

На правах рукописи



Торопков Никита Евгеньевич

**РАЗРАБОТКА БИОРЕЗОРБИРУЕМЫХ
КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ
И ТЕХНОЛОГИИ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ**

Специальность 05.17.11 – Технология силикатных
и тугоплавких неметаллических материалов

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Томск – 2021

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

Научный руководитель: **Петровская Татьяна Семеновна**
доктор технических наук, доцент

Официальные оппоненты: **Голованова Ольга Александровна**
доктор геолого-минералогических наук,
профессор, заведующий кафедрой
неорганической химии ФГБОУ ВО
Омского государственного университета
им. Ф.М. Достоевского

Сабирзянов Наиль Аделевич, доктор
технических наук, главный научный
сотрудник ФГБУН «Институт химии
твердого тела» Уральского отделения
Российской академии наук, заведующий
лабораторией химии гетерогенных
процессов

Защита состоится «21» декабря 2021 в 16.00 часов на заседании диссертационного совета ДС.ТПУ.24 в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 43а, ауд. 117.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» и на сайте: dis.tpu.ru

Автореферат разослан

«__» _____ 2021г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Кандидат технических наук
Митина Наталья
Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы:

В настоящее время в ортопедии и травматологии используются, главным образом, имплантаты на основе металлов, сплавов, а также биоинертная керамика. Однако имеются области регенеративной медицины, где незаменимой является кальциево-фосфатная керамика и изделия на ее основе. При этом невысокая прочность кальциево-фосфатной керамики не позволяет ее использовать в качестве объемных элементов способных нести поддерживающую функцию, поэтому кальций-фосфатная керамика находит широкое применение в качестве покрытий на металлические имплантаты, снижая риск отторжения в первые периоды приживания.

Обширные дефекты костей (например, при онкологии) требуют использования имплантатов со сложной геометрией, что остается трудно решаемой задачей. Отсутствие полной геометрической конгруэнтности имплантата с окружающими тканями приводит к локальному отторжению эндопротеза в зонах с недостаточной интеграцией, к объёмным образованиям фиброзной ткани. Задача соответствия имплантата форме дефекта может быть решена совместным использованием данных рентгеновской томографии, моделирования архитектуры имплантата и его 3D-печати. Такой подход открывает перспективы создания индивидуальных имплантатов любой формы.

Для создания биорезорбируемых материалов для имплантатов подходящими являются термопластичные полимеры карбоновых кислот, благодаря чему они широко применяются в восстановительной медицине для лечения переломов, в том числе заменяя металлические штифты. В то же время, имеются данные, что изделия из биополимеров приводят к неполной деградаци. Другим недостатком полимеров карбоновых кислот является снижение pH биологических жидкостей, омывающих имплантат, что наряду с другими факторами способствует развитию асептического воспаления и образованию капсулы из соединительной ткани между имплантатом и костью. Возникает микроподвижность имплантата и неизбежное его удаление.

Ослабление отрицательного влияния полимера может быть достигнуто путем сочетания в одном композите биополимера и фосфатов кальция. Применение кальций-фосфатных компонентов в композите обеспечит высокую биосовместимость и остеоинтеграционный потенциал. Такие композиты, как ожидается, должны контролируемо замещаться костной тканью с последующим зарастанием дефекта кости. Увеличение доли кальциево-фосфатного керамического компонента в композите должно нормализовать pH прикостных жидкостей и уменьшить влияние растворения полимера с образованием новой кости. Использование

термопластичных полимеров открывает возможность применения 3D-печати и получения имплантатов любой формы.

Настоящее исследование, посвященное разработке композиционных материалов, обладающих вышеперечисленными свойствами, является актуальным.

Диссертационная работа выполнялась при поддержке гранта РФФИ по теме «Физико-химические основы создания биоактивных композиционных материалов с повышенной прочностью для имплантатов кости» (№ 19-33-90188), а также грантом «УМНИК» по теме «Разработка составов биорезорбируемых чернил для 3D-печати костных имплантатов» (11848ГУ/2017).

Степень разработанности темы исследования:

Исследования в области биокompозитов, содержащих фосфаты кальция с применением аддитивных технологий, проводятся научными группами: Томского политехнического университета (Твердохлебов С.И., Большасов Е.Н. и др.) – композиты для 3D-печати на основе полилактида, поликапролактама и др. и гидроксиапатита; Томского государственного университета (Курзина И.А., Лыткина Д.Н., Васенина И.В.) – биокompозиты, содержащие полилактид и гидроксиапатиты, в том числе ион-модифицированные; Технологический университет "МИСиС" (Сенатов Ф.С., Задорожный М.Ю.) – биокompозиты с различными полимерами и гидроксиапатитом; Университет Сан-Паулу (Д.К. Соуза, Э.Л. Вахиа де Абреу, Л.Э. Каталани) – биокompозиты на основе октакальциевых фосфатов и полилактида с применением 3D-печати; Аньхойский университет Сан-Лянь (В. Ян, К. Я. Чжан) – биокompозиты из полилактида и наноразмерного гидроксиапатита; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Путляев В.И., Сафронова Т.В. и др.) – биокompозиты для стереолитографической 3D-печати, биоинспирированные имплантаты, исследование их структуры и свойств; Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского (Голованова О.А. и др.) – получение биокompозитов на основе ортофосфатов кальция в присутствии органических и неорганических агентов.

Системных исследований по высоконаполненным органоминеральным биокompозитам, пригодным для получения изделий сложной формы, нет.

Цель и задачи работы

Целью работы является разработка биорезорбируемых композиционных материалов на основе фосфатов кальция и полилактида, пригодных для 3D-печати и технологии получения изделий из них по методу FDM.

В соответствии с общей целью работы в диссертации решаются следующие **задачи**:

1. Исследование условий получения фосфатов кальция, пригодных для создания композиционного материала.
2. Разработка составов композитов и исследование влияния составов на их физико-химические свойства.
3. Исследование физико-химических процессов, происходящих при нагревании композитов.
4. Исследование режимов 3D-печати композитов. Определение механических свойств образцов, полученных при различных режимах 3D-печати.
5. Исследование основных биологических свойств полученных композитов: биорезорбции, биоактивности и биосовместимости.

Научная новизна

1. Установлено, что осаждение из водных растворов кальций- и фосфатсодержащих солей позволяет получать смесь высокодисперсных фосфатов кальция (ВФК), состоящую из гидроксиапатита, карбонатзамещенного и аморфного гидроксиапатита, фосфата кальция, характеризующуюся средним отношением $Ca/P = 1,60-1,62$, средним размером частиц до 100 нм и удельной поверхностью 50-60 м²/г. Эти характеристики достигаются при следующих условиях синтеза: смешение исходных компонентов в турбулентном режиме, температура синтеза 100 °С, выдерживание осадка в маточном растворе не менее 14 дней, поддержание значения pH в течение всего процесса на уровне 9.

