

Tổng hợp vật liệu thủy tinh hoạt tính sinh học 50S bằng phương pháp sol-gel. Nghiên cứu thực nghiệm “in vitro”

Bùi Xuân Vương^{1,2}

¹Trường Cao đẳng Công thương Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Tôn Đức Thắng

Đền Tòa soạn 31-10-2016; Chấp nhận đăng 06-02-2017

Abstract

A bioactive glass with composition $50\text{SiO}_2 - 35\text{CaO} - 15\text{P}_2\text{O}_5$ (wt%) (noted 50S) was elaborated by the sol-gel method. “In vitro” bioactivity of this glass was evaluated by soaking of glass-powder samples in a simulated body fluid (SBF). XRD and SEM methods were used to evaluate the physico-chemical properties of material before and after the “in vitro” test. Obtained results showed the bioactivity of this glass by the formation of a bioactive hydroxyapatite (HA) layer on its surface. This apatite layer has a similar chemical composition with the mineral phase of human bone. It allows a chemical bonding between bio-implant and natural bone. Consequently, the bone architecture is repaired and restored.

Keywords. Bioactive glass, bioactivity, hydroxyapatite, “in vitro”, sol-gel.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay các vật liệu y sinh đã trở nên thân thuộc trong đời sống của con người như: da nhân tạo, van tim nhân tạo, các loại chỉ khâu trong y học, răng giả, chân tay giả, mạch máu nhân tạo, các vật liệu trám răng, các vật liệu xương nhân tạo dùng trong phẫu thuật chỉnh hình. Chúng ta có thể hiểu “Vật liệu y sinh là loại vật liệu có nguồn gốc tự nhiên hay nhân tạo, sử dụng để thay thế hoặc thực hiện một chức năng sống của cơ thể con người” [1]. Nhà bác học L. L. Hench là một trong những nhà khoa học đầu tiên nghiên cứu về vật liệu y sinh. Ông chia vật liệu y sinh thành hai loại chính là vật liệu hoạt tính sinh học và vật liệu trơ sinh học [2]. Vật liệu hoạt tính sinh học là loại vật liệu khi cấy ghép trong cơ thể con người sẽ xảy ra các tương tác hóa học giữa vật liệu với môi trường sống. Vật liệu trơ sinh học là vật liệu khi đưa vào cơ thể con người chúng không có bất cứ một tương tác hóa học nào. Có rất nhiều loại vật liệu y sinh khác nhau, riêng nhóm vật liệu y sinh sử dụng như vật liệu xương nhân tạo có thể kể đến như: các vật liệu canxi phosphate (tricalcium phosphate $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_3$; hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ hay biphasic canxi phosphate), các vật liệu thủy tinh hoạt tính sinh học ($\text{CaO-SiO}_2-\text{Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$..), các xi măng y sinh, các kim loại trơ như Ti, Ni. Trong các vật liệu y sinh dùng để cấy ghép xương, thủy tinh hoạt tính sinh

học được khám phá đầu tiên bởi L. L. Hench năm 1969 [3]. Thành phần chính của các thủy tinh này gồm các oxit CaO , SiO_2 , P_2O_5 , Na_2O ... Tuy vậy các oxit này không tồn tại độc lập trong cấu trúc thủy tinh mà liên kết không trật tự với nhau tạo thành mạng cấu trúc vô định hình của vật liệu. Hoạt tính sinh học của các vật liệu thủy tinh này chính là khả năng hình thành một lớp khoáng Hydroxyapatite (HA) mới trên bề mặt khi chúng được ngâm trong dung dịch sinh lý người SBF hoặc cấy ghép trực tiếp trong cơ thể. Lớp khoáng HA giống với thành phần vô cơ của xương người, do vậy nó chính là cầu nối gắn kết giữa miếng ghép từ vật liệu thủy tinh và xương tự nhiên, qua đó xương hỏng được tu sửa và làm đầy [2,3].

