

PACS numbers: 61.43.Gt, 68.37.Hk, 75.50.Tt, 81.05.Rm, 81.20.Ev, 87.85.jj, 87.85.Rs

Исследование влияния наномagnetита на свойства *in vitro* биогеенного гидроксиапатита

А. А. Куда, О. Н. Отиченко*, А. Р. Пархомей, Н. Д. Пинчук,
И. В. Уварова

Институт проблем материаловедения им. И. Н. Францевича НАН Украины,
ул. Кржижановского, 3,
03680, ГСП, Киев-142, Украина

*Национальный технический университет Украины
«Киевский политехнический институт»,
просп. Победы, 37,
03056 Киев, Украина

Целью данной работы является исследование влияния ферромагнитных добавок на физико-химические параметры при испытаниях *in vitro* материала, полученного на основе биогеенного гидроксиапатита (БГАп), легированного наномagnetитом (Fe_3O_4). Количество легирующей добавки, исходя из медицинского назначения создаваемого биоматериала, в исследуемых образцах составляло не более 2% масс. Исследуемые материалы в виде порошков и спрессованных таблеток были получены при температуре термообработки ниже точки Кюри для Fe_3O_4 (572°C) в различных газовых средах. Для изучения свойств материала выполняли исследования РФА, микроструктуры, а также опыты *in vitro* в физиологических средах.

Метою даної роботи є дослідження впливу ферромагнітних домішок на фізико-хімічні параметри в дослідях *in vitro* матеріалу, одержаного на основі біогеенного гідроксиапатиту (БГАп), легірованого наномagnetитом (Fe_3O_4). Кількість легувальної домішки, виходячи з медичного призначення створюваного матеріалу, в дослідних зразках складала не більше 2% мас. Дослідні матеріали у вигляді порошків та спресованих зразків були одержані при температурі термооброблення нижче точки Кюри для Fe_3O_4 (572°C) в різних газових середовищах. Для вивчення властивостей матеріалу було виконано дослідження РФА, мікроструктури, а також досліді *in vitro* у фізіологічних середовищах.

The goal of this work is to investigate the influence of ferromagnetic additives on the physical and chemical parameters of biogenic hydroxyapatite (BHAp)-based nanomagnetite (Fe_3O_4)-doped material under testing *in vitro*. Taking into account medicine application of the material, the content of the

additive does not exceed 2 mass.%. Samples in the form of powders or pressed pellets are prepared at a heat-treatment temperature below the Fe_3O_4 Curie point (572°C) in various gas media. To study their properties, XRD and microstructure analyses are used along with testing *in vitro* in physiological media.

Ключевые слова: гидроксипатит, наномангнетит, легирование, *in vitro*, микроструктура.

(Получено 26 ноября 2013 г.)

1. ВВЕДЕНИЕ

Весьма актуальной проблемой в медицине является создание материалов для направленного введения лечебных препаратов в определённую точку организма, обеспечения пролонгации их действия с повышением биологических и физико-химических свойств. К материалам, на основе которых можно создавать нужные композиции, следует отнести гидроксипатит (ГАп). С его помощью возможно введение медицинских препаратов в проблемные зоны костных тканей человека [1–3]. Так как ГАп является составной частью минералогического состава костных тканей, он практически не отторгается другими тканями организма при внедрении в качестве имплантата. В литературе имеются отдельные сведения о том, что в присутствии ферромагнитных легирующих добавок в ГАп можно контролировать дозировку препарата в необходимую область, а также скорость биорегенерационных процессов в организме под воздействием магнитного поля [4–6].

Существует также не до конца выясненная взаимосвязь между ионами железа и кальция, участвующими в процессах обмена веществ в живых организмах. Известно, что недостаток железа может привести к существенному недостатку кальция в составе кости млекопитающих и развитию вследствие этого тяжёлой формы остеопороза [7–9]. В связи с этим представляет интерес выяснить влияние наличия Fe в биоматериалах, заменяющих дефектные участки кости, на характер их растворения в физиологических средах как предварительный этап выяснения взаимосвязи между ионами железа и кальция в процессах обмена веществ [10].

Целью данной работы явилось получение и исследование основных физико-химических свойств и параметров *in vitro* материала на основе биогенного ГАп, легированного наномангнетитом (Fe_3O_4), после его термообработки в различных средах. Количество легирующей добавки, исходя из медицинского назначения создаваемого биоматериала, в исследуемых образцах составляло не более 2% масс.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые образцы на основе ГАп биологического происхождения были получены в виде порошков и образцов определённой формы при температуре термообработки меньше точки Кюри для Fe_3O_4 (572°C) в различных газовых средах, а именно в вакууме ($4 \cdot 10^{-5}$ мм рт. ст.), в углеводородной среде и на воздухе при $t = 500^\circ\text{C}$ на протяжении 2 часов. Наномagnetит (Fe_3O_4) с удельной поверхностью $48 \text{ м}^2/\text{г}$ и размером частиц $50\text{--}60 \text{ нм}$ был получен методом химического разложения солей. Состав полученных материалов контролировали методом рентгенофазового анализа. Для изучения микроструктуры использовали сканирующий микроскоп Jeol Superprobe 733.

