

УДК 544-931.4

## Особенности ионообменной адсорбции $\text{Ca}^{2+}$ и $\text{HPO}_4^{2-}$ как основной фактор самосборки апатита в поверхностном слое инициаторов биоминерализации

*В. В. Стрелко<sup>1</sup>, А. В. Стрелко<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Институт сорбции и проблем эндоэкологии НАН Украины  
ул. Генерала Наумова, 13, Киев 03164, Украина. E-mail: vladimir.strelko@gmail.com

<sup>2</sup> Boston University  
896 Beacon St., Boston, MA 02215, USA

*На основе анализа литературы и собственных данных авторов о формировании апатита — основного компонента костных тканей — предложен механизм его самосборки в живых организмах на поверхности различных инициаторов биоминерализации. Он заключается в попеременной ионообменной адсорбции катионов кальция и анионов гидрофосфата, сопровождающейся чередованием знака электрического заряда на поверхности. В пользу предложенного механизма свидетельствуют экспериментальные данные исследования циклов адсорбции ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  катионитами.*

**Ключевые слова:** биоминерализация, биоактивные материалы, ионообменный механизм самосборки апатита в биосистемах.

Некоторые твердые неорганические оксиды, синтетические и природные полимеры, а также полимер-неорганические композиты не только широко исследуются в последние десятилетия, но и успешно применяются в регенеративной медицине (преимущественно, в ортопедии и стоматологии) для замещения дефектов и повреждений в живой костной ткани. Будучи введенными в дефекты (полостные зоны повреждений) костной системы и зубной эмали, эти материалы проявляют уникальное свойство обеспечивать (вызывать) самозалечивание поврежденных путем инициирования, роста и срастания с живой костной материей апатита (фосфата кальция) — основного компонента костных тканей и эмали в биосистемах [1—12]. Однако, невзирая на актуальность проблемы [7—9] и значительный массив исследований этого в общем необычного с физико-химической точки зрения явления, его механизм и в особенности триггерная функция инициирования и обеспечения роста слоя апатита (гидроксиапатита  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) в поверхностном слое этих материалов до сих пор не получили убедительного истолкования.

В медико-биологической литературе для обозначения материалов, обеспечивающих после введения в дефекты самопроизвольную регенерацию костной

ткани, т. е. появление зародышей и самосборку слоя апатита за счет использования имеющихся в биологических средах ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ , применяется не вполне удачный термин «биоактивные материалы». Опубликованные в литературе данные свидетельствуют о том, что биоминерализующей активностью в этом случае обладают индивидуальные и смешанные оксиды многовалентных элементов (Si, Ti, Zr, Nb, Ta и др.), стекла, керамика, природные и синтетические полимеры, некоторые металлы и сплавы, неорганические композиты и др. Отдавая отчет в неполной корректности этого термина, мы тем не менее будем использовать его для обозначения указанных материалов с биоминерализующими свойствами. Ведь термин «биоактивные материалы» уже относительно давно «прижился» в специализированной научной литературе [1—12].

Характеризуя более детально свойства биоактивных материалов, необходимо отметить то, что накопившийся в поверхностном слое биоматериалов, введенных в дефекты (полости) костной системы и зубной эмали, апатит (гидроксиапатит) затем самопроизвольно химически срастается с костью, что, скорее всего, обусловлено тем, что растущая апатитная матрица соответствует по химическому составу и

кристаллической структуре костному апатиту в живых системах. Интересным моментом здесь является также и то, что подобный костной ткани слой апатита может формироваться на биоактивных материалах также в том случае, когда они контактируют (*in vitro*) с модельной биологической жидкостью (МБЖ) [10, 11]. Иными словами, в контакте с МБЖ биоматериалы также инициируют самопроизвольное зарождение и рост в их поверхностном слое апатита, поскольку по солевому составу (прежде всего, по значению pH и соотношению ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) МБЖ соответствует внеклеточной жидкости человека, прежде всего плазме крови.

В многочисленных работах, посвященных синтезу и исследованию биоактивных материалов, предпринимались попытки установить механизм биоактивности, т. е. самопроизвольного инициирования процесса зарождения и роста апатита в их поверхностном слое не только в живых организмах, но и в контакте с МБЖ, т. е. в условиях, моделирующих солевой состав биологических жидкостей организма [6, 9, 11, 12]. Так, например, по мнению авторов [9], в случае биоактивной керамики и стекол, содержащих CaO, при нуклеации (зарождении) апатитного слоя и его росте имеет место взаимный обмен между ионами  $\text{Ca}^{2+}$  матрицы и  $\text{H}_3\text{O}^+$  раствора (МБЖ); в результате этих процессов образуются группы  $\equiv\text{Si}-\text{OH}$  на поверхности матрицы, каталитически активирующие зарождение апатита; то же самое авторы [9] предполагают и для материалов, имеющих  $\equiv\text{Ti}-\text{OH}$ -группы. Слой апатита, а именно зародыши, образованные таким способом, затем растут за счет потребления (из биологических сред и из МБЖ) кальция и фосфата из насыщенных этими ионами окружающих жидкостей (МБЖ, кровь). Вместе с тем в работе [9] не рассматривался на ионно-молекулярном уровне возможный механизм предполагаемого авторами каталитического действия гидроксильных групп, связанных с поверхностью биоминерализующих материалов; сообщалось лишь то, что чистые кремнезем и двуокись титана, синтезируемые золь-гель методом из алкоксидов Si и Ti и содержащие поверхностные группы  $\equiv\text{Si}-\text{OH}$  и  $\equiv\text{Ti}-\text{OH}$ , также инициируют формирование на своей поверхности апатита в контакте с МБЖ [9].