2. Установлено, что добавки глицерина и сорбитола суммарной концентрации от 1,5 до 7,5 % мас. обеспечивают гомогенное распределение смеси высокодисперсных фосфатов кальция (ВФК) в полилактиде и позволяют получить композиционные материалы с содержанием ВФК до 70 % мас., превосходящие аналоги по совокупности механических свойств. При этом содержание ВФК в композите от 50 до 70% обеспечивает достижение показателей предела прочности при сжатии 50-61 МПа, при изгибе 32-43 МПа, ударной вязкости 4,5-5,9 кДж/м², числа циклов нагружения 4200-4800, что сопоставимо с характеристиками натуральной губчатой кости.

3. Установлено, что нагревание композитов на основе ВФК и полилактида в процессе 3D-печати сопровождается стеклованием и конденсацией лактида в диапазоне температур от 60 до 160 °С, а также полиморфным переходом гидроксиапатита из моноклинной в гексагональную модификацию в диапазоне 200 - 230 °С. Эти процессы обуславливают переход от линейной к пространственной структуре полимера, возникновение водородной связи между гидроксильными группами гидроксиапатита и карбоксильными группами полилактида и обеспечивают высокие механические характеристики композитов.

Практическая значимость работы

Разработаны составы композиционных материалов на основе полилактида с содержанием смеси высокодисперсных фосфатов кальция от 10 до 60% с добавками глицерина и сорбитола в суммарной концентрации от 1,5 и до 7,5%, отличающиеся более высокими показателями механической прочности по сравнению с известными: предел прочности при сжатии от 50 до 61 МПа, предел прочности при изгибе от 32 до 43 МПа, ударная вязкость от 4,5 до 5,7 кДж/м², число циклов нагружения от 4200 до 4800. По совокупности биологически значимых свойств: смачиваемости физиологическими растворами, низкому показателю цитотоксичности, биоактивности *in vitro* и остеогенному потенциалу *in vivo* - разработанные композиты рекомендованы для применения в регенеративной медицине для замещения костных дефектов.

Разработаны технологические основы получения изделий из разработанных композиционных биоматериалов заданной архитектуры и формы с комплексом заданных функциональных свойств, включающие блок 3D-печати.

Новые результаты защищены патентами RU2679127C1 «Композит для 3d-печати медицинских изделий», RU2679632C1 «Композит для 3d-печати медицинских изделий».

Теоретическая значимость диссертационной работы состоит в получении новых данных по синтезу фосфатов кальция требуемого состава и степени дисперсности. В развитии представлений в области получения органоминеральных композиционных материалов, предназначенных для применения в восстановительной медицине. В создании научных основ технологии получения композитов на основе высокодисперсных фосфатов кальция и полилактида с применением 3D-печати.

Положения, выносимые на защиту

- Положение об условиях получения комплекса фосфатов кальция, обладающих функциональной совокупностью структурно-фазовых, химических и дисперсных характеристик: отношением Ca/P=1,60-1,62, со средним размером частиц до 100 нм, удельной поверхностью 50-60 м²/г; включающих температуру реакции равную 100±5 °С, турбулентный режим смешивания, поддержание pH на уровне 9,0±0,3.

- Положение о формировании составов, определяющих функциональные и технологические свойства композиционных материалов, а именно: введение комплекса высокодисперсных фосфатов кальция от 10 до 70%, диспергаторов-пластификаторов глицерина и сорбитола суммарной концентрацией от 1,5 до 7,5%, что обеспечивает достижение целевых показателей механической прочности и биологически значимых свойств.

- Положение о граничных условиях перехода от линейной к пространственной структуре полимера и возникновения химических связей между органическим и минеральным компонентом композита в процессе 3D-печати в диапазоне температур 200-230 °С.

Методология и методы исследования.

Объектами исследования являются композиционные материалы на основе фосфатов кальция и полилактида.

Предметом исследования являются процессы получения высокодисперсных фосфатов кальция и композиционных материалов на их основе с применением термопластичного полимера полилактида.

Научная гипотеза работы состоит в следующем. Целевые функциональные свойства композиционного материала определяются его компонентным составом, структурой на молекулярном, микро- и макроуровнях, а также технологическими характеристиками исходных компонентов. Регулирование биологически значимых свойств композита обеспечивается совокупностью структурно-фазовых, химических и дисперсных характеристик минеральной фазы, представленной фосфатами кальция.

Основными методами исследования в работе являются методы синхронного термического анализа и электронной микроскопии, рентгеноструктурного, дисперсного анализа и ИК-спектроскопии. Методы испытания основных биологических свойств и определения механических характеристик материалов основаны на требованиях ГОСТ.

Достоверность и обоснованность результатов

Достоверность и обоснованность результатов, полученных в диссертационной работе, обеспечивается использованием современных высокоинформативных методов исследования в аттестованных лабораториях на сертифицированном оборудовании; с использованием современных стандартных методик, приборов и технических средств; достаточным для статистической оценки количеством образцов и проведенных измерений.

Апробация

Основные результаты работы доложены и обсуждены на следующих научных мероприятиях (конференциях и симпозиумах): «Молодежь, наука, технологии: идеи и перспективы», Томск, Россия 2017г.; «Современные техника и технологии», Томск, Россия, 2017г.; XIV «Перспективы развития фундаментальных наук», Томск, Россия, 2017г., 2018г., 2019г.; «Ломоносов-2017, 2018», Москва, Россия, 2017г., 2018г.; «Химия и химическая технология в XXI веке» Томск, Россия 2017-2020г.; «Функциональные материалы: разработка, исследование, применение», Томск-Тамбов, Россия, 2017г.; конкурс Научно-технического творчества молодежи НТТМ-2017,

Москва, Россия 2017г.; «Всероссийский инженерный конкурс», Москва, Россия, 2017г.; Всероссийский нанотехнологический инженерный конкурс для студентов и аспирантов, Москва, Россия, 2017г.; «Высокие технологии в современной науке и технике» Томск, Россия, 2017г.; "Новые технологии создания и применения биокерамики в восстановительной медицине", Томск, Россия, 2016г.; «Биоматериалы в медицине» Москва, Россия, 2017г.; Macro- and Supramolecular Architectures and Materials: Multifunctional Materials and Structures (MAM-17), Москва, Россия, 2017г.; «Физическая мезомеханика. Материалы с многоуровневой иерархически организованной структурой и интеллектуальные производственные технологии», Томск, Россия, 2019 - 2021г.; Международный симпозиум имени академика М.А. Усова студентов и молодых ученых, Томск, Россия, 2017 - 2020г. Получены 2 акта об апробации результатов работы.

Личный вклад

Автором сформулирована научная гипотеза диссертационной работы, выбраны методы для проведения исследований. Принято участие в постановке цели и задач исследования. Автором проведены все экспериментальные исследования с применением инструментальных методов, получены фосфаты кальция и композиционные материалы, проведены эксперименты *in situ* и *in vitro*. Разработаны технологические основы изготовления изделий из разработанных композитов с применением 3D-печати. Проведены расчетные и экспериментальные исследования, результаты которых интерпретированы и подготовлены к публикации. Анализ полученных результатов и формулирование выводов проводились совместно с научным руководителем. При публикации результатов диссертационной работы вклад соавторов не превышал 30%. По результатам проведенных работ автором предложена новая технология получения композитов, содержащих высокодисперсные фосфаты кальция и полилактид, с применением 3D-печати для создания имплантатов сложной формы.