Thủy tinh hoạt tính sinh học có thể tổng hợp bằng hai phương pháp chính. Phương pháp thứ nhất là nấu nóng chảy các tiền chất như CaSiO_3 , Na_2SiO_3 , Na_3PO_4 ở nhiệt độ cao khoảng 1300°C sau đó làm nguội thủy tinh trong không khí hay trong nước. Thủy tinh dạng khối được nghiền theo các kích thước hạt khác nhau tùy theo mục đích sử dụng. Ưu điểm của phương pháp này là có thể tổng hợp được chính xác thủy tinh với thành phần mong muốn, sản phẩm thu được có độ tinh khiết cao, thời gian nhanh và có thể làm chủ được các tham số kỹ thuật trong quá trình tổng hợp. Phương pháp thứ 2 để tổng hợp các thủy tinh hoạt tính sinh học là phương pháp sol-gel. Phương pháp này không trải qua quá trình nấu

nóng chảy thủy tinh mà được thực hiện bằng một chuỗi các phản ứng hóa học trong dung dịch để thủy phân các tiền chất thành các hạt sol sau đó để ngưng tụ sang trạng thái gel. Gel được xử lý nhiệt để tạo thành thủy tinh ở dạng bột. Phương pháp sol-gel có ưu điểm là tổng hợp vật liệu ở nhiệt độ thấp, vật liệu có độ tinh khiết cao và dễ tạo mẫu theo các hình dáng khác nhau phù hợp với chi tiết ghép mà không cần sử dụng thêm chất bổ trợ. Trong nghiên cứu này, một hệ thủy tinh mới có thành phần $50\text{SiO}_2\text{-}35\text{CaO-}15\text{P}_2\text{O}_5$ (% khối lượng) (50S) được tổng hợp bằng phương pháp sol-gel. Thực nghiệm “in vitro” được tiến hành bằng cách ngâm bột vật liệu trong dung dịch giả dịch thể người SBF (Simulated Body Fluid) nhằm đánh giá hoạt tính sinh học của vật liệu, tức là kiểm tra khả năng hình thành một lớp khoáng xương apatite mới trên bề mặt vật liệu sau ngâm. Lớp khoáng xương mới này chính là cầu nối gắn kết vật liệu ghép và xương tự nhiên.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu và hóa chất

Các hóa chất có độ tinh khiết trên 99 % được mua từ hãng Sigma-Aldrich: $(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH})_4\text{Si}$ (TEOS), HNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_3\text{PO}$ (TEP), $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Na_2SO_4 , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, HNO_3 , HCl , NaCl , KCl , NaHCO_3 , CaCl_2 .

2.2. Quy trình thực nghiệm

Để tổng hợp thủy tinh hoạt tính sinh học 50S bằng phương pháp sol-gel, trước tiên ta lấy 150 (ml) nước cất cho vào bình phản ứng. Sau đó nhỏ tiếp 5 (ml) HNO_3 vào bình phản ứng làm chất xúc tác cho quá trình thủy phân TEOS và TEP. Khuấy hỗn hợp phản ứng bằng cá từ trong suốt quá trình tổng hợp. Tiếp theo lấy 18,6 (ml) dung dịch TEOS cho vào bình phản ứng và để trong 45 phút. Lần lượt cách nhau 45 phút, cho tiếp 3,6 (ml) TEP và 14,78 (g) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ vào hỗn hợp phản ứng. Sau khi các tác chất hòa tan hoàn toàn vào nhau, thu được một dung dịch sol trắng sáng đồng nhất. Sol được để trong 5 ngày ở nhiệt độ 70°C để ngưng tụ thành gel như hình 1a. Đem gel thu được sấy ở nhiệt độ 150°C trong 24 giờ để loại bỏ hoàn toàn dung môi, thu được sản phẩm dạng bột. Sản phẩm bột này đem nung ở nhiệt độ 700°C trong 3 giờ nhằm phân hủy muối $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ thành CaO . Các cation Ca^{2+} từ các oxit CaO đóng vai trò bẻ gãy các liên kết Si-O-Si tạo mạng cấu trúc vô định hình của thủy tinh. Sản phẩm sau xử lý nhiệt là bột thủy tinh hoạt tính sinh học $50\text{SiO}_2\text{-}35\text{CaO-}15\text{P}_2\text{O}_5$ (hình 1b).