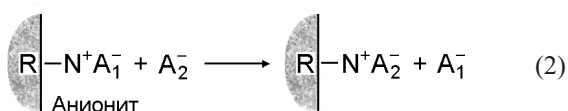
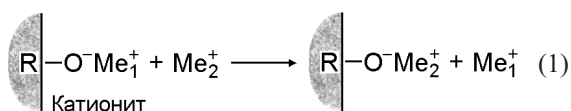
Ряд публикаций, посвященных исследованиям механизмов биоактивности неорганических материалов, проанализирован также в обзоре [6]. Развивавшиеся в рассмотренных авторами [6] работах представления мало отличаются от того, что уже было высказано авторами [9], а именно при анализе возможных механизмов биоактивности главное значение также придавалось обязательному наличию в поверхностном слое гидроксильных групп. Это и

понятно, так как по данным многих исследований материалы (и их композиты), содержащие в поверхностном слое не только группы Si-OH и Ti-OH, но и Zr-OH, Nb-OH, Ta-OH, а также -COOH,  $-\text{PO}_4\text{H}_2$  и даже  $-\text{SO}_3^- \text{H}^+$ , являются активными для зарождения и формирования апатита [9, 11]. В ряду публикаций, посвященных изучению биоактивности материалов, следует упомянуть также работу [12], в которой предполагалось, что самопроизвольное формирование апатита может быть связано с особым состоянием воды в поверхностном слое биоактивных материалов, что обеспечивает, по мнению авторов [12], образование плотной (перенасыщенной ионами кальция и фосфата) жидкой фазы и последующее зародышеобразование (нуклеацию) фосфатов кальция.

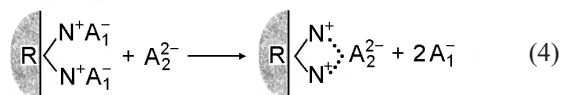
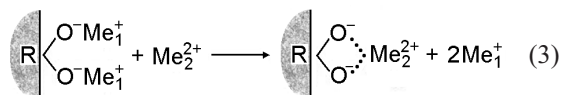
Целью нашей работы является теоретическое рассмотрение и экспериментальное обоснование предложенной нами физико-химической гипотезы ионообменной самосборки апатита из имеющихся в организме ионов кальция и фосфата и остеоинтеграции апатита в живую ткань. При этом первоначально будет проведен теоретический анализ особенностей ионообменной адсорбции одно- и двухзарядных (многозарядных) катионов и анионов и на этой основе предложен механизм ионообменной самосборки имеющихся в организме ионов кальция и фосфатных ионов с образованием апатитного слоя, химически связанного с поверхностью биоактивных материалов и, естественно, с живой костной тканью. Главным в предлагаемом механизме является то, что стартовым процессом формирования слоя гидроксипатита (возникновения зародышей апатита) является не каталитическое действие поверхностных гидроксильных групп [9] и не уплотнение и последующее отложение сходных с жидкостью кластеров пренуклеации [12], но химическая реакция попеременной ионообменной адсорбции ионов кальция и гидрофосфата с участием поверхностных гидроксильных групп биоактивных материалов различного типа. Ведь значение pH биологических жидкостей  $\sim 7,2-7,4$ ; и при этом значении pH беспорядочно расположенные на поверхности указанных выше аморфных биоматериалов гидроксильные группы будут в той или иной мере ионизироваться, т. е. будут способны к процессу ионообменной адсорбции указанных выше ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Иными словами, гидроксильные группы, с нашей точки зрения, являются не каталитическим активатором образования зародышей (нуклеации) апатита, а непосредственно участвуют в стартовом химическом (ионообменном) процессе инициирования и роста этих зародышей не только в биологических жидкостях, но и в МБЖ.

**Особенности ионообменной адсорбции многозарядных катионов и анионов; базовые представления**

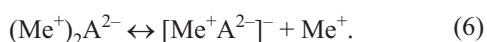
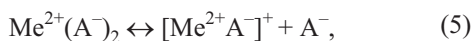
Ионообменная сорбция однозарядных катионов и анионов идет, очевидно, в соответствии с простыми схемами замещения



Между тем, исходя из общих соображений, следует принять, что в случае сорбции двух- и трехзарядных катионов и анионов на ионообменниках, содержащих лишь однозарядные ионообменные группы, возникает двойственная ситуация. Действительно, при благоприятном (в структурном отношении) расположении функциональных групп ионита двухзарядный катион или анион будет нейтрализовать сразу два заряда (связывать две функциональные группы) матрицы ионита в соответствии со схемами



Если же из-за особенностей молекулярного строения матрицы ионита (из-за структурного несоответствия размеров сорбируемого иона и расстояния между зарядами (функциональными группами в матрице)) ионообменный процесс согласно схемам (3) и (4) невозможен, то, с нашей точки зрения, сорбция двухзарядных катионов и анионов будет происходить в форме ионной пары, т. е. вместе с одним из своих однозарядных противоионов. Возможность именно такого варианта сорбции основывается, прежде всего, на том, что в растворах солей с двухзарядными ионами и их однозарядными противоионами первая стадия равновесных процессов диссоциации ионных пар идет в соответствии со схемами



Уточняя сказанное, необходимо еще раз подчеркнуть, что при наличии даже слабого комплексобразования между катионами и анионами в растворах теоретически возможна одномоментная совместная сорбция катионов и анионов в форме ионных пар («комплексных» ионов), обозначенных квадратными скобками в схемах (5) и (6) и имеющих общий положительный или отрицательный заряд.

