

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ МАТЕРІАЛОЗНАВСТВА
ім. І. М. ФРАНЦЕВИЧА

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Синиця Анна Олександрівна

УДК 615.466: 66.017: 546:185: 546.41: 666.3-127: 616.71-089.844

ДИСЕРТАЦІЯ

**ВПЛИВ МОДИФІКУВАННЯ МАГНЕТИТОМ НА ОСОБЛИВОСТІ
СТРУКТУРОУТВОРЕННЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ БІОМЕДИЧНИХ
КОМПОЗИТИВ ГІДРОКСИПАТИТ/МАГНЕТИТ/ХІТОЗАН**

Спеціальність 132 матеріалознавство
Технічні науки (13 Механічна інженерія)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело



_____ А.О. Синиця

Науковий керівник Уварова Ірина Володимирівна, д.т.н., проф.
Бошицька Наталія Віталіївна, д.т.н., с.н.с.

Київ – 2023

АНОТАЦІЯ

Синиця А.О. Вплив модифікування магнетитом на особливості структуроутворення та властивості біомедичних композитів гідроксиapatит/магнетит/хітозан. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 132 – Матеріалознавство (Технічні науки). Інститут проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України. Київ, 2023 рік.

Дисертаційна робота присвячена отриманню порошкових композиційних матеріалів біогенний гідроксиapatит/магнетит/хітозан та дослідженню закономірностей формування їх структури та властивостей в залежності від кількості та методів синтезу введеного до їх складу магнетиту, а також поведінки у фізіологічному розчині, який моделює внутрішнє середовище організму людини та впливу отриманих композитів на життєдіяльність живих клітин в умовах *in vitro*.

Зміст роботи викладено у 5 розділах, в яких представлені основні результати дисертації.

У **вступі** обґрунтована актуальність, сформувані мета та завдання дослідження, описані предмет, об'єкт та методи дослідження, встановлено наукову новизну та практичне значення одержаних результатів дисертаційної роботи.

У **першому** розділі приведений літературний огляд. Описано особливості властивостей та застосування у біомедицині гідроксиapatиту (як біогенного, так і синтетичного походження), магнетиту та хітозану. Проведено аналіз існуючих матеріалів на основі БГА та перспективи застосування композитів на його основі, модифікованих магнетитом та хітозаном. Надано обґрунтування вибору теми дослідження.

У **другому** розділі описано вихідні матеріали – БГА та хітозан, синтез порошків магнетиту, а також схема отримання порошкових композитів БГА/магнетит/хітозан. Докладно представлені методи і методики дослідження та формули розрахунків характеристик композитів, які використані у роботі.

У **третьому** розділі описано результати дослідження впливу параметрів та методів синтезу на структуру та властивості магнетиту. Було розглянуто порошки магнетиту синтезовані методом хімічного осадження хлоридів заліза, з використанням як осаджувача 25 % розчин аміаку (тривалість синтезу 5 хв, 30 хв, 1 год) та гідразину (1 год), а також, термічним розкладом (термолізом) оксалатів заліза у вуглеводневому та азотному середовищах.

Згідно даних, отриманих за допомогою рентгенофазового аналізу встановлено, що дифрактограми всіх порошків відповідають магнетиту як основній фазі. Тривалість хімічного осадження з використанням як осаджувача розчин аміаку не впливає на фазовий склад отриманих матеріалів. Використання методу термічного розкладу оксалатів заліза дозволяє отримати вищий ступінь кристалічності магнетиту. Отримані дані узгоджуються з результатами інфрачервоної спектроскопії, які показали, що досліджені зразки мають структуру магнетиту з незначними включеннями гематиту і поверхневим кожухом з функціональних груп ОН і N-H.

Встановлено, що частинки порошків магнетиту сферичні та нанорозмірні, з середнім діаметром 23-34 нм та 33-84 нм для хімічного методу осадження та методу термолізу, відповідно, але агломеровані. Аналіз розподілу частинок за розміром та фактором форми вказує на рівномірний розподіл частинок за розміром та подібність фактору форми для всіх порошків незалежно від методів та технологічних особливостей синтезу. Окрім того, показано, що питома поверхня та значення пікнометричної густини зменшуються зі збільшенням часу синтезу порошків, отриманих методом хімічного осадження з використанням як осаджувача розчин аміаку. Встановлено, що магнетит з найбільшим значенням питомої поверхні (141 ± 1

м²/г) можна отримати синтезом з розчину суміші хлоридів заліза протягом 5 хвилин з використанням як осаджувача розчин аміаку.

Доведено, що магнітні властивості отриманих порошків, а саме питома намагніченість насичення та коерцитивна сила суттєво залежать від умов синтезу у випадку хімічного методу осадження з використанням як осаджувача розчин аміаку: чим більша тривалість синтезу, тим менші значення питомої намагніченості та коерцитивної сили. В свою чергу, термічний розклад оксалатів заліза дозволяє на порядок збільшити питому намагніченість насичення. Отримані дані дослідження дозволяють підтвердити суперпарамагнітні властивості отриманих порошків магнетиту.

Обґрунтовано вибір порошків магнетиту синтезованого методом хімічного осадження хлоридів заліза протягом 5 хв з використанням як осаджувача розчин аміаку, та методом термолізу оксалатів заліза в азотному середовищі, для створення композиційного матеріалу БГА\магнетит\хітозан, оскільки їх вихідні властивості, а саме: розмір частинок, питома поверхня, магнітні та адсорбційні властивості, а також відсутність токсичного впливу на живі клітини, найбільш оптимальні для створення композиту медичного призначення.

Четвертий розділ присвячений вивченню структури та фізико-механічних властивостей композитів на основі БГА, модифікованих магнетитом (99/1, 95/5, 75/25 і 50/50 мас. %) різних типів при вмісті хітозану 10 % від маси магнетиту. Методами РФА та ІЧ-спектроскопії встановлено, що фазовий склад досліджуваних матеріалів представлений фазами гідроксиапатиту, магнетиту та хітозану. Показано також, що у кристалічній ґратці БГА відбуваються заміщення іонів іонів Ca²⁺ на іони Fe²⁺, оскільки спостерігається зменшення розміру кристалітів вздовж вісей *a* та *c*, а також об'єму кристалічної ґратки пропорційно збільшенню кількості магнетиту незалежно від типу.

Згідно з дослідженнями морфології, порошки композитів представлені округлими агломератами різного розміру. Встановлено, що розмір частинок

залежить від масового співвідношення БГА та магнетиту. Зменшення розміру частинок залежить від збільшення вмісту магнетиту, оскільки вихідний порошок є нанорозмірним, незалежно від методу синтезу, на відміну від частинок БГА. При цьому, спостерігається рівномірний розподіл частинок за розміром для всіх матеріалів незалежно від співвідношення БГА та магнетиту різного типу у складі композиту. Показано, що, для всіх складів композитів більше 89% частинок мають фактор форми понад 0,8, що свідчить про формування частинок правильної форми.

Встановлено, що з підвищенням вмісту магнетиту у складі композитів незалежно від методу синтезу зростають значення питомої поверхні, пікнометричної густини та механічних властивостей (міцність на стиск та розтяг, модуль пружності, загальна пористість, об'єм пор). Отримані величини механічних властивостей співставні з міцністю губчастих кісток людини, що робить досліджувані композити перспективними матеріалами для заміщення ненавантажених ділянок кісткової тканини.

Показано, що магнітні властивості композитів, модифікованих магнетитом(терм.), є на порядок вищими, ніж у композитів, модифікованих магнетитом(хім.), що пов'язано з характеристиками вихідних порошків магнетиту. Загалом, магнітні властивості отриманих порошкових матеріалів вказують на перспективність використання композитів БГА/магнетит/хітозан в якості магніточутливих матеріалів та можливість використання для гіпертермії, цільової доставки ліків та магнітотерапії.

У п'ятому розділі описано результати експериментів *in vitro*, а саме поведінки порошкових композиційних матеріалів БГА/магнетит/хітозан в модельному фізіологічному розчині в термостатичних умовах протягом різних проміжків часу (2, 10, 16 та 31 доба), а також дослідження цитотоксичності.

Встановлено, що під час взаємодії досліджуваних композитів з фізіологічним розчином відбувається резорбція матеріалу, що підтверджено зміною рН, втратою маси, збільшеннями площі питомої поверхні, зміною

морфології та зменшенням розміру частинок матеріалів. При цьому, після взаємодії з фізіологічним розчином не виявлено змін у фазовому складі композитів, який представлений фазами гідроксиапатиту, магнетиту та хітозану, незалежно від співвідношення компонентів.

