

Н. А. Галатенко, Е. С. Астапенко, Д. В. Кулеш, Е. Г. Левенец,
А. С. Рожнов

Разработка и исследования эпоксиполиуретановых композиционных материалов с поли-3-гидроксibuтиратом для стоматологии

(Представлено академиком НАН Украины Е. В. Лебедевым)

Получен ряд эпоксиполиуретановых композиционных материалов с различным содержанием поли-3-гидроксibuтирата (ПГБ). Количество ПГБ в композициях составляло от 0,1 до 3,0% по массе. Было установлено, что прочность на разрыв композиционных материалов изменяется нелинейно и зависит от концентрации ПГБ. Эпоксиполиуретановая композиция, содержащая 0,1% по массе ПГБ имеет максимальное значение прочности на разрыв 23,0 МПа. Введение ПГБ в состав композиции приводит к увеличению относительного удлинения на 10 — 30 %. По данным ИК спектроскопии, введение ПГБ в состав эпоксиполиуретана (ЭПУ) приводит к изменениям в структуре полимера за счет образования межмолекулярных водородных связей между гидроксильными, аминными группами ЭПУ матрицы и сложными эфирными группами ПГБ. Исследуемые эпоксиполиуретановые композиционные материалы с ПГБ биосовместимы и могут быть рекомендованы для создания биологически активных костных имплантатов для стоматологии.

Имплантаты постоянного действия, которые используют в хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии при замещении костных дефектов, представляют собой изделия из высокопрочных материалов (металлические конструкции) [1–3], требующие дополнительной фиксации и нередко вызывающие нежелательную реакцию со стороны окружающих тканей.

Новым направлением в стоматологии, в частности челюстно-лицевой хирургии, является использование имплантатов, изготовленных из биосовместимых и биодеструктируемых полимерных материалов с высокими физико-механическими показателями [4].

Эпоксидные смолы — перспективный класс полимерных соединений для использования в качестве полимерной основы при изготовлении костных имплантатов длительного срока действия, поскольку характеризуются высокими механическими свойствами, малой усадкой, способностью работать в условиях ограниченной деформации без нарушения целостности [5].

Широкие возможности модификации и направленного регулирования эксплуатационных характеристик эпоксидных смол позволяют на их основе создавать эффективные высококачественные материалы с заданными свойствами [6]. При разработке биосовместимых имплантатов для замещения костных тканей целесообразно использовать полимеры на основе модифицированных эпоксидных смол, в частности эпоксиполиуретаны (ЭПУ). Модификация эпоксидных смол полиуретановой составляющей позволяет получить биосовместимый, достаточно эластичный материал с повышенными физико-механическими свойствами [4].

© Н. А. Галатенко, Е. С. Астапенко, Д. В. Кулеш, Е. Г. Левенец, А. С. Рожнов, 2015

Для придания таким материалам способности к биодеструкции в состав ЭПУ вводят биосовместимые биодеструктурируемые полимеры.

Полигидроксикапроаты (ПГА) являются термопластическими, биодеструктурируемыми и биосовместимыми полимерами микробиологического происхождения, сфера использования которых довольно широкая и распространяется на восстановительную хирургию, клеточную и тканевую инженерию, трансплантологию [7]. В настоящее время из ПГА наиболее широко используют поли-3-гидроксibuтират (ПГБ). ПГБ применяют при создании различных имплантатов: протезов сосудов, протезов для остеосинтеза и регенерации хрящевой ткани, а также при нанесении биосовместимых покрытий на медицинские изделия, при разработке полимерных систем с контролируемым высвобождением лекарственных веществ [8].

Введение в состав ЭПУ поли-3-гидроксibuтирата позволит объединить их свойства и получить новый биосовместимый композиционный материал с регулируемыми физико-механическими и физико-химическими свойствами.

Цель работы — изучение влияния ПГБ в составе эпоксиполиуретановых композиционных материалов на изменения их физико-механических свойств и структуру, а также исследование биосовместимости новых эпоксиполиуретановых композиций для стоматологии.

Материалы и методы. Объекты исследования — эпоксиполиуретановые композиции с различным наполнением поли-3-гидроксикапроатом.

