

СОНОХИМИЧЕСКОЕ НАНОСТРУКТУРИРОВАНИЕ ТИТАНА

Н. Ю. Брежнева, Е. В. Скорб

ВВЕДЕНИЕ

Исследовательский интерес к сонохимическим процессам обусловлен многочисленными возможностями в области синтеза наноструктурных материалов, обработки твердых поверхностей [1, 2]. Данный метод можно рассматривать в качестве альтернативы дорогостоящим и длительным процессам обработки поверхности [3], кроме того, использование воды и водных растворов еще и экологически чистым.

Благодаря сонохимической обработке поверхности металлов возможно создание развитой пористой структуры, препятствующей коррозии металла [3]. Функционализация поверхности титана позволяет обеспечить лучшее сродство металлической основы с костью, что находит применение в качестве имплантатов. Образующиеся в ходе обработки ультразвуком структуры интересны в качестве систем для доставки лекарственных соединений, инкапсуляции антибиотиков, ингибиторов коррозии [4].

Целью настоящей работы является изучение процессов, происходящих в титане в результате обработки ультразвуком высокой интенсивности при различной длительности обработки с использованием различных электролитов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе проводили ультразвуковую обработку суспензии микрочастиц титана с размером 150 мкм для приготовления суспензий с концентрацией 0,05 г/мл, а также титановых пластин размером $2 \times 2 \text{ см}^2$. В качестве рабочих электролитов были использованы: вода, 1 М и 5 М водные растворы NaOH, этанол и этиленгликоль.

Для исследования влияния длительности ультразвуковой обработки на размер кристаллитов титана производили отбор проб суспензии в течение следующих промежутков времени: 1 мин, 2 мин, 5 мин, 10 мин, 20 мин, 30 мин, 40 мин, 50 мин, 60 мин. Далее суспензии промывали водой и центрифугированы в течение 10 мин при скорости вращения 10000 об./мин. Твердый остаток сушили при температуре 85°C до постоянной массы.

Пластины титана были подвергнуты ультразвуковой обработке в течение 15 мин, после чего образцы промывали водой и сушили воздухом.

Морфологию поверхности изучали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием микроскопа Zeiss Leo 1550 Gemini. Изображения просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) были получены с помощью микроскопа Zeiss EM 912. Рентгенофазовый анализ (РФА) проводили с использованием дифрактометра Advance D8, Bruker с использованием излучения CuK_α . Гидрофильно-гидрофобные свойства покрытий исследовали методом лежащей капли с помощью установки для измерения краевого контактного угла Krüss G10.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В качестве возможных происходящих процессов при сонохимической обработке рассматривали:

- Увеличение размеров кристаллитов из-за температурного градиента при коллапсе кавитационных пузырей на поверхности, вызывающих диффузию атомов в титане;
- Уменьшение размеров кристаллитов из-за плавления и быстрой кристаллизации;
- Химические реакции окисления и восстановления, протекающие по разному механизму в зависимости от электролита;
- Формирование пористых структур.

Для изучения зависимости размера кристаллитов титана в качестве модельной системы были использованы микрочастицы титана для устранения текстурирования металлической подложкой формирующегося слоя. Пористый диоксид титана со структурой анатаза формируется лишь в результате ультразвуковой обработки в щелочном растворе, проявляющего окислительную способность за счет формирования в процессе сонолиза гидроксид-радикалов и перекисных соединений, участвующих в окислении поверхности титана.

Поэтому для предотвращения влияния формирующегося оксидного слоя на размер кристаллитов металла исследование размеров кристаллитов титана проводили для микрочастиц, модифицированных в воде, этаноле и этиленгликоле. Этанол и этиленгликоль являются восстановительной средой, а их молекулы – «ловушками» образующихся в результате сонолиза $\bullet\text{OH}$ радикалов и они предотвращают окисление поверхности металла [5].

По данным сканирующей электронной микроскопии (рис. 1), в результате сонохимической обработки микрочастиц в воде, этаноле, этиленгликоле наблюдается формирование пустот и полостей, вызванных

образованием в результате ультразвуковой обработки микроструй и ударных волн. В итоге полученная структура в твердом теле может являться следствием атомной диффузии, а также формируемых напряжений в твердом теле и пластических деформаций.