Публикации

Результаты работы представлены в 28 публикациях, из которых 1 статья в журнале, рекомендованном ВАК, 2 статьи в журналах и 6 трудов конференций в изданиях, индексируемых в Scopus и Web of Science. В рамках выполнения работы получено 2 патента.

Структура и объем работы.

Работа состоит из введения, 6 глав, заключения и списка использованных литературных источников. Общий объем работы составляет 145 страницы, включая 41 рисунок, 21 таблицу, 253 библиографических источника.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обоснована актуальность и состояние исследований по теме диссертации, сформулированы цель и задачи, научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, защищаемые положения, методология и уровень апробации результатов.

В **первой главе** приводится анализ современного состояния исследований по теме. Рассмотрены требования к костным имплантатам в сопоставлении с характеристиками биологической кости; фосфаты кальция, используемые в разработке биоматериалов, строение и способы их получения. Приводится обзор биорезорбируемых материалов и методов получения имплантатов сложной формы с контролируемой архитектурой. Формулируется научная проблема, цель и задачи работы.

Во **второй главе** описаны объекты исследования, методы исследования структуры и физико-химических свойств материалов: синхронный термический анализ, ИК-спектроскопия, сканирующая электронная спектроскопия, рентгенофазовый анализ, лазерная дифракционная спектроскопия. Описаны методики изучения механических и биологически значимых свойств, методики экспериментов *in vitro* и *in vivo*. Описаны основные режимы и технологическая схема 3D-печати.

Третья глава диссертации посвящена определению условий синтеза высокодисперсных кальциевых фосфатов, соответствующих установленным критериям. Исследовано влияние прекурсоров, температуры, времени выдерживания осадка в маточном растворе и др. параметров на дисперсность, состав продуктов и выход по реакции.

Условия синтеза приведены в таблице 1. Состав кристаллических фаз и размер кристаллитов (ОКР) продуктов синтеза - в таблице 2.

Таблица 1. Условия синтеза фосфатов кальция методом химического осаждения.

Шифр	Т _{реакции} , °С	Выдерживание в маточном растворе		Выход реакции, %	Са/Р	Т _{прокаливания} , °С
		Время, сут	Т, °С			
1-1*	60	-	-	87,3	1,59	-
1-2**	60	-	-	89,2	1,58	-
1-3*ψ	60	-	-	92,9	1,57	-
1-4**	100	-	-	94,0	1,59	-
1-5**	100	1	25	96,4	1,60	-
1-6**	60	-	-	94,7	1,61	400
2-1**	100	-	-	93,6	1,60	-
2-2**	100	-	-	90,6	1,50	800
2-3**	100	1	37	94,5	1,60	-
2-4**	100	1	37	92,4	1,60	800
2-5**	100	14	37	96,6	1,60	-
2-6**	100	14	37	92,9	1,62	800

* - капельное смешение, ** смешение при полном сливании реагентов. ψ – СВЧ нагрев.

За основу взяты реакции получения гидроксиапатита кальция (ГАП):
 $6(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + 10\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 8\text{NH}_4\text{OH} = \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{NH}_4\text{NO}_3 + 6\text{H}_2\text{O}$ (1);
 $6\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 10\text{CaCl}_2 + 8\text{NaOH} = \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 20\text{NaCl} + 6\text{H}_2\text{O}$ (2);

Таблица 2. Кристаллические фазы и размер кристаллитов продуктов синтеза

Шифр образцов		1-1	1-2	1-3	1-4	<u>1-5</u>	1-6	2-1	<u>2-2</u>	2-3	<u>2-4</u>	2-5	<u>2-6</u>
Содержани е, масс. %	Моно. ГАП	30	45	15	44	-	<u>62</u>	38	-	47	-	<u>61</u>	-
	Гекс. ГАП	25	12	41	19	<u>72</u>	<u>6</u>	3	<u>64</u>	13	<u>71</u>	<u>8</u>	<u>78</u>
	Карбонат ГАП	2	4	4	6	<u>8</u>	<u>6</u>	7	<u>2</u>	6	<u>7</u>	<u>6</u>	<u>2</u>
	ТКФ	31	25	22	14	<u>20</u>	<u>16</u>	37	<u>34</u>	16	<u>22</u>	<u>15</u>	<u>20</u>
	Аморфный ГАП	12	14	18	17	-	<u>10</u>	15	-	18	-	<u>10</u>	-
Размер кристаллитов, нм		~34	~35	~37	~28	~28	~24	~37	~40	~35	~40	~20	~33

Жирным выделены образцы, полученные прокаливанием продуктов синтеза; подчеркиванием выделены образцы с высоким выходом по реакции.

Наибольшее содержание ГАП в продукте равно 80% обеспечивают смешение реагентов путем сливания при 100 °С и выдерживание в маточном растворе в течение 14 дней (образец 2-6); наименьшее 48% (образец 2-1) - сливание прекурсоров и поддержание температуры 100 °С с извлечением продуктов сразу после синтеза; размер кристаллов составляет соответственно 37 и 33 нм. Полное сливание подогретых прекурсоров и проведение реакции при 100 °С приводит к образованию мелкокристаллического продукта с размером кристаллитов 24 нм (1-6); при этом содержание ГАП в 72% достигается при дополнительной термообработке осадка при 400 °С. Применение СВЧ-нагрева не способствует повышению выхода ГАП или снижению размера кристаллов.

Средний размер кристаллитов в образцах 2-1, 2-3, 2-5, выдержанных в маточном растворе при 37 °С, равен соответственно 37 нм, 35 нм, и 20 нм после двухнедельной выдержки осадка в маточном растворе (2-5).

ИК-спектроскопия подтверждает данные РФА. В ИК-спектрах образцов (рисунок 1) определяются полосы, соответствующие колебаниям фосфатных групп в интервалах волновых чисел 955-962, 1020-1090 и 520-660 см⁻¹. Широкая полоса деформационных колебаний ОН-групп при 3440-3570 см⁻¹ соответствует адсорбированной воде. Колебания, соответствующие полосам в интервалах 870-875 см⁻¹ и 1300-1500 см⁻¹, относятся к связям С=О в карбонатных группах. Наличие карбонатных групп в структуре образцов обусловлено адсорбцией углекислого газа из атмосферы воздуха в процессе синтеза. Приведенные данные доказывают наличие карбонатной группы в продуктах реакции.

Полифазный состав продуктов реакции отвечает поставленной задаче – в них присутствуют соединения с разным произведением растворимости в водных средах при t=37 °С: показатель произведения растворимости (рПР) ГАП = 58,6, рПР карбонатзамещенного ГАП = 50-45, рПР аморфного ГАП = 25-32, рПР ТКФ = 29,5.