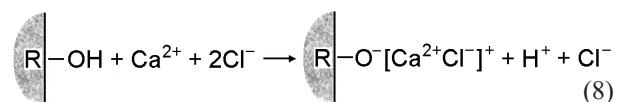
Если же иметь в виду биологические системы, то в плазме крови, а следовательно, и в зоне зарождения и роста апатита концентрация ионов следующая (ммоль/л):  $\text{Na}^+$  142,0;  $\text{K}^+$  5,0;  $\text{Ca}^{2+}$  2,5;  $\text{Mg}^{2+}$  1,5;  $\text{Cl}^-$  147,8;  $\text{HCO}_3^-$  4,2;  $\text{HPO}_4^{2-}$  1,0;  $\text{SO}_4^{2-}$  0,5;  $\text{pH} \approx 7,2-7,4$ .

С учетом того, что имеющиеся в плазме однозарядные анионы имеют наибольшую концентрацию, соответствующие ионные равновесия в плазме и искусственных МБЖ следует условно записать таким образом:



где  $\text{A}^-$  — анионы  $\text{Cl}^-$  и  $\text{HCO}_3^-$ .

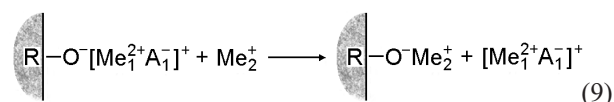
Представленная в схеме (7) ионная пара  $[\text{Ca}^{2+}\text{A}^-]^+$ , по-видимому, в какой-то мере отражает лишь существование в физиологическом растворе комплексных катионов  $[\text{Ca}^{2+}\text{HCO}_3^-]^+$ ; константа диссоциации «комплексного» катиона гидрокарбоната кальция ( $K_D = 5,64 \cdot 10^{-2}$ ) свидетельствует о его вполне ощутимой устойчивости. Изложенное означает, что поверхностные гидроксильные группы будут лишь частично вовлечены в ионообменную сорбцию однозарядных «комплексных» катионов гидрокарбоната кальция  $[\text{Ca}^{2+}\text{HCO}_3^-]^+$ , так как их содержание в биологических растворах в общем незначительно (судя по представленным выше данным об ионном составе плазмы крови). Основная же доля  $-\text{OH}$ -групп биоактивного материала первоначально должна ионообменно связывать индивидуальные катионы  $\text{Ca}^{2+}$ , избыточный положительный заряд которых будут компенсировать (имеющиеся в большом избытке) гидратированные анионы  $\text{Cl}^-$  в соответствии с итоговой схемой



Иными словами, после первоначального элементарного акта ионообменного замещения протонов гидроксильных «комплексными» катионами кальция (гидрокарбоната и «хлоридным») в поверхностном слое должны образовываться ионообменные группы,

в которые входят не только катионы ( $\text{Ca}^{2+}$ ), но и анионы ( $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ).

Поэтому связавшие «комплексные» ионы иониты («модифицированные» этими группировками иониты) должны вступать в реакции ионного обмена одновременно как с катионами, так и с анионами. Так, например, для катионита, «модифицированного» комплексным катионом  $[\text{Me}_1^{2+}\text{A}_1^-]^+$ , процесс сорбции однозарядных катионов и анионов из раствора может быть представлен схемами



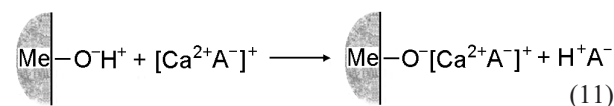
Изложенные соображения касаются ионообменной сорбции из растворов солей, содержащих двухзарядный ион и однозарядный противоион. Однако развиваемые представления могут, очевидно, быть распространены также и на случай ионообменной сорбции на «структурно неблагоприятных» ионитах из растворов, содержащих только двухзарядные или даже трехзарядные катионы и анионы. Именно эта ситуация представляется, с нашей точки зрения, наиболее интересной, так как в процессах биоминерализации органов и тканей у млекопитающих как раз основную роль играют имеющиеся в биологических средах организма, в частности в плазме крови, двухзарядные ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ , формирующие гидроксипатит — основной минерал твердых тканей, а именно костей и зубов (более детально это будет рассмотрено ниже). Следует здесь отметить, что при склеротической минерализации (кальцификации) сосудов в бляшках также в основном идет отложение фосфатов кальция; более того, существует корреляция между содержанием фосфат-анионов в плазме крови и степенью сосудистой кальцификации [13, 14], что подтверждает представления, развиваемые в настоящей работе.

#### Ионообменная самосборка $\text{Ca}^{2+}$ - и $\text{HPO}_4^{2-}$ -ионов как детерминирующий механизм спонтанного зарождения и роста апатита на поверхности биоактивных материалов

##### Концептуальные представления и их экспериментальное подтверждение

Выше уже отмечалось, что первоначальным элементарным актом самопроизвольного формирования зародышей апатита, сходного с костной тканью, есть,