Встановлено, що процес резорбції найінтенсивніше відбувається в перші 2 доби за рахунок активного виділення іонів Ca^{2+} та фосфат-іону (PO_4^{3-}) в розчин, після чого спостерігається поступове сповільнення швидкості розчинення на 15-16 добу експерименту.

Показано, що збільшення вмісту магнетиту призводить до зростання резорбції композитів, причому застосування магнетиту, отриманого хімічним осадженням дозволяє досягти швидкості резорбції 2,5-5,3 мас.%/добу, що в 3,5-7,5 разів вище у порівнянні з «чистим» біогенним гідроксиапатитом і в 1,2-2 рази вище у порівнянні з композитами на основі магнетиту, отриманого термічним розкладом в азотному середовищі.

Встановлена відсутність цитотоксичності композитів щодо ліній клітин MDCK та MDBK, особливо в низьких та середніх концентраціях, оскільки відсоток життєдіяльності клітин складав більше 80% для всіх композитів, незалежно від складу та типу використаного магнетиту, що є важливою передумовою для подальших клінічних випробувань та успішного впровадження композитів у медичну практику.

Ключові слова: композиційний матеріал, біокомпозит, гідроксиапатит, магнетит, оксид заліза, хітозан, наночастинки, магніточутливий матеріал, кістковий замітник, міцність, цитотоксичність.

ABSTRACT

Synytsia A.O. **Effect of modification by magnetite on features of structure formation and properties hydroxyapatite/magnetite/chitosan biomedical composites.** Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The Ph.D. dissertation for achieving a scientific degree of Doctor in Philosophy in the specialty 132 - Materials Science (Technical Sciences). Frantsevich Institute for Problems of Materials Science NAS of Ukraine, Kyiv - 2023.

The dissertation is devoted to the preparation of biogenic hydroxyapatite/magnetite/chitosan composite materials and the investigation of the regularities of formation of their structure and properties depending on the type and amount of magnetite introduced into their composition, as well as behavior in a physiological solution that models the internal environment of the human body and the effect of the obtained composites on the vital activity of living cells *in vitro*.

The content of the work is set out in 5 chapters, which present the main results of the dissertation.

The **introduction** substantiates the relevance, formulates the purpose and objectives of the investigation, describes the subject, object and methods of the investigation, and establishes the scientific novelty and practical significance of the results of the dissertation.

The **first chapter** provides a literature review. Features of the properties and application of hydroxyapatite (both of biogenic and synthetic origin), magnetite and chitosan in biomedicine are described. The analysis of existing materials based on BHA and the prospects for the use of composites based on it modified by magnetite and chitosan is carried out. The rationale for choosing the research topic is given.

The **second chapter** describes the starting materials - BHA and chitosan, the synthesis of magnetite powders, as well as the scheme for obtaining BHA/magnetite/chitosan composites. Research methods and techniques and

formulas for calculating the characteristics of composites used in the work are presented in detail.

The **third chapter** describes the results of investigation on the influence of parameters and synthesis methods on the structure and properties of magnetite. Magnetite powders synthesized by chemical precipitation in the presence of ammonia (synthesis duration 5 min, 30 min, 1 h) and hydrazine (1 h) were considered, as well as thermal decomposition (thermolysis) of iron oxalates in hydrocarbon and nitrogen environments.

According to the data obtained by X-ray phase analysis, it was established that the diffractograms of all powders correspond to magnetite as the main phase. The duration of chemical precipitation in the presence of ammonia does not affect the phase composition of the obtained materials. Using the thermolysis of iron oxalates allows obtaining a higher degree of crystallinity of magnetite. The obtained data are consistent with the results of infrared spectroscopy, which showed that the studied samples have a structure of magnetite with minor inclusions of hematite and a surface coating of OH and N-H functional groups.

Magnetite powder particles were found to be spherical and nanosized, but agglomerated, with an average diameter of 23-34 nm and 33-84 nm for the chemical precipitation method and the thermolysis method, respectively. The analysis of particle size distribution and shape factor indicates uniform distribution of particles and similarity of shape factor for all powders, regardless of the method and technological features of synthesis. In addition, it is shown that the specific surface area and skeleton density values decrease with increasing synthesis time of powders obtained by chemical precipitation in the presence of ammonia. It was established that magnetite with the highest value of the specific surface ($141 \pm 1 \text{ m}^2/\text{g}$) can be obtained by synthesis from a solution of a mixture of iron chlorides for 5 minutes in the presence of ammonia.

It has been proven that the magnetic properties of the obtained powders, namely the specific saturation magnetization and coercive force, depend significantly on the synthesis conditions in the case of the chemical precipitation

method in the presence of ammonia: the longer the synthesis time, the lower the values of specific magnetization and coercive force. In turn, thermolysis of iron oxalates allows for an order of magnitude increase in the specific saturation magnetization. The obtained research data allow us to confirm the superparamagnetic properties of the obtained magnetite powders.

The choice of magnetite powders synthesized by the chemical precipitation for 5 min and by the thermolysis of iron oxalates in a nitrogen environment for the creation of the composite material BHA\magnetite\chitosan is substantiated, since their initial properties, namely: particle size, specific surface area, magnetic and adsorption properties, as well as the absence of a toxic effect on living cells, are the most optimal for creating a composites for medical application.

The **fourth chapter** is devoted to the investigation of the structure and physical and mechanical properties of BHA-based biocomposites modified by magnetite (99/1, 95/5, 75/25 and 50/50 wt. %) of various types with a chitosan content of 10% by weight of magnetite. Using the methods of X-ray diffraction and IR spectroscopy, it was established that the phase composition of the studied materials is represented by the phases of hydroxyapatite, magnetite, and chitosan. It is also shown that in the BHA crystal lattice, Ca^{2+} ions are replaced by Fe^{2+} ions, as a decrease in the size of the crystallites along the a and c axes, as well as the volume of the crystal lattice, is observed in proportion to the increase in the amount of magnetite, regardless of the type.

According to microstructure studies, composite powders are represented by rounded agglomerates of different sizes. It was established that the size of the particles depends on the mass ratio of BHA and magnetite. The decrease in the size of the particles (agglomerates) depends on the increase in the magnetite content, since the original powder is nanosized, regardless of the synthesis method, unlike BHA particles. An increase in the amount of BHA in the composition leads to the formation of a smoother surface. At the same time, a uniform distribution of particles is observed for all materials, regardless of the ratio of BHA and different types of magnetite in the composition of the composite. It is shown that, for all compositions

more than 89% of particles have a shape factor of more than 0.8, which indicates the formation of particles of the correct shape.

It was established that with an increase in the content of magnetite in the composition of composites, regardless of the synthesis method, the values of the specific surface area, skeleton density and mechanical properties (compressive and tensile strength, modulus of elasticity, total porosity, pore volume) increase. The obtained values of mechanical properties are comparable to the strength of human spongy bones, which makes the studied composites promising materials for replacing unloaded areas of bone tissue.

It is shown that the magnetic properties of composites modified with magnetite (therm.) are an order of magnitude higher than those of composites modified with magnetite (chem.), which is related to the characteristics of the initial magnetite powders. In general, the magnetic properties of the obtained materials indicate the promising use of BHA/magnetite/chitosan composites as magnetosensitive materials and the possibility of use for hyperthermia, targeted drug delivery, and magnetotherapy.

Chapter five describes the results of in vitro experiments, namely the behavior of BHA/magnetite/chitosan composite materials in a model physiological solution under thermostatic conditions for different periods of time (2, 10, 16, and 31 days), as well as cytotoxicity studies.

It was established that during the interaction of the investigated composites with physiological solution, resorption of the material occurs, which is confirmed by a change in pH, loss of mass, increases in specific surface area, changes in morphology, and a decrease in the size of material particles. At the same time, after interaction with physiological solution, no changes were found in the phase composition of the composites, which is represented by the phases of hydroxyapatite, magnetite, and chitosan, regardless of the ratio of components.

It was established that the resorption process is most intense in the first 2 days due to the active release of Ca^{2+} and phosphate ions (PO_4^{3-}) into the solution, after

which a gradual slowing down of the dissolution rate is observed on 15-16 day of the experiment.

It is shown that an increase in the content of magnetite leads to an increase in the resorption of composites, and the use of magnetite obtained by chemical precipitation allows to achieve a resorption rate of 2.5-5.3 wt.%/day, which is 3.5-7.5 times higher compared to "pure" biogenic hydroxyapatite and 1.2-2 times higher compared to composites based on magnetite obtained by thermolysis in a nitrogen environment.

The absence of cytotoxicity of composites against MDCK and MDBK cell lines was established, especially at low and medium concentrations, as the percentage of cell viability was more than 80% for all composites, regardless of the composition and type of magnetite used, which is an important prerequisite for further clinical trials and successful implementation of composites in medical practice.

