
УДК 74-139:620.22:666.3

**ФОРМИРОВАНИЕ БИОАКТИВНОГО МАТЕРИАЛА
ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО ЛАЗЕРНОГО СПЕКАНИЯ
ИЗ СМЕСИ ПОРОШКОВ НАНОГИДРОКСИАПАТИТА
И ПОЛИЛАКТИДА В СВЕРХКРИТИЧЕСКОМ ДИОКСИДЕ
УГЛЕРОДА**

Е.Н. Антонов*, С.А. Бочкова, А.В. Попова

Институт проблем лазерных и информационных технологий РАН, Москва, Россия

*e_n_antonov@mail.ru

Поступила в редакцию 11.08.2010 г.

С использованием сверхкритического диоксида углерода (СК-СО₂) осуществлено формирование биоактивных композитов на основе порошков полилактида и наноразмерного гидроксиапатита с целью их применения в процессе поверхностно селективного лазерного спекания трехмерных тканеинженерных конструкций. Смесь порошков полимера и наноразмерного гидроксиапатита не может непосредственно спекаться лазерным излучением ввиду невозможности формирования непрерывных нитей из спеченных частиц полимера. Использование для спекания композитных частиц, сформированных в среде СК-СО₂, позволило устранить этот недостаток и формировать непрерывные связанные структуры. Проведенные исследования состава таких структур и механические тесты показали, что спеченный композит получается достаточно однородным, не содержит очагов разрушения и способен выдерживать те же механические нагрузки, что и чистый полимер, и может быть использован в тканевой инженерии.

Ключевые слова: сверхкритический диоксид углерода, биоматериалы, наноразмерный гидроксиапатит, полилактид, селективное лазерное спекание.

ВВЕДЕНИЕ

Метод поверхностно селективного лазерного спекания (ПСЛС), послойного спекания порошковых материалов для формирования трехмерных структур, является одним из наиболее перспективных методов для создания индивидуальных костных имплантатов по компьютерным моделям [1]. ПСЛС применяется для формирования биосовместимых матричных структур из полимеров и минерал-полимерных композитов на базе полилактогликолидов и гидроксиапатита (ГАП). Использование минерал-полимерных композитов позволяет создавать структуры с управляемыми биоактивностью и механическими характеристиками. В последнее время для биомедицинских применений стал активно использоваться наноразмерный ГАП (nano-ГАП). Применение nano-ГАП увеличивает площадь его поверхности по сравнению с микроразмерным ГАП и, соответственно, увеличивает скорость его деградации. Это улучшает как биоактивность, так и остеоинтеграцию (прорастание костной тканью) имплантата [2].

В методе ПСЛС лазерное излучение сканирует поверхность порошка. В местах сканирования материал плавится, и соседние частицы спекаются между собой.

Однако смесь порошков полимера и нано-ГАП не может непосредственно использоваться в селективном лазерном спекании для изготовления имплантатов, поскольку наличие слоев нано-ГАП препятствует спеканию частиц полимера и формированию связанных структур. Это препятствие устраняется использованием для спекания частиц полимера с предварительно включенными в них частицами нано-ГАП.

Для получения нанокомпозитных материалов, пригодных для применения в процессе селективного лазерного спекания, мы использовали явление пластификации аморфных и полукристаллических полимеров при их взаимодействии со сверхкритическим диоксидом углерода (СК-СО₂). Обработка механической смеси полимера и нано-ГАП в СК-СО₂ позволяет синтезировать минерал-полимерные композиты, однородно наполненные нано-ГАП.

Получение композитов наноразмерных материалов и полимеров в СК-СО₂ обладает существенными преимуществами по сравнению с традиционными методами (осаждение из растворов, литьевое прессование и т. д.). Использование в биомедицине композитов, сформированных с применением растворителей, ограничено ввиду их токсичности. При формировании материала в СК-СО₂ токсичные растворители отсутствуют. В отличие же от литьевой технологии [3] прямой синтез материала в СК-СО₂ не подвергает полимер воздействию высокой температуры и механическим напряжениям, приводящим к уменьшению его молекулярной массы, уширению молекулярно-массового распределения и, как следствие, ускорению и непредсказуемости процесса деградации композита в живой ткани.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исходными материалами для формирования композитов являлись порошки полилактида (PDL-04, Purac, Голландия) и нано-ГАП, Ostim® 35 (Biomaterials GmbH, Германия). Размер частиц полимера находится в диапазоне 100 ÷ 200 мкм. Средний размер частиц нано-ГАП составлял ~40 нм (рис. 1).

