

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **034329**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента 2020.01.29	(51) Int. Cl. <i>A61F 2/02</i> (2006.01) <i>A61L 27/06</i> (2006.01) <i>A61L 27/32</i> (2006.01) <i>C23C 22/02</i> (2006.01) <i>C23C 22/78</i> (2006.01) <i>B82Y 5/00</i> (2011.01) <i>B82Y 30/00</i> (2011.01) <i>B82Y 40/00</i> (2011.01)
(21) Номер заявки 201700526	
(22) Дата подачи заявки 2017.11.23	

(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПОЗИЦИОННОГО НАНОПОКРЫТИЯ НА НАНОСТРУКТУРИРОВАННОМ ТИТАНЕ**

(43) 2019.01.31	(56) RU-C1-2476243 RU-C1-2523410 RU-C1-2291918 WO-A1-2012152884
(71)(73) Заявитель и патентовладелец: ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ "САНКТ- ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ" (СПбГУ) (RU)	

(72) Изобретатель:
**Земцова Елена Георгиевна, Морозов
Павел Евгеньевич, Смирнов
Владимир Михайлович (RU)**

(74) Представитель:
**Матвеев А.А., Матвеева Т.И., Леонов
И.Ф. (RU)**

(57) Изобретение относится к области нанотехнологий, в частности, производства композиционного биоматериала на основе наноструктурированного титана, с нанопокрытием на основе титанорганических наноструктур с включениями в качестве промоторов остеоинтеграции кальцийфосфатных наноструктур и получение биоматериала с возможностью ускоренной приживляемости в костную ткань с сохранением прочностных характеристик нанотитана. Техническим результатом заявленного способа является повышение скорости приживляемости биоматериала с костной тканью и высокие сроки службы покрытия при сохранении высоких прочностных свойств нанотитана. Техничко-экономическая эффективность заявленного изобретения, как показывают результаты биомедицинской апробации, обусловлена получением медицинских имплантатов с улучшенными механическими свойствами и ускоренным приживлением с костной тканью человека. Это может привести к улучшению качества жизни человека и снижению времени реабилитации после имплантации. Новая технология для получения композиционного наноструктурированного материала на основе наноструктурированного титана с биоактивным нанопокрытием может применяться в качестве имплантатов в стоматологии, реконструктивной хирургии и ортопедии.

B1

034329

034329

B1

Изобретение относится к области нанотехнологий, в частности, производства композиционного биоматериала на основе наноструктурированного титана, с биосовместимым нанопокрытием на основе титанорганических наноструктур с включениями кальцийфосфатных наноструктур для ускоренной остеоинтеграции (приживляемости) в костную ткань и получение биоматериала, механические свойства которого не ухудшаются после нанесения композитного нанопокрытия.

В последнее время активно разрабатывается направление в области биосовместимых материалов - активная интеграция небологических материалов в живую ткань. Такая интеграция желательна, например, при имплантации искусственных суставов, которые должны сохранять длительный и надежный контакт с тканями организма. Это относится, в первую очередь, к изделиям, предназначенным для сердечно-сосудистой хирургии, ортопедии, стоматологической и реконструктивной хирургии, офтальмологии [1, 2; Qizhi Chen, George A.Thouas, Metallic implant biomaterials, Materials Science and Engineering R., 2015, 87; L.L. Hench and J.R. Jones, (eds.), Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering, Woodhead Publishing, Ltd., Cambridge, UK (2005) 284 p.]. Повышение биосовместимости титановых имплантатов является одним из приоритетных направлений в реконструктивной медицине. К настоящему времени было предложено множество вариантов покрытий, включая бисфосфонатное покрытие, гидроксипатиты и фосфаты кальция, различные биолиганды (например, пептиды, белки) при этом применение покрытия не решает основную проблему, связанную с адгезией покрытия к металлической поверхности, и проблеме ускоренной остеоинтеграции (далее: приживляемости). Полученные нами экспериментальные данные показали, что на жизнеспособность клеток и их рост влияет не только химический состав покрытия, но и рельеф поверхности (далее: шероховатость) получаемого покрытия. Шероховатость поверхности обычно регулируется за счёт изменения высоты синтезируемых наноструктур, в нашем случае, титанорганических наноструктур.