Key words: composite material, biocomposite, hydroxyapatite, magnetite, iron oxide, chitosan, nanoparticles, magnetosensitive material, bone substitute, strength, cytotoxicity.

За темою дисертації опубліковані наступні роботи:

1. **А. О. Синиця**, А. П. Яценко, О. Є. Сич, Т. Є. Бабутіна, Т. В. Томила, О. І. Биков, А. О. Перекос, Н. В. Бошицька, Синтез та властивості магнетиту для створення біокомпозитів / Доповіді Національної академії наук України. - 2021. - № 1. - с. 49-55. DOI: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2021.01.049> (Категорія “Б”)

Особистий внесок здобувачки: синтез магнетиту, участь у дослідженнях ІЧ-спектрів матеріалів, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку.

2. **А. Synytsia**, O. Sych, A. Iatsenko, T. Babutina, T. Tomila, O. Vykov, O. Olifan, T. Lobunets, A. Perekos, N. Boshytska, Effect of type and parameters of synthesis on the properties of magnetite nanoparticles / Applied Nanoscience. - 2021. - № 12. – pp. 929-937. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13204-021-01797-5> (Q2)

Особистий внесок здобувачки: синтез порошків магнетиту, участь у дослідженнях ІЧ-спектру матеріалів, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку.

3. **А. Synytsia**, Magnetic nanoparticles: synthesis, structure, properties and biomedical application / Advanced Nano-Bio-Materials and Devices. - 2022. - № 6(1). - pp. 674-687. (міжнародний журнал)

Особистий внесок здобувачки: аналіз та узагальнення літератури, підготовка статті до друку.

4. **А. Synytsia**, O. Sych, T. Babutina, T. Tomila, O. Vykov, Biogenic hydroxyapatite-based composites modified by magnetite and chitosan: synthesis, phase composition and structure / Functional materials. – 2022. - 29, № 2. - pp. 299-304. DOI: <https://doi.org/10.15407/fm29.02.299> (Q4)

Особистий внесок здобувачки: синтез композиційних матеріалів, участь у дослідженнях ІЧ-спектру матеріалів, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку.

5. **A. Synytsia, P. Zaremba, S. Zahorodnia, O. Sych, T. Babutina, I. Kondratenko**, Biogenic hydroxyapatite-based composites modified by magnetite and chitosan: bioresorption in physiological solution and cytotoxicity / *Functional materials*. – 2022. – 29, No 4. – pp. 506-513. DOI: <https://doi.org/10.15407/fm29.04.506> (Q4)

Особистий внесок здобувачки: синтез композиційних матеріалів, дослідження розподілу частинок та фактору форми за допомогою програмного забезпечення, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку.

6. **A. Synytsia, V. Zenkov, O. Sych, A. Iatsenko, O. Khomenko**, Investigation of adsorption – desorption kinetic of water vapors on magnetite nanopowder prepared by chemical precipitation method in the presence of hydrazine / *Advanced Nano-Bio-Materials and Devices*. – 2022. – № 6(4). – pp. 688-693. (міжнародний журнал)

Особистий внесок здобувачки: синтез композиційних матеріалів, дослідження та обробка результатів резорбції біоматеріалів, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку

7. **A.O. Synytsia, V.S. Zenkov, O.E. Sych, O.I. Khomenko, and T.E. Babutina** Adsorption of water vapors on magnetite powders prepared by chemical precipitation and thermolysis methods / *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*. - 62, No. 3-4. - pp. 133-141 DOI: <https://doi.org/10.1007/s11106-023-00376-3> (Q3)

Особистий внесок здобувачки: синтез порошків магнетиту методом хімічного осадження, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку

Список публікацій, що засвідчують апробацію дисертації на наукових конференціях

8. **A. Synytsia, O. Kuda, O. Sych, N. Boshytska**, Synthesis of composite material based on biogenic hydroxyapatite modified by magnetite and chitosan for medical application / 6th International conference HighMathTech 2019, October 28-30, 2019 Kyiv, Ukraine.

9. **A. Synytsia**, O. Sych, A. Iatsenko, T. Babutina, T. Tomila, O. Bykov, O. Olifan, T. Lobunets, A. Perekos, N. Boshytska, Effect of type and parameters of synthesis on the properties of magnetite nanoparticles for medical application / International research and practice conference “Nanotechnology and Nanomaterials” (NANO-2020), 26-29 August 2020, Lviv, Ukraine.

10. **A. Synytsia**, O. Sych, A. Iatsenko, T. Babutina, O. Bykov, T. Tomila, O. Olifan, N. Boshytska, Hydroxyapatite-based composite modified by magnetite and chitosan for medical application / International research and practice conference “Nanotechnology and Nanomaterials” (NANO-2021), 25-27 August 2021, Lviv, Ukraine.

11. **A.O. Synytsia**, T.E. Babutina, V.S. Zenkov, O.E. Sych, O.I. Khomenko, Comparative investigation of adsorption kinetic of water vapors on magnetite nanopowders prepared by chemical precipitation and thermal decomposition / VIII International Samsonov conference “Materials science of refractory compounds”, 24 - 27 May 2022, Kyiv, Ukraine.

12. O. Sych, **A. Synytsia**, T. Babutina, Investigation of the rate of resorption hydroxyapatite-based composites modified by magnetite and chitosan for medical application / International research and practice conference “Nanotechnology and Nanomaterials” (NANO-2022), 25-27 August, 2022, Lviv, Ukraine.

13. **A.O. Synytsia**, V.S. Zenkov, O.E. Sych, A.P. Iatsenko, O.I. Khomenko, Investigation of adsorption – desorption kinetic of water vapors on magnetite nanopowder prepared by chemical precipitation method in the presence of hydrazine / International Conference on Engineering, Materials, Technologies, Transport, 19-20 October, 2022, Kyiv, Ukraine.

14. **A. Synytsia**, P. Zaremba, S. Zahorodnia, O. Sych, T. Babutina, I. Kondratenko, Cytotoxicity of magnetite and biogenic hydroxyapatite-based composites modified by magnetite and chitosan / International Conference on Engineering, Materials, Technologies, Transport, 19-20 October, 2022, Kyiv, Ukraine.

15. **A. Synytsia**, O. Sych, Ya. Yevich, D. Vedel, T. Babutina, I. Kondratenko, Mechanical properties of hydroxyapatite-based biocomposites modified by magnetite and chitosan / International Conference on Engineering, Materials, Technologies, Transport (MTE – 2023), 16-18 May, 2023, Lutsk, Ukraine.

16. **A. Synytsia**, O. Sych, T. Babutina, O. Olifan Effect of physiological solution for different time on morphology of biogenic hydroxyapatite/magnetite/chitosan biocomposites / International research and practice conference “Nanotechnology and Nanomaterials” (NANO-2023), 16-19 August, 2023, Bukovel, Ukraine.

17. **Anna Synytsia**, Olena Sych, Anatolii Perekos, Tatiana Babutina, Iryna Kondratenko Hydroxyapatite-based composites modified by magnetite and chitosan as a magnetic material for medical application / 8th International Materials Science Conference HighMathTech-2023, October 2-6, 2023 Kyiv, Ukraine.

18. **A. Synytsia**, V. Zenkov, O. Sych, T. Babutina, I. Kondratenko, O. Khomenko Adsorption – desorption kinetic of water vapours on hydroxyapatite/magnetite/chitosan biocomposites / Ukrainian Conference with International Participation “CHEMISTRY, PHYSICS AND TECHNOLOGY OF SURFACE“, 11-12 October, 2023, Kyiv, Ukraine.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	20
ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....	29
1.1 Структура кісткової тканини. Основні вимоги до біоматеріалів, які використовуються в якості кісткових заміників	29
1.2 Гідроксиапатит як біоматеріал для відновлення кісткової тканини....	34
1.3 Біогенний гідроксиапатит: джерела отримання, переваги та недоліки.....	39
1.4 Наночастинки магнетиту (Fe_3O_4) та їх застосування у біомедицині... 45	
1.4.1 Структура та магнітні властивості магнетиту	46
1.4.2 Методи синтезу магнітних наночастинок	48
1.4.3 Застосування магнітних наночастинок у біомедичиних цілях.....	53
1.5 Хітозан та його застосування у біомедицині	56
1.6 Композиційні матеріали на основі гідроксиапатиту та їх біомедичне застосування	59
1.7 Обґрунтування вибору напрямків дослідження	62
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	65
2.1. Синтез вихідних матеріалів	65
2.1.1 Отримання порошків магнетиту.....	67
2.2.2 Синтез композиційного матеріалу БГА/магнетит/хітозан	70
2.2 Методики та методи дослідження.....	72
2.2.1 Методики дослідження фазового та хімічного складу	72

