональные группы, а также результаты разложения спектров на компоненты.



**Рис. 6.** РФС-спектры  $\text{P}2p$ -уровней исходного ГА (а) и образцов:  $\text{Ti}-\text{COOH}$  (б),  $\text{Ti}\equiv\text{Si}-\text{OH}$  (в),  $\text{Ti}-\text{OH}$  (г).

Как видно из рисунка 6, в  $P2p$ -спектрах присутствуют два неэквивалентных состояния ионов фосфора. Компонента 1 (обозначена вертикальной линией 1) с  $E_{св}(2p_{3/2}) = 133,5$  эВ соответствует ионам фосфора в ГА [20, 27], а компонента 2 (обозначена линией 2) с  $E_{св}(2p_{3/2}) = 134,6$  эВ может быть связана с гидратированной фазой ГА, которая содержит увеличенное количество ОН-групп на поверхности. Соотношение между неэквивалентными состояниями фосфора изменяется в зависимости от условий синтеза.

Энергия связи  $Ca2p_{3/2}$ -уровня во всех образцах равна 347,8 эВ (рис. 7) и соответствует ионам кальция в ГА [20, 27]. В нашей работе по нанесению ГА на поверхность титановых пластин [28, 29] были зафиксированы большие значения энергий связи для  $P2p$ - и  $Ca2p$ -линий (соответственно 137 эВ и 351 эВ), что может быть связано с вкладом поверхности пластин.

На рисунке 8 представлены интегральные интенсивности  $Ca2p$ -линии исследуемых образцов с различными функциональными

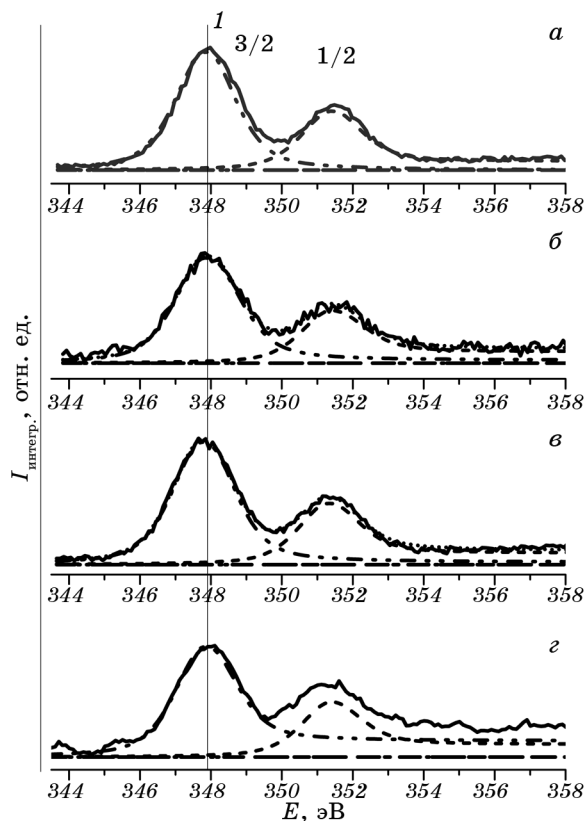
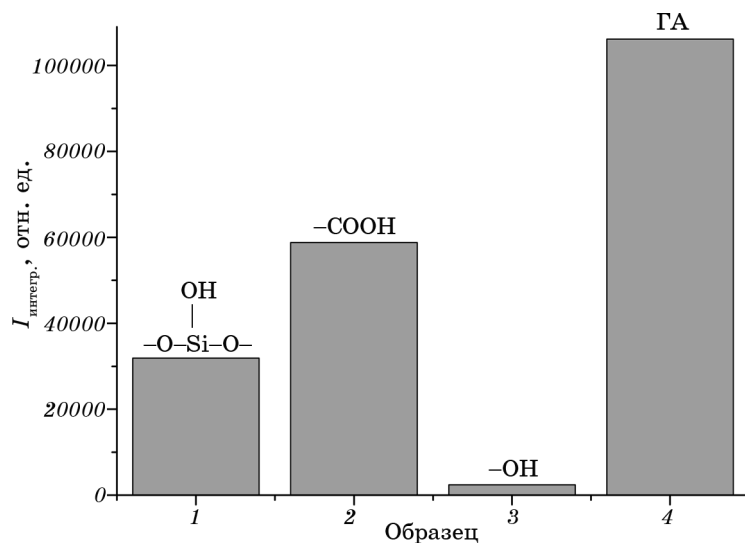