Известен способ получения детонационного биосовместимого покрытия на медицинском имплантате [3; RU 2557924 C1, 2014], который повышает адгезионную прочность сцепления покрытия с титановым имплантатом. Недостатком известного способа является наличие средней шероховатости поверхности в области 4,5-10 мкм, что не позволяет регулировать скорость приживления имплантата в костную ткань.

Известен способ изготовления внутрикостных имплантатов [4; RU 2443434 C1, 2010] на основе титана со слоем гидроксипатита на поверхности. Средняя шероховатость поверхности 46-104 мкм. Недостатком известного способа является отсутствие возможности приживления имплантата в долгосрочной перспективе. Эти недостатки известного способа в первую очередь связаны со структурными особенностями используемого гидроксипатита. С течением времени такое покрытие растворяется в костной ткани.

Известен способ получения наноструктурированного кальцийфосфатного покрытия для медицинских имплантатов [5; RU 2523410 C1, 2013] с размером агломератов кальцийфосфатного покрытия 200×1000 нм. Недостатком известного способа является отсутствие возможности регулировать шероховатость поверхности, а также ухудшения степени приживляемости имплантатов в костную ткань в долгосрочной перспективе. Со временем происходит резорбция кальций-фосфатного покрытия.

Известен способ получения кальцийфосфатного покрытия на имплантате из биоинертного материала, который является наиболее близким к предлагаемому техническому решению и выбран в качестве прототипа [6; RU 2476243 C1, 2012]. В известном способе общим с предлагаемым изобретением является синтезе кальцийфосфатных структур на поверхности наноструктурированного титана с толщиной наносимых слоев 200 нм.

Недостатками известного способа являются недостаточно высокие сроки службы покрытия, не высокая приживляемость биоматериала, ухудшения прочностных характеристик биоматериала.

Заявленное изобретение свободно от указанных недостатков.

Техническим результатом заявленного способа является повышение скорости приживляемости биоматериала с костной тканью и повышение сроков службы покрытия при сохранении высоких прочностных свойств нанотитана.

Указанный технический результат достигается за счет создания на поверхности нанотитана композиционного биосовместимого нанопокрытия на основе титанорганических наноструктур с включениями кальцийфосфатных наноструктур для ускоренной остеоинтеграции, в соответствии с заявленным изобретением, перед синтезом кальцийфосфатных структур проводят подготовку поверхности наноструктурированного титана хлорированием при 50°C в течение 30 мин и метилированием при температуре 200°C в течение 15 мин, после чего метилированную поверхность обрабатывают циклически в потоке гелия низкомолекулярными реагентами при температуре 180°C в течение от 30 мин до 5 ч в интервале получения средней шероховатости поверхности от 33 до 85 нм, затем на полученную шероховатую поверхность наносят кальцийфосфатные наноструктуры в две стадии, сначала обрабатывают парами пятихлористого фосфора в газовой фазе при температуре 180°C в течение 15 мин, после чего продолжают обработку ионами кальция из органического раствора нитрата кальция при температуре 35°C в течение 5 мин методом ионного обмена между 0,5-молярным раствором $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ и поверхностными - P(-OH)₃ группами, затем проводят сушку полученного нанопокрытия при 100°C 15 мин.

В основе решения технической задачи заявленного изобретения положен принципиально новый

подход к созданию биосовместимого нанопокрyтия с регулируемoй шерoховатoстью.

В заявленном изобретении впервые для дополнительного тонкого регулирования шероховатости поверхности предлагается использовать нанесение нанослоев титанорганических наноструктур на основе проведения поверхностных химических реакций (хемосорбции) в определенной последовательности, а химический состав поверхности - за счет нанесения кальцийфосфатных структур.