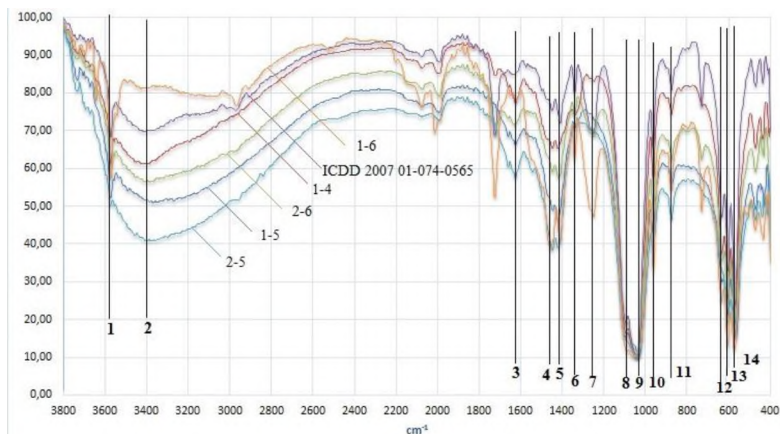


Рисунок 1. ИК-Фурье спектры образцов фосфатов кальция.

Все исследованные продукты представляют собой порошкообразные системы, в которых в силу поверхностной активности образуются агрегаты размерами 10-100 мкм. Агрегаты, как и осадки, имеют рыхлую структуру, в которой со временем распределяются кристаллические фазы. При выдерживании в растворе в течение 2-х недель происходит накопление кристаллического продукта и образование кристаллов с правильной огранкой.

В таблице 3. показана дисперсность фосфатов кальция по данным Таблица 3. Дисперсность по методу БЭТ и лазерной дифракции (SALD)

Шифр	1-4	1-5	2-5	2-6
Суд, м ² /г	45,4	34,8	55,7	4,7
Размер частиц по БЭТ, нм	42,09	54,91	34,31	406,56
D10, мкм	0,075	0,087	0,045	0,372
D50, мкм	0,098	0,139	0,078	0,591
D90, мкм	0,150	0,292	0,105	1,142

лазерного дифрактометра и рассчитанная по методу БЭТ при $\rho \sim 3,14$ г/см³. Минимальный размер частиц в диапазоне 45-78 нм наблюдается у образцов 2-5. В образцах 2-6, полученных прокаливанием образцов 2-5, размер частиц увеличивается в 10 раз до 372-591 нм.

Экспериментальные значения лазерной дифракции согласуются с расчетными данными, полученными из БЭТ.

Четвертая глава посвящена разработке составов композиционных материалов. Они содержат высокодисперсные фосфаты кальция (ВФК) в диапазоне от 10 до 70% и добавки пластификатора (таблица 4). Содержание ВФК в полилактате более 40% приводит к агрегации их частиц. Формирование агрегатов со средним размером более 50 мкм вызывает седиментацию, которая тем более активна, чем большее количество ВФК вводится в полимер. Для предотвращения агрегации фосфатов в составы

Таблица 4. Составы композиционных смесей

ФК, масс. %	ПЛА, масс. %	Сорбитол, масс. %	Глицерин, масс. %	Показатель текучести расплава, г/10мин
0	100	0	0	14,3±0,1
10	88,5	0,5	1	14,4±0,1
20	78	0,7	1,3	14,2±0,1
30	65,5	1,5	3	15,3±0,1
40	55,2	1,5	3,3	15,9±0,1
50	43,8	2	4,2	15,1±0,1
60	34	2,3	4,7	15,1±0,1
70	23,5	2,5	5	15,1±0,1

введены глицерин и сорбитол, которые также выступают пластификаторами в композиционных системах.

Количество пластификатора вводилось в соответствии с пластическими характеристиками композита до достижения показателя текучести расплава 14-16 г/10мин (при температуре 200 °С и нагрузке 25Н), что соот-

ветствует показателю текучести исходного полилактида (ПЛА).

На рисунке 2. приведены прочностные характеристики образцов, полученных инъекционным литьем в термопласт автомате под давлением 120 бар при температуре 210°С. Прочность композиционных образцов при увеличении содержания ВФК от 5 до 60% при сжатии увеличивается от 50±2 до 61±2 МПа (на 10-18%), при изгибе от 32±2 до 43±2 (на 10-16%). Ударная вязкость по Шарпи, характеризующая прочность при динамической нагрузке, увеличивается на 40% в ряду составов и изменяется от 4,5±0,5 до 5,9±0,5 кДж/м². Усталостная прочность, определяемая в циклах нагружения, является индикатором надежности при длительном применении. В ряду исследованных составов число циклов нагружения увеличивается соответственно от 4200±100 до 4800±100.

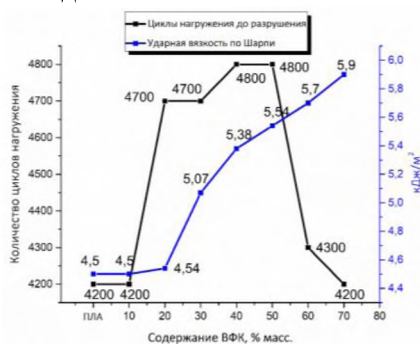
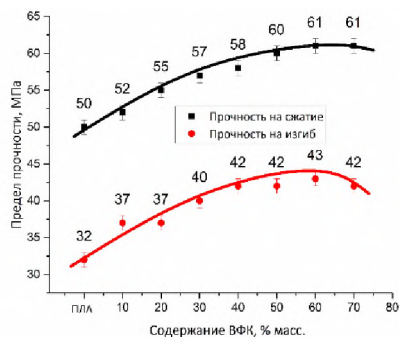


Рисунок 2. Механические характеристики композитов, содержащих ВФК от 10 до 70%, в сравнении с чистым ПЛА.

Механические характеристики композитов разработанных составов соответствуют и превосходят показатели естественной кости: прочность на сжатие губчатой кости – 32-42 МПа, прочность на изгиб – 10-40 МПа, энергия разрушения 3,4-5,4 кДж/м², а также ПЛА (прочность на сжатие – 52

МПа, на изгиб – 32 МПа, энергия разрушения 3,90 кДж/м², число циклов нагружения 4200), и превосходят показатели кальций-фосфатной керамики.

Методом ДСК изучены физико-химические процессы при нагревании до 300 °С модельных композитов, содержащих 70% минеральной фазы (рисунки 3 и 4). В первом случае содержание моноклинной фазы ГАП превышало 60% (образец 2-5 из таблицы 2), во втором случае композит не содержал моноклинной фазы ГАП (образец 2-6 из таблицы 3).

Первый пик на диаграммах соответствует диапазону стеклования от 50 до 100 °С, второй соответствует деградации полилактида и конденсации лактида. При сравнении двух диаграмм (рисунки 3, 4) виден пик 210 – 220 °С, соответствующий переходу моноклинной фазы ГАП в гексагональную. Это подтверждается данными сравнительного РФА образцов композита, содержащих 70% минеральной фазы до и после нагрева 230 °С и литературными данными. В соответствии с калориметрическим расчетом площадь пика и его ширина не соответствует содержанию моноклинного ГАП в композите, из чего можно предположить, что энергия затрачивается на протекание иных превращений. На рисунке 5 представлены ИК-спектрограммы образцов ПЛА, ВФК, композита (50% ВФК, 10% глицерина), а также состава ПЛА + 10% глицерина.

