

PACSnumbers: 61.43.Gt, 68.37.Hk, 68.43.Mn, 75.50.Tt, 81.05.Rm, 81.20.Ev, 87.85.jj, 87.85.Rs

Особливості адсорбції препаратів різної молекулярної маси біогенним гідроксиапатитом, легованим наномагнетитом

О. М. Отиченко^{1,2}, Т. Є. Бабутіна¹, О. Р. Пархомей¹,
Л. С. Проценко¹, О. М. Будиліна¹, І. В. Уварова^{1,2}

¹*Інститут проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України,
вул. Кржижановського, 3,
03142 Київ, Україна*

²*Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,
просп. Перемоги, 37,
03056 Київ, Україна*

Роботу присвячено дослідженню можливості використання пористої кераміки медичного призначення на основі біогенного гідроксиапатиту, легованого наномагнетитом, одержаним конденсаційним фізико-хімічним методом, у якості носія препаратів різної молекулярної маси і, зокрема, антибіотиків широкого спектру дії. Встановлено значне збільшення швидкості розчинності в неорганічному модельному середовищі та незначне зменшення адсорбційної активності легованих зразків порівняно з вихідним, причому як з індикатором метиленовим синім, так і з антибіотиком.

The work is concerned with studying the possibility for using the porous ceramics of medical application on the base of biogenic hydroxyapatite doped with nanomagnetite prepared via the condensation physicochemical methods as a carrier of drugs with varying molecular weight and, particularly, broad-spectrum antibiotics. A significant increase of solubility rate in inorganic model medium and a slight decrease of adsorption activity of doped samples in comparison with the initial one as with indicator and with an antibiotic are revealed.

Работа посвящена исследованию возможности использования пористой керамики медицинского назначения на основе биогенного гидроксипатита, легированного наномагнетитом, полученным конденсационным физико-химическим методом, в качестве носителя препаратов разной молекулярной массы и, в частности, антибиотиков широкого спектра действия. Установлено значительное увеличение скорости растворимо-

сти в неорганической модельной среде и незначительное уменьшение адсорбционной активности легированных образцов по сравнению с исходным, причём как с индикатором метиленовым синим, так и с антибиотиком.

Ключові слова: біогенний гідроксиапатит, біорозчинність, мікроструктура, адсорбційна активність, цефтріаксон.

Key words: biogenic hydroxyapatite, biosolubility, microstructure, adsorption activity, Ceftriaxon.

Ключевые слова: биогенный гидроксиапатит, биорастворимость, микроструктура, адсорбционная активность, цефтриаксон.

(Отримано 29 листопада 2016 р.)

1. ВВЕДЕННЯ

Гідроксиапатит, як частина мінерального складу кісткової тканини, має з нею високу біосумісність, а тому досить часто використовується в остеопластиці для реконструкції пошкодженої внаслідок хвороби (остеомієліт, саркома) чи травми ділянки кістки [1–3]. Через відсутність необхідних фізико-хімічних властивостей в чистій кераміці на основі біогенного гідроксиапатиту (БГА) факт її модифікації різними сполуками є цілком логічним та вмотивованим. Залізовмісні сполуки привернули до себе увагу через участь заліза в метаболізмі колагену та кореляції його вмісту в сироватці крові зі швидкості загоєння ран. При цьому підвищений рівень даного елемента в організмі виступає інгібітором метаболізму остеобластів, тому кількість його не повинна перевищувати 2% мас [4, 5].

Ще однією серйозною проблемою для травматології є різного роду інфекції ранових поверхонь і зростання стійкості мікроорганізмів, що їх викликають, до традиційних антибактеріальних препаратів (рифампіцин, ванкоміцин, оксацилін). Крім того, зазначені вище, а також всі антибіотики пеніцилінової групи, як похідні 6-амінопеніцилінової кислоти, є потенційними алергенами. Тому з середини 60-х років минулого століття і дотепер найчастіше використовуються цефалоспорини — напівсинтетичні похідні антибіотика цефалоспорин С, які зв'язуються з ферментами бактерій, що беруть участь у формуванні клітинної стінки, чинячи, таким чином, бактерицидний вплив [6, 7].

Метою даної роботи було одержання леґованого наномагнетитом матеріалу медичного призначення на основі БГА та дослідження його фізико-хімічних параметрів та властивостей, зокрема і адсорбційної активності по відношенню до антибіотику цеф-

тріаксон (*Ceftriaxon*).