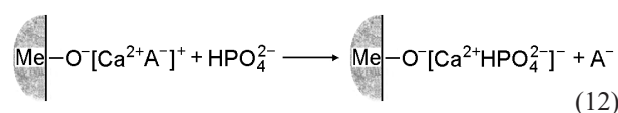
с нашей точки зрения, ионообменная адсорбция всех существующих в плазме и МБЖ форм кальция (схемы (7) и (8)) путем их обмена на протон гидроксильных групп при  $\text{pH} \approx 7,2-7,4$ , характерных для биологических сред. Необходимо здесь отметить, что при  $\text{pH} \approx 7,2-7,4$  теоретически протон большинства биоматериалов первоначально будет замещаться на какой-нибудь однозарядный ион ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ), так как содержание этих катионов в биологических средах существенно больше, чем ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , а затем на индивидуальные или комплексные катионы кальция, поскольку они имеют большее сродство к поверхности, чем ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  [15, 16]. Следует также иметь в виду, что группы  $\equiv\text{Me}-\text{OH}$  большинства биоактивных материалов, являющихся кислотными (или амфотерными) оксидами, диссоциируют при  $\text{pH} \approx 7,2-7,4$ , придавая поверхности отрицательный заряд [15], что обеспечивает возможность ионообменной сорбции индивидуальных ( $\text{Ca}^{2+}$ ) и даже «комплексных» катионов  $[\text{Ca}^{2+}\text{A}^-]^+$ . Иными словами, это может быть представлено в общем виде схемой



где Me — Si, Ti, Zr, Nb, Ta и др.;  $\text{A}^-$  —  $\text{Cl}^-$  и  $\text{HCO}_3^-$ .

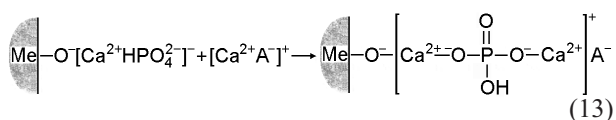
Естественно, что биомолекулы, полимеры, синтетические ионообменные смолы, имеющие функциональные  $-\text{OH}$ -,  $-\text{COOH}$ -,  $-\text{SO}_3\text{H}$ -группы, тоже проявляют свойства биоактивности [8, 11, 12].

Сформировавшийся в соответствии с реакцией (11) поверхностный Ca-комплекс должен, по нашему мнению, вступать в реакцию ионообменного замещения как с катионами (с десорбцией катиона  $[\text{Ca}^{2+}\text{A}^-]^+$ ), так и с анионами (с выделением аниона  $\text{A}^-$ ). Но наиболее важным здесь является то, что именно анионы  $\text{HPO}_4^{2-}$ , находящиеся в плазме даже в меньших количествах, чем анионы  $\text{HCO}_3^-$ , должны предпочтительно вступать в подобную ионообменную реакцию замещения в соответствии со схемой



Энергия кристаллической решетки фосфата кальция (~10600 кДж/моль) по сравнению с хлоридом (~2223 кДж/моль) и карбонатом (~2800 кДж/моль) [17] является наибольшей в ряду этих соединений кальция, т. е. решетка фосфата кальция энергетически наиболее выгодна. Следствием этого является нерастворимость фосфата кальция (в отличие от его

хлорида и гидрокарбоната). Именно этот энергетический фактор и обуславливает выражено селективный характер сорбции аниона  $\text{HPO}_4^{2-}$  в соответствии со схемой (12), что подтверждается результатами наших квантовохимических расчетов [18]. Более того, вследствие протекания процесса (12) отрицательный заряд исходной поверхности ионита ( $\text{Me}-\text{O}^-$ ) будет восстанавливаться в соответствии со схемой (12). И это станет предпосылкой для ионообменной адсорбции (тоже селективной) на такой отрицательно заряженной поверхности следующего «комплексного» катиона  $[\text{Ca}^{2+}\text{A}^-]^+$  в соответствии со схемой



Понятно, что противоион  $\text{A}^-$  также должен затем замещаться на анион  $\text{HPO}_4^{2-}$  и т. д. В результате такого спонтанного процесса ионообменной самосборки сформируется химически связанный с поверхностью биоактивного материала кальцийфосфатный кластер, т. е. фрагмент апатита (гидроксиапатита).

Поскольку в процессе роста такого кластера его концевые группы будут попеременно приобретать отрицательный и положительный заряд (схемы (11) — (13)), то ионообменная самосборка должна продолжаться до момента функционирования механизма снабжения зоны роста кластера двухзарядными ионами кальция и гидрофосфата. Ясно также, что в соответствии с законами кристаллохимии (например, с учетом фактора эпитаксии), начиная с некоторого момента, связанного с размером аморфного кальцийфосфатного зародыша, должен начаться процесс кристаллизации этого аморфного материала с образованием гидроксиапатита. Можно предположить также, что аморфные зародыши к моменту начала их кристаллизации должны достигать размеров  $\sim 20\text{--}50$  нм, так как микрокристаллиты гидроксиапатита в костной ткани в живых организмах по данным [12] имеют именно такой размер.

Если же говорить о попеременном изменении знака заряда растущего кальцийфосфатного кластера, то это, действительно, было подтверждено данными работы [9], в которой детально обсуждалось изменение знака дзета-потенциала в процессе выдерживания титаната натрия и гидроксиапатита в МБЖ. Установлено, в частности, что титанат натрия в момент контакта с МБЖ заряжен отрицательно вследствие наличия на поверхности анионных центров (групп  $\equiv\text{TiO}^-\text{Na}^+$ ). Однако по мере того как ионы кальция замещают ионы  $\text{Na}^+$  в поверхностном слое титаната натрия, поверхность постепенно приобретает положительный заряд, как это и предполагает

схема (11). После постепенной ионообменной адсорбции отрицательно заряженного иона  $\text{HPO}_4^{2-}$  поверхностный потенциал уменьшается (с увеличением времени контакта), что снова приводит к росту значения отрицательного заряда в соответствии со схемой (12).