Для исследований резорбционных свойств материала выполняли опыты *in vitro*, для чего образцы помещали в изотонический физиологический раствор NaCl $0,9\%$ масс. на 2, 5 и 7 суток в термостате при температуре $36,5\text{--}37^\circ\text{C}$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. РФА

Фазовый состав исследуемых порошковых композитов анализировали с помощью РФА.

Кривые интенсивности линий отражения для легированных и нелегированных материалов представлены на рис. 1.

По анализу дебаегрaмм полученных материалов было установлено наличие основных линий для БГАп в диапазоне 2θ $36\text{--}38^\circ$, 46° и $54\text{--}63^\circ$. Определены также линии при 34° и 39° , как линии харак-

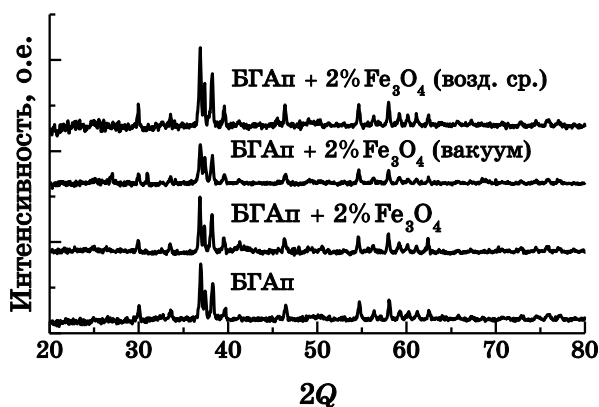


Рис. 1. Дебаегрaммы легированных и нелегированных материалов, полученных после термообработки в различных средах.

терные для Fe_3O_4 .

3.2. Микроструктура и пористость

Микроструктура и распределение Fe_3O_4 некоторых образцов представлена на рис. 2.

Из анализа микрофотографий полученных образцов установлена сложная микроструктура материала, состоящая из агломератов отдельных зёрен и пор разного размера. Размер агломератов находится в пределах от 0,3 до 2 мкм. Как видно из микрофотографий, распределение Fe_3O_4 довольно равномерное. Образцы как в присутствии легирующей добавки, так и без неё, при различных условиях термообработки имеют схожую микроструктуру.

Значения общей пористости спрессованных таблеток и порошков, полученных при термообработке в вакууме, представлены на

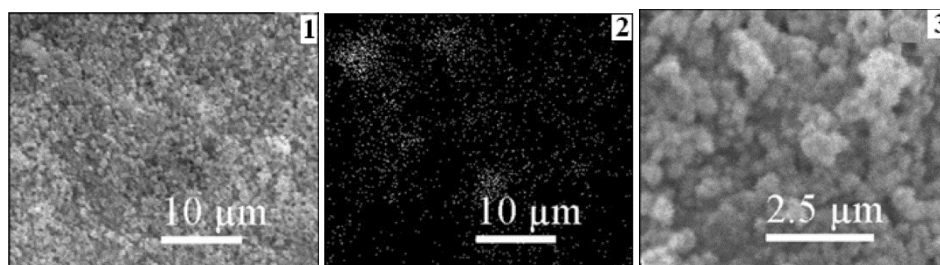


Рис. 2. Микроструктура таблетки БГАп + 2% Fe_3O_4 и элементное распределение Fe_3O_4 (2): 1, 2 — $\times 1000$, 3 — $\times 5400$ после термообработки в вакууме.

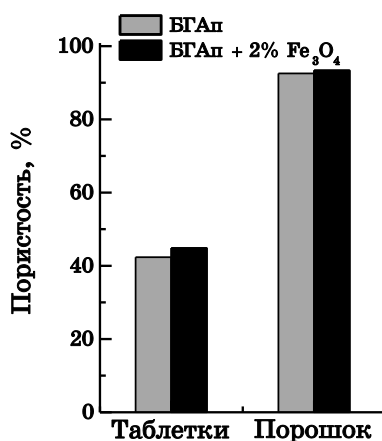


Рис. 3. Пористость образцов БГАп и БГАп + 2% Fe_3O_4 после термообработки в вакууме.

рис. 3.