2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В якості досліджуваного матеріалу було використано БГА у вигляді мікрогранул та БГА, легований наномагнетитом за допомогою двох способів конденсаційного фізико-хімічного методу: в одному випадку БГА вводили безпосередньо в процес одержання осаду оксалату заліза (хімічний спосіб), в іншому — проводили осадження готового оксалату заліза на поверхню мікрогранул вихідного матеріалу у стані гідросуспензії (фізико-механічний метод) з подальшою термообробкою у вакуумному середовищі $1 \cdot 10^{-1}$ мм рт.ст. протягом 2 год. при $T = 500^\circ\text{C}$, що нижче точки Кюрі для магнетиту ($T_K = 572^\circ\text{C}$) [8].

Фазовий склад зазначених зразків контролювали за допомогою рентгенівського дифрактометра «ДРОН 3,0» в CoK_α -випромінненні. Вміст заліза в досліджуваних матеріалах визначали фотоколориметричним методом з використанням приладу «ФЕК-56М» (Росія), а кількість вуглецю — експрес-аналізатором «АН-7529». Значення питомої поверхні порошкових біоматеріалів встановлювали методом низькотемпературної адсорбції азоту з використанням установки «МРР2». Розмірний розподіл частинок досліджували за допомогою аналізатора «SA-CP3» ('SHIMADZU Corporation', Японія).

Резорбційні властивості досліджували в дослідах *in vitro* шляхом занурення порошоків у ізотонічний фізіологічний 0,9% -й розчин NaCl («Новофарм Біосинтез», Україна) на 2, 5 та 7 діб у термостатичних умовах за температури $36,7\text{--}37^\circ\text{C}$. Масу зразків вимірювали на аналітичних вагах «ОНАУС Pioneer PA214С» ('ОНАУС Corporation', Китай) з точністю до 0,0001 г. Адсорбційну активність по метиленовому синьому встановлювали відповідно до методики, наведеної у ГОСТ 4453-74. Для дослідження адсорбційних властивостей порошоків матеріалів відносно до антибіотика було використано препарат цефтріаксон (*Ceftriaxon*, «Arterium», ПАТ «Київмедпрепарат», Україна). Зміну рН розчину антибіотику до та після додавання до нього досліджуваних порошоків детально фіксували за допомогою портативних рН-метрів («Hanna Instruments», Німеччина).

3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Відповідно до даних рентгенометричних досліджень характерні для магнетиту піки інтенсивності спостерігаються в діапазонах кутів 2θ $35\text{--}52^\circ$ та $62\text{--}75^\circ$, тоді як для БГА основні лінії відо-

браження розташовуються при $2\theta = 36-46^\circ$ та $54-63^\circ$ [9]. Із порівняння дифрактограм досліджуваних матеріалів (рис. 1, 2), помітно, що відмінності у способі одержання практично не змінюють їх фазовий склад, зберігаючи при цьому положення піків інтенсивності як магнетиту, так і БГА.

Експериментальним чином авторами [5] було доведено, що

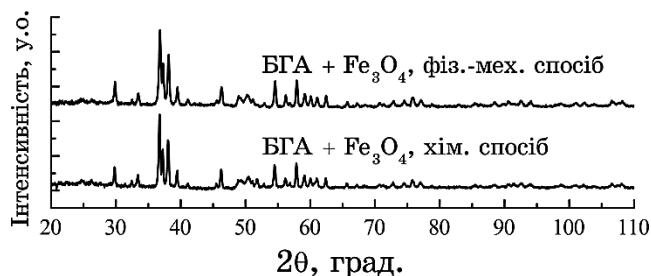


Рис. 1. Дифрактограма порошків БГА + Fe₃O₄, одержаних різними способами.¹

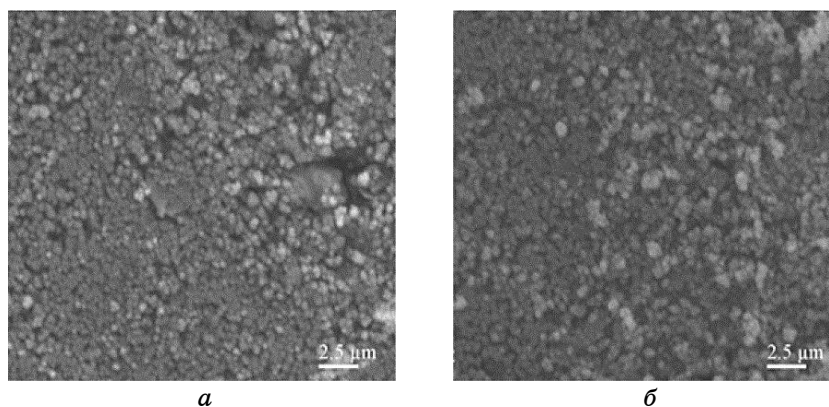


Рис. 2. Мікроструктура ($\times 4000$) компактних зразків БГА + Fe₃O₄, одержаних фізико-механічним (а) та хімічним (б) способами.²