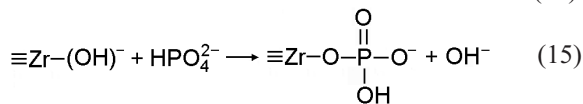
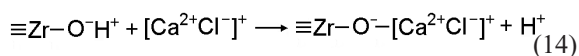
В случае же гидроксиапатита наблюдается практически то же самое, с той лишь разницей, что прокаленный минерал немедленно после контакта с МБЖ становится отрицательно заряженным вследствие ионизации поверхностных (потенциалопределяющих)  $\text{P}-\text{OH}$ -групп, а после сорбции ионов кальция поверхность снова приобретает положительный заряд, а потом (после повторной селективной сорбции  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) получает постоянный отрицательный заряд [9]; подобные эффекты отмечались также в работе [19] для различных плоскостей растущих монокристаллов гидроксиапатита.

Следует здесь заметить, что развиваемые представления об ионообменной сорбции комплексных ионов являются в некотором смысле условными. Ведь  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  прочно связываются с поверхностью и являются потенциалопределяющими ионами в поверхностном слое биоактивных материалов, а, соответственно, противоионы  $\text{Cl}^-$  и  $\text{Na}^+$  входят в состав диффузной (размытой) оболочки этого слоя. Поэтому в работе [18] мы использовали *ab initio* квантовохимические расчеты для моделирования реакций сосудистой минерализации, которые включают в себя ионообменную самосборку ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ , начинающуюся с ионообменной адсорбции  $\text{Ca}^{2+}$  на сульфогруппах  $-\text{SO}_3^-\text{H}^+$  частично окисленного (вследствие окислительного стресса) альбумина (модельный объект). Иными словами, в данном случае биоактивность проявляла макромолекула альбумина, имеющая после окислительного стресса функциональные сульфогруппы. Расчеты с использованием этого биоматериала показали, что попеременная сорбция ионов кальция и гидрофосфата (самосборка зародышей апатита) действительно характеризуется положительным тепловым эффектом, т. е. является энергетически (термодинамически) выгодной.

Отдельного рассмотрения заслуживает также анализ процессов ионообменной самосборки ионов кальция и фосфата (формирование слоя апатита) на биоактивных материалах, содержащих поверхностные  $\text{Si}-\text{OH}$ -группы, а именно на кремнеземе,  $\text{SiO}_2$ -содержащих стеклах, стеклокерамике и др. Ведь наряду с  $\text{TiO}_2$  эти содержащие кремнезем материалы приобрели наибольшее практическое значение в ортопедии и стоматологии [6, 12].

Различные разновидности кремнезема (силикагель, синтезированный золь-гель методом, мезопористые материалы МСМ-типа, силиказоли и кремнеземные порошки) образуются путем полимеризации (трехмерной поликонденсации) чрезвычайно слабой ортокремниевой кислоты  $\text{Si}(\text{OH})_4$ ; значение ее константы диссоциации  $K_D = 10^{-9.8}$  ( $\text{p}K_a = 9,8$ ) свидетельствует о том, что диссоциация поверхностных Si–ОН-групп (а следовательно, и ионообменная адсорбция) должна происходить лишь в щелочных растворах ( $\text{pH} \approx 9-10$ ). Между тем изоэлектрическая точка кремнезема (силикагель) лежит в интервале  $\text{pH} \approx 2-3$ , а заметная ионообменная адсорбция ионов  $\text{Ca}^{2+}$  начинается уже при  $\text{pH} \approx 6,5$  [15, 16]. Эти в некотором смысле противоречивые факты были интерпретированы нами [15, 16] с точки зрения эффектов  $p_\pi-d_\pi$ -сопряжения в системе силоксановых связей  $(\equiv\text{Si}-\text{O})_n-\text{Si}-\text{OH}$  кремнеземной матрицы. Иными словами, ионообменные процессы связывания ионов кальция и гидрофосфатов в МБЖ и в живом организме должны протекать на биоактивных материалах, содержащих Si–ОН-группы, приблизительно так же, как и на материалах, имеющих поверхностные  $\equiv\text{Ti}-\text{OH}$ -группы [9], т. е. должны начинаться с ионообменной сорбции при  $\text{pH} \approx 7,2-7,4$  индивидуальных и комплексных ионов кальция.

Наконец, если говорить о биоактивных материалах с  $\equiv\text{Zr}-\text{OH}$ -группами, то для этого амфолита в зоне нейтральных значений pH биологических жидкостей (т. е. при  $\text{pH} \approx 7,2-7,4$ ) должен происходить как ионный обмен катионов кальция, так и анионный обмен  $\text{HPO}_4^{2-}$ ; ведь в случае  $\text{ZrO}_2$  значение изоэлектрической точки находится при  $\text{pH} \approx 5,5-7,5$ , что предполагает возможность одновременной ионообменной адсорбции как комплексных и индивидуальных катионов  $\text{Ca}^{2+}$ , так и анионов  $\text{HPO}_4^{2-}$  в соответствии со схемами



Интересно то, что в работе [20] изучалась зависимость адсорбции анионов фосфата от pH на гидратированном  $\text{ZrO}_2$  и было показано, что в интервале  $\text{pH} \approx 3-6,5$  величина адсорбции (140 мг/г) практически не изменяется (не зависит от pH), а начиная с  $\text{pH} \approx 6,5$  хотя и начинает уменьшаться, но при  $\text{pH} \approx 7,2-7,4$  (pH биологических жидкостей) количество адсорбированного фосфата еще составляет ~70 % от величины адсорбции в слабокислой области (т. е. при  $\text{pH} \approx 3-6,5$ ). Но, с другой стороны, при  $\text{pH} \approx 7,2$

гидратированный  $\text{ZrO}_2$  как амфолит проявляет также катионообменные свойства [20].