Hình 1: Gel và bột thủy tinh: a-gel thủy tinh thu được từ dung dịch sol sau 5 ngày ngưng tụ; b-bột thủy tinh tổng hợp

2.3. Thực nghiệm “In vitro”

Bột thủy tinh tổng hợp bằng phương pháp sol-gel được tiến hành thực nghiệm “in vitro” để kiểm tra xem có đạt yêu cầu của một vật liệu y sinh trước khi dùng cấy ghép trong cơ thể sống “in vivo”. Đây là một thực nghiệm nhanh và đơn giản, nhằm thực hiện quá trình hoặc một phản ứng trong ống nghiệm, trong đĩa nuôi cấy ở bên ngoài cơ thể sống. Thực nghiệm “in vitro” được tiến hành bằng cách ngâm bột vật liệu trong dung dịch mô phỏng dịch thể người SBF (Simulated Body Fluid) để khảo sát khả năng hình thành khoáng xương mới sau ngâm. Dung dịch SBF là dung dịch có thành phần các ion tương tự như máu trong cơ thể người (bảng 1).

Bảng 1: Nồng độ các ion trong dd SBF (10^{-3} mol/l)

Ions	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Cl^-	HCO_3^-	HPO_4^{2-}
SBF	142	5	2,5	1,5	149	4,2	1
Plasma	142	5	2,5	1,5	103	27	1

Để điều chế dung dịch SBF, đã điều chế hai dung dịch riêng rẽ, gọi là Ca-SBF và P-SBF. Ưu điểm phương pháp này là dung dịch có thể được lưu trữ một vài tuần trong tủ lạnh [4, 5]. Đối với mỗi dung dịch Ca-SBF hoặc P-SBF, đóng 990 ml nước cất, gia nhiệt trong 1 bể điều nhiệt và giữ ổn định ở 37°C (Body Temperature) trong suốt quá trình tổng hợp. Thêm các chất hóa học theo hàm lượng có trong bảng dưới, mỗi chất cách nhau 30 phút. Sử dụng cá từ để khuấy trộn dung dịch. Cả hai dung dịch Ca-SBF và P-SBF đều được điều chỉnh $\text{pH} = 7,4$ (môi trường dịch thể người), bằng cách sử dụng dung dịch HCl 6 N. Sau đó thêm nước vào các bình để làm tròn thể tích 1000 ml. Khi cần dùng SBF, trộn hai dung dịch có thể tích bằng nhau Ca-SBF và

P-SBF thu được dung dịch SBF.

Bảng 2: Các hóa chất dùng tổng hợp dung dịch SBF

Ca-SBF	m (g)	P-SBF	m (g)
^(*) C ₄ H ₁₁ NO ₃	6,057	C ₄ H ₁₁ NO ₃	6,057
CaCl ₂	0,5549	KH ₂ PO ₄ .3 H ₂ O	0,4566
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,6095	NaHCO ₃	0,7056
		KCl	0,4473
		NaCl	16,1061

(*)-tris(hydroxymethyl)aminomethane, có tác dụng tạo ra dung dịch đệm có pH = const.

2.4. Phương pháp lý hóa đặc trưng vật liệu

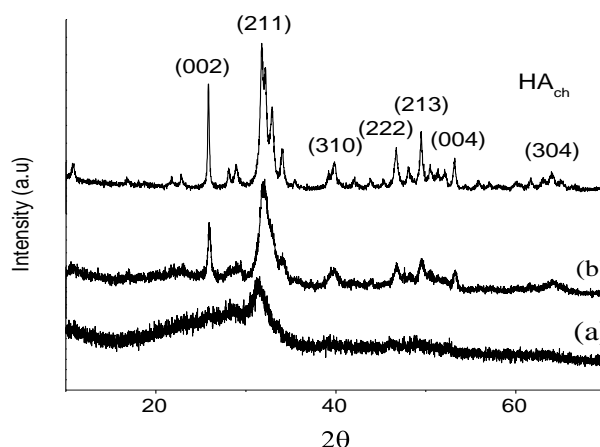
Bột thủy tinh hoạt tính sinh học trước và sau thực nghiệm “in vitro” được xác định đặc trưng lý hóa bằng các phương pháp phân tích hiện đại. Phương pháp nhiễu xạ tia X (X-Ray Diffraction XRD) để xác định thành phần cấu trúc pha của vật liệu. Phương pháp kính hiển vi điện tử quét (Scanning Electron Microscope SEM) sử dụng để quan sát hình thái và cấu trúc bề mặt.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân tích XRD