Нано-ГАП добавлялся в композит в количестве 20 % вес. Процессы формирования композита из смеси полилактида и нано-ГАП проходили в следующей последовательности: порошок нано-ГАП перемешивался с порошком полилактида в агатовой ступке, смесь помещалась в кассету и загружалась в камеру высокого давления. Камеру уплотняли, и в нее поступал СО₂ при комнатной температуре до достижения давления 5 МПа. После этого включался нагреватель камеры и температура камеры доводилась до 40 °C. По мере разогрева камеры давление в ней постепенно увеличивалось и при достижении температуры 40 °C давление доводилось до 10 МПа за счет дополнительной подачи СО₂ с помощью насоса РМ-101 (NWA GmbH, Германия). Затем вся система выдерживалась в этих условиях в течение 1 часа.

Сброс давления до атмосферного проводился в течение 15 мин, а затем, после выдержки полученного продукта при атмосферном давлении в течение 24 ч (необходимой для полного удаления СО₂ из композита и его окончательного отверждения), материал извлекался из кассеты. В результате получался монолит, состоящий из полимера с равномерно распределенными внутри него частицами нано-ГАП. Структура и состав композитов исследовались с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (LEO 1450, Англия) и микрозонда комбинационного рассеяния (далее — микроскопии КР) (Almega XR, Thermo

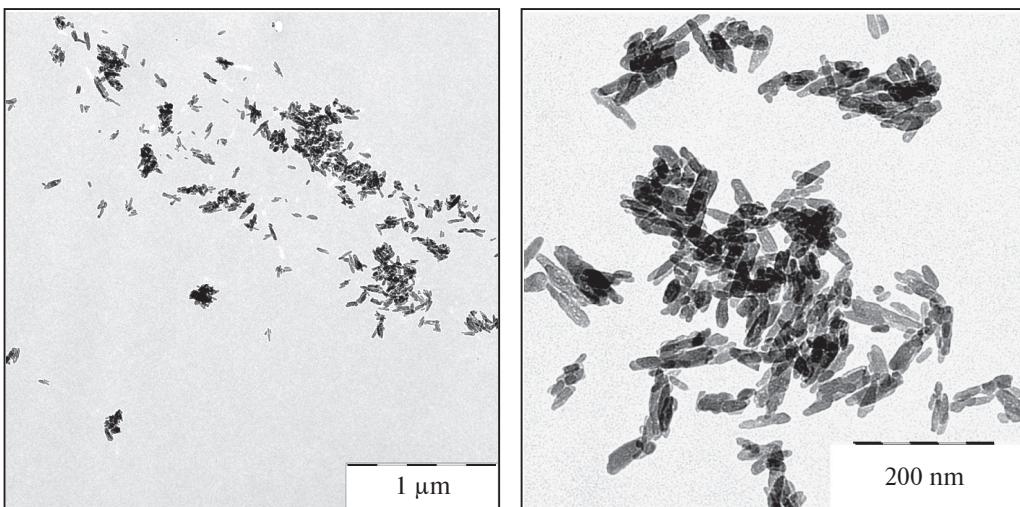


Рис. 1. Изображения частицnano-ГАП, полученные методом просвечивающей электронной микроскопии

Scientific, США). В микроскопии КР на образец фокусируется лазерное излучение и регистрируется спектр рассеянного излучения. Конфокальная микроскопия позволяет детектировать рассеянное образцом излучение локально, с различных расстояний по глубине от поверхности образца, отсекая излучение, идущее от других слоев.