	17
2.2.2 Методика дослідження морфології.....	74
2.2.3 Методика дослідження фізико-механічних властивостей.....	76
2.2.4 Методика дослідження магнітних властивостей.....	78
2.2.5 Методика дослідження кінетики адсорбційно-десорбційних процесів.....	79
2.2.6 Методика проведення термогравіметричного аналізу.....	80
2.2.7 Методика дослідження резорбційних властивостей.....	80
2.2.8 Методика дослідження цитотоксичності МТТ-методом.....	81
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПАРАМЕТРІВ ТА МЕТОДІВ СИНТЕЗУ НА СТРУКТУРУ ТА ВЛАСТИВОСТІ МАГНЕТИТУ	83
3.1 Дослідження фазового та хімічного складу порошків магнетиту	83
3.2 Дослідження морфології та питомої поверхні порошків магнетиту ..	88
3.3 Магнітні властивості порошків магнетиту.....	94
3.4 Дослідження кінетики адсорбції парів води на поверхні порошків магнетиту	97
3.5 Вибір порошків магнетиту для створення біокомпозитів	102
3.5.1 Обґрунтування вибору типу магнетиту для створення біокомпозитів	102
3.5.2 Дослідження цитотоксичності порошків магнетиту для створення біокомпозитів	104
Висновки до розділу	105
РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ТА СТРУКТУРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ БІОКОМПОЗИТІВ НА ОСНОВІ ГІДРОКСИПАТИТУ, МОДИФІКОВАНИХ МАГНЕТИТОМ ТА ХІТОЗАНОМ.....	108

4.1	Композиційні матеріали на основі біогенного гідроксиапатиту, модифіковані магнетитом, отриманим методом хімічного осадження та хітозаном	108
4.1.1	Дослідження фазового та хімічного складу композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан	108
4.1.2	Дослідження морфології композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан	118
4.1.3	Дослідження механічних властивостей композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан	123
4.1.4	Дослідження магнітних властивостей композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан	128
4.1.5	Дослідження адсорбційних властивостей композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан	131
4.2	Композиційні матеріали на основі біогенного гідроксиапатиту, модифіковані магнетитом, отриманим методом термолізу та хітозаном.....	134
4.2.1	Дослідження фазового та хімічного складу композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан	134
4.2.2	Дослідження морфології композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан	142
4.2.3	Дослідження механічних властивостей композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан	146
4.2.4	Дослідження магнітних властивостей композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан	150
4.2.5	Дослідження адсорбційних властивостей композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан	152
	Висновки до розділу	155

РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ ПОВЕДІНКИ КОМПОЗИТІВ НА ОСНОВІ БІОГЕННОГО ГІДРОКСИАПАТИТУ, МОДИФІКОВАНИХ МАГНЕТИТОМ ТА ХІТОЗАНОМ В УМОВАХ IN VITRO.....	158
5.1 Дослідження резорбції композитів на основі БГА, модифікованих магнетитом, отриманого методом хімічного осадження та хітозаном.....	158
5.2 Дослідження резорбції композитів на основі БГА, модифікованих магнетитом, отриманого методом термолізу та хітозаном	170
5.3 Дослідження цитотоксичності композитів на основі біогенного гідроксиapatиту, модифікованих магнетитом та хітозаном.....	184
Висновки до розділу	187
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	189
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	192
ДОДАТКИ.....	216
Додаток А.....	216
Додаток Б	217
Додаток В.....	218
Додаток Г	219
Додаток Д.....	221

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- ГА – гідроксиапатит
- БГА – біогенний гідроксиапатит
- СГА – синтетичний гідроксиапатит
- ВРХ – велика рогата худоба
- НЧ – наночастинки
- МНЧ – магнітні наночастинки
- ПАР – поверхнево-активна речовина
- МРТ – магнітно-резонансна терапія
- Х.ч. – хімічно чистий
- РФА – рентгенофазовий аналіз
- ІЧ спектроскопія – інфрачервона спектроскопія
- СЕМ – скануюча електронна мікроскопія
- БЕТ – теорія Брунауера-Еммета-Теллера, на якій заснований метод газової адсорбції
- ДТГА - диференційний термогравіметричний аналіз
- Магнетит(хім.) – магнетит, отриманий методом хімічного осадження
- Магнетит(терм.) – магнетит, отриманий методом термічного розкладу (термолізом)

ВСТУП

Актуальність теми. На сьогоднішній день важко переоцінити зростання ролі біоактивних матеріалів для лікування та регенерації кісткової тканини, адже кісткові дефекти посідають значне місце у клінічній практиці вже значний період часу. Так, по даним дослідження, опублікованого міжнародним журналом The Lancet, за останні десятиліття кількість пошкоджень кісток збільшилося на 33,4 %. Згідно даних Американської асоціації хірургів (AAOS) за 2022 рік, лікарі фіксують близько 6,8 мільйонів переломів та травм кісток щороку.

Відповідно до основних вимог, матеріали-замінники кісток повинні бути остеоіндуктивним, резорбувати в організмі з контрольованою швидкістю, не маючи при цьому токсичних продуктів розкладу, мати достатні механічні властивості, щоб забезпечувати тимчасову підтримку в ураженій ділянці, та сприяти васкуляризації. Діапазон матеріалів для кісткових трансплантатів, доступних у сучасній клінічній практиці включає аутологічну кістку (від самого пацієнта), алогенну кістку (від донора), демінералізовані кісткові матриці, а також широкий спектр синтетичних кісткових замінників біоматеріалів таких як метали, кераміка, полімери та різноманітні композиційні матеріали. Незважаючи на численні дослідження, жоден доступний на даний момент штучний матеріал не може гарантувати властивості та реакцію організму у порівнянні з аутоотрансплантованою кісткою, що спонукає науковців до постійного вдосконалення існуючих або створення нових матеріалів.

Гідроксиапатит (синтетичного та біогенного походження) як неорганічний аналог кісткової тканини завдяки своїм унікальним властивостям утримує лідируючі позиції для лікування дефектів кісткової тканини в ортопедії, травматології та стоматології вже не одне десятиліття. Останнім часом інтерес до біогенного гідроксиапатиту (БГА) суттєво зріс, адже його отримання з різноманітних природних джерел є технологічно

простим і недорогим, забезпечує отримання термічно стабільного матеріалу до температур вище 1300 °С, а також є продуктом так званого рециклінгу.

В Україні кальцій-фосфатні матеріали розробляють та досліджують ще з 80-х років минулого століття. А вже в 1990-х роках були проведені перші випробування *in vivo* імплантатів та біокомпозитів на основі біогенного гідроксиапатиту (БГА), розроблені в Інституті проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України, і було показано високу кісткоутворюючу роль БГА в процесах остеогенезу, біосумісність, толерантність до оточуючих їх кісткових та м'язотканинних структур, відсутність негативного впливу на окремі частини кісткової системи тварин і на організм в цілому, а композити на основі БГА у вигляді гранул та блоків були успішно використані для заповнення кісткових порожнин у пацієнтів з пухлиноподібними захворюваннями кінцівок. На сьогоднішній день даною проблематикою займаються в Інституті хімії поверхні ім. О. О. Чуйка НАН України, в Медичному інституті Сумського державного університету, в Харківському національному університеті ім. В. Н. Каразіна, Інституті металофізики ім. Г. В. Курдюмова НАН України та ін.

Однак, бажання вдосконалити властивості існуючих матеріалів спонукало дослідників зосередитися на створенні ряду функціональних матеріалів на основі гідроксиапатиту, модифікуючи його різними, як неорганічними, так і органічними добавками, щоб пришвидшити регенерацію кісткової тканини та уникнути небажаних запальних реакцій. Так, перспективними матеріалами є композити на основі БГА, модифіковані магнетитом та хітозаном, що дозволяє поєднати біосумісність фосфатної складової, антибактеріальні, та адсорбційні властивості природного полімеру та магнітні властивості подвійного оксиду заліза. Крім того, наявність у композиті магнітних наночастинок збільшує можливості біомедичних застосувань, серед яких медична візуалізація, контрольована доставка лікарських засобів, гіпертермія, а також магнітотерапія. При цьому, надзвичайною перевагою таких композитів є можливість регулювання їх

характеристик (як з біологічної, так і з технічної точки зору) під час синтезу, що дає можливість виготовити недорогі біоматеріали з підвищеною ефективністю для терапевтичного та регенераційного використання.