Неотвержденные эпоксиполиуретановые композиции представляют собой реакционную массу (эпоксиполиуретановая основа) эпоксидианового олигомера ЭД-20 (ММ 420, эпoxидное число 21,6, гидроксильное число 1,7), полиуретана (ПОПГ 2000, ТДИ 80/20; $\text{OH}/\text{NCO} = 1,0/2,3$ и 1,4-бутандиола (“Merck”)), ЭПУ сополимера, которая содержит в своем составе ПГБ от 0,05 до 3% по массе. Для равномерного распределения ПГБ предварительно растворяли в хлороформе при температуре 60 °С. Композицию отверждали полиамином Л-20 (ММ 830, аминное число 300 ± 15 , коэффициент стехиометрии 2,77).

Физико-механические свойства полученных композиций изучали на образцах, отлитых в формах из фторопласта по ГОСТ 14236 на модернизированной машине для испытаний пластмасс 2166 Р-5, при скорости движения верхней траверсы 10 мм/мин.

ИК-спектры снимали на ИК спектрометре “Tensor-37” фирмы “Bruker” с преобразованием Фурье в области 650–4000 см^{-1} : пленок методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) на приставке АTR с использованием призмы-кристалла алмаза (число отображений $N = 1$). Отнесение полос поглощения выполнено, согласно с [9, 10].

Гистологические исследования проводили на 36 белых лабораторных крысах, весом 150–200 г, которым субкутально имплантировали полимерные образцы ЭПУ и ЭПУ + 0,6% по массе ПГБ на сроки 7, 14 и 30 сут.

Для морфологического анализа после стандартной гистологической обработки [11] полимерного материала с окружающей соединительной тканью были приготовлены срезы толщиной 10–15 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Исследования проводили с помощью микроскопов “Микмед-2” и Carl Zeiss Primo Star при $\times 100$, $\times 150$.

Результаты и их обсуждение. Для изучения влияния ПГБ на физико-механические свойства и определение оптимального состава ЭПУ–ПГБ композиционного материала были получены образцы, содержащие в своем составе различные концентрации, % по массе ПГБ: 0,1, 0,05, 0,3, 0,6, 1,0 и 3,0; ЭПУ, ЭПУ–0,1ПГБ, ЭПУ–0,05ПГБ, ЭПУ–0,3ПГБ, ЭПУ–0,6ПГБ, ЭПУ–1,0ПГБ и ЭПУ–3,0ПГБ соответственно.

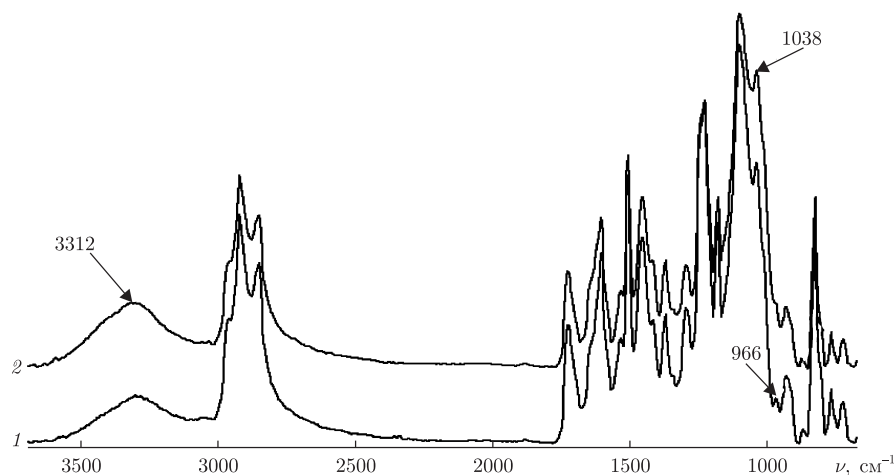


Рис. 1. ИК-спектры: ЭПУ (1), ЭПУ + ПГБ (2)

При проведении физико-механических испытаний было установлено, что прочность композиционных материалов обуславливается соотношением компонентов и изменяется нелинейно. При концентрации 0,1% по массе ПГБ наблюдается максимум прочности на разрыв ($\sim 23,0$ МПа). Введение ПГБ в состав композиции приводит к увеличению относительного удлинения на 10–30% (табл. 1).