Для изучения распределения nano-ГАП внутри композита были получены спектры КР в различных точках его поверхности и на различной глубине с заданным шагом сканирования. Для того чтобы определить наличие в измеряемой точке конкретной молекулы, предварительно были получены спектры КР исходных компонентов композита, nano-ГАП и полилактида. На основе предварительно снятых спектров исходных веществ и полученных спектров композита строились корреляционные карты поверхности и поперечного «среза» материала, показывающие распределение компонентов в композите.

Приготовленные с использованием СК-СО₂ композиты служили исходным материалом для процедуры ПСЛС. Для этого полученный в СК-СО₂ монолит размалывали в ротационной мельнице с использованием сухого льда для охлаждения. Размолотый композит просеивали через набор сит и отбирали фракцию с размером частиц от 100 до 200 мкм. Изображения частиц композита, сформированных для ПСЛС, представлены на рис. 2. В отличие от механической смеси порошков полимера и nano-ГАП, частицы композитов, приготовленных в СК-СО₂, могут быть использованы для лазерного спекания. Частицы nano-ГАП включены в объем материала и не препятствуют поверхностям частиц полимера интегрироваться при их плавлении.

Из полученных порошков методом ПСЛС при различных энергиях лазерного излучения были изготовлены треки (нити), диаметр которых варьировался от 0,5 до 1,0 мм в зависимости от параметров спекания (рис. 3). Смесь порошков полимера и ГАП, частицы которого имеют микронные размеры (микро-ГАП), может непосредственно спекаться лазерным излучением. В этом случае количество частиц микро-ГАП сравнительно невелико и они не препятствуют соприкосновению расплавленных поверхностей частиц полимера и образованию связанной

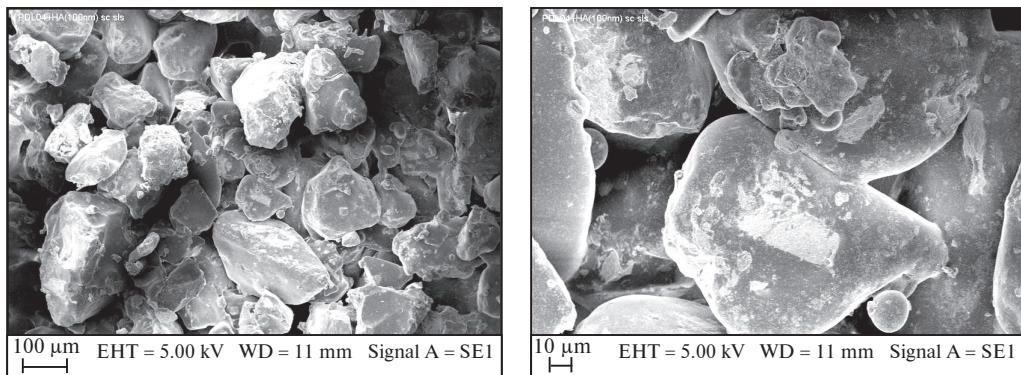


Рис. 2. Изображения композита полилактида с 20% нано-ГАП (включения белого цвета) после обработки СК-СО₂, полученные методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ)