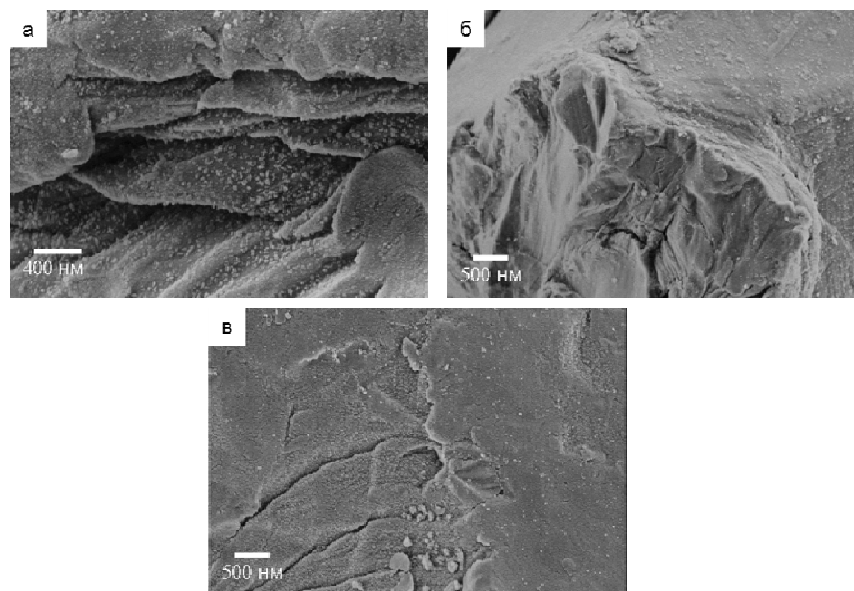


Рис. 1. СЭМ-изображения поверхности микрочастиц титана, обработанных ультразвуком высокой интенсивности в различных растворителях: в воде (а), этаноле (б), этиленгликоле (в)

Оценка размеров кристаллитов титана в результате сонохимической обработки производилась по формуле Дебая-Шеррера:

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (1)$$

где D - средний размер кристаллитов, K - постоянная Шеррера, равная 0,9, λ - длина волны рентгеновских лучей, β - полная ширина пика на полувысоте с учетом инструментального уширения, θ - угол рассеяния.

Выбор растворителя влияет на процессы изменения размера кристаллитов в процессе ультразвуковой обработки. Различие вязкостей используемых растворителей обуславливает различный температурный градиент у поверхности обрабатываемого металла в результате коллапса кавитационных пузырей. Как видно из рис. 2, изменение размеров кристаллитов в направлении (101) имеет периодический характер. Скачок размеров кристаллитов при переходе от необработанного титана к сонохимически модифицированному (1 мин обработки) происходит, вероятно, из-за напряжения, возникающего в результате действия ударных волн и снятия диффузионных ограничений, благодаря чему возможен рост зерен за счет атомной диффузии. Уменьшение размеров кристаллитов связано с процессами локального плавления металла, вызванного разрывом

кавитационных пузырей, и последующей перекристаллизацией. Из-за высоких скоростей охлаждения после коллапса в ходе перекристаллизации формируются кристаллиты мелких размеров.