Таким образом, введение ПГБ в ЭПУ основу в количестве от 0,05–3% по массе увеличивает гибкость композиционного материала и при этом сохраняется прочность на разрыв. Это улучшает свойства композита как потенциального имплантационного материала для пластики костной ткани.

Согласно проведенным ИК спектроскопическим исследованиям, введение ПГБ в количестве 3% по массе в состав ЭПУ приводит к изменениям структуры полимера за счет взаимодействия компонентов композиционного материала с образованием межмолекулярных водородных связей между группами ЭПУ матрицы (гидроксильными, аминными) и сложными эфирными группами ПГБ (рис. 1). Об этом свидетельствует изменение профиля полосы $3200\text{--}3500\text{ см}^{-1}$ в области валентных колебаний гидроксильных и аминных групп, увеличение интенсивности полосы с максимумом 3312 см^{-1} . Наблюдается также увеличение интенсивности полос в области $1000\text{--}1100\text{ см}^{-1}$, что обусловлено наложением сигналов валентных колебаний связей С–О спиртовых и сложных эфирных групп ЭПУ матрицы и ПГБ.

Таблица 1. Зависимость физико-механических свойств ЭПУ композиционных материалов в зависимости от содержания ПГБ

Содержание ПГБ в композиции, %	Прочность на разрыв, МПа	Относительное удлинение, %
0	$18,7 \pm 0,1$	$13,6 \pm 1,1$
0,05	$21,5 \pm 0,1$	$15,0 \pm 1,0$
0,10	$22,9 \pm 0,1$	$17,7 \pm 1,1$
0,30	$20,0 \pm 0,1$	$18,0 \pm 0,9$
0,60	$17,4 \pm 0,1$	$17,7 \pm 0,8$
1,00	$16,5 \pm 0,1$	$17,0 \pm 0,8$
3,00	$15,5 \pm 0,1$	$14,2 \pm 0,7$

В результате проведенных исследований установлено влияние ПГБ на физико-механические свойства и структуру ЭПУ композиционных материалов. Показано, что введение ПГБ в ЭПУ основу приводит к росту относительного удлинения и улучшает его эксплуатационные свойства.

Изучение биосовместимости эпоксиполиуретановых композиций с ПГБ при их имплантации экспериментальным животным. Основным критерием, согласно которому оценивают биосовместимость любого имплантационного материала, является морфологическая оценка состояния соединительно-тканых (с/т) капсул вокруг образцов имплантируемых экспериментальным животным на разные сроки.

Были имплантированы образцы следующих составов: ЭПУ; ЭПУ + 0,6% по массе ПГБ.

Макроскопически вокруг имплантированных образцов на всех сроках исследования определялась соединительная ткань, которая была плотно соединена с поверхностью имплантированных образцов и по цвету не отличалась от ткани, расположенной на расстоянии от места имплантации.

На 7 сут после операции вокруг полимерных образцов ЭПУ наблюдалась достаточно сформированная, тонкая и зрелая, как для данного срока наблюдения, с/т капсула, состоящая из нескольких рядов коллагеновых волокон, а также вытянутых вдоль имплантированного образца, фибробластов между ними. На отдельных участках капсулы наблюдалось скопление полиморфно-ядерных лейкоцитов, лимфоидных элементов и малодифференцированных клеток. Кроме того, на данном сроке наблюдения в незначительном количестве присутствовали макрофагальные элементы. Кровеносные сосуды были представлены в умеренном количестве.

На 14 сут после операции вокруг полимерных образцов ЭПУ гистологическая картина несколько изменялась. Наблюдалось увеличение толщины с/т капсулы, которая характеризовалась высокой степенью зрелости и состояла из вытянутых фибробластов веретеновидной и овальной форм, находящихся между пучками коллагеновых волокон (а на рис. 2). На отдельных участках капсула характеризовалась недостаточной зрелостью. Основными клеточными элементами такой капсулы были нейтрофильные лейкоциты, лимфоциты, а также макрофагальные элементы.