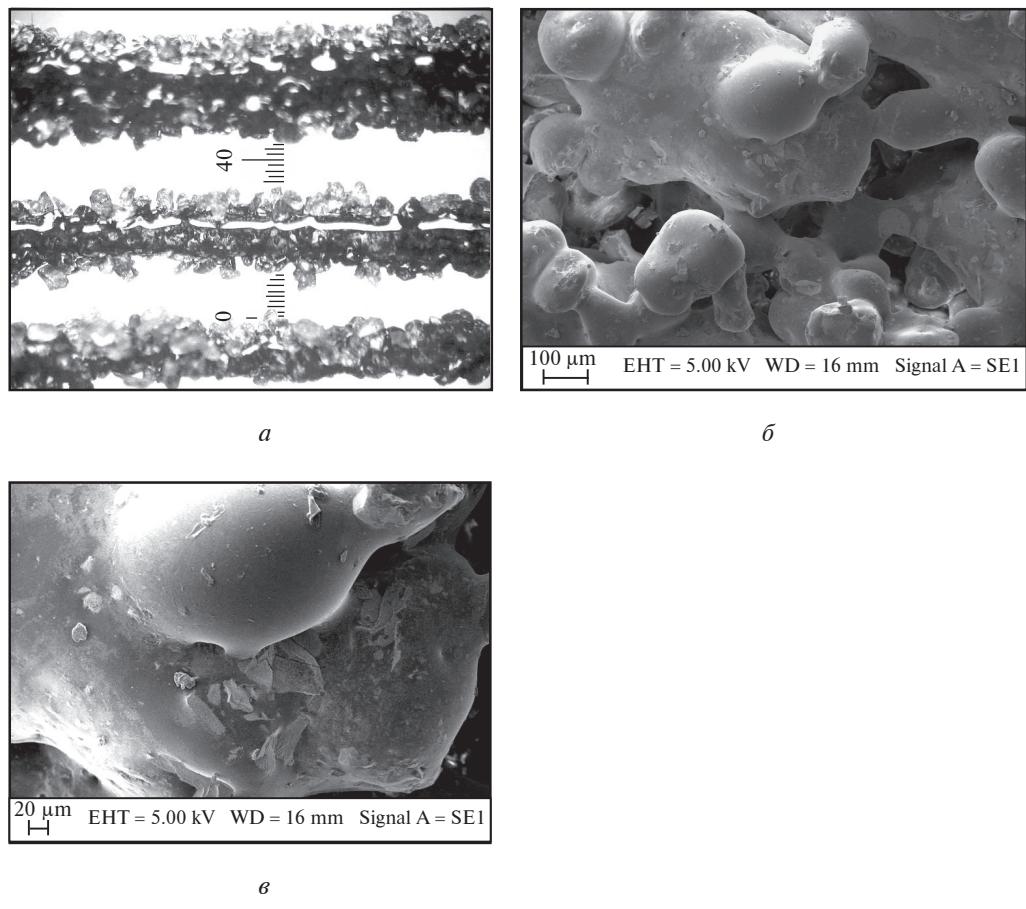


Рис. 3. Структуры, сформированные из порошков композитов для проведения механических испытаний:

a — нити композитов, спеченные при различных энергиях лазерного излучения; цена деления шкалы 100 мкм; *б* и *в* — фрагменты спеченных композитов (СЭМ)

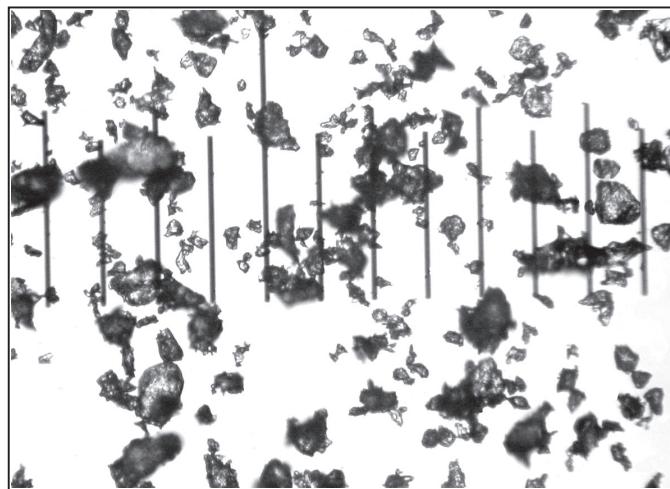


Рис. 4. Фотография частиц микро-ГАП; цена деления шкалы 100 мкм

структуры. В то же время наличие внутри структуры границ между минералом и полимером может повлиять на ее механические характеристики.

Для сравнения механических характеристик структур сnano- и микро-ГАП были также сформированы структуры из полилактида с 20 % микро-ГАП (Полистом, Москва). Средний размер частиц микро-ГАП составлял ~50 мкм (рис. 4). Спекание структур с микро-ГАП проводилось непосредственно из смеси порошков полимера и микро-ГАП при тех же условиях, при которых спекались структуры из композита, приготовленного с применением СК-СО₂.