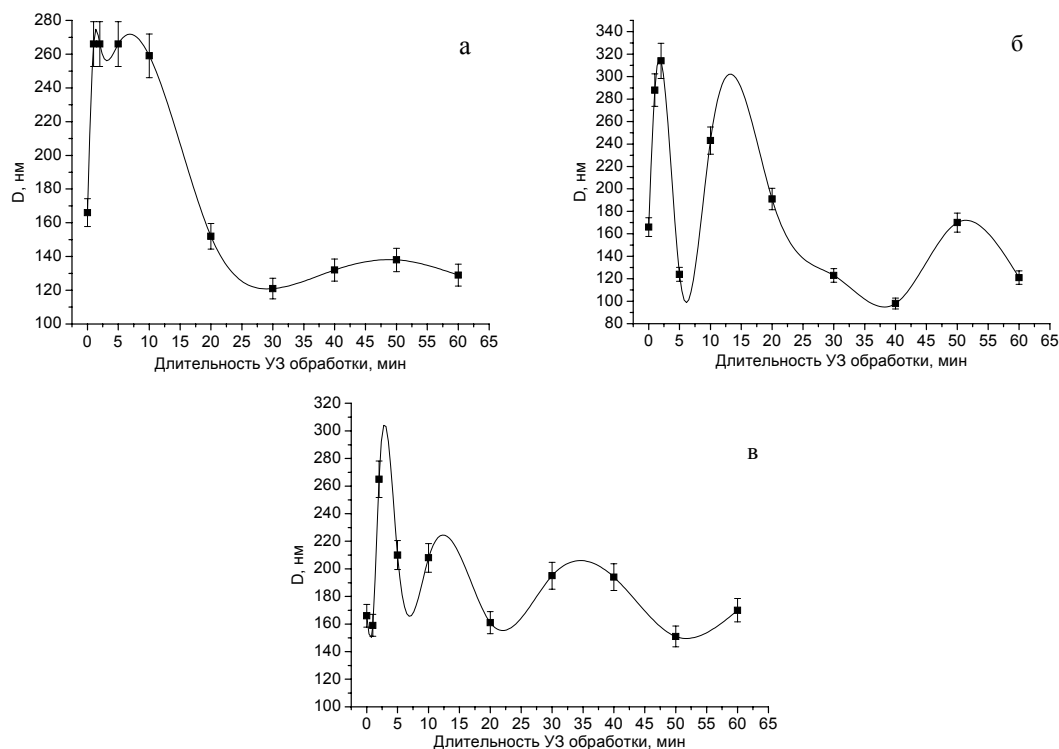


Рис. 2. Изменение размеров кристаллитов титана D_{101} в зависимости от длительности ультразвуковой обработки при использовании: воды (а), этанола (б), этиленгликоля (в)

При учете вклада микронапряжений в уширение рефлексов титана была использована модель Вильямсона-Холла, позволяющая определить величину микронапряжения, учитывая однородность распределения по кристаллографическим направлениям:

$$\beta \cos \theta = \frac{K\lambda}{D} + 4\varepsilon \sin \theta \quad (2)$$

где ε - величина микронапряжения.

Следует отметить, что уравнение Вильямсона-Холла хорошо описывает распределение микронапряжений по границам зерен образца после сонохимической обработки в этиленгликоле. Немодифицированные микрочастицы титана характеризуются отклонением точек от линейной зависимости, что может быть доказательством анизотропного распределения микронапряжений в частицах. Подходящая линейная аппроксимация для модифицированных микрочастиц может свидетельствовать об

изменении характера распределения микронапряжений по кристаллографическим плоскостям, а также структурировании частиц и релаксации напряжений по межзеренным границам [6].

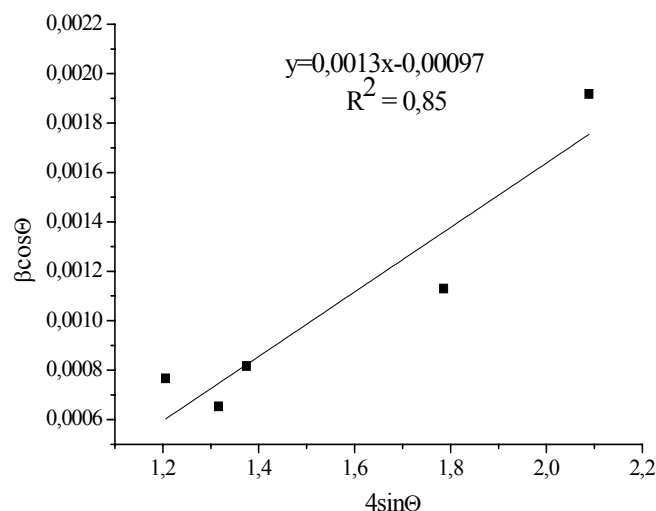


Рис. 3. Модель Вильямсона-Холла для микрочастиц титана, обработанных ультразвуком высокой интенсивности в этиленгликоле в течение 60 мин