Через 30 сут после операции вокруг полимерных образцов ЭПУ наблюдалась достаточно толстая, местами незрелая с/т капсула, которая была представлена различными формами фибробластических элементов, а также характеризовалась локальной лейкоцитарной и лимфоцитарной инфильтрацией (см. б на рис. 2). Количество кровеносных сосудов немного уменьшалось по сравнению с предыдущим сроком исследования, микроциркуляторные процессы в них не были нарушены.

На 7 сут после операции вокруг полимерных образцов ЭПУ + 0,6% по массе ПГБ наблюдалась достаточно зрелая с/т капсула, состоящая из веретеновидных фибробластов и пучков коллагеновых волокон. На отдельных участках капсула характеризовалась различной степенью зрелости и была представлена остаточными явлениями нейтрофильной инфильтрации, клеточным детритом и малодифференцированными клеточными элементами. В окружающей соединительной ткани отмечалось незначительное количество новообразованных сосудов небольшого диаметра с нормальной микроциркуляцией.

На 14 сут после операции вокруг имплантированного образца ЭПУ + 0,6% по массе ПГБ наблюдалась зрелая и достаточно тонкая с/т капсула, состоящая из пучков коллагеновых волокон и фибробластов веретеновидной формы (см. в на рис. 2). На отдельных участках с/т капсула характеризовалась локальными и незначительными очагами макрофагальной

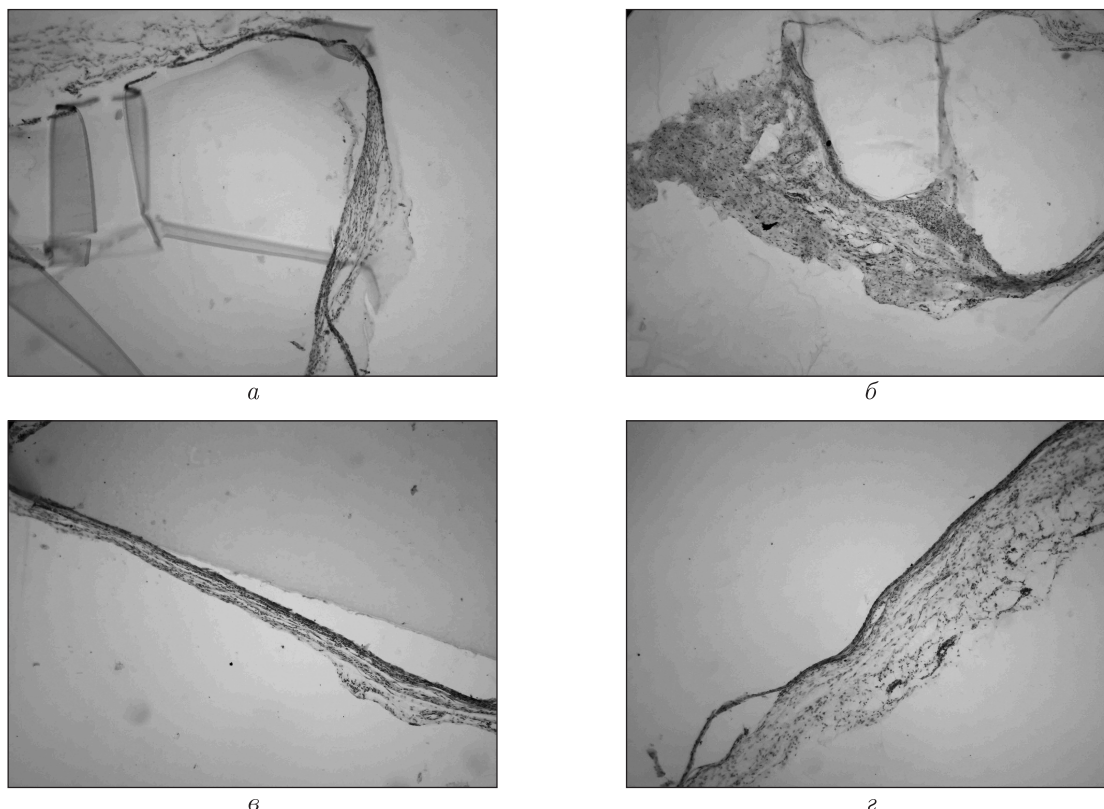


Рис. 2. Соединительно-тканная капсула вокруг образцов ЭПУ (а, б) и ЭПУ + 0,6% по массе (в, г). Окрашивание гематоксилином и эозином. $\times 120$.
Имплантация образцов: 14 сут (а, в); 30 сут (б, г)

инфильтрации, также отмечалось незначительное количество кровеносных сосудов, в том числе новообразованных с нормальной микроциркуляцией.