Зважаючи на тенденції розвитку біомедичного матеріалознавства та сучасні виклики суспільства, особливо для України в роки війни та повоєнного відновлення, створення нових композиційних матеріалів медичного призначення для лікування дефектів кісткової тканини є надзвичайно актуальним завданням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами.

Дисертаційну роботу виконано в рамках наукових програм Інституту проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України:

- III-7-22 “Дослідження закономірностей формування структури та властивостей біокомпозитів медичного призначення”, № держреєстрації 0122U000385, 2022-2024 рр;
- II-14-21 “Дослідження адсорбційних властивостей та поведінки *in vitro* композитів медичного призначення на основі біогенного гідроксиапатиту, модифікованого магнетитом та хітозаном”, № держреєстрації 012U111938, 2021-2022 рр;
- III-8-19 “Нові композиційні матеріали медичного призначення на основі гідроксиапатиту модифікованого магнетитом із хітозаном та бактерицидними добавками”, № держреєстрації 011U100508, 2019-2021 рр.

Мета роботи – дослідження закономірностей формування структури та властивостей композиційних матеріалів біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан в залежності від кількості та методів синтезу введеного до їх складу магнетиту, та розробка нових матеріалів медичного призначення.

Для досягнення поставленої мети вирішуються наступні **завдання**:

1. синтез нанорозмірного магнетиту методами хімічного осадження хлоридів заліза та термічного розкладу оксалатів заліза;

2. порівняльне дослідження структури та властивостей синтезованих порошків магнетиту та вибір оптимальних для подальшого отримання композитів;
3. отримання порошкових та компактних композитів біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан з різним масовим співвідношенням БГА та магнетиту;
4. порівняльне дослідження структури та властивостей отриманих композитів БГА/магнетит/хітозан;
5. дати рекомендації щодо оптимального медичного призначення одержаних композитів.

Об'єкт дослідження – композиційні матеріали на основі біогенного гідроксиапатиту, модифіковані магнетитом, одержаним різними методами синтезу, та хітозаном.

Предмет дослідження – взаємозв'язок між особливостями формування структури та властивостями композиційних матеріалів БГА/магнетит/хітозан в залежності від методів синтезу магнетиту та співвідношення компонентів.

Методи дослідження: рентгенофазовий аналіз; інфрачервона спектроскопія; диференційний термогравіметричний метод аналізу; енергодисперсійний рентгенофлуоресцентний елементний аналіз; скануюча електронна мікроскопія; методи визначення площі питомої поверхні, густини, пористості, розподілу частинок за розміром і формою, адсорбційних властивостей, міцності на стиск та згин, магнітних властивостей, досліди *in vitro*.

Наукова новизна отриманих результатів:

1. Оптимізовано метод синтезу магнетиту шляхом скорочення тривалості хімічного осадження до 5 хв при використанні як осаджувач розчин аміаку. Одержано не цитотоксичний нанорозмірний порошок магнетиту з розміром частинок 23-34 нм, суттєво покращеною морфологією та питомою поверхнею 141 м²/г. Визначено, що адсорбційні властивості вказаного порошку на порядок вище, ніж у порошків синтезованих при більш тривалих процесах

осадження або методом термічного розкладу у вуглеводневому чи азотному середовищах, а магнітні властивості не поступаються вітчизняним та закордонним аналогам.

2. Вперше показано, що застосування магнетиту, отриманого методом осадження протягом 5 хв при створенні композиційних матеріалів БГА/магнетит/хітозан у кількості від 1 мас.% до 50 мас.%, дозволяє збільшити швидкість резорбції у 3,5-7,5 рази у порівнянні з чистим біогенним гідроксиапатитом і в 1,2-2 рази у порівнянні з композитами, що містять магнетит, отриманий термолізом.

3. Вперше встановлено, що магнетит, отриманий методом осадження протягом 5 хв, у 7 разів підвищує механічні властивості композиційних матеріалів БГА/магнетит/хітозан у порівнянні з чистим біогенним гідроксиапатитом, та у 3 рази – у порівнянні з композитами, що містять магнетит, отриманий термолізом. Механічні властивості одержаних композитів співставні з міцністю губчастих кісток людини.

4. Вперше, на основі експериментальних досліджень в широкому діапазоні масових співвідношень біогенного гідроксиапатиту та магнетиту (99/1, 95/5, 75/25, 50/50) показано можливість регулювання структури та властивостей композиційних матеріалів БГА/магнетит/хітозан в залежності від співвідношення основних компонентів, методу та середовища синтезу магнетиту. Це дозволило оптимізувати характеристики та створити нові магніточутливі матеріали медичного призначення.

Практичне значення отриманих результатів:

1. Розроблено нові композиційні матеріали на основі біогенного гідроксиапатиту з одержаним різними методами синтезу магнетитом та хітозаном. Зміна співвідношення компонентів дозволяє регулювати морфологію, швидкість резорбції, магнітні властивості композитів та рекомендувати їх для подальших досліджень як магніточутливих матеріалів з перспективою застосування в ортопедії та травматології. Це у поєднанні з

можливістю доставки лікарських засобів та магнітотерапією сприятиме прискоренню лікування дефектів ненавантажених ділянок кісткової тканини.

2. Одержані матеріали пройшли успішні експериментальні випробовування на цитотоксичність в Інституті мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАНУ (Акт випробування зразків композиційних матеріалів біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан, наданий Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАНУ);

3. Розроблені композити були оцінені як перспективні для подальших досліджень та використання у відновній хірургії клінікою неврології та нейроортопедії “Time+” (Акт огляду зразків композиційних матеріалів біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан, наданий Клінікою неврології та нейроортопедії “Time+” від 15.08.2023 р.);

4. Матеріали дисертації було використано у навчальному процесі кафедри фізичної терапії та ерготерапії Національного університету фізичного виховання і спорту України (Акт впровадження результатів наукових досліджень в освітній процес кафедри фізичної терапії та ерготерапії, наданий Національним університетом фізичного виховання і спорту України від 4.09.2023 р.).

Особистий внесок здобувачки. Основні експериментальні результати дисертаційної роботи отримані особисто або за безпосередньої участі. Особисто проведено літературний пошук та узагальнення отриманих результатів. Постановка задач дослідження проводилася д.т.н. І. В. Уваровою, планування експерименту запропоновано та обговорено під керівництвом наукового керівника д.т.н. Н. В. Бошицької та керівника від. № 31 ІІМ НАНУ к.т.н. О. Є. Сич.

Безпосередньо дисертанткою проведено синтез порошків магнетиту методом хімічного осадження, а також, синтез порошкових та компактних зразків композиційного матеріалу на основі біогенного гідроксиапатиту, модифікованого магнетитом, отриманого методом хімічного осадження хлоридів заліза та методом термолізу оксалатів заліза і хітозаном. Також

особисто проведено дослідження резорбції отриманих композиційних матеріалів різного рецептурного складу.

Значну кількість досліджень було проведено у колективі з співробітниками Інституту проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України. Синтез магнетиту методом термолізу оксалатів заліза в вуглеводневому та азотному середовищах проводився спільно з Т. Є. Бабутіною та І. Г. Кондратенко (ІПМ НАНУ). Дослідження фазового складу та кристалічної структури проводився спільно з к.т.н. О. І. Биковим та О. І. Оліфан (ІПМ НАНУ), хімічного складу – з Л. С. Проценко та О. М. Будиліною (ІПМ НАНУ). Спектри поглинання матеріалів було отримано у співпраці з к.ф.-м.н. Т. В. Томилою (ІПМ НАНУ). Дослідження механічних властивостей було проведено спільно з к.ф.-м.н. Я. І. Євичем (ІПМ НАНУ), питомої поверхні – з Т. Ф. Лобунець (ІПМ НАНУ) та к.т.н. О. Є. Сич (ІПМ НАНУ), магнітних властивостей – з к.т.н. А. О. Перекосом (Інститут металофізики ім. Г.В. Курдюмова НАНУ), процесів адсорбції – десорбції - з к.х.н. В. С. Зенковим (ІПМ НАНУ). Дослідження питомої поверхні та пікометричної густини також були проведені разом з к.т.н. О. Є. Сич (ІПМ НАНУ). Диференційний термогравіметричний аналіз було проведено спільно з В. Г. Колесніченко (ІПМ НАНУ). Дослідження мікроструктури матеріалів проводилися спільно з к.т.н. Д. В. Веделем (ІПМ НАНУ), морфології частинок матеріалів – з к.т.н. О. І. Хоменко (ІПМ НАНУ). Дослідження цитотоксичності матеріалів було проведено спільно з к.б.н. С. Д. Загородньою та П. Ю. Зарембою (Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАНУ).