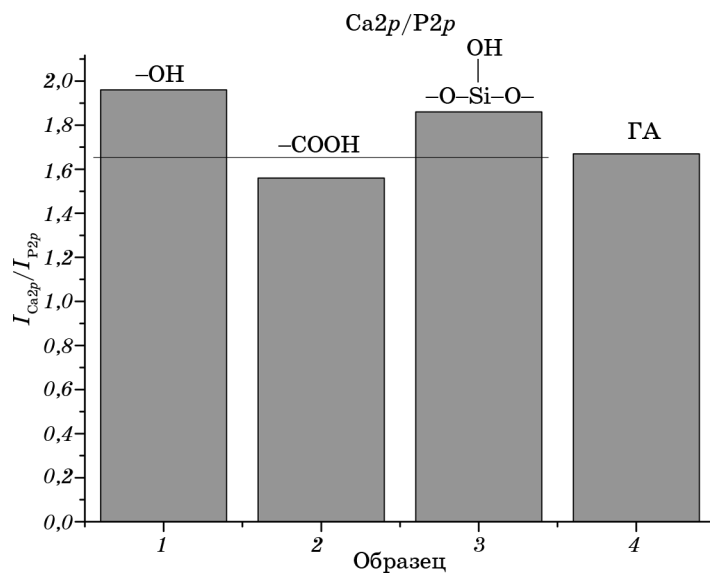
Рис. 7. РФ-спектры  $Ca2p$ -уровней исходного ГА (а) и образцов:  $Ti-COOH$  (б),  $Ti-Si-OH$  (в),  $Ti-OH$  (г).



**Рис. 8.** Интегральные интенсивности Ca<sup>2p</sup>-линии РФ-спектров на образцах титана с различными функциональными группами.

группами на поверхности.

Как видно из диаграмм (рис. 8, 9), наиболее эффективной являет-



**Рис. 9.** Отношение количества Са к количеству Р в синтезированных материалах, по сравнению с нативным гидроксиапатитом (получено по данным РФС).



ся методика формирования ГА на поверхности титана с карбоксильными группами, модифицированного ТЕСПКБ.

Согласно данным рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии, отношение интегральных интенсивностей Ca $2p$ - и P $2p$ -линий, приведенное на рис. 9, образца титана, модифицированного функциональной группой –COOH, соответствует стехиометрии гидроксиапатита.

Исследования показывают, что покрытия, сформированные в модельной физиологической жидкости методом самоорганизующихся монослоев с функциональными карбоксильными группами, более соответствуют характеристикам кристаллического гидроксиапатита, чем покрытия, сформированные с функциональными группами  $\equiv\text{Si}-\text{OH}$  и  $-\text{OH}$ .

#### 4. ВЫВОДЫ

С использованием новых подходов, заключающихся в применении модификаторов ТЭОС и ТЕСПКБ для создания на поверхности титана функциональных групп в качестве активных центров зародышеобразования, методом формирования самосборкой из среды модельной физиологической жидкости, являющейся аналогом плазмы крови человека, синтезированы слои биомиметичного гидроксиапатита.

Исследованиями при помощи ИК-фурье и РФ спектроскопии подтверждено соответствие состава покрытия на поверхности образцов титановых пластин гидроксиапатиту.