Через 30 сут после операции вокруг образца ЭПУ + 0,6% по массе ПГБ наблюдалась, как и на 14 сут, тонкая с/т, состоящая из нескольких рядов коллагеновых волокон и зрелых фибробластов веретеновидной формы между ними (см. г на рис. 2). Инфильтрация нейтрофильными и лимфоцитарными элементами отсутствовала, отмечалось небольшое количество разрозненных по всей капсуле макрофагов. Кровеносные сосуды были представлены в незначительном количестве и характеризовались нормальной микроциркуляцией.

Таким образом, практически вокруг всех имплантированных образцов до 7-ми сут имплантации наблюдалась сформированная с/т капсула, представляющая собой плотную неоформленную соединительную ткань, основная масса которой состояла из волокнистых структур — коллагеновых волокон. Между пучками коллагеновых волокон находились несколько вытянутые и овальные клетки фибробластического ряда различной степени зрелости, которые большим диаметром направлены вдоль волокнистых структур. На отдельных участках с/т капсула характеризовалась меньшей степенью зрелости, клеточные реакции имели различную степень интенсивности. Вокруг имплантированных образцов ЭПУ происходила достаточно интенсивная по своей степени воспалительная реакция, которая сопровождалась круглоклеточной инфильтрацией. Это проявлялось в увеличении количества нейтрофилов, лимфоцитов в окружающих имплантат тканях. Кроме того, вокруг образцов

ЭПУ на ранних сроках исследования (7 сут) наблюдалось нарушение микроциркуляторных процессов.

При имплантации образцов ЭПУ + 0,6% по массе ПГБ происходило более слабое развитие воспалительной реакции вокруг имплантатов, по сравнению с контролем. С/т капсула была более тонкой и зрелой, круглоклеточная инфильтрация — незначительной. Макрофаги наблюдались в значительном количестве, что является нормой для реакции живого организма на наличие чужеродного тела. Необходимо отметить, что вокруг имплантированных образцов с ПГБ не отмечалось распространения воспалительной гиперемии и нарушения кровоснабжения в сосудах. Введение в состав эпоксиполиуретана ПГБ приводит к повышению биосовместимости композиционного материала в целом.

Необходимо отметить, что, согласно морфогистологическим исследованиям, вокруг всех ЭПУ образцов наблюдались воспалительные реакции по типу асептического воспаления, которые не были длительными и были направлены на инкапсуляцию чужеродного тела.

Таким образом установлено, что исследуемые композиции являются биосовместимыми с тканями экспериментальных животных, не вызывают острой и хронической воспалительной реакции, сохраняют свою структуру при имплантации. Введение в состав ЭПУ поли-3-гидроксibuтирата повышает биосовместимость композиционного материала. Согласно полученным результатам, эпоксиполиуретановые композиционные материалы, содержащие в своем составе ПГБ, могут быть рекомендованы как биосовместимые полимерные носители лекарственных веществ с целью создания имплантационных материалов для стоматологии с пролонгированным лечебным действием.