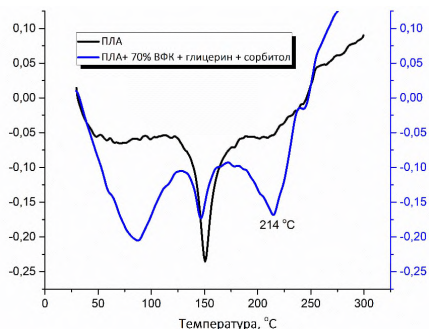


Рисунок 3. Сравнительные ДСК кривые ПЛА и образца, содержащего моноклинный гидроксиапатит.

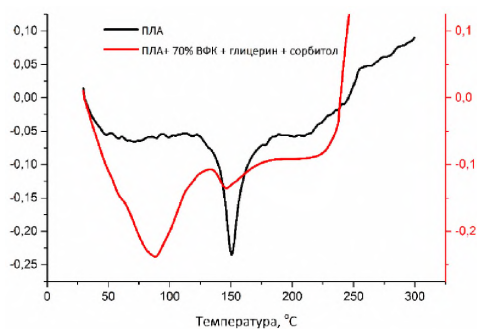


Рисунок 4. Сравнительные ДСК кривые ПЛА и образца, содержащего гексагональный гидроксиапатит.

Как видно, основные характерные пики ГАП (PO_4^{3-} , OH^-) и ПЛА ($\text{C}=\text{O}$, $\text{C}-\text{H}$) появились в композите ПЛА + ВФК. В композите вибрация связи – $\text{C}=\text{O}$ ПЛА при 1761 см^{-1} сместилась до 1767 см^{-1} . Это движение может быть связано с образованием водородной связи между $-\text{OH}$ гидроксиапатита и $-\text{C}=\text{O}$ полилактида. Полосы при $1050\text{--}1270\text{ см}^{-1}$ принадлежали связи $\text{C}-\text{O}$ сложной эфирной группы и полосы $870\text{--}930\text{ см}^{-1}$ свободной карбоксильной группе (на конце цепи олигомера), не прореагировавшей с глицерином.

Полосы при $1640\text{--}1760\text{ см}^{-1}$ (растяжение) принадлежали связи $\text{C}=\text{O}$ сложноэфирной группы между мономерами молочной кислоты или молочной кислоты и глицерина. Однако, эта связь не проявилась в составе ПЛА + 10% глицерина. По всей видимости, ГАП выступает слабым катализатором реакции поликонденсации между глицерином и полилактидом в композите.

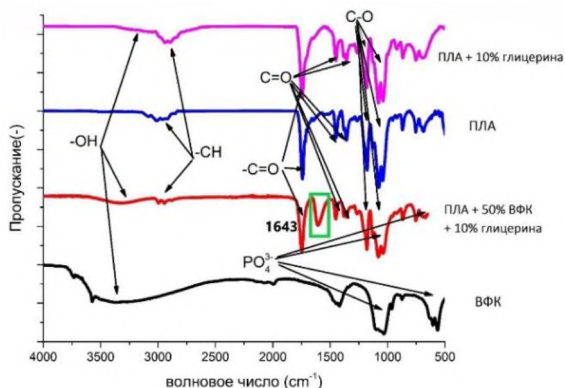


Рисунок 5. Сравнительные ИК-Фурье диаграммы.

Колебания группы $-\text{OH}$, которая соответствовала бы многоатомным спиртам и ГАП, существенно меньше в сравнении с чистым ГАП, из чего можно сделать вывод, что образовался лактат глицерина. По всей вероятности, в ходе взаимодействия между глицерином и ПЛА в композите под действием ВФК образуется полиоловый эфир глицерина и полимолочной кислоты (лактат глицерина).

Исследована зависимость краевого угла смачивания композитов θ физиологическим раствором (рисунок 6) в сравнении с ПЛА и керамикой на основе ГАП.

Известна плохая смачиваемость ПЛА ($92\text{--}90^\circ$) физиологическими жидкостями. Введение ВФК снижает краевой угол смачивания до 50° . Зависимость краевого угла смачивания от содержания ВФК в композите линейна и выражается уравнением $\theta = -0,5657 \cdot m_{\text{ВФК}} + 78,0667$.

Пятая глава посвящена разработке технологии 3D-печати изделий из разработанных композитов, в основу чего положены данные

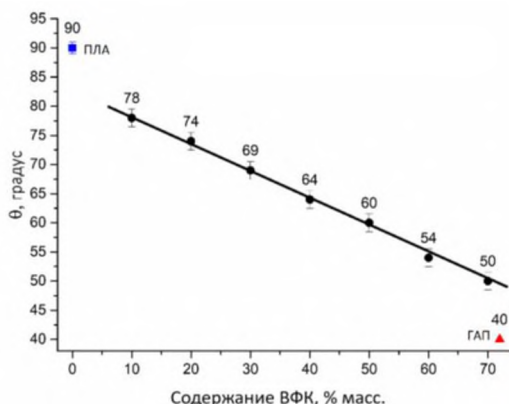


Рисунок 6. Краевой угол смачивания композитов изотоническим раствором.

термического анализа.

Важным условием точной печати является постоянство диаметра филамента. На рисунке 7 приведены кривые СТА композита (ВФК 50%). На кривой ДТА имеется 3 эффекта. При нагревании ПЛА до 50°C (1)

происходит его стеклование, в интервале 140-147 °C (2) наблюдается конденсация L-лактида, а при 152-156 °C (3) разложение мономера L-лактида с образованием летучих продуктов. Кривая ТГ показывает потери веса в 10%, обусловленные удалением продуктов разложения (до 5%) и воды.

При плавлении композита в экструдере в зоне пластификации продукты разложения и остаточная вода образуют распределенную газовую фазу. Здесь газы находятся под давлением и переходят в зону выталкивания, где может происходить дополнительное образование газов. Если количество выделяемой газовой фазы превышает 10%, то происходит локальное увеличение диаметра на отдельных участках филамента, что приводит к дальнейшим дефектам печати.

На рисунке 8 приведены параметры экструзии при формировании из разработанных композитов. В диапазоне температур 185-200 °C происходит устойчивая экструзия расплава композитов, отличающихся содержанием ВФК от 10 до 70%. При увеличении доли ВФК от 10 до 70% температура экструзии увеличивается на 2-3% на каждые 10% вводимых ВФК. Частота вращения шнека,

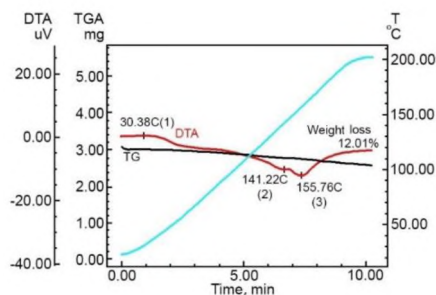


Рисунок 7. Результаты синхронного термического анализа композита, содержащего 15% ГАП.