Заявленное изобретение было апробировано в лабораторных условиях химического факультета Санкт-Петербургского государственного университета. Результаты проведенных исследований, подтверждающих достижение технического результата, приведены в конкретных примерах реализации заявленного изобретения.

Сущность заявленного изобретения поясняется конкретными примерами реализации способа с таблицами и иллюстрируется фиг. 1-3.

На фиг. 1 представлено изображение АСМ реконструкции поверхности композиционного нанопокрyтия на наноструктурированном титане после 25 циклов обработки. На фиг. 2 представлена микрофотография поверхности композиционного нанопокрyтия на наноструктурированном титане после 25 циклов обработки.

На фиг. 3 представлена оценка характера дифференцировки клеток остеобластов на поверхности контрольного образца (наноструктурированного титана) и образцов с нанопокрyтиями: 1 - образец нанотитана, 2 - образец с нанопокрyтием после 15 циклов обработки, 3 - образец с нанопокрyтием после 20 циклов обработки, 4 - образец с нанопокрyтием после 25 циклов обработки.

Заявленный способ описывает синтез на поверхности нанотитана композиционного нанопокрyтия, который включает три стадии.

1. Подготовка поверхности нанотитана.
2. Синтез титанорганических наноструктур на поверхности нанотитана.
3. Синтез кальцийфосфатных наноструктур (включений).

Заявленный способ реализуется следующим образом.

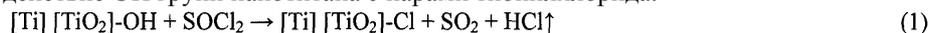
Первая стадия заявляется впервые и обладает абсолютно новизной к известному уровню техники [7; E.G. Zemtsova, Morozov, P.E., Valiev, R.Z., Smirnov, V.M., Study of conditions for the increase of surface hydrophobization of nanostructured titanium with titanium organic nanostructures brush type on the surface, Materials Physics and Mechanics, 24, (2015), p. 129-138]. Синтез на второй стадии проводится на стандартной установке газофазного синтеза известным методом ALD [8; Zemtsova E. G., Arbenin A.Yu., Plotnikov A. F., Smirnov V. M. II J. Vac. Sci. Technol. A. 2015. V. 33. N 2., 021519 - 6.]. Апробация заявленного способа приведена в примере 1.

Пример 1.

Этот пример демонстрирует получение композиционного нанопокрyтия после предварительной подготовки поверхности наноструктурированного титана с целью получения максимальной реакционно-способной для хемосорбции поверхности, с максимальным количеством ОН-групп.

В заявляемом изобретении используется способ подготовки поверхности при низкой температуре 50°C с использованием жидкого тионилхлорида (SOCl₂), за счет осуществления следующих реакций:

взаимодействие ОН групп нанотитана с парами тионилхлорида:

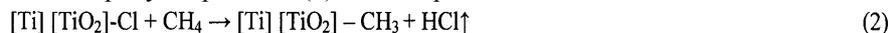


где [Ti] - образец нанотитана;

[TiO₂] -поверхностный слой TiO₂;

-ОН и -Cl - поверхностные функциональные группы,

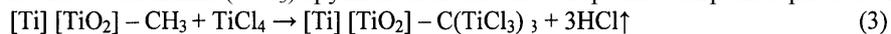
взаимодействие продукта реакции (1) с газообразным метаном:



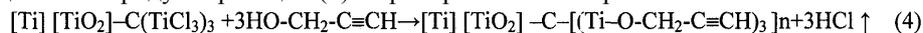
в результате проведения реакций (1) и (2) на поверхности нанотитана образуются термостабильные метильные (-CH₃) группы, которые обладают высокой реакционной способностью.

Далее на метилированной поверхности нанотитана проводили синтез титанорганических наноструктур за счет осуществления следующих реакций с низкомолекулярными реагентами:

взаимодействие метильных (-CH₃) групп на нанотитане с парами четыреххлористого титана:



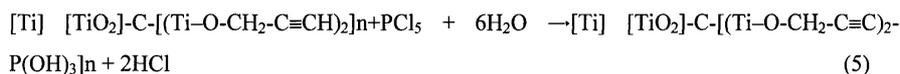
взаимодействие продукта реакции (3) с пропаргиловым спиртом:



где n - число циклов, определяющих высоту наноструктуры и, следовательно, шероховатость.