Hình 2 trình bày giản đồ nhiễu xạ tia X của Thủy tinh 50SiO₂-35CaO-15P₂O₅ tổng hợp bằng phương pháp sol - gel (2.a), thủy tinh sau 5 ngày ngâm trong SBF (2.b). Nhiễu xạ đồ của HA chuẩn (2.HA_{ch}) (hãng Sigma-Aldrich) được sử dụng nhằm phân tích và đối chiếu sự hình thành của lớp khoáng apatite mới trên bề mặt thủy tinh sau thực nghiệm “in vitro”. Nhiễu xạ đồ của thủy tinh (2.a) đặc trưng hoàn toàn cho một vật liệu cấu trúc vô định hình. Chúng ta không thu được các pic sắc nét đặc trưng cho vật liệu cấu trúc mạng tinh thể mà thu được một quãng nhiễu xạ đặc có tâm ở 31,2° (2θ). Quãng nhiễu xạ này đặc trưng cho một vật liệu cấu trúc vô định hình. Theo lý thuyết nhiễu xạ, chỉ những vật liệu có cấu trúc sắp xếp trật tự tuần hoàn như vật liệu cấu trúc mạng tinh thể mới có thể gây nên sự giao thoa các tia X phản xạ tạo nên sự tăng cường về cường độ tia, tức là tạo nên các vạch sắc nét trên giản đồ nhiễu xạ. Những vật liệu vô định hình không có cấu trúc trật tự tuần hoàn nên hiện tượng giao thoa tia X phản xạ không xảy ra, không thu được các pic sắc nét mà thu được một quãng nhiễu xạ. Kết quả chụp nhiễu xạ tia X khẳng định sự thành công về mặt cấu trúc của vật liệu thủy tinh hoạt tính sinh

học tổng hợp bằng phương pháp sol-gel. Vật liệu thủy tinh sau 5 ngày thực nghiệm “In vitro” trong dung dịch SBF được chụp nhiễu xạ tia X và trình bày như trong hình 2b. Sau khi ngâm đã nhận thấy sự thay đổi rõ ràng trên nhiễu xạ đồ của vật liệu so với trước khi ngâm qua sự xuất hiện các pic rõ nét đặc trưng cho một vật liệu cấu trúc mạng tinh thể. Các pic đó được xác định là các pic đặc trưng cho vật liệu Hydroxyapatite (HA) qua phổ chuẩn của nó. Các pic lần lượt là 26°; 32°; 40°; 46,5°; 49,5°; 53,2° và 64° (2θ). Chúng tương ứng với các mặt phẳng miller (002); (211); (310); (222); (213); (004) và (304) trong mạng tinh thể HA [6, 7]. Kết quả này khẳng định hoạt tính sinh học của vật liệu thủy tinh. Sau 5 ngày ngâm trong SBF, từ một vật liệu có cấu trúc vô định hình, đã hình thành nên một lớp khoáng HA mới trên bề mặt. Lớp khoáng HA mới hình thành này giống với phần khoáng vô cơ trong xương người, do vậy nó chính là cầu nối giữa vật liệu ghép và xương tự nhiên trong cấy ghép chỉnh hình xương.