Апробація результатів. Основні результати роботи доповідалися на наукових конференціях: 6 Міжнародна конференція “HighMathTech – 2019” (Київ, 2019 р.), Міжнародна науково-практична конференція “Nanotechnology and Nanomaterials - 2020” (Львів, 2020 р.), Міжнародна науково-практична конференція “Nanotechnology and Nanomaterials - 2021” (Львів, 2021 р.), VIII Міжнародна Самсонівська конференція “Матеріалознавство тугоплавких сполук” (Київ, 2022 р.), Міжнародна науково-практична конференція

“Nanotechnology and Nanomaterials - 2022” (Львів, 2022 р.), Міжнародна конференція з інженерії, матеріалів, технологій, транспорту “ISC – 2022” (Київ, 2022 р.), Міжнародна конференція з інженерії, матеріалів, технологій, транспорту “МТЕ – 2023” (Луцьк, 2023 р.), Міжнародна науково-практична конференція “Nanotechnology and Nanomaterials - 2023” (Буковель, 2023 р.), 8 Міжнародна матеріалознавча конференція “HighMathTech-2023” (Київ, 2023 р.).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 18 наукових праць: 7 статей у фахових виданнях, 11 публікацій тез доповідей на конференціях.

Структура та обсяг роботи. Дисертаційна робота складається зі вступу, 5 розділів, висновків, переліку посилань та додатків, в тому числі 84 рисунки та 23 таблиці. Повний обсяг роботи складає 222 сторінки. Перелік посилань містить 221 джерело.

РОЗДІЛ 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1 Структура кісткової тканини. Основні вимоги до біоматеріалів, які використовуються в якості кісткових заміників

Регенераційна та відновна кісткова хірургія базується, в першу чергу, на розумінні формування структури кістки та її механіки. Кісткова тканина виконує широкий спектр функцій і реагує на різноманітні метаболічні, фізичні та ендокринні зміни в організмі. Кістки є каркасом, основою для пересування та підтримання нашого тіла та скелету; забезпечують захист наших внутрішніх органів; містять біологічні елементи, необхідні для кровотворення; є своєрідним буфером для токсичних металів; підтримують гомеостаз ключових електролітів через накопичення іонів кальцію та фосфору. Крім того, кісткова тканина бере участь у постійному циклі резорбції та оновлення, зазнаючи безперервного хімічного обміну та структурного ремоделювання за рахунок як внутрішніх процесів, так і зовнішніх механічних потреб.

Кісткова тканина, водночас зі своїм складним клітинним складом, має високоспеціалізовану органіко-неорганічну архітектуру, яку можна класифікувати як мікро- та нанокомпонентну тканину. Загалом, кістки складаються з неорганічної мінеральної фази апатиту (приблизно 65 % сухої маси) для структурного зміцнення, жорсткості, мінерального гомеостазу та органічної фази (переважно колагену, приблизно 35 % сухої маси), що відповідає за жорсткість, в'язкопружність і в'язкість, а також інших неколагенових білків, які стимулюють клітинні функції [1]. Кісткова тканина демонструє чітку ієрархічну структурну організацію своїх складових на багатьох рівнях, включаючи макроструктуру (губчаста та кортикальна кістка), мікроструктуру (гаверсові канали, остеони, одиничні трабекули), субмікроструктуру (ламели), наноструктуру (фібрили колагену) і субнаноструктуру (молекулярна структура колагенових та неколагенових органічних білків) (рис. 1.1) [2].



Рисунок 1.1 - Структурна організація кісткової тканини [3]

Макроскопічно кістка складається з щільної твердої циліндричної оболонки кортикальної кістки вздовж стовбура кістки, яка стає тоншою зі збільшенням відстані від центру до суглобових поверхонь. Кортикальна кістка охоплює значну кількість пористої трабекулярної кістки (губчастої кістки) на проксимальному та дистальному кінцях для кращого розподілення навантаження на суглоби [1]. У людей трабекулярна кістка має пористість 50-90 % із середньою трабекулярною відстанню близько 1 мм і середньою щільністю приблизно $0,2 \text{ г}\cdot\text{см}^{-3}$ [4-6]. Кортикальна кістка має набагато щільнішу структуру з пористістю 3-12 % і середньою щільністю $1,80 \text{ г}\cdot\text{см}^{-3}$ [5, 7].

У мікроскопічному масштабі трабекулярна та кортикальна кістки складаються з мінералізованих колагенових волокон, розташованих паралельно, щоб утворити шари, які називаються ламелами (3–7 мкм завтовшки) [1]. У зрілій кістці ламели обертаються концентричними шарами (3–8 пластинок) навколо центральної частини, яка називається Гаверсовим каналом, який містить нерви та кровоносні судини, утворюючи так званий остеон (або Гаверсову систему) - циліндричну структуру, що проходить паралельно кістці. Наноструктурний рівень представлений колагеновими волокнами, які, в свою чергу, оточені мінеральною складовою.

Мінералізований кістковий матрикс заповнений чотирма активними клітинами кістки: остеобластами, остеокластами, остеоцитами та клітинами кісткової оболонки. На субнаноструктурному рівні трьома основними матеріалами є мінеральні кристали кістки (гідроксиапатит), молекули колагену та неколагенові органічні білки [2].

З точки зору матеріалознавства, кісткова матриця є композиційним матеріалом, кожен із складових якого впливає на механічні властивості кісткової тканини, які залежать не тільки від складу кістки (пористість, мінералізація), а і від структурної організації (вид кістки, орієнтація колагенових волокон, тощо) [8]. Так, кортикальна кістка має модуль Юнга 7-30 ГПа, трабекулярна – 0,5-0,05 ГПа, в свою чергу, колаген має модуль Юнга 1-2 ГПа і межу міцності на розрив 50-1000 МПа в порівнянні з гідроксиапатитом, який має модуль Юнга ~130 ГПа і межу міцності на розрив ~100 МПа [9].

На відміну від більшості інших органів людського тіла, кісткова тканина здатна до справжньої регенерації, тобто загоєння без утворення фіброзної рубцевої тканини [10]. Під час процесу загоєння повторюються основні етапи розвитку кісток, і кістка, регенерована таким чином, структурно чи механічно не відрізняється від навколишньої непошкодженої кісткової тканини [11]. Однак, незважаючи на цю регенеративну здатність, 5-10 % усіх переломів схильні до сповільненого зрощення або прогресування до незрощення та розвитку псевдоартрозу [12, 13].

Діапазон матеріалів для кісткових трансплантатів, доступних у сучасній клінічній практиці включає аутологічну кістку (від самого пацієнта), алогенну кістку (від донора), демінералізовані кісткові матриці, а також широкий спектр синтетичних кісткових замінників біоматеріалів таких як метали, кераміка, полімери та композитні матеріали. Наразі, замінники кістки визначають як «синтетичний органічний або біологічно органічний комбінований біоматеріал, який можна вводити для лікування дефекту кістки замість аутогенної або алогенної кістки» [14]. З перших клінічних застосувань

кісткових заміників в 1993 році, сучасні матеріали зазнали значних змін. Раніше використовувалися здебільшого інертні матеріали-замінники кісток, які функціонували переважно як каркаси під час процесів загоєння. Зараз відбуваються зміни в бік використання «інтелектуальних» біоматеріалів, які б не тільки підтримували, а й сприяли відновленню тканини [15].

Так як всі кісткові замітники виконують функцію, як каркасу так і клітинного матриксу природньої кістки, вони повинні відповідати чітким вимогам і критеріям.

Біосумісність. Як правило, кісткові замітники повинні бути виготовлені з матеріалів, які не здатні викликати імунологічну або клінічно виявлену первинну чи вторинну реакцію на чужорідне тіло [16]. Паралельно з утворенням нової тканини *in vivo*, каркас може руйнуватися через виділення побічних продуктів, які або є біосумісними без доказів виведення з організму (біорозкладані матеріали), або можуть бути виведені з організму природним шляхам, або шляхом простої фільтрації побічних продуктів, або після процесу метаболізму (біорезорбні матеріали) [17].

Пористість зазвичай визначається як відсоток порожнього простору в твердому тілі [18]. Використовуючи тверді та пористі частинки гідроксиапатиту (ГА) для доставки фактора росту BMP-2, було показано, що пори мають вирішальне значення для формування кісткової тканини, оскільки вони дозволяють міграцію та проліферацію остеобластів, а також покращують васкуляризацію, в той час як на твердих частинках не утворювалася нова кісткова тканина [19]. Пориста поверхня також покращує механічне зчеплення між імплантованими матеріалом і навколишньою природною кістковою тканиною, забезпечуючи більшу механічну стабільність [20].

