

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* биогенного 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 биогенного гидроксиапатита (БГАп), легированного наномagnetитом ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). 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  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ( $572^\circ\text{C}$ ) 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 біогенного гідроксиапатиту (БГАп), легованого наномagnetитом ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). 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  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ( $572^\circ\text{C}$ ) 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 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )-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  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  Curie point ( $572^\circ\text{C}$ ) 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 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), 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  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ( $572^\circ\text{C}$ ) 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 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) 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  $\text{NaCl}$  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  $2\theta$   $36\text{--}38^\circ$ ,  $46^\circ$  и  $54\text{--}63^\circ$ . Определены также линии при  $34^\circ$  и  $39^\circ$ , как линии харак-

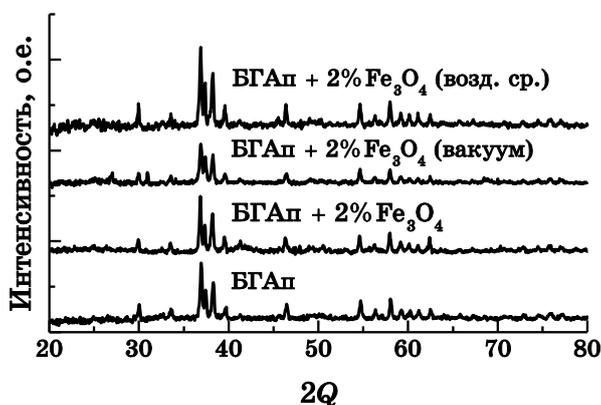


Рис. 1. Дебаегрaммы легированных и нелегированных материалов, полученных после термообработки в различных средах.

терные для  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

### 3.2. Микроструктура и пористость

Микроструктура и распределение  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  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  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  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

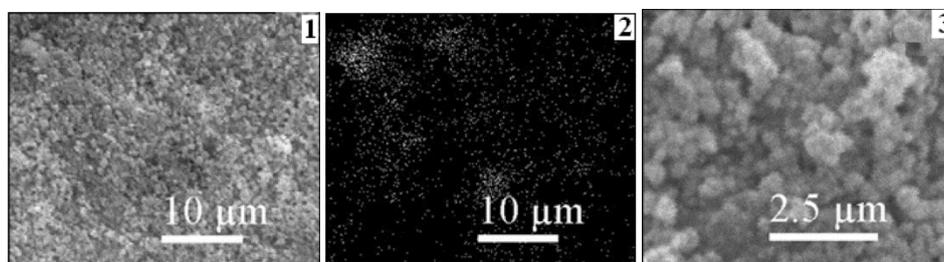


Рис. 2. Микроструктура таблетки БГАп + 2%  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и элементное распределение  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (2): 1, 2 —  $\times 1000$ , 3 —  $\times 5400$  после термообработки в вакууме.

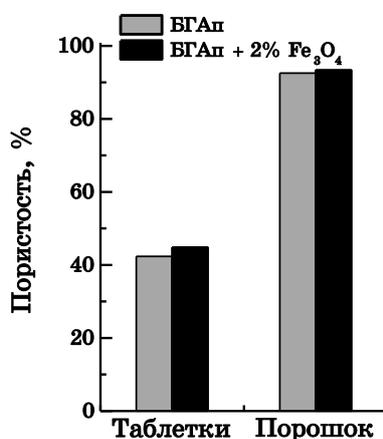


Рис. 3. Пористость образцов БГАп и БГАп + 2%  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  после термообработки в вакууме.

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%  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , а для порошков — 92,53% для БГАп и 93,34% для БГАп + 2%  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . При этом открытая пористость для таблеток имеет значения: 40,80% (БГАп) и 42,58% (БГАп + 2%  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ).

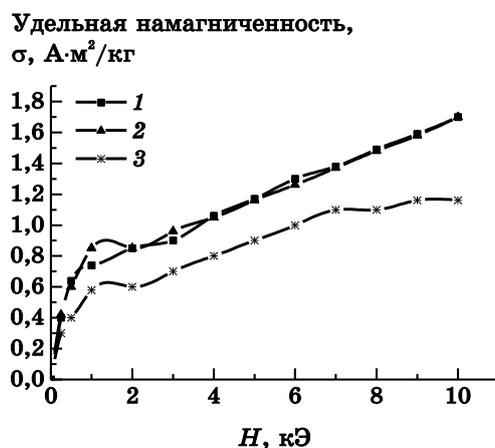
Незначительную разницу пористости между легированными и нелегированными образцами можно объяснить близкими значениями удельной поверхности порошков, которая находилась в пределах 5,35–5,45  $\text{м}^2/\text{г}$ . Из этого следует, что наличие добавок магнетита практически не влияет на микроструктуру и пористость материала.

### 3.3. Удельная намагниченность

Результаты измерения удельной намагниченности [ $\text{А}\cdot\text{м}^2/\text{кг}$ ] легированных образцов с различной термообработкой представлены на рис. 4.

Термообработка образцов на воздухе приводит к частичному переходу  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  в  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , 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%  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  без термообработки; 2 — БГАп + 2%  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  в вакууме при  $t = 500^\circ\text{C}$ ; 3 — БГАп + 2%  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  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-

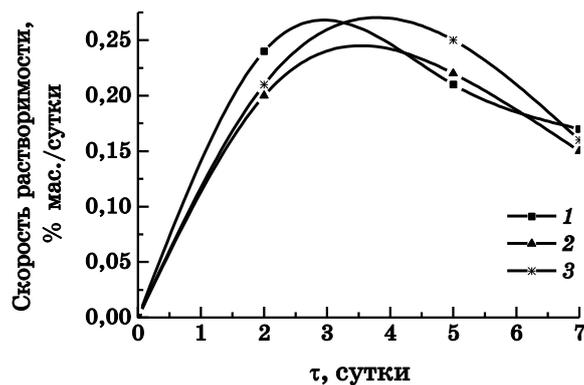


Рис. 5. Скорость растворимости порошков: 1 — БГАп + 2% Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> без термической обработки; 2 — БГАп + 2% Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> в вакууме, при  $t = 500^{\circ}\text{C}$ ; 3 — БГАп + 2% Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> в воздушной среде при  $t = 500^{\circ}\text{C}$ .

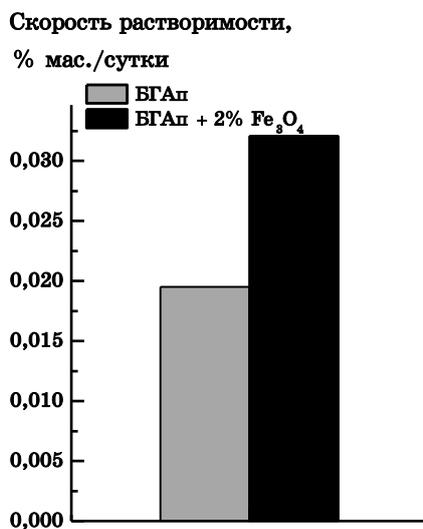


Рис. 6. Скорость растворимости таблеток в физиологическом растворе в течение 7 суток.

разцов с термической обработкой — на 5-е. При этом меньшей скоростью растворимости обладает материал БГАп + 2%  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  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%  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  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 ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) в гематит ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ).

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  $500^\circ\text{C}$ , 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).