С нашей точки зрения, амфотерный характер поверхности  $\text{ZrO}_2$  и композитов на его основе предполагает (предопределяет) то, что ионообменная самосборка может начинаться на его поверхности как со стартовой адсорбции катионов  $\text{Ca}^{2+}$ , так и анионов  $\text{HPO}_4^{2-}$ , т. е. в соответствии со схемами (11) — (15). Дальнейшее же развитие процесса должно идти обычным путем, т. е. в соответствии с механизмами, обсуждавшимися выше (в том числе и для гидроксипатита, в случае которого рост зародышей начинается, очевидно, с ионообменной адсорбции  $\text{Ca}^{2+}$  на поверхностных фосфатных группах). В связи с этим интересно отметить, что положительно заряженный композит на основе поликатиона-полиамина хитозана проявляет биоактивность, несомненно, за счет первоначальной анионообменной адсорбции анионов  $\text{HPO}_4^{2-}$  [21, 22]; в то же время в случае биоактивных альгинатов, содержащих –COOH-группы, первоначально должны связываться «комплексные» катионы кальция [8].

Наконец, в случае биоактивных стекол и керамики или стеклокерамики на основе силикатов кальция  $\text{CaO}-\text{SiO}_2$  [9, 12], а также более сложных многокомпонентных оксидных композитов, например  $\text{CaO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$  или  $\text{CaO}-\text{MgO}-\text{P}_2\text{O}_5-\text{SiO}_2$ , фактически должны происходить те же процессы, что и на обсуждавшихся выше кремнеземе, двуокиси титана и циркония. Ведь в контакте с модельными биологическими жидкостями типа МБЖ при  $\text{pH} \approx 7,2-7,4$  должны частично иметь место реакции выщелачивания (растворения)  $\text{CaO}$ ,  $\text{MgO}$  и  $\text{P}_2\text{O}_5$  из этих материалов, которые превращаются таким образом в дополнительный источник ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  для формирования слоя апатита. Более того, такой процесс частичного выщелачивания будет развивать пористость поверхностного слоя; при этом на поверхности обязательно будут формироваться группировки  $\equiv\text{Si}-\text{O}^-\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ) или  $\equiv\text{Si}-\text{O}^--\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ), которые и будут определять биоактивность материала в процессах ионообменной самосборки, как это было показано выше.

#### Экспериментальное обоснование возможности ионообменной самосборки ионов $\text{Ca}^{2+}$ и $\text{HPO}_4^{2-}$ при их попеременной сорбции на катионитах

С целью моделирования процессов самосборки исследована попеременная ионообменная сорбция ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  (при  $\text{pH} \approx 7,2-7,4$ ) на сульфо- и

**Ионообменная самосборка ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  при их чередующейся сорбции на катионитах (катионообменные смолы — группы  $-\text{SO}_3\text{H}$  и  $-\text{COOH}$ ; неорганические катиониты — группы  $\equiv\text{Si}-\text{OH}$ ,  $\equiv\text{Zr}-\text{OH}$ ,  $\equiv\text{P}-\text{OH}$ )**

Марка смолы и неорганические иониты силикат (ZrSi/H) и фосфат (ZrP/H) циркония	Ионообменная емкость по ионам $\text{Ca}^{2+}$ и $\text{HPO}_4^{2-}$ , ммоль/г						
	1-й цикл		2-й цикл		3-й цикл		4-й цикл
	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{HPO}_4^{2-}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{HPO}_4^{2-}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{HPO}_4^{2-}$	$\text{Ca}^{2+}$
Сульфокатионит Amberlite 22 H/H	0,156	0,308	1,201	0,462	1,079	0,328	0,438
Сульфокатионит Pyrolite C 145 S/Na	0,380	0,361	0,780	0,574	1,090	0,281	0,412
Сульфокатионит 4 Dowex 88 MB/Na	0,736	0,306	0,600	0,519	0,858	0,205	0,248
Карбоксикатионит Dowex MAC 3/H	0,873	0,556	1,000	0,048	0,713	0,371	
Силикат циркония ZrSi/H	0,117	0,365	0,250	0,327	0,258	0,484	
Фосфат циркония ZrP/H	1,203	0,442	0,117	0,347	0,478		

*Примечание.* Сорбция  $\text{Ca}^{2+}$  проводилась при комнатной температуре при взбалтывании 24 ч; навеска 0,025 г, объем раствора 25 мл. Содержание фосфора в растворе фосфата натрия (до и после сорбции) на фоне 0,01 н. NaCl определялось калориметрически; температура опытов комнатная, время сорбции при взбалтывании 24 ч.

карбоксильных смолах (4 образца), а также на синтезированных нами оригинальным золь-гель методом высокопористых неорганических катионитах — силикате и фосфате циркония [23]. Соответственно, эти материалы содержат в полимерной матрице группы  $-\text{SO}_3\text{H}^+$  и  $-\text{COOH}^+$ , а в случае фосфата и силиката циркония — также катионообменные кислотные группы  $\text{Me}-\text{O}^-\text{H}^+$ , где Me — Si и Zr, а также P. Опыты проводились таким образом, что катиониты первоначально сорбировали ион  $\text{Ca}^{2+}$  из 0,05 н. раствора  $\text{CaCl}_2$ , а потом тщательно отмывались дистиллированной водой. Такой Ca-катионит приводился в контакт с 0,05 н. раствором  $\text{Na}_2\text{HPO}_4^{2-}$  и после отмывки дистиллированной водой опять контактировал с раствором  $\text{CaCl}_2$ . Таким способом было осуществлено несколько циклов попеременной сорбции ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Результаты количественного определения поглощенных в каждом цикле ионов представлены в таблице.