Пористість каркаса та розмір пор пов'язані з площею поверхні, доступною для адгезії та росту клітин як *in vitro*, так і *in vivo*, а також з потенціалом для вrostання живих тканин, включаючи мережу судин. Однак підвищена пористість і більший розмір порушує структурну цілісність імплантованого матеріалу, і якщо пористість стає занадто високою, це може

одночасно негативно вплинути на механічні властивості [21]. Крім того, більша площа поверхні пор посилює взаємодію матеріалів імплантата з живою тканиною і може прискорити деградацію макрофагами шляхом окислення або гідролізу. Таким чином, каркаси, виготовлені з біоматеріалів з високою швидкістю деградації, не повинні мати високу пористість (>90 %), щоб уникнути порушення механічної та структурної цілісності перед заміною новоутвореною кістковою тканиною. Кісткові замітники ж, виготовлені з біоматеріалів, що повільно розкладаються, з міцними механічними властивостями, можуть, навпаки, бути дуже пористими [22].

Механічні властивості та біодеградація. При розробці кістково замінних матеріалів необхідно враховувати фізико-хімічні властивості, морфологію та біомеханічні властивості, а також кінетику деградації. Вважається, що імплантат допомагатиме розвитку утворення нової кістки, сприяючи прикріпленню, міграції, проліферації та диференціації кісткових клітин. Паралельно з утворенням тканин, матеріал також повинен зазнати деградації, щоб забезпечити остаточну заміну імплантату новоствореною кістковою тканиною. Крім того, він також повинен відповідати за тимчасову механічну підтримку та стабільність у місці оперативного втручання, поки нова кістка повністю не дозріє та не зможе витримувати механічне навантаження [21]. Тому для досягнення оптимальних результатів необхідно ретельно збалансувати біомеханічні властивості матеріалу кісткового замінника з кінетикою його деградації. Має бути обраний такий матеріал, який розкладається та резорбується з контрольованою швидкістю, надаючи імплантату достатню механічну стабільність у будь-який час, але водночас який дозволить новій кістковій тканині, сформованій *in vivo*, замінити його структуру.

Відповідно до основних вимог, ідеальний матеріал замінника кістки повинен мати остеоіндуктивну тривимірну структуру, містити остеогенні клітини та остеоіндуктивні фактори, мати достатні механічні властивості та сприяти васкуляризації [23, 24]. Незважаючи на фундаментальні дослідження,

жоден доступний на даний момент матеріал не може гарантувати ці властивості в одному матеріалі, як, наприклад аутотрансплантована кістка. Таким чином, головний виклик для дослідників полягає в тому, щоб об'єднати каркас або тривимірну конструкцію з живими клітинами та/або біологічно активними молекулами для формування єдиного матеріалу, який сприятиме відновленню та регенерації кісткової тканини [21, 25].

1.2 Гідроксиапатит як біоматеріал для відновлення кісткової тканини

Біомінералізація – природний процес утворення різноманітних накопичень мінералів організмами у процесі своєї життєдіяльності [26]. Серед них фосфати кальцію, які утворюються в організмі ссавців внаслідок кальцифікації тканин, таких як зуби, кістки [27]. Фосфати кальцію класифікуються відповідно до молярного співвідношення кальцію та фосфору Ca/P в діапазоні від 0,5 до 2,0 (Таб. 1.1).

Таблиця 1.1 – Основні відомі фосфати кальцію

Назва	Хімічна формула	Запис	Ca/P	Розчинність, рKs при 25 °C
1	2	3	4	5
Гідроксиапатит	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	ГА (НАР)	1.67	116.8
Аморфний фосфат кальцію	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y \cdot n\text{H}_2\text{O}$	АКФ (АСР)	1.2 – 2.2	-
β -трикальцій фосфат	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	β -ТКФ (β -ТСР)	1.5	28.9
α – трикальцій фосфат	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	α – ТКФ (α -ТСР)	1.5	25.5
Октакальцій фосфат	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	ОКФ (ОСР)	1.33	96.6
Дикальцій фосфат безводний (монетит)	CaHPO_4	ДКФБ (ДСРА)	1	6.9
Дикальцій фосфат дегідрат (брушит)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	ДКФБ (ДСРД)	1	6.59

Продовження Таблиці 1.1

1	2	3	4	5
Монокальцій фосфат безводний	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	МКФБ (МСРА)	0.5	1.14
Монокальцій фосфат моногідрат	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	МКФМ (МСРМ)	0.5	1.14

Серед всіх відомих фосфатів кальцію, ГА найбільш широко використовується для регенерації тканин і біомедичних застосувань у формі покриттів на металевих або кісткових імплантатах чи протезах, виробництві імплантатів кісткової та нервової тканини, агентів для вивільнення ліків, захисту ран, субстратів для клітинних культур, ферментативної іммобілізації, (рис. 1.2) завдяки його відмінним властивостям: біосумісності, остеокондукції та схожості з неорганічною складовою природної кістки [28-30].



Рисунок 1.2 – Кістки в людському тілі, які можна замінити імплантатами з ГА [29]

Гідроксиапатит має дві різні кристалічні структури з різною сингонією: моноклінною та гексагональною. Відомо, що в хімічно чистих умовах можливе одержання ГА із моноклінною сингонією ($P2_1$). Однак частіше через недосконалість структури, зумовлену наявністю вакансій, домішок заміщення, та зумовлених ними спотворень у кристалічних ґратках, стає енергетично вигідним утворення ГА у гексагональній сингонії $P6_3/m$ [31, 32]. Тому присутність мікродомішок та інших дефектів у структурі біологічного гідроксиапатиту визначає його характеристики та впливає на фізико-хімічні та хіміко-біологічні властивості. Домішкові атоми можуть по-різному розташовуватися в структурі гідроксиапатиту. Для опису структури ГА зручно ідеальну стехіометричну формулу $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ розписати, враховуючи різні позиції, які займають атоми кальцію в ґратках, як $Ca_4Ca_6(PO_4)(OH)_2$. Дана особливість характерна для всього класу апатитів кальцію і може бути розглянута на прикладі елементарної комірки ГА (рис. 1.3).

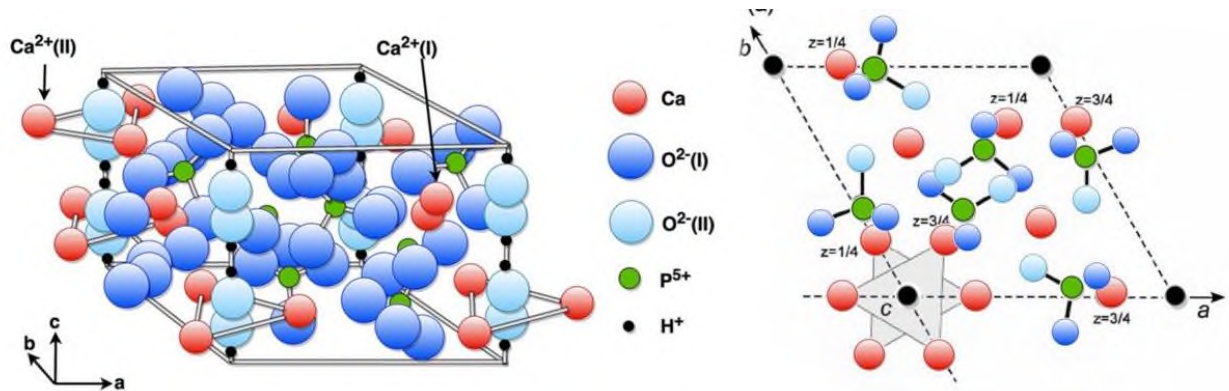


Рисунок 1.3 - Кристалографічна структура елементарної комірки ГА
[33, 34]

В елементарній комірці десять атомів кальцію займають кристалографічно дві нееквівалентні позиції: атоми $Ca(1)$ - 40 % розташовані на осі C_3 і поєднують фосфорно-кисневі тетраедри, які у свою чергу формують «колонки» вздовж осі c, на стінках яких розміщуються іони кальцію $Ca(2)$ - 60 %. По осі сформованого каналу з атомів $Ca(2)$ на осі b_3 розташовані OH групи

(Рис. 1.1). Кожен атом Ca(1) утворює комплекси CaO_9 через атоми кисню тетраедрів PO_4^{3-} . Атоми Ca(2) включають формування комплексів CaO_6OH спільно з OH групою [31-34].