Показано, что модифицирование поверхности титана карбоксильными группами позволяет получить слой гидроксиапатита с морфологическими характеристиками и степенью кристалличности, наиболее соответствующими природному гидроксиапатиту.

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. A. R. Parker, V. L. Welch, D. Driver, and N. Martini, *Nature*, **426**: 786 (2003).
2. M. A. Meyers, Po-Yu Chen, A. Yu-Min Lin, and Y. Seki, *Progress in Materials Science*, **53**, Iss. 1: 1 (2008).
3. H. Yahya, *Biomimetics: Technology Imitates Nature* (Istanbul: Global Publishing: 2006).
4. В. М. Безруков, А. С. Григорян, *Стоматология*, **75**, № 5: 7 (1996).
5. P. Fratzl, *Journal of Royal Society Interface*, **4**: 637 (2007).
6. M. Schönhoff, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, **8**, Iss. 1: 86 (2003).
7. Ю. Д. Третьяков, О. А. Брылев, *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева)*, **44**, № 4, (ч. 1): 10 (2000).
8. А. С. Власов, Т. А. Карабанова, *Стекло и керамика*, № 9–10: 23 (1993).

9. С. И. Швед, *Успехи современной биологии*, **115**, № 1: 58 (1995).
10. А. В. Карлов, В. П. Шахов, *Системы внешней фиксации и регуляторные механизмы оптимальной биомеханики* (Томск: СТТ: 2001).
11. Т. Miyazaki, H.-M. Kim, T. Kukubo, and F. Miyaji, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **12**, No. 8: 683 (2001).
12. M. C. De Andrade, M. S. Sader, M. R. T. Filgueiras, and T. Ogasawara, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **11**, No. 11: 751 (2000).
13. M. Wei, A. J. Ruys, M. V. Swain, and S. H. Kim, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **10**, No. 7: 401 (1999).
14. L.-E. Huang, K.-W. Xu, and J. Lu, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **11**, No. 11: 667 (2000).
15. B. C. Bunker, P. C. Rieke, and B. J. Tarasevich, *Science*, **264**: 43 (1994).
16. M. Tanahashi and T. Matsuda, *J. Biomed. Mater. Res.*, **34**: 305 (1997).
17. S. D. Cook, K. A. Thomas, and R. J. Haddad, *Clin. Orthop. Rel. Res.*, **232**: 225 (1988).
18. T. Kokubo, M. Hyun, and M. Kawashita, *Biomater.*, **24**: 2161 (2003).
19. Q. Liu, J. Ding, and F. Mante, *Biomater.*, **23**: 3103 (2002).
20. Y. Zhang, L. Zhou, D. Li, N. Xue, X. Xu, and J. Li, *Chem. Phys. Lett.*, **376**: 493 (2003).
21. В. И. Нефедов, *Рентгеноэлектронная спектроскопия химических соединений* (Москва: Химия: 1984).
22. C. D. Wagner, J. F. Moulder, L. E. Davis, and W. M. Riggs, *Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy* (New York: Perking-Elmer Corp.: 1979).
23. D. Briggs and M. P. Seach, *Practical Surface Analysis by Auger and X-ray Photoelectron Spectroscopy* (Chichester: John Wiley and Sons Ltd: 1983).
24. M. Markovic, B. Fower, and M. Tung, *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.*, **109**: 553 (2004).
25. Q. Zhang, J. Chen, J. Feng et al., *Biomater.*, **24**: 4741 (2003).
26. D. Tadic, F. Peters, and M. Epple, *Biomater.*, **23**: 2553 (2003).
27. A. Costescu, I. Pasuk, and F. Ungureanu, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **5**, No. 4: 989 (2010).
28. П. П. Горбик, В. Н. Міщенко, А. Л. Петрановська, О. М. Кордубан, В. Л. Карбовський, А. П. Шпак, *Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології*, **6**, № 4: 1273 (2008).