Обработка нанотитана по реакциям 3 и 4 рассматривается как один цикл обработки нанотитана. Один цикл позволяет получать титанорганические наноструктуры минимальной высоты. Проводили 25 циклов обработки поверхности нантитана.

Далее на поверхности нанотитана с титанорганическими наноструктурами осуществляют синтез фосфатных групп за счет осуществления следующих реакций между продукта реакции (4) с пятихлористым фосфором в водной фазе:



Далее проводят обработку образца 0,5-молярным раствором нитрата кальция для получения композиционного нанопокрyтия с кальцийфосфатными структурами. Содержание фосфатных групп и кальция контролировались методом электронной спектроскопии химического анализа (ЭСХА).

Технологически синтез осуществляется следующим образом.

Берут пластину нанотитана (10×10 мм) и помещают в стеклянную колбу с мешалкой. Далее в колбу с нанотитаном добавляют раствор тионилхлорида в растворе хлористого метилена, предварительно осушенного хлористым кальцием с последующей перегонкой при нагревании на водяной бане при постоянном перемешивании при температуре 50°C в течение 30 мин. Избыток растворителя после проведения реакции удаляют вакуумированием в течение 30 мин. Затем образец обрабатывают в установке газозофазного синтеза газообразным метаном при температуре 200°C в течение 15 мин, после чего метилированную поверхность обрабатывают циклически в потоке гелия низкомолекулярными реагентами (четырёххлористым титаном и пропаргильовым спиртом) при температуре 180°C в течение 5 ч. Затем на полученную поверхность наносят кальцийфосфатные наноструктуры для этого, образец помещают в стеклянный проточный реактор в токе гелия с парами PCl₅ при температуре 180°C в течение 15 мин, затем образец помещают в стеклянную колбу объёмом 50 мл с 0,5-молярным раствором нитрата кальция и выдерживают в колбе при постоянном перемешивании 15 мин при температуре 35°C. После этого проводят сушку полученного образца с нанопокрyтием при 100°C в течение 15 мин.

Для диагностики получаемых образцов использовали методы сканирующую электронную микроскопию (СЭМ), атомно-силовую микроскопию (АСМ), а также исследовали механические свойства образцов. На фиг. 1 и 2 представлены СЭМ и АСМ изображения поверхности композиционного нанопокрyтия на наноструктурированном титане после 25 циклов обработки. Данные исследования позволяют максимально достоверно охарактеризовать среднюю шероховатость поверхности образца (85 нм) и размер титанорганических наноструктур.

В табл. 1 приведены данные структурных и прочностных характеристик образца нанотитана с композиционным нанопокрyтием и контрольного образца (нанотитана).

Таблица 1

Данные по структурным и прочностным характеристикам образцов

Наименование образца	Размер наноструктур (ширина по оси X), нм	Расстояние между наноструктурами, нм	Шероховатость (средняя), нм	Предел прочности, σ _b (МПа)	Предел выносливости, σ ₋₁ (МПа)
Композиционное нанопокрyтие на наноструктурированном титане после 25 циклов обработки	80-90	70-170	85	1260	590
Контрольный образец (нанотитан)	-	-	-	1267	590

Как видно из данных представленных в таблице прочностные свойства нанотитана после нанесения композиционного нанопокрyтия сохраняются высокими, предел выносливости (после 10 циклов) не меняется.

Пример 2.