Как видно из таблицы, первоначальная (в 1-м цикле) сорбция ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на сульфокатионитах и карбоксильном катионите достигает величин ~0,16—0,87 ммоль/г; величина сорбции анионов  $\text{HPO}_4^{2-}$  на Ca-формах ионитов, т. е. ионитов, предварительно сорбировавших  $\text{Ca}^{2+}$ , достигает значений ~0,3—0,5 ммоль/г. На этой Ca- $\text{HPO}_4$ -форме ионитов дальнейшая сорбция  $\text{Ca}^{2+}$  даже превышает (в некоторых смолах) первоначальные величины ионообменного связывания этого катиона. Следует, правда, отметить, что изменения значений абсолютных ве-

личин ионообменной сорбции  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  при переходе от цикла к циклу пока что не находят логического объяснения. Что же касается неорганических катионитов — силиката и фосфата циркония (которые хотя и не исследовались ранее, но, наверняка, обладают биоактивностью), то они обнаруживают приблизительно такие же эффекты сорбции, как и синтетические ионообменные смолы.

Таким образом, данные таблицы свидетельствуют о том, что материалы с катионообменной функцией в интервале pH физиологических сред организма обладают свойством попеременно связывать катионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Это означает, что биополимеры с кислотными группами, а также биоактивные оксиды кремния, титана, циркония, ниобия и тантала, имеющие в поверхностном слое катионообменные гидроксильные группы, действительно обнаруживают способность участвовать в процессах попеременной ионообменной сорбции  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ , моделирующей самосборку апатита, инициируемую ионообменными биоминерализующими материалами.

Следует отметить, что нам не известны работы, в которых бы выяснялась возможность попеременной ионообменной сорбции катионов и анионов, в частности ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ , проявляющих уникальное свойство вызывать образование и рост частиц (зародышей) апатита, химически связанного с поверхностью биоактивных материалов и способного интегрироваться с живой костной тканью.

Что же касается анионитов, то они в этой работе не изучались, хотя мы уверены, что после первоначального ионообменного связывания ими ионов  $\text{HPO}_4^{2-}$  будет наблюдаться последующее прочное фиксирование катионов  $\text{Ca}^{2+}$  и т. д.

Таким образом, основываясь на нашей гипотезе, мы считаем, что ионообменная самосборка является детерминирующей химической реакцией процессов инициирования и формирования (роста слоя) апатита на поверхности биоактивных материалов и последующего их химического интегрирования (срастания) с живой костной тканью.

В заключение этого раздела необходимо отметить, что по данным ряда работ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  не является биоактивным материалом, хотя имеет связанные с поверхностью гидроксильные ОН-группы. Важным моментом здесь является то, что положение изоэлектрической точки оксида алюминия находится при достаточно высоких значениях  $\text{pH} \approx 8-9$  [24], а значит при  $\text{pH}$  биологических жидкостей (7,2—7,4)  $\text{Al}_2\text{O}_3$  не будет вступать в реакцию катионного обмена, а анионообменная адсорбция групп  $\text{HPO}_4^{2-}$  хотя и возможна, но расположение группировок  $=\text{Al}-\text{OH}$  на поверхности, скорее всего, структурно благоприятно для замещения двухзарядным анионом  $\text{HPO}_4^{2-}$  сразу двух соседних гидроксильных анионов на поверхности. Поэтому ионообменная сорбция ионов  $\text{Ca}^{2+}$  невозможна и формирования слоя апатита не происходит.

Таким образом, рассмотрены особенности ионообменной адсорбции двухзарядных ионов (например, ионов кальция и анионов гидрофосфата) путем их ионообменного связывания отдельными функциональными группами ионитов. Сформировано представление о том, что в случае структурно неблагоприятного расположения функциональных групп в матрице ионита ионообменная сорбция катионов и анионов должна осуществляться совместно со своими противоионами, имеющимися в растворе. Поэтому ионообменник, сорбирующий такой комплексный ион, должен поглощать далее из раствора как анионы, так и катионы.

Сформирована гипотеза о том, что биоактивность материалов, проявляющих выраженное свойство инициировать самопроизвольный рост на своей поверхности слоя апатита (гидроксиапатита  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) в контакте с биологическими средами или искусственными растворами имитаторов их солевого состава, как раз и связана с указанными особенностями ионообменной сорбции двухзарядных ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ .

На основании анализа опубликованных данных многих авторов, а также результатов выполненных в

работе экспериментальных исследований показано, что функциональные (в основном гидроксильные) группы биоактивных оксидов и фосфатов многовалентных металлов являются не катализаторами инициирования самопроизвольного роста апатита и его интегрирования с живой тканью костной системы организма, а непосредственным стартовым участником ионообменного процесса, с которого начинается самосборка ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  с образованием матрицы аморфного или кристаллического апатита.