которая влияет на давление в зоне пластификации экструдера, также увеличивается на 1-2% на каждые последующие вводимые 10% ВФК. В результате для каждого композита получена непрерывная нить (филамент) диаметром $1,75 \pm 0,01$ мм, пригодная для точной 3D-печати.

Установлены базовые параметры 3D-печати. Скорость печати зависит от состава и с увеличением доли ВФК уменьшается до 50 мм/с, в то время как оптимальная скорость печати чистым ПЛА составляет 80 мм/с.

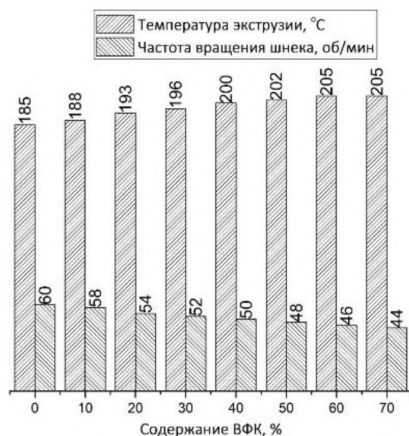


Рисунок 8. Параметры экструзии для получения композиционного филамента в зависимости от содержания высокодисперсных фосфатов кальция (ВФК).

Это обусловлено тем, что количество тепла, необходимое для нагревания филамента в рабочей зоне печатной головки до заданной температуры, увеличивается при увеличении содержания ВФК в его составе. По этой

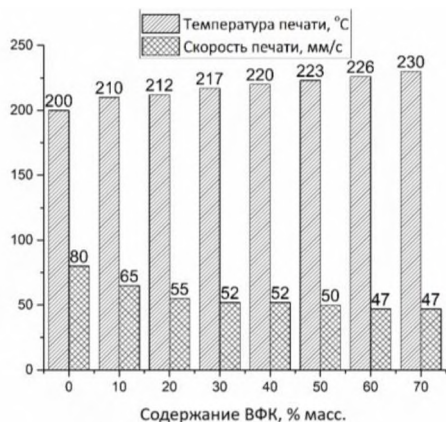


Рисунок 9. Параметры экструзии и печати композитами

установленных параметрах печати. Прочность композита при сжатии и изгибе увеличивается от $50,5 \pm 1,5$ до 61 ± 2 МПа (на 10-18%) при увеличении содержания ВФК от 10 до 70%. Механические характеристики 3D-печатных образцов разработанных составов (рисунок 10) соответствуют и превосходят показатели естественной кости: прочность на сжатие губчатой кости – 32-42 МПа, прочность на изгиб – 10-40 МПа, и значительно превосходят показатели кальций фосфатной керамики.

Шестая глава посвящена оценке биоактивных свойств, разработанных биокompозитов.

Исследования проводились на составах композитов, представленных в таблице 5. Высвобождение кальция из исследуемых образцов измеряли в растворе фосфатного буфера (PBS) при pH 7,4 (рисунок 11). Из графика видно, что степень высвобождения катиона кальция из композита тем выше, чем выше содержание ВФК в образце. Высокая динамика высвобождения кальция в PBS из композитов с содержанием минеральной фазы выше 40% в

причине время пребывания в зоне нагрева возрастает, а скорость печати уменьшается на каждые 1-3% на каждые 5% ВФК (рисунок 9).

Таким образом, в диапазоне температур 200-230°C обеспечивается непрерывная печать образцов, при этом образцы характеризуются регулярной укладкой филамента, равномерной каркасной структурой и соответствуют заданной геометрии.

На рисунке 10 приведены прочностные характеристики 3D-печатных образцов, полученных при

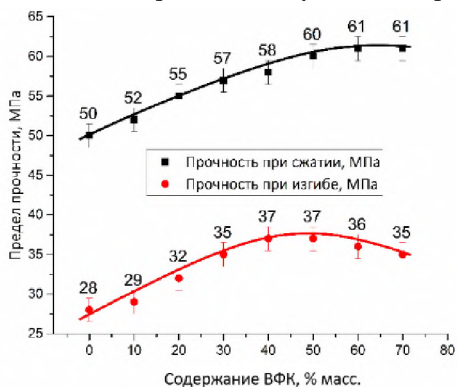


Рисунок 10. Механические характеристики 3D-печатных образцов

первые 7 дней объясняется содержанием трикальциевого фосфата (ТКФ), имеющего $rPP=27$ при $pH\ 4,2-8,0$, в отличие от ГАП, имеющего $rPP=58$ при том же pH .

Таблица 5. Составы композитов.

ПЛА, %масс.	ВФК, %масс.	Сорбитол, %масс.	Глицерин, %масс.
90	10	-	-
80	20	-	-
70	30	-	-
60	40	-	-
88,50	10	0,50	1,00
78,20	20	0,60	1,20
67,75	30	0,75	1,50
57,15	40	0,95	1,90
46,25	50	1,25	2,50
34,75	60	1,75	3,50
22,50	70	2,5	5,00

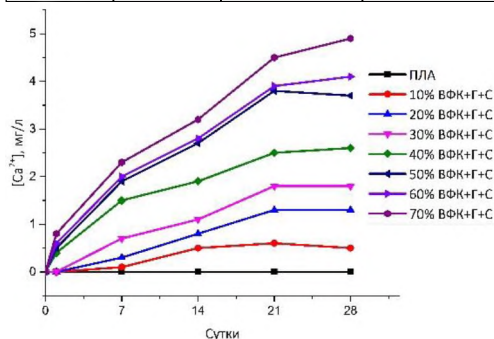


Рисунок 11. Динамика высвобождения кальция в PBS из образцов композитов с содержанием ВФК от 10% до 70%.

Эти минералы состояли из пластинчатых кристаллов, что соответствует морфологии гидроксиапатита.

Рисунок 12 показывает выраженный прирост массы образцов в течение первых семи дней инкубации в SBF. Из проведенных исследований *in situ* можно сделать заключение, что влияние глицерина и сорбитола на резорбцию композитов в PBS и химическое осаждение фосфатов кальция в SBF незначительно.

При увеличении содержания ВФК увеличивается скорость резорбции композитов и образования на их поверхности кальциевых фосфатов апатитовой природы (рисунок 13).

Известно, что ТКФ растворяется в PBS преимущественно в первые 14 дней. ГАП обладает стабильностью в водных средах выше, чем другие фосфаты кальция при $pH\ 4,2-8,0$. На 21 сутки высвобождение катиона кальция приостанавливается и на 28 сутки увеличение содержания катионов кальция практически не происходит.

Анализ изменения массы образцов композитов после выдерживания в PBS показывает, что содержание минеральной фазы свыше 40% оказывает существенный вклад в потерю массы, составившую более 15% на 28 сутки.

Осаждение фосфатов кальция происходило на всех композитах при инкубации в SBF ($pH\ 7,4$), в меньшей степени при содержании ВФК ниже 30%. Обильные отложения апатитовых минералов наблюдались на субстрате, имеющем содержание ВФК 70%.