Иллюстрирует возможность регулировать шероховатость поверхности композиционного нанопокрyтия за счёт регулирования количества циклов обработки титанорганическими наноструктурами на метилированной поверхности наноструктурированного титана от 15 до 25 раз. Один цикл обработки включает чередование низкомолекулярных реагентов, в качестве которых используется четыреххлористый титан и пропаргильовый спирт. Как следует из табл. 2, шероховатость поверхности нанопокрyтия увеличивается с количеством циклов обработки, что позволяет направленно регулировать приживляемость биоматериала. Проводили 15, 20, 25 циклов обработки поверхности наноструктурированного титана.

Таблица 2

Зависимость шероховатости поверхности образцов от количества циклов обработки

Образец	Состав образца	Количеством циклов обработки, n	Шероховатость (средняя), нм
Образец 1	Наноструктурированный титан	0	2
Образец 2	Наноструктурированный титан с нанопокрытием	15	33
Образец 3	Наноструктурированный титан с нанопокрытием	20	60
Образец 4	Наноструктурированный титан с нанопокрытием	25	85

Пример 3.

Иллюстрирует возможность регулировать приживляемость биоматериала за счёт регулирования шероховатости поверхности композиционного нанопокрытия. Первоначально исследовались адгезионные свойства клеток остеобластов MC3T3-E1 на образцах и степень формирования клеточного монослоя. Анализ образцов проводили с применением сканирующей электронной микроскопии. Было показано, способность клеток остеобластов к адгезии на поверхности образцов не менее 85% за 72 ч, а также способность остеобластов к начальной дифференцировке уже на этапе адгезии клеток, это указывает на возможность ускоренного приживления костной ткани к поверхности образцов.

Характер дифференцировки клеток остеобластов на поверхности образцов показывает закономерный рост показателя дифференцировки, остеокальцина, в остеобластах в зависимости от шероховатости поверхности нанопокрытия (фиг. 3). Наличие остеокальцина в клетках остеобластов определяли колориметрически. Каждое значение представляет собой среднее из трех независимых экспериментов.

Приведённые данные указывают на способность получаемых биоматериалов к повышению скорости приживляемости с костной тканью за счёт регулирования шероховатости поверхности нанопокрытия. Образец с шероховатостью 85 нм показал 2-кратное увеличение количества остеокальцина в клетках, культивируемых на его поверхности, по сравнению с контрольным образцом, это указывает на возможность 2-кратного увеличения скорости приживляемости.

Как видно из приведенных примеров, заявляемый способ имеет существенные преимущества перед известными аналогами, прежде всего, в возможности направленно повышать скорость приживляемости биоматериала с костной тканью при сохранении высоких прочностных свойств нанотитана. Полученный биоматериал может применяться в ортопедии, стоматологии и травматологии для создания имплантов с высокой приживляемостью.

Список используемой литературы.

1. Qizhi Chen, George A.Thouas, Metallic implant biomaterials, Materials Science and Engineering R., 2015, 87.
2. L.L. Hench and J.R. Jones, (eds.), Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering, Woodhead Publishing, Ltd., Cambridge, UK (2005), 284 p.
3. RU 2557924 C1, 2014.
4. RU 2443434 C1, 2010.
5. RU 2523410 C1, 2013.
6. RU 2476243 C1, 2012, "Способ получения кальцийфосфатного покрытия на имплантате из биоинертного материала (варианты)" (прототип).
7. E.G. Zemtsova, Morozov, P.E., Valiev, R.Z., Smirnov, V.M., Study of conditions for the increase of surface hydrophobization of nanostructured titanium with titanium organic nanostructures brush type on the surface, Materials Physics and Mechanics, 24, (2015), p. 129-138.
8. Zemtsova E. G., Arbenin A.Yu., Plotnikov A. F., Smirnov V. M. // J. Vac. Sci. Technol. A. 2015. V. 33. N 2, 021519-6.