Для оценки возможности использования полученных композитов в инженерии костных тканей были проведены измерения предела прочности на изгиб. Образцы в виде спеченных нитей помещались на две точечные опоры, расстояние между которыми составляло 5 мм. Затем образцы на опорах помещались на электронные весы, точность показаний которых составляла $1 \cdot 10^{-4}$ г. Нагрузка прикладывалась к центру образца и постепенно увеличивалась. Значения предельной нагрузки, при которой образец ломался, фиксировались и усреднялись. Количество образцов каждого типа составляло 20 шт.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Микрофотографии как исходных композитов, так и спеченных структур с nano-ГАП показывают, что nano-ГАП включен в поверхность полимера в виде доменов, равномерно распределенных по поверхности (рис. 2, 3). После процесса спекания интеграция nano-ГАП с полимером увеличивается. Полимер обволакивает границы доменов nano-ГАП и они становятся менее резкими, чем после обработки в СК-СО₂. Для выяснения распределения nano-ГАП внутри объема полимера было проведено зондирование области под поверхностью композита с помощью микроскопии КР.

На рис. 5 показана поверхность композита и выбранная линия, вдоль которой производилась регистрация спектров по глубине образца. Карты распределения nano-ГАП и полилактида при сканировании по глубине вдоль выбранной линии даны на рис. 6 (см. цветную вкладку). Представленные карты показывают, что

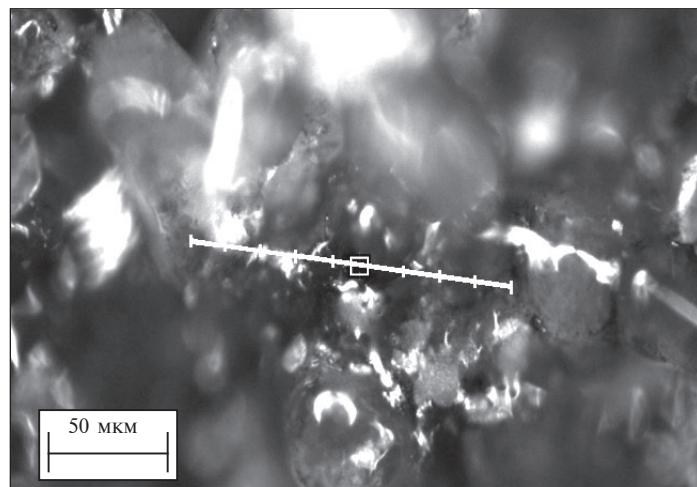


Рис. 5. Поверхность композита и выбранная линия, являющаяся верхней границей области зондирования образца

нано-ГАП и полилактид распределены в различных областях объема композита. Минимум нано-ГАП соответствует максимуму полимера и наоборот. Масштаб перехода от одной составляющей к другой соответствует размерам частиц исходного полимера, между которыми нано-ГАП находился до процесса монолитизации в СК-СО₂. Данные карты демонстрируют, например, что в выбранной области ГАП отсутствует на поверхности и наблюдается на различных глубинах, начиная с 30 мкм.

Результаты измерений предела прочности на изгиб структур, спеченных из различных материалов и при различных мощностях лазерного излучения, представлены на рис. 7. Полученные зависимости предела прочности на изгиб от па-