Как видно из рис. 3, общая пористость для образцов в виде таблеток составляет 42,30% для БГАп и 44,84% для БГАп + 2% Fe₃O₄, а для порошков — 92,53% для БГАп и 93,34% для БГАп + 2% Fe₃O₄. При этом открытая пористость для таблеток имеет значения: 40,80% (БГАп) и 42,58% (БГАп + 2% Fe₃O₄).

Незначительную разницу пористости между легированными и нелегированными образцами можно объяснить близкими значениями удельной поверхности порошков, которая находилась в пределах 5,35–5,45 м²/г. Из этого следует, что наличие добавок магнетита практически не влияет на микроструктуру и пористость материала.

3.3. Удельная намагниченность

Результаты измерения удельной намагниченности [А·м²/кг] легированных образцов с различной термообработкой представлены на рис. 4.

Термообработка образцов на воздухе приводит к частичному переходу Fe₃O₄ в Fe₂O₃, в результате чего удельная магнитная восприимчивость несколько снижается.

Как следует из результатов по определению удельной магнитной восприимчивости исследованных материалов, величина её зависит преимущественно от условий спекания образцов.

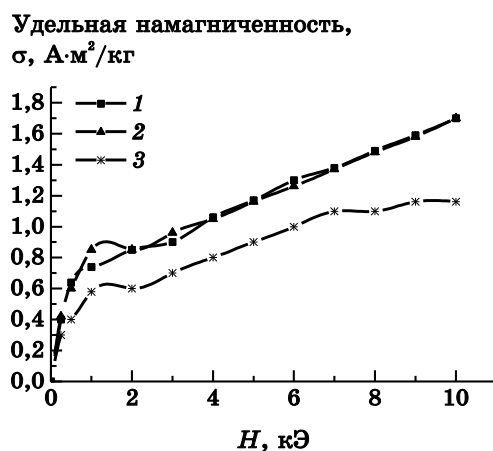


Рис. 4. Удельная намагниченность легированных материалов при термообработке в различных средах: 1 — БГАп + 2% Fe₃O₄ без термообработки; 2 — БГАп + 2% Fe₃O₄ в вакууме при $t = 500^{\circ}\text{C}$; 3 — БГАп + 2% Fe₃O₄ обжиг в воздушной среде при $t = 500^{\circ}\text{C}$.

3.4. Растворимость

Для изучения поведения легированного материала в организме человека были проведены опыты *in vitro* в модельных жидкостях путём погружения в раствор на срок до 7 суток. Данные по скорости растворимости порошков в физрастворе представлены на рис. 5 и 6.

Как видно из рис. 5, максимальная скорость растворимости для образца без термообработки достигается уже на 2 сутки, а для об-

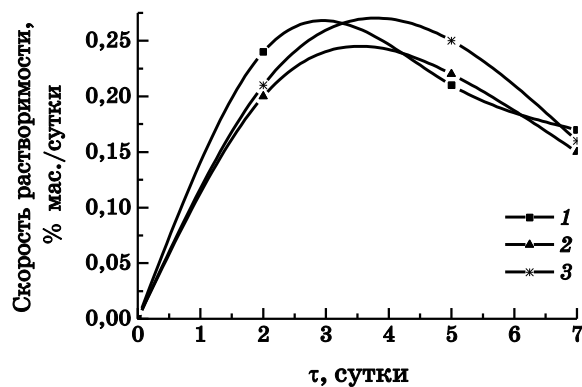


Рис. 5. Скорость растворимости порошков: 1 — БГАп + 2% Fe₃O₄ без термической обработки; 2 — БГАп + 2% Fe₃O₄ в вакууме, при $t = 500^{\circ}\text{C}$; 3 — БГАп + 2% Fe₃O₄ в воздушной среде при $t = 500^{\circ}\text{C}$.

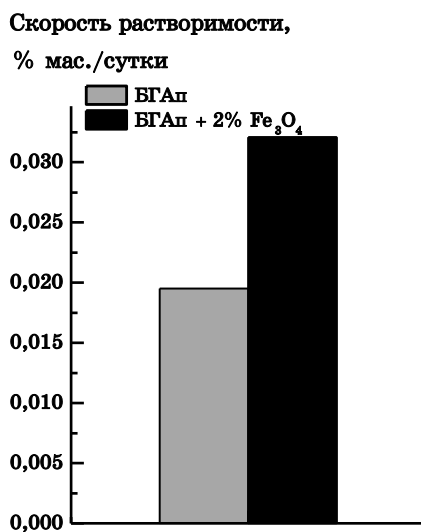


Рис. 6. Скорость растворимости таблеток в физиологическом растворе в течение 7 суток.