ТАБЛИЦЯ 1. Результати хімічного аналізу досліджуваних зразків.³

Матеріал	Вид термооброблення	Вміст елементів, % мас.	
		Fe	C
БГА	—	0,08	0,30
БГА + Fe ₃ O ₄ (фіз.-мех. спосіб)	Вакуумне середовище, 500°C, 2 год.	1,18	0,51
БГА + Fe ₃ O ₄ (хім. спосіб)		1,09	0,61

надлишок заліза, зумовлений порушеннями гомеостазу чи його надлишковим потраплянням в організм, інгібує метаболізм остеобластів. Для досліджуваних композитних матеріалів на основі «Остеоапатиту керамічного» (Україна) зазначене явище є небажаним, а тому кількість легувальної добавки не перевищує 2% в перерахунку на Fe (табл. 1). Присутність заліза та вуглецю у вихідному матеріалі, скоріше за все, зумовлена технологією його одержання.

Аналіз мікрофотографій (рис. 2) компактних зразків досліджуваних матеріалів після термообробки у середовищі середнього вакууму показав їх складну мікроструктуру, що містить агломерати окремих зерен (табл. 2) і пори різного розміру. Різною кількістю частинок діаметром у 2 мкм можна пояснити незначні відмінності значень питомої поверхні біоматеріалів, яка становить 7,4 м²/г і 8,8 м²/г для зразків, одержаних фізико-механічним та хімічним способом відповідно.

Для встановлення ймовірної поведінки досліджуваних порошкових матеріалів у людському організмі були проведені експерименти *in vitro*, які полягали в зануренні зразків у модельне середовище (ізотонічний фізіологічний 0,9%-й розчин NaCl) на 2, 5 та 7 діб (табл. 3). Значне підвищення швидкості біорозчинності можна пояснити наявністю феромагнітної добавки та різними питомими поверхнями (для «Остеоапатиту керамічного» — 5,6 м²/г).

Для встановлення рівня адсорбційної активності БГА-матеріалів було проведено експерименти (за описаною в ГОСТ 4453-74 методикою) з використанням у ролі індикатора розчину метиленового синього із концентрацією 1500 мг/л. Величину адсорбції цефтріаксону (*Ceftriaxon*, «Arterium», ПАТ «Київмедпрепарат») на зазначених порошкових матеріалах було перевірено на концентрації, яка максимально наближена до меж, наведених у рецептурному листі на препарат — 1 г на 5 мл 0,9%-го розчину NaCl. Для цього по \cong 0,5 г досліджуваних порошкових матеріалів було поміщено в розчин антибіотика на 4 год. за кімнатної температури. В подальшому розчин було відфільтровано та досліджено фотоколориметричним методом. Результати досліджень наведено у табл. 4.

Наведені результати демонструють однакову тенденцію до незначного зменшення адсорбційної активності легованих зразків порівняно з вихідним, причому як з індикатором метиленовим синім, так і з антибіотиком. Суттєву ж різницю у чисельних даних зумовлено, з одного боку, різними, порівняно з частинками БГА, молярними масами (розмірами молекул) відповідних сполук і концентраціями їхніх розчинів, а з іншого — дещо відмінними фізико-хімічними характеристиками досліджуваних поро-

ТАБЛИЦЯ 2. Розмірний спектр частинок досліджуваних матеріалів.⁴

Матеріал	Розмірний спектр, %												
	50 мкм	40 мкм	30 мкм	20 мкм	10 мкм	8 мкм	6 мкм	5 мкм	4 мкм	3 мкм	2 мкм	1,5 мкм	1 мкм
БГА + Fe ₃ O ₄ (фіз.-мех. спосіб)	1,9	3,5	5,2	10,8	15,6	6,8	8,2	3,7	4,6	6,6	5,8	0,8	12,8
БГА + Fe ₃ O ₄ (хім. спосіб)	1,8	3,3	4,9	10,3	17,8	7,8	4,0	3,6	2,0	5,5	6,7	3,2	17,2

ТАБЛИЦЯ 3. Швидкість розчинності зразків.⁵

Матеріал	Вид термооброблення	Біорозчинність, % мас./добу		
		2 доби	5 діб	7 діб
БГА	—	0,28	0,26	0,27
БГА + Fe ₃ O ₄ (фіз.-мех. спосіб)	Вакуумне середовище,	1,26	0,67	0,46
БГА + Fe ₃ O ₄ (хім. спосіб)	500°C, 2 год.	1,23	0,73	0,47

ТАБЛИЦЯ 4. Адсорбційна активність досліджуваних матеріалів.⁶

Матеріал	Адсорбційна активність, мг/г	
	метиленовий синій	цефтріаксон
БГА	123	2170
БГА + Fe ₃ O ₄ (фіз.-мех. спосіб)	120	2110
БГА + Fe ₃ O ₄ (хім. спосіб)	118	1784

шкових зразків. У випадку взаємодії цефтріаксону з біоматеріалами, поведінку останніх можна також пояснити наступним чином.