1. Pina C., Torres C.K., Guzman J. Preliminary histological study of connective tissue response to Zircalco and stainless steel 316L implants after 120 days // *Mat. Sci. Mat. Med.* — 1998. — **9**, No 2. — P. 93–97.
2. Mohammadi S., Wictorin L., Erison L.E. et al. Cast titanium as implant material // *Ibid.* — 1995. — **6**, No 7. — P. 435–444.
3. Combes C., Freche M., Rey C. Nucleation and crystal growth of dicalcium phosphate digydrate titanium powder // *Ibid.* — No 12. — P. 699–705.
4. Маланчук В. А., Астапенко Е. А., Галатенко Н. А., Рожнова Р. А. Результаты исследования физико-механических свойств биodeградируемого полимера, используемого в реконструктивно-восстановительной хирургии костей челюстно-лицевой области // *Вісн. пробл. біології і медицини.* — 2013. — **2**, № 100. — С. 304–308.
5. Пиріков О. В., Лойко Д. П. Перспективність використання епоксидних та епоксикаучукових полімерів як гідроізоляційні матеріали // *Вісн. дон. нац. академії будівництва і архітектури.* — 2009. — **75**, № 1. — С. 94–99.
6. Мужев В. В., Нестеров А. Е., Лебедев Е. В. и др. Реокинетика процесса формирования и физико-механические свойства эпоксиполиуретановых композиций в присутствии компатибилизатора // *Вопр. химии и хим. технологии.* — 2004. — № 4. — С. 115–120.
7. Шишацкая Е. И. Биотехнология полигидроксиканоатов: научные основы медико-биологического применения. — 03.00.23. Биотехнология: Автореф. дис. . . д-ра биол. наук. — Красноярск, 2009. — 47 с.
8. Лившиц В. А., Бонарцев А. П., Иорданский А. Л. и др. Микросферы из поли-3-гидроксibuтирата для пролонгированного высвобождения лекарственных веществ // *Высокомолекулярные соединения. Сер. А.* — 2009. — **51**, № 7. — С. 1–9.
9. Кулцов А. Х., Жижин Г. Н. Фурье КР и Фурье ИК спектры полимеров. — Москва: Физматлит. — 2001. — 656 с.
10. Преч Э., Бюльманн Ф., Аффельтер К. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных: Пер. с англ. — Москва: Мир; БИНОМ. Лаб. знаний, 2006. — 438 с.
11. Саркисов Д. С., Петрова Ю. Л. Микроскопическая техника. — Москва: Медицина, 1996. — 542 с.

*Институт химии высокомолекулярных соединений
НАН Украины, Киев*

Поступило в редакцию 26.09.2014

Н. А. Галатенко, О. С. Астапенко, Д. В. Кулеш, Є. Г. Левенець,
А. С. Рожнов

Розробка та дослідження епоксиполіуретанових композиційних матеріалів з полі-3-гідроксибутиратом для стоматології

Отримано ряд епоксиполіуретанових композиційних матеріалів з різним вмістом полі-3-гідроксибутирату (ПГБ). Кількість ПГБ в композиції становила від 0,1 до 3,0% за масою. Було встановлено, що міцність на розрив композиційних матеріалів змінюється нелінійно та залежить від концентрації ПГБ. Епоксиполіуретанова композиція, що містить 0,1% за масою ПГБ має максимальне значення міцності на розрив 23,0 МПа. Введення ПГБ до складу композиції приводить до збільшення відносного подовження на 10–30%. За даними ІЧ спектроскопії, введення ПГБ до складу епоксиполіуретану (ЕПУ) приводить до змін у структурі полімеру за рахунок утворення міжмолекулярних водневих зв'язків між гідроксильними, амініними групами ЕПУ матриці та естерними групами ПГБ. Досліджувані епоксиполіуретанові композиційні матеріали з ПГБ біосумісні і можуть бути рекомендовані для створення нових біологічно активних кісткових імплантатів для стоматології.

N. A. Galatenko, Ye. S. Astapenko, D. V. Kulesh, Ye. G. Levenets,
A. S. Rozhnov

Development and investigation of epoxypolyurethane composites with poly-3-hydroxybutyrate for stomatology

A row of epoxypolyurethane (EPU) composites with various contents of poly-3-hydroxybutyrate (PGB) is obtained. The quantity of PGB in compositions was from 0.1 to 3.0% (mass). It is established that the tensile strength of composite materials changes not linearly and depends on the concentration of PGB. The EPU composition containing 0.1% (mass) of PGB has a maximum tensile strength of 23.0 MPa. The introduction of PGB to the composition leads to an increase in the relative elongation by 10–30%. According to IR-spectroscopy, the PGB introduction to the structure of EPU leads to changes in the polymer structure due to the formation of intermolecular hydrogen bonds between hydroxyl and amine groups of the EPU matrix and the ester groups of PGB. The investigated epoxypolyurethane composites with PGB are biocompatible and have to be recommended for the creation of new biologically active bone implants for stomatology.