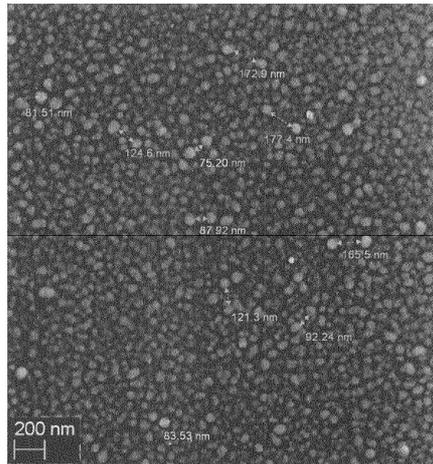
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения композиционного нанопокрытия на наноструктурированном титане, заключающийся в синтезе кальцийфосфатных структур на поверхности наноструктурированного титана с толщиной наносимых слоев 200 нм, отличающийся тем, что перед синтезом кальцийфосфатных структур проводят подготовку поверхности наноструктурированного титана хлорированием при 50°C в течение 30 мин и метилированием при температуре 200°C в течение 15 мин, после чего метилированную поверхность обрабатывают циклически в потоке геля низкомолекулярными реагентами при температуре 180°C в течение от 30 мин до 5 ч в интервале получения средней шероховатости поверхности от 33 до 85 нм, затем на полученную шероховатую поверхность наносят кальцийфосфатные наноструктуры в две ста-

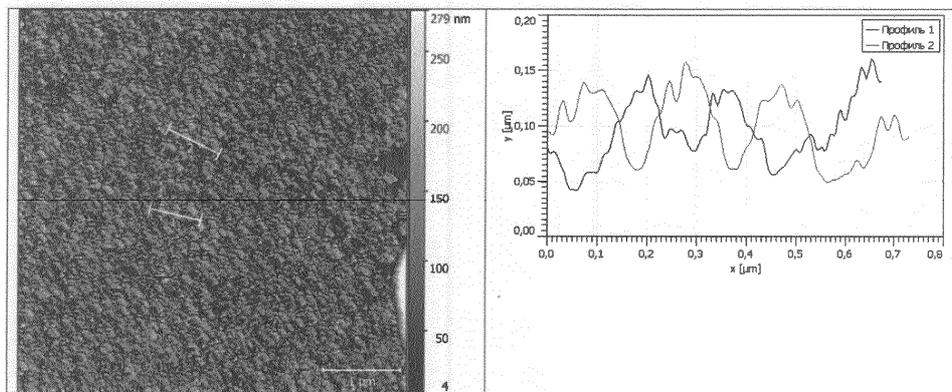
дии, сначала обрабатывают парами пятихлористого фосфора в газовой фазе при температуре 180°C в течение 15 мин, после чего продолжают обработку ионами кальция из органического раствора нитрата кальция при температуре 35°C в течение 5 мин методом ионного обмена между 0,5-молярным раствором $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ и поверхностными $-\text{P}(\text{-OH})_3$ группами, затем проводят сушку полученного нанопокрyтия при 100°C 15 мин.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что хлорирование проводят тионилхлоридом, метилирование проводят метаном.

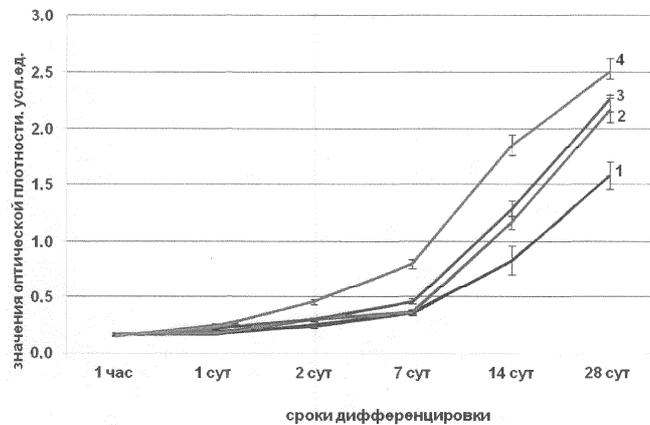
3. Способ по п.2, отличающийся тем, что в качестве низкомолекулярных реагентов использованы четыреххлористый титан и пропаргиловый спирт, которые чередуют в циклах обработки на метилированной поверхности наноструктурированного титана от 15 до 25 раз.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2