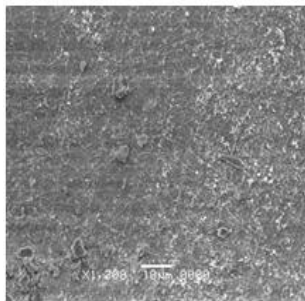
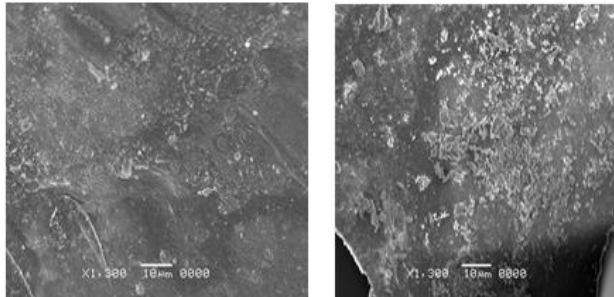


Hình 2: Giản đồ nhiễu xạ tia X của thủy tinh trước và sau thực nghiệm “in vitro”

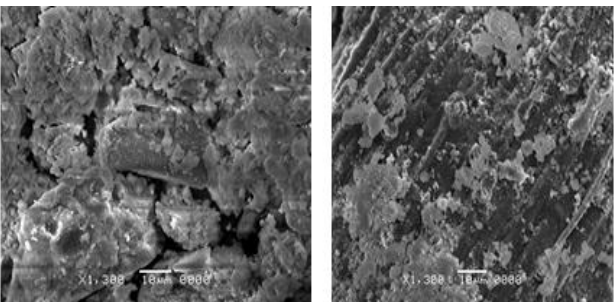
3.2. Phân tích ảnh SEM

Hình 3 tập hợp các ảnh SEM của vật liệu thủy tinh tổng hợp bằng phương pháp sol-gel. Bề mặt vật liệu khá sần sùi bởi các hạt với kích thước không đồng đều. Sau 5 ngày ngâm trong dung dịch SBF, bề mặt thủy tinh thể hiện sự thay đổi rõ nét như quan sát trong tập hợp các ảnh SEM (hình 4). Các tinh thể li ti bao phủ toàn bộ bề mặt thủy tinh. Chúng ta có thể quan sát rõ lớp tinh thể này trên ảnh SEM có độ phóng đại lớn (X.1000). Kết hợp với các phân tích bằng phương pháp nhiễu xạ tia X ở trên, lớp tinh thể mới được hình thành này chính là lớp khoáng Hydroxyapatite (HA) hình thành trên bề mặt thủy tinh sau 5 ngày thực nghiệm “in vitro” ngâm trong dung dịch SBF. Các kết quả SEM kết hợp với các

phân tích pha bằng phương pháp nhiễu xạ tia X khẳng định hoạt tính sinh học của vật liệu thủy tinh qua việc hình thành một lớp khoáng xương mới. Vật liệu thủy tinh này hoàn toàn có thể sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo để sử dụng như một vật liệu xương nhân tạo cho con người.



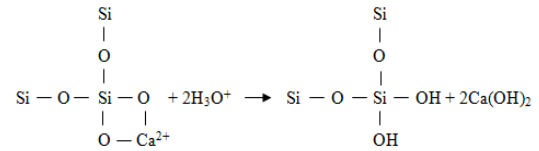
Hình 3: Ảnh SEM của thủy tinh tổng hợp bằng phương pháp sol-gel



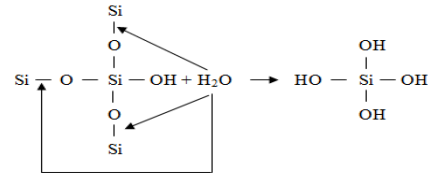
Hình 4: Ảnh SEM của thủy tinh sau 5 ngày ngâm trong dung dịch SBF

Cơ chế tương tác giữa vật liệu thủy tinh hoạt tính sinh học và dung dịch SBF để hình thành một lớp khoáng xương apatite có thể được giải thích qua các giai đoạn như sau [2-3, 7-9].