В качестве материалов для имплантатов представляют интерес пористые оксидные структуры на поверхности пластин титана, полученные сонохимической обработкой в щелочной среде. В зависимости от длительности ультразвуковой обработки на поверхности титана формируются различные структуры (рис. 4). На первой стадии формируется пористый оксидный слой. В дальнейшем происходит рост ленточных структур, отвечающих по составу титанату натрия, $\text{Na}_x\text{H}_{2-x}\text{Ti}_3\text{O}_7$, более длительная обработка ультразвуком приводит к удалению подобных образований и ухудшению адгезии оксидного слоя.

Перспективными материалами для имплантатов являются пористые структуры, образующиеся на ранней стадии обработки поверхности. Формируемый пористый оксидный слой характеризуется высокой смачиваемостью, значение контактного угла составляет 5° . С помощью просвечивающей электронной микроскопии была отмечена хорошая адгезия образующегося оксидного слоя к металлической подложке. В ходе ультразвуковой обработки, как показали результаты РФА и микродифракции на ПЭМ, формируются нанокристаллы анатаза, что является подтверждением кристаллизации образующегося диоксида титана в результате воздействия высоких температур, обусловленных коллапсом кавитационных пузырей.

Формирующиеся пористые покрытия обладают высокой гидрофильностью и шероховатостью поверхности. С одной стороны, образуется

прочное связывание оксидного покрытия с основой, с другой стороны, наличие развитой структуры обеспечивает остеоинтеграцию покрытия.

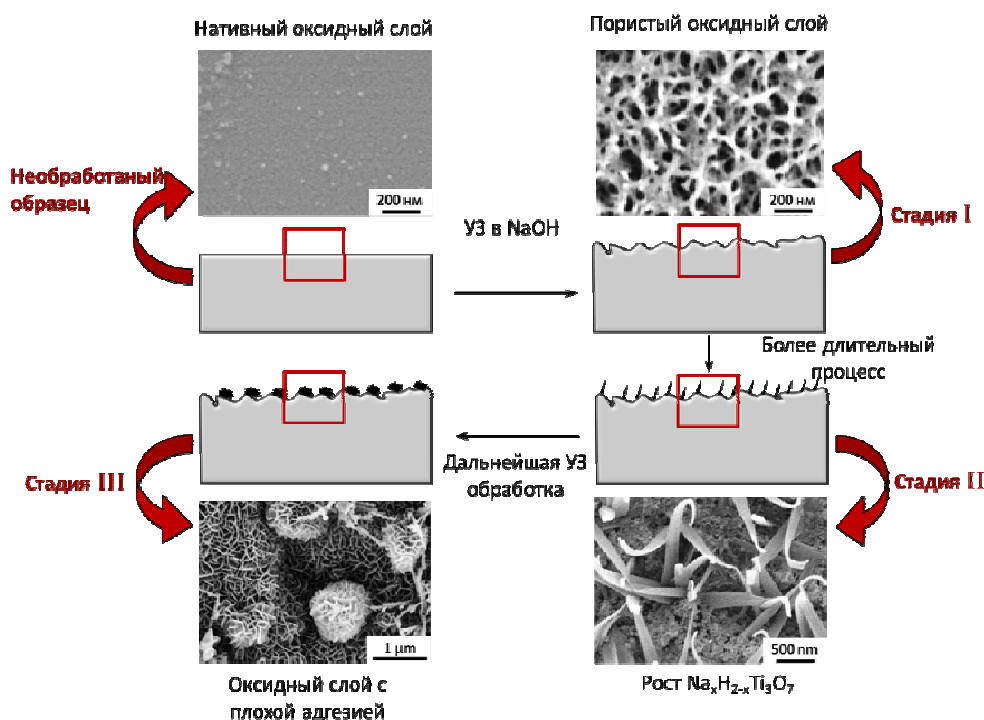


Рис. 4. Изменение морфологии поверхности титановых пластин в результате ультразвуковой (УЗ) обработки в 5 М NaOH