Влияние ВФК/ПЛА образцов на митохондриальную активность клеток было изучено на примере линии опухолевых клеток Neuro-2a с помощью микротитриметрического теста. Образцы из ПЛА и содержащие 10 и 20% ВФК с глицерином и сорбитолом ($p < 0,05$), вызывали цитотоксическое воздействие на

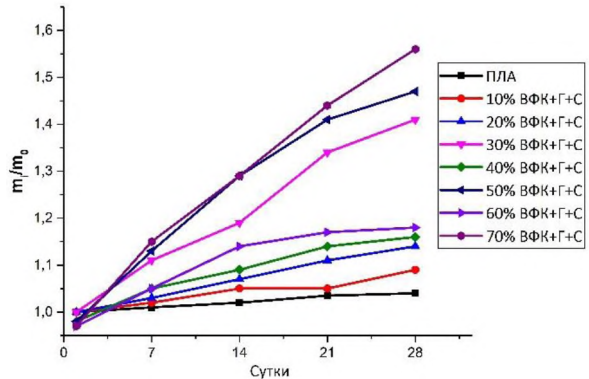


Рисунок 12. Изменение массы исследуемых композитов при выдержке в SBF.

пролиферацию опухолевых клеток, что приводило к уменьшению

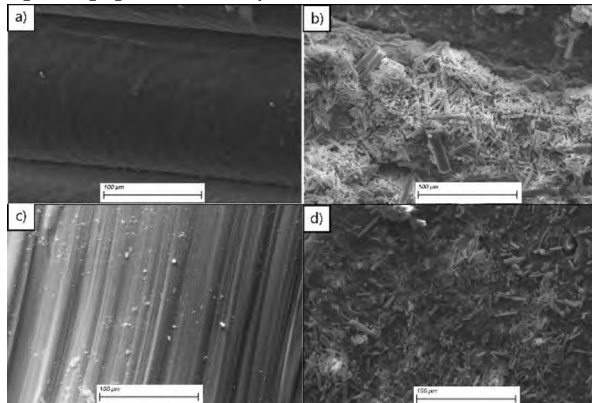


Рисунок 13. Микрофотографии образцов после инкубации в SBF (28 сут). Боковая поверхность: а) - ПЛА, б) - композита (60% ВФК); верхняя поверхность: с) - ПЛА, д) - композита (60% ВФК).

количества жизнеспособных клеток (на более чем 40%). Образцы, содержащие 30% и 40% ВФК без глицерина, имели меньшее цитотоксическое воздействие, чем образцы, содержащие его. При увеличении содержания ВФК от 40% до 70% существенного изменения в количестве живых клеток не происходит.

Таким образом установлено, что синтезированные образцы оказывают некоторый цитотоксический эффект на

опухолевые клетки в зависимости от состава образца. Образцы, содержащие 30 и 40% ВФК, являются практически не токсичными для линии клеток Neuro-2a.

Установлена эффективная доза ионизирующего излучения для стерилизации материала – 60 кГр. При этом деструкции полимерного компонента и побочных превращений в образцах не было замечено. Для испытаний *in vivo* образцы подвергнуты ионизирующему излучению в 60 кГр для стерилизации. Пластины композитов размером 5 мм в диаметре и 3

мм в высоту имплантировались мышам линии BALB/c на период 45 суток в лаборатории СибГМУ (ГОСТ ISO 10993-6-2011). Через 45 суток после подкожного введения образцов не отмечалось макроскопических признаков острой воспалительной реакции, побочных системных реакций. На образцах выявлен рост тканевых пластинок, сочетающих рыхлую и плотную соединительную ткани, жировую ткань, костную ткань, кроветворную ткань. На гистологических препаратах фрагменты материала образцов иногда включались в капсулу имплантатов (▼), что свидетельствует о биорезорбции композитных образцов.

Результаты имплантации (рисунок 14) показали способность композиционных материалов разработанных составов индуцировать рост костной ткани.

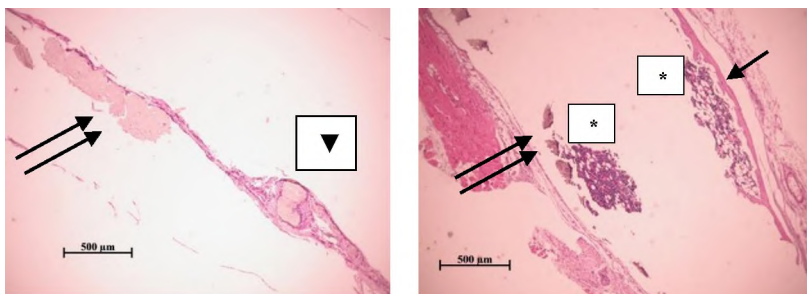


Рисунок 14. Фрагменты капсулы и тканевой пластинки на образцах ПЛА/ВФК после 45 суток подкожной имплантации. Окраска гематоксилином и эозином. Образование костной ткани (стрелка) в тканевой пластинке образца. Фрагменты материала имплантата (двойная стрелка), красный костный мозг (*).

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. Условиями получения высокодисперсных фосфатов кальция (ВФК) с высоким выходом в реакции (более 96%) и отношением $\text{Ca/P} = 1,60-1,62$ являются сливание исходных компонентов и смешение в турбулентном режиме, температура реакции 100 ± 5 °C, выдерживание в маточном растворе не менее 14 дней с поддержанием pH в области значения $9,0 \pm 0,3$ в течение всего процесса.
2. Фазовый состав продуктов реакции с высоким выходом представлен гидроксиапатитом (60-80%), карбонатзамещенным гидроксиапатитом (до 6%), фосфатом кальция (до 15%) и аморфным гидроксиапатитом (до 10%). Дисперсность продуктов реакции с высоким выходом характеризуется мономодальностью с показателями: размер фракции ВФК до 100 нм составляет 60-70%, средний размер частиц 50-60 нм, удельная поверхность – 50-60 м²/г.

3. Разработанные композиционные материалы на основе полилактида с содержанием высокодисперсных фосфатов кальция от 10 до 70% обладают химической однородностью за счет введения глицерина и сорбитола суммарной концентрации от 1,5 и до 7,5%.

4. Механические характеристики композитов увеличиваются при содержании высокодисперсных фосфатов кальция от 10 до 60%: предел прочности при сжатии от 50 до 61 МПа, предел прочности при изгибе от 32 до 43 МПа, ударная вязкость от 4,4 до 5,9 кДж/м², число циклов нагружения от 4200 до 4800. Увеличение содержания до 70% увеличивает ударную вязкость до 5,9 кДж/м²; предел прочности при сжатии и изгибе и число циклов нагружения уменьшаются при содержании ВФК более 60%. Композиты, содержащие 50-70% фосфатов кальция, представленные ГАП - 65%, ТКФ - 15%, карбонат замещенным ГАП 10% и аморфными ФК до 10%, характеризуются сопоставимыми с натуральной губчатой кости свойствами и могут быть рекомендованы для использования в восстановительной медицине

5. Введение ВФК в количестве до 70% уменьшает краевой угол смачивания композитов до 50 град. Зависимость краевого угла смачивания от содержания ВФК в композите носит линейный характер и описывается выражением: $\theta = -0,5657 \cdot m_{\text{вфк}} + 78,0667$.