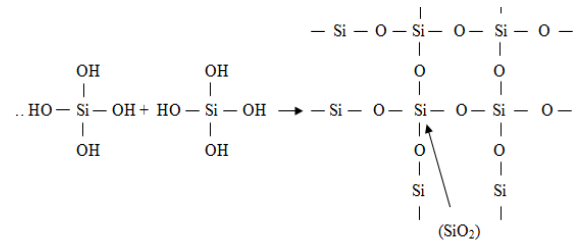
Giai đoạn 1: các proton H_3O^+ trong dung dịch SBF trao đổi nhanh với các cation Ca^{2+} trong mạng cấu trúc thủy tinh để tạo nên các nhóm silanol Si-OH trên bề mặt.



Giai đoạn 2: sự giải phóng các axit silicic $Si(OH)_4$ ra môi trường bởi sự gãy các liên kết Si-O-Si.



Giai đoạn 3: khi các axit silicic $Si(OH)_4$ giải phóng ra môi trường đạt tới trạng thái bão hòa, chúng bị polyme hóa để hình thành một lớp gel silica SiO_2 trên bề mặt thủy tinh.



Giai đoạn 4: sự di chuyển các ion Ca^{2+} và PO_4^{3-} trong mạng lưới cấu trúc thủy tinh cũng như sự di chuyển của chúng từ trong môi trường dung dịch SBF về bề mặt lớp gel SiO_2 tạo nên một lớp giàu Ca và P.

Giai đoạn 5: Các ion Ca^{2+} và PO_4^{3-} kết hợp với các ion OH^- phản ứng theo thời gian để tạo nên lớp khoáng Hydroxyapatite (HA) giống với thành phần vô cơ của xương người. Nhờ lớp khoáng này mà xương hỏng, xương khuyết được tu sửa và lấp đầy.

4. KẾT LUẬN

Đã tổng hợp thành công vật liệu thủy tinh hoạt tính sinh học $50SiO_2 - 35CaO - 15P_2O_5$ bằng phương pháp sol - gel. Vật liệu tổng hợp có cấu trúc vô định hình đặc trưng cho thủy tinh. Thử nghiệm “in vitro” khẳng định hoạt tính sinh học của vật liệu qua việc hình thành một lớp khoáng xương mới trên bề mặt vật liệu cũ, lớp khoáng xương mới này là cầu nối ghép vật liệu nhân tạo và xương tự nhiên. Các nghiên cứu với tế bào xương và “In vivo” trên động vật sẽ được thực hiện nhằm sử dụng thủy tinh này như một vật liệu xương nhân tạo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. D. F. Williams. *Definitions in Biomaterials*,

- Consensus Conference for the European Society for Biomaterials, Chester, UK (1986).
2. L. L. Hench. *Bioceramics: From Concept to Clinic*, Journal of the American Ceramic Society, **74**, 1487-1510 (1991).
 3. L. L. Hench. *The story of Bioglass®*, Journal of Materials Science: Materials in Medicine, **17**, 967-978 (2006).
 4. T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi and T. Yamamuro. *Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W*, Journal of Biomedical Materials Research, **24**, 721-734 (1990).
 5. T. Kokubo and H. Takadama. *How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity*, Biomaterials, **27**, 2907-2915 (2006).
 6. Fiche JCPDF 09-432.
 7. E. Dietrich, H. Oudadesse, A. Lucas-Girot and M. Mami. *"In vitro" bioactivity of melt-derived glass 46S6 doped with magnesium*, Journal of Biomedical Materials Research, **88(A)**, 1087-1096 (2008).
 8. L. L. Hench. *Bioactive ceramics, in Bioceramics: materials characteristics versus in vivo behaviour*, Ed. P. Ducheyne & J. Lemons Annals of NY Academy of science (1988).
 9. L. L. Hench, R. J. Splinter, W. C. Allen and T. K. Jr. Greenlee. *Bonding Mechanisms at the Interface of Ceramic Prosthetic Materials*, Journal of Biomedical Materials Research, **2**, 117-141 (1972).

Liên hệ: Bùi Xuân Vương

Nhóm nghiên cứu Demasted, Đại học Tôn Đức Thắng
 Phòng QLKHCN&HTQT, Cao đẳng Công thương Thành phố Hồ Chí Minh
 E-mail: buixuanvuong@tdt.edu.vn; Điện thoại: 01276517788.