В экспериментах по исследованию роста клеток остеобластов (МС3Т3-Е1) и костной ткани было установлено, что обработанная ультразвуком поверхность увеличивает скорость регенерации костной ткани в 2 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ультразвуковая обработка титана приводит к формированию полосей на поверхности обрабатываемого металла в различных средах. В процессе ультразвуковой обработки происходит осцилляция размеров кристаллитов титана, что может быть следствием протекания параллельных процессов: 1) градиент температуры и атомная диффузия в твердом теле приводят к росту кристаллитов; 2) плавление на поверхности и быстрая кристаллизация – к уменьшению размеров кристаллитов. Окисление поверхности титана приводит к формированию пористого оксидного слоя, ускоряющий рост костной ткани.

Литература

1. *Suslick K. S.* Mechanochemistry and sonochemistry: concluding remarks // *Faraday Discuss.* 2014. Vol. 170 P. 411–422.

2. Свиридов Д. В. Сонохимическая пассивация алюминия и алюминиевых сплавов / Д. В. Свиридов, Д. Г. Щукин, Т. В. Свиридова // Свиридовские чтения: Сб. ст. Вып. 6. Минск. 2010. С. 37–40.
3. Andreeva D. V. Nanoengineered Metal Surface Capsules: Construction of a metal-protective system / D. V. Andreeva, D. V. Sviridov, A. Masic et al. // Small. 2012. Vol. 8. № 6. P. 820–825.
4. Skorb E. V., Andreeva D. V. Surface nanoarchitecture for bioapplications: self-regulating intelligent interfaces // Adv. Funct. Mater. 2013. Vol. 23. P. 4483–4506.
5. Phillis J. W., Estevez A. Y., O'Regan M. H. Protective effects of the free radical scavengers, dimethyl sulfoxide and ethanol, in cerebral ischemia in gerbils // Neurosci Lett. 1998. Vol. 244. № 2. P. 109–111.
6. Cherepanov P. V., Melnyk I., Andreeva D. V. Effect of HIUS on binary AlNi alloy crystallite size // Ultrasonics Sonochemistry. 2015. Vol. 23. P. 26–30.

ТИМОХИНОН-ИНДУЦИРОВАННЫЙ АПОПТОЗ В КЛЕТКАХ ГЛИОМЫ

**М. С. Дробыш, А. В. Маликова, М. Х. Гарлыева, Н. Г. Крылова,
Г. Н. Семенова, О. И. Шадыро**

Тимохинон (2-метил-5-изопропил-1,4-бензохинон, TQ), который является природным компонентом семян черного тмина, проявляет противоопухолевую активность по отношению к различным типам рака *in vivo* и *in vitro* [1–2]. Показано, что TQ способен индуцировать гибель раковых клеток по механизму апоптоза. Представленные в работах [1–4] данные демонстрируют, что при действии TQ могут активироваться различные внутриклеточные пути запуска апоптоза. Выявлено, что TQ подавляет активацию *NF-κB*, модулирует активность белков семейства *Bax/Bcl2*, приводит к активации каспаз 3, 8 и 9 и белка *p53*. Кроме того, в развитии TQ-индуцированного апоптоза вовлечены продуцируемые опухолевыми клетками активные формы кислорода (АФК). В то же время, молекулярные механизмы, лежащие в основе редокс-опосредованной противоопухолевой активности TQ, остаются до конца не выясненными. Целью данной работы было изучение редокс-зависимых механизмов TQ-индуцированного апоптоза в клетках глиомы.

В работе оценивали пролиферативную активность и жизнеспособность клеток глиомы крысы линии С6 флуоресцентным методом с использованием иодида пропидиума (PI). Процент апоптотической гибели клеток изучали с использованием аннексина V, меченого FITC, на проточном цитофлуориметре. Продукция пероксида водорода и уровень восстановленного глутатиона в клетках при действии TQ в различных концентрациях оценивали с использованием 2,7-дихлор-дигидрофлуоресцеин-диацетата (DCF) и монохлоробимана, соответственно.