разцов с термической обработкой — на 5-е. При этом меньшей скоростью растворимости обладает материал БГАп + 2% Fe_3O_4 с термообработкой в вакууме. На основании этих данных можно сделать вывод о том, что термообработка влияет как на достижение максимальных значений скорости растворимости в физрастворе, так и на величину растворимости.

Кроме того, было проведено исследование скорости растворимости для БГАп + 2% Fe_3O_4 без термической обработки в SBF (Simulated Body Fluid) после 7 суток пребывания в растворе. Для данного образца скорость растворимости составила 0,26 % масс./сутки, что значительно выше, чем для образцов в физрастворе.

Были проведены также исследования растворимости образцов в виде таблеток после термической обработки в вакууме, при $t = 500^\circ\text{C}$ после 7 суток пребывания в физрастворе, результаты которых представлены на рис. 6.

Как видно из рис. 6, легированный материал обладает большей скоростью растворимости. Это может быть связано с каталитическим действием легирующей добавки, которая и повышает растворимость БГАп за счёт частичного перехода самой добавки в физраствор. По сравнению с образцами в виде порошка скорость растворимости таблеток снижается примерно в 5–10 раз. Значительное изменение скорости растворимости материалов связано с различной пористостью (см. рис. 3).

4. ВЫВОДЫ

Исходя из медицинского назначения создаваемого биоматериала, выбрано количество легирующей добавки в исследуемых образцах, которое не превышало 2% масс., о чём свидетельствуют данные рентгеновского анализа.

Наличие легирующей добавки и вид термообработки практически не влияют на структуру полученных образцов, но незначительно повышает пористость, что следует из анализа их микроструктуры.

Незначительное уменьшение удельной намагниченности образца, обработанного в воздушной среде, связано с переходом магнетита (Fe_3O_4) в гематит (Fe_2O_3).

Скорость растворения в физиологическом растворе для порошковых материалов значительно выше, чем для компактных образцов и достигает максимальных значений на 2–5 сутки.

По результатам исследований, оптимальным является материал, прошедший термообработку в вакууме при $4 \cdot 10^{-5}$ мм рт. ст., при 500°C , поскольку такой режим термообработки позволяет сохранить магнитные свойства легирующей добавки и избежать фазового перехода магнетита в гематит.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. N. A. Korzh, O. E. Vyrva, N. V. Deduh, and S. V. Malyshkina, *Ortopediya, Traumatologiya i Protezirovanie* (Orthopedy, Traumatology, and Prosthesis), No. 3: 20 (2007) (in Russian).
2. B. Roszek, W. H. de Jong, and R. E. Geertsma, *Nanotechnology in Medical Applications: State-of-the-Art in Materials and Devices* (Bilthoven, The Netherlands: RIVM: 2005), p. 123.
3. M. P. Ferraz, F. J. Monteiro, and C. M. Manuel, *Hydroxyapatite Nanoparticles: A Review of Preparation Methodologies*, No. 2: 74 (2004).
4. V. S. Sulyma, A. T. Brusko, M. P. Grytsai, L. A. Ivanchenko, and N. D. Pinchuk, *Problemy Osteologii* (Problems of Osteology), 4, No. 4: 21 (2001) (in Ukrainian).
5. S. Panseri, C. Cunha, T. D'Alessandro, M. Sandri, A. Russo, G. Giavaresi, M. Marcacci, C. T. Hung, and A. Tampieri, *PLoS ONE*, 7, No. 6: 1 (2012).
6. E. B. Ansari, M. Ajeeshi, Y. Yokogawa, W. Wunderlich, and H. Varma, *Journal of the American Ceramic Society*, 95, No. 9: 2695 (2012).
7. E. P. Podrushniak, L. A. Ivanchenko, A. M. Falkovska, A. M. Gumeniuk, L. G. Kobylochna, N. D. Pinchuk, and T. M. Tkachova, *Problemy Osteologii* (Problems of Osteology), 1, No. 23: 98 (1998) (in Ukrainian).
8. E. M. Muzquiz-Ramos, D. A. Cortés-Hernández, J. C. Escobedo-Bocardo, A. Zugasti-Cruz, X. S. Ramirez-Gomes, J. G. Osuna-Alarcyn, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 24, No. 4: 1035 (2013).
9. T. K. Jain, M. K. Reddy, M. A. Morales, D. L. Leslie-Pelecky, and V. Labhasetwar, *Mol. Pharm.*, 5, No. 2: 316 (2008).
10. N. D. Pinchuk, L. A. Ivanchenko, A. A. Kuda, and L. N. Kuzmenko, *Sovremennyye Problemy Fizicheskogo Materialovedeniya* (Up-to-Date Problems of Physical Materials Science), No. 4: 52 (2007) (in Russian).