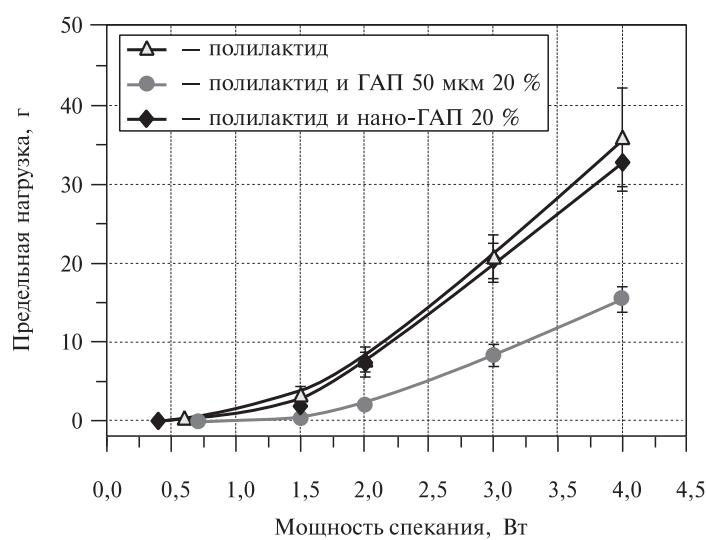


Рис. 7. Зависимость предела прочности на изгиб образцов из различных материалов от мощности лазерного излучения:
— Δ — PLA; —●— PLA + 20 % микро-ГАП; —◆— PLA + 20 % нано-ГАП

метров спекания показывают, что при добавлении в полимер микро-ГАП прочность образцов существенно снижается (нижняя кривая). Это связано с тем, что крупные частицы ГАП создают в цельной структуре спеченного полимера области, которые становятся очагами разрушения, что существенно ухудшает прочностные характеристики структуры. Механические свойства структур, спеченных из композита полилактида сnano-ГАП, сформированного с помощью СК-СО₂, не ухудшаются по сравнению со структурами из чистых полимеров. Это обусловлено тем, что при пластификации полимера в СК-СО₂ наночастицы ГАП включаются внутрь полимерных цепей.

ВЫВОДЫ

Обработка смеси порошков nano-ГАП и полилактида в СК-СО₂ позволяет получать композиционные материалы, пригодные для использования в методе поверхностно селективного лазерного спекания, расширяя тем самым набор биоактивных материалов для восстановления костных тканей. Исследования, проведенные с помощью сканирующей электронной микроскопии и спектроскопии КР, показали, что nano-ГАП распределяется по поверхности композита и внутри его объема в виде доменов, расстояния между которыми соответствуют размерам исходных частиц полимера. Спеченный композит получается достаточно однородным, не содержит очагов разрушения и способен выдерживать те же нагрузки, что и чистый полимер, и может быть использован в тканевой инженерии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят В. Н. Баграташвили и В. К. Попова за поддержку работы и полезные обсуждения. Работа выполнена при поддержке РФФИ (10-08-01133) и Федерального агентства по науке и инновациям, госконтракт № 02.512.12.2041.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Antonov E.N., Bagrataashvili V.N., Howdle S.M., Konovalov A.N., Popov V.K., Panchenko V.Ya. Laser Physics. 2006. Vol. 16. P. 774.
 2. Lewandrowski K.U., Bondre S.P., Wise D.L., Trantolo D.J. Biomed. Mater. Eng. 2003. Vol. 13. P. 115.
 3. Ignjatovic N., Tomic S., Dakic M., Miljkovic M., Plavsic M., Uskokovic D. Biomaterials. 1999. Vol. 20. P. 809.
-

FORMING OF BIOACTIVE MATERIAL FOR SELECTIVE LASER SINTERING BY HOMOGENIZATION OF NANO-HYDROXYAPATITE WITH POLYLACTIDE IN SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE

E.N. Antonov, S.A. Bochkova, A.V. Popova

Institute of Laser and Information Technologies RAS, Moscow, Russia

Bioactive composites based on polylactide powders and nano-sized hydroxyapatite (HAP) for the production of three-dimensional scaffolds by selective laser sintering

are manufactured using supercritical carbon dioxide. A mixture of powdered polymers and nano-sized HAP cannot be sintered directly by laser irradiation because continuous polymer filaments cannot be formed due to the absence of permanent contacts between polymer particles. This problem was resolved by employing for sintering composite polymer particles already containing HAP nanoparticles fabricated in the supercritical carbon dioxide medium. Mechanical tests and microscopy studies demonstrate that HAP particles are uniformly distributed in the sintered composites; the latter have no centers of destruction and withstand the same mechanical loads as pure polymer. Produced structures can be used as scaffolds in bone tissue engineering.

Key words: supercritical carbon dioxide, biomaterials, nano-scale hydroxyapatite, polylactide, selective laser sintering.