Відомо, що точка нульового заряду для БГА наявна при рН = 4,68 рН розчину антибіотику становить 6,30, а після 4 год. контакту з БГА зростає до 7,91. Це означає, що поверхня матеріалу набула позитивного заряду за рахунок втрати основних іонів OH⁻, PO₄³⁻, або HPO₄³⁻, які частково були замінені на антибіотик в точках N⁻, O⁻, або OH⁻ за умови втрати його препаратом C₁₈H₁₈N₈O₇S₃. Схожа ситуація і зі зразком, одержаним фізико-

механічним способом у якого рН після контакту з розчином цефтріаксону зросло до 7,82. Матеріал, одержаний хімічним способом показав дещо менше (7,49) значення рН, що узгоджується з результатами по адсорбційній активності.

4. ВИСНОВКИ

В роботі показано, що використання конденсаційного фізико-хімічного методу легування з подальшим низькотемпературним термолізом уможливило одержати матеріали з більшою швидкістю розчинності в порівнянні з БГА. Проте, дослідження адсорбційних властивостей системи БГА + Fe₃O₄, одержаної різними способами, показали їх тенденцію до незначного зниження порівняно з вихідним матеріалом. Таким чином, обираючи той чи інший зразок матеріалу, можна обирати і швидкість вивільнення окремих елементів (Ca, P, Fe), які будуть взаємодіяти з довколишніми живими тканинами, при цьому не викликаючи інфікування рани за рахунок наявності в своєму складі 1700–2200 мг/г антибіотику широкого спектру дії.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА—REFERENCES

1. R. A. Perez, J. Won, J. C. Knowles, and H. Kim, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **65**: 471 (2013).
2. D. Rohanova, D. Horkavcova, A. Helebrant, and A. R. Boccaccini, *Journal of Non-Crystalline Solids*, **432**: 53 (2016).
3. J. Oliva, J. Cama, J. L. Cortina, C. Ayora, and J. De Pablo, *Journal of Hazardous Materials*, **213**: 7 (2012).
4. O. M. Otychenko, O. R. Parkhomey, and I. V. Uvarova, *Nanostruktorno Materialovedenie*, **1**: 86 (2015) (in Ukrainian).
5. N. V. Kerymkulova, I. Y. Torshyn, and O. A. Gromova, *Reproduktivnaya Endokrinologiya*, **12**, No. 4: 101 (2014) (in Russian).
6. E. M. Khodosh, *Novosti Meditsiny i Farmatsii*, **310**: 1 (2010) (in Russian).
7. V. I. Cherniy, A. N. Kolesnikov, and I. V. Kuznetsova, *Novosti Meditsiny i Farmatsii*, **343**: 1 (2010) (in Russian).
8. O. Otychenko, A. Parkhomey, T. Babutina, and I. Uvarova, *Abstr. of the 5-th Int. Conf. 'HighMathTech' (Oct. 5–8, 2015, Kyiv)* (Kyiv: 2015), p. 204.
9. O. Otychenko, N. Pinchuk, O. Parkhomey, O. Kuda, and I. Uvarova, *Nanostruktorno Materialovedenie*, **2**: 45 (2014) (in Ukrainian).

¹I. M. Frantsevich Institute for Problems of Materials Science, N.A.S. of Ukraine, Krzhizhanovsky Str., 3, UA-03142 Kyiv, Ukraine

²National Technical University of Ukraine 'Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute', Peremogy Ave., 37, UA-03056 Kyiv, Ukraine

¹ Fig. 1. Diffractogram of the BHA + Fe₃O₄ powder materials obtained by different methods.

² **Fig. 2.** Microstructure ($\times 4000$) of the BHA + Fe₃O₄ compact samples obtained by physical-mechanical (a) and chemical methods (б).

³ **TABLE 1.** The results of chemical analysis of studied samples.

⁴ **TABLE 2.** Particle size spectrum for studied materials.

⁵ **TABLE 3.** Solubility rate of the samples.

⁶ **TABLE 4.** Adsorption activity of the studied materials.