6. При нагревании композитов от 25 до 230 °С в компонентах композита происходит структурная перестройка, соответствующая:

- процессу стеклования полилактида в диапазоне температур 60-90 °С,
- конденсации лактида в диапазоне температур 100-160 °С,
- полиморфному переходу ГАП из моноклинной в гексагональную модификацию в диапазоне температур 200-230 °С

7. Комплексом методов установлено образование новых атомных групп с участием полилактида и глицерина, которые указывают на переход от линейной структуры полимера к пространственной. Новая слабозапрещенная полоса на ИК-спектре (1645 см⁻¹) композита, нехарактерная для отдельных компонентов композита, может быть обусловлена образованием полиолового эфира глицерина и полилактида.

Анализ ИК-Фурье диаграмм указывает на вероятность образования водородной связи между –ОН группой гидроксипатита и группой –С=О полилактида. Эти взаимодействия обеспечивают увеличение механических характеристик композитов при увеличении содержания ВФК.

8. Разработаны технологические основы получения изделий из композиционных биоматериалов заданной архитектуры и формы с комплексом функциональных свойств, включающие 3 блока. *Блок подготовки композиций* включает обработку и смешение прекурсоров; двухступенчатую гомогенизацию фосфатов кальция с глицерином и

сорбитолом и затем с полилактидом; сушку и дробление композита с получением гранул размером около 2 мм. Блок получения филамента включает экструзию в двухшнековом экструдере с получением твердых гранул размером 1,0-1,5 мм и последующую экструзию в одношнековом экструдере с получением филамента. Основным выходным параметром филамента является его диаметр равный $1,75 \pm 0,1$ мм. Постоянство диаметра филамента обеспечивается при температуре нагрева композита на выходе из экструдера в диапазоне 170-180 °С. При увеличении содержания минеральной фазы в композите от 10 до 70% количество оборотов шнека при формовании увеличивается на 1-2% при увеличении содержания ВФК на каждые 10%. Блок 3D-печати включает процесс печати на 3D-принтере в соответствии с установленными для соответствующих составов (содержание ВФК от 10 до 70%) композитов параметрами: температура печати от 210 до 230 °С, скорость печати от 50 до 80 мм/с. Отклонение температуры при получении филамента и при печати не должно превышать 1°С.

9. Использование смеси ВФК в качестве минеральной фазы композитов с полилактидом обеспечивает в растворе фосфатного буфера (PBS, *in vitro*) резорбцию материала с водопоглощением близким к нулю. Процесс выщелачивания кальция начинается на вторые сутки инкубации в статических условиях, развивается в течение трех недель, замедляясь на четвертой неделе. Это обусловлено ограниченной доступностью минеральной фазы композита в силу заданной архитектуры образцов. Степень резорбции определяется содержанием фосфатов кальция и возрастает пропорционально его росту, вследствие чего потери массы к концу четвертой недели варьируются от 6 до 15% в образцах с содержанием фосфатов от 20 до 60% соответственно. Способность разработанных композитов к биорезорбции доказана в эксперименте *in vivo*.

10. При увеличении содержания фосфатов кальция до 40% и более возрастает продуцирование кальциевых фосфатов апатитовой природы на поверхности композитов при инкубации в SBF *in vitro*, что доказывает биоактивность разработанных композитов. Биоактивность разработанных композитов в форме индуцирования роста костной ткани (остеогенный потенциал) доказана в условиях *in vivo*.

11. Установлено *in vitro*, что композиты оказывают слабый цитотоксический эффект на клеточную культуру в разной степени в зависимости от состава образца. В условиях *in vivo* разработанные композиты не проявляют признаков воспалительной реакции, негативных местных и системных реакций, что доказывает их безопасность для живого организма.

12. Показано, что эффективным методом стерилизации композиционных биоматериалов на основе ВФК и полилактида является обработка

ионизирующим излучением дозой в 60 кГр, гарантирующая стерилизацию материала.

Список основных публикаций по теме работы (из 28).

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК.

1. Петровская Т.С., **Торопков Н.Е.**, Фоменко А.Н. Оценка биоактивных свойств минерально-полимерного композита "фосфаты кальция - полилактид" // Стекло и керамика. – 2021. – №8 – С. 22-28.

Публикации в журналах, индексируемых в Scopus и Web of Science.

2. Petrovskaya T. S. **Toropkov, N. E.**, Mironov, E. G., & Azarmi, F. 3D printed biocompatible polylactide-hydroxyapatite based material for bone implants //Materials and Manufacturing Processes. – 2018. – Т. 33. – №. 16. – С. 1899-1904.
3. Stuchebrov, S. G., Bulavskaya, A. A., Cherepennikov, Y. M., Grigorieva, A. A., Miloichikova, I. A., **Toropkov, N. E.**, & Shevelev, M. V. Changes in the physical and structural properties of 3D-printed plastic samples under radiation exposure by nearly therapeutic dose //Journal of Instrumentation. – 2020. – Т. 15. – №. 04. – С. C04046.
4. **Toropkov N. E.** et al. Influence of synthesis conditions on the crystallinity of hydroxyapatite obtained by chemical deposition //IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – IOP Publishing, 2016. – Т. 156. – №. 1. – С. 012038.
5. Petrovskaya T. S. **Toropkov, N. E.**, Fomenko A.N. (2021) Estimation of Bioresorption of a Highly Filled Mineral – Polymer Composite Calcium Phosphate – Polylactide. In AIP Conference Proceedings. AIP Publishing LLC.
6. Petrovskaya, T., & **Toropkov, N.** (2020, December). Thermal behavior of PLA and calcium phosphate compositions. In AIP Conference Proceedings (Vol. 2310, No. 1, p. 020253). AIP Publishing LLC.
7. Bulavskaya, A. A., Cherepennikov, Y. M., Grigorieva, A. A., Miloichikova, I. A., **Toropkov, N. E.**, & Stuchebrov, S. G. (2021). Investigation of the properties changes observed for plastic samples made by fused deposition modelling under radiation exposure. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (Vol. 1019, No. 1, p. 012068). IOP Publishing.
8. Bulavskaya A. A. Stuchebrov, S. G., Cherepennikov, Y. M., Miloichikova, I. A., & **Toropkov, N. E.** Changes of 3d-Printed Plastic Samples Mechanical Properties Caused by 6 MeV Electron Beam Irradiation //Radiation from Relativistic Electrons in Periodic Structures (RREPS-19): book of abstracts XIII International Symposium, September 15-20, 2019, Belgorod, Russian Federation.—Tomsk, 2019. – 2019. – С. 99.

Патенты:

9. RU 2679127 C1 Российская Федерация «Композит для 3d-печати медицинских изделий»./ Торопков, Н. Е., Петровская, Т. С., Антонкин, Н. С., & Верещагин, В. И. (2019)
10. RU 2679632 C1 Российская Федерация «Композит для 3d-печати медицинских изделий»./ Торопков, Н. Е., Петровская, Т. С., Антонкин, Н. С., & Верещагин, В. И. (2019)