### Литература

1. Hench L. // J. Amer. Ceram. Soc. — 1991. — **74**. — P. 1487—1510.
2. Vallet-Regi M. // J. Chem. Soc. Dalton Trans. — 2001. — P. 97—108.
3. Kokubo T. // Acta Mater. — 1998. — **46**. — P. 2519—2527.
4. Hench L. L., Xynos J. D., Polak J. M. // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. — 2004. — **15**, N 4. — P. 543—562.
5. Tamjid E., Bagheri R., Vossoughi M. et al. // Mater. Lett. — 2011. — **65**. — P. 2530—2533.
6. Salinas A. J., Vallet-Regi M. // RSC Adv. — 2013. — **3**, N 28. — P. 11116—11131.
7. Naga S. M., El-Kady A. M., El-Maghraby H. F. et al. // J. Biomater. Appl. — 2014. — **28**, N 6. — P. 813—824.
8. Xin Bai, Mingzhu Cao, Sahla Syed et al. // Bioact. Mater. — 2018. — **3**, N 4. — P. 401—417.
9. Kokubo T., Kim H.-M., Kawashita M. // Biomaterials. — 2003. — **24**. — P. 2161—2175.
10. Tanahashi M., Matsuda T. // J. Biomed. Mater. Res. — 1997. — **34**. — P. 305—315.
11. Tas A. C., Bhaduri S. B. // J. Mater. Res. — 2004. — **19**, N 9. — P. 2742—2749.
12. *Biomaterialization and biomaterials: Fundamental and applications* / Ed. by C. Aparicio, M. P. Ginebra. — Woodhead publ., 2015.
13. Danilevicius C. F., Lopes J. B., Pereira R. M. // Braz. J. Med. Biol. Res. — 2007. — **40**, N 4. — P. 435—442.
14. Park K. S., Park J., Choi S. H. et al. // PloS One. — 2016. — **11**, N 3. — e0151007.
15. Strazhesko D. N., Strelko V. V., Belyakov V. N., Rubanik S. C. // J. Chromatogr. — 1974. — **102**. — P. 191—195.
16. Barany S., Strelko V. // Adsorption. — 2013. — **19**, N 2—4. — P. 769—776.
17. Glaser L., Jenkins H. D. B. // J. Amer. Chem. Soc. — 2000. — **122**, N 4. — P. 632—638.
18. Strelko V., Gorlov Yu. // Eurasian Chemico-Technological Journal. — 2016. — **18**. — P. 39—45.
19. Aizava M., Matsuura T., Zhuang Z. // Biol. Pharm. Bull. — 2013. — **36**, N 11. — P. 1654—1661.
20. Su Y., Cui H., Li Q. et al. // Water Res. — 2013. — **47**, N 14. — P. 5018—5026.
21. Manjubaly I., Sheler S., Bossert J., Jandt K. D. // Acta Biomater. — 2006. — N 1. — P. 75—84.



22. Zhao T., Feng T. // RSC. Adv. — 2016. — 6. — P. 90878—90886.  
23. Strelko V. V. // J. Sol-Gel Sci. and Technol. — 2013. — 68, N 3. — P. 438—446.

24. Parks G. A. // Chem. Rev. — 1965. — 65, N 2. — P. 177—198.

Поступила в редакцию 9 июля 2018 г.

В окончательном варианте 26 сентября 2018 г.

## Особливості іонообмінної адсорбції $\text{Ca}^{2+}$ і $\text{HPO}_4^{2-}$ як основний фактор самозбірки апатиту у поверхневому шарі ініціаторів біомінералізації

В. В. Стрелко<sup>1</sup>, О. В. Стрелко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Інститут сорбції та проблем ендоекології НАН України  
вул. Генерала Наумова, 13, Київ 03164, Україна. E-mail: vladimir.strelko@gmail.com

<sup>2</sup> Boston University  
896 Beacon St., Boston, MA 02215, USA

*На підставі аналізу літератури та власних даних авторів про формування апатиту — основної компоненти кісткових тканин — запропоновано механізм його самозбірки в живих організмах на поверхні різних ініціаторів біомінералізації. Він полягає у поперемінній іонообмінній адсорбції катіонів кальцію та аніонів гідрофосфатів, що супроводжується чергуванням знака електричного заряду на поверхні. На користь запропонованого механізму свідчать експериментальні дані досліджень циклів адсорбції іонів  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{HPO}_4^{2-}$  катіонітами.*

**Ключові слова:** біомінералізація, біоактивні матеріали, іонообмінний механізм самозбірки апатиту у біосистемах.

## Peculiarities of Ion-Exchange Adsorption of $\text{Ca}^{2+}$ and $\text{HPO}_4^{2-}$ as Main Factor of Self-Assembly of Apatite in the Surface Layer of Biomineralization Initiators

V. V. Strelko<sup>1</sup>, O. V. Strelko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute for Sorption and Problems of Endoecology, National Academy of Sciences of Ukraine  
Generala Naumova St., 13, Kyiv 03164, Ukraine. E-mail: vladimir.strelko@gmail.com

<sup>2</sup> Boston University  
896 Beacon St., Boston, MA 02215, USA

*Based on the analysis of literature and the authors' own data on the formation of apatite, the main component of bone tissue, a mechanism for self-assembly in living organisms on the surface of various initiators of biomineralization is proposed. It consists in alternating ion-exchange adsorption of calcium cations and anions of hydrogen phosphate, accompanied by an alternation of the sign of an electric charge on the surface. In favor of the proposed mechanism, experimental data are given on the study of adsorption cycles of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{HPO}_4^{2-}$  ions by cation exchangers.*

**Key words:** biomineralization, bioactive materials, ion-exchange mechanism of self-assembly of apatite in biosystems.