З літератури відомо, що позиції кальцію можуть займати одно-, дво- і тривалентні катіони (K, Na, Mg, Sr, Ba, Zn, Cu, Pb, Ni), а позиції аніонних груп PO_4 – одно-, дво- та тривалентні аніони (SiO_4 , CO_3 , SO_4). У той же час OH - групи гідроксиapatиту можуть заміщати одно- та двовалентні аніони (F, Cl, O, CO_3) [32, 35-38]. Завдяки великій кількості заміщень стає можливою спрямована зміна властивостей гідроксиapatиту та отримання композиційних матеріалів з елементним складом, близьким до природної кісткової тканини людини. Слід зазначити, що структура гідроксиapatиту в більшості випадків при невеликих змінах, що включають використання атомів домішок або наявності вакансій, залишається постійною [31, 35, 37].

Синтез гідроксиapatиту може здійснюватися як з природних органічних матеріалів (яєчна шкаралупа, кістки великої рогатої худоби, мушлі, тощо), так і з неорганічних компонентів. ГА, отриманий із природних джерел, також містить незначну кількість інших іонів, тому він нестехіометричний (співвідношення Ca/P <1,67). В обох варіантах походження, ці матеріали розглядаються як біосумісні та біоактивні, і вони вважаються прийнятними для застосувань *in vitro*.

Основним викликом при синтезі синтетичного гідроксиapatиту (СГА) є точний контроль росту кристалів, який безпосередньо залежить від розміру та геометричної форми кінцевих частинок. Було продемонстровано, що їх мікроскопічна форма, розмір і розподіл розмірів, можуть суттєво впливати на механічні властивості, хімічний склад поверхні, біосумісність і біоактивність [39-42]. Отже, контролюючи форму кристала та частинок, можна розширити потенційні можливості застосування СГА. Наприклад, через низьку механічну надійність гідроксиapatиту, що має звичайну мікроструктуру, синтезований матеріал не може бути використаний у ортопедії та стоматології як несуча конструкція [43-45]. Було продемонстровано, що механічні властивості можна

значно покращити шляхом виготовлення частинок ГА складної форми [46-47]. Тому велика увага приділена новим процедурам синтезу, що мають, в тому числі, точний контроль над геометрією кристала.

Сухі методи синтезу СГА не використовують розчинник, на відміну від мокрих методів. Відповідно до літературних даних, характеристики матеріалу, синтезованого сухим методом, не сильно залежать від параметрів обробки, тому більшість сухих методів не вимагають точно контрольованих умов, що робить їх придатними для масового виробництва [29]. Тому ряд дослідників адаптували добре відомі сухі методи, включаючи твердофазний синтез та механохімічний процес для синтезу СГА [48-52].

Мокрі методи синтезу СГА традиційно застосовуються для отримання частинок, що мають нанорозмірну структуру з правильною морфологією. Серед них, найпоширенішими є хімічне осадження, гідроліз, золь-гель метод, емульсійна обробка, сонохімічний метод [53-57]. Вологі хімічні реакції мають переваги в можливості контролю морфології та середнього розміру порошку, і, виходячи з багатьох експериментальних даних, вони є найбільш перспективними методами для виготовлення нанорозмірного СГА. Однак одним із головних потенційних недоліків є низька температура синтезу порівняно з сухими методами, що призводить до утворення фаз CaP, відмінних від ГА (Таб. 1.1) або зниження кристалічності отриманого порошку. Крім того, різні іони у водному розчині можуть бути включені в кристалічну структуру, що призводить до слідів різноманітних домішок [53].

Підсумовуючи, можна зазначити, що велика кількість методів синтезу СГА дозволяє значною мірою контролювати вихідні параметри отриманого матеріалу, такі як розмір частинок, морфологія, кристалічність, механічні властивості, тощо. Однак, на противагу цьому, використання більшості даних методів синтезу є складними з технологічної точки зору, високовартісними, що обумовлено все тим же суровим контролем процесів синтезу. Саме тому, актуальність отримання гідроксиапатиту за допомогою ефективного, легкого, економічно вигідного та екологічного методу синтезу зростає з кожним днем.

1.3 Біогенний гідроксиapatит: джерела отримання, переваги та недоліки

Природний (біогенний) гідроксиapatит (БГА) зазвичай отримують з біологічних джерел або відходів, таких як кістки ссавців (великої рогатої худоби, верблюдів та коней), морських або водних джерел (риб'ячі кістки та луска), мушель або панцирів (панцирі моллюсків, ячна шкаралупа та морські мушлі), рослин і водоростей, а також з мінеральних джерел (вапняк). На рисунку 1.4 показано джерела та методи синтезу БГА.



Рисунок 1.4 – Джерела та методи отримання БГА

Стехіометричний ГА складається з кальцію та фосфору з молярним співвідношенням Ca/P, рівним 1,67. Доведено, що це співвідношення є найбільш ефективним у сприянні регенерації кісткової тканини [58]. БГА є

нестехіометричним і має дефіцит або кальцію, або фосфору. Позичіи кальцію є найпоширенішою вакансією в структурі, де катіони, такі як Na^{2+} , Mg^{2+} та Al^{3+} , заміщені в позиціях кальцію, тоді як іони карбонату можуть замінити іони фосфату або гідроксилу, а іони фтору замінюють іони гідроксилу. Наявність мікроелементів у БГА імітує апатит, отриманий з людської кістки [59-60]. Вони необхідні для регенерації кістки та прискорюють процес її формування [58].

Більшість літературних джерел повідомляють про отримання БГА з кісток великої рогатої худоби (ВРХ), порівняно з кістками верблюдів, коней і свиней. Зазвичай використовують кортикальну частину стегнової кістки, оскільки вона морфологічно та структурно подібна до кісток людини [61]. Як правило проводиться попередня обробка вилученого кісткового матеріалу, яка передбачає промивання та видалення бруду, м'яких тканин і кісткового мозку. Деякі літературні джерела повідомляють про використання окропу для видалення органічних компонентів з кістки шляхом кип'ятіння протягом 8 годин або більше [62, 63]. Також використовують комбінацію кип'ятіння та промивання розчинниками, такими як ацетон і хлороформ [64, 65]. Іншим широко використовуваним методом попередньої обробки є промивання кістки по черзі поверхнево-активною речовиною та розчинами лугу для видалення м'яких тканин і децелюляризації [66].

Короткий опис методів синтезу, які використовують для отримання ГА із кісток ссавців, представлено в таблиці 1.2. Відповідно до даних, метод прожарювання є найчастіше використовуваним методом, порівняно з іншими. Метод кальцинування полягає у видаленні органічних компонентів в кістці за допомогою термічного процесу. Органічна речовина перетворюється на вуглекислий газ і золу (сполуки фосфату кальцію). Цей фосфат кальцію зазвичай не розкладається при температурі нижче $1200\text{ }^{\circ}\text{C}$ і присутній у складі БГА у вигляді різних фаз фосфату кальцію (CaP). З іншого боку, використання високих температур прожарювання дозволяє видалити всі патогени та запобігти можливості передачі таких захворювань, як губчаста енцефалопатія

ВРХ та хвороба Крейцфельда-Якоба [63, 67, 68]. Крім того, кістки ссавців містять джерела іонів і мікроелементів [66, 69-71]. Іони Mg і Na зустрічаються найчастіше, при цьому концентрація цих елементів різна, що може бути пов'язано з відмінностями в раціоні тварин.

Таблиця 1.2 – Властивості БГА з кісток ссавців, залежно від методів одержання

Властивості	Методи		
	Прожарювання [62, 65, 66, 71]	Гідроліз у лужному середовищі [64, 66]	Комбінований [63, 65, 72, 73]
Морфологія	Неправильна, паличкоподібна	Лускоподібна, неправильна	Голкоподібна, неправильна, пластинчаста
Розмір частинок	28-900 нм	20-100 нм	70-700 нм
Кристалічність	Висока	Низька	Висока
Співвідношення Ca/P	1.500-2.131	1.67-1.86	1.657-1.720
Присутність мікроелементів	<ul style="list-style-type: none"> • Mg, Na, Zn, Sr, Ba • Mg, Na • Mg, Na, Sr, Fe, Al, Zn 	<ul style="list-style-type: none"> • Mg, Na, Zn, Sr, Ba 	-

Співвідношення Ca/P екстрагованого ГА з кісток ссавців може змінювався від 1,5 до 2,13. Згідно з таблицею 1.2, метод прожарювання призводить до високого значення Ca/P порівняно з методом гідролізу в лужному середовищі, тоді як комбінація методів дає більш вузький діапазон Ca/P, близький до стехіометрії. Згідно з дослідженнями, нестехіометричне співвідношення Ca/P виникає через наявність мікроелементів [58], які замінюють Ca в решітці апатиту [74]. Використання високих температур прожарювання може призвести до фазових змін, наприклад, до утворення фази β-трикальцій фосфату. В свою чергу, присутність CaO може збільшити співвідношення Ca/P.

Морфологічний аналіз БГА з кісток ссавців показав, що частинки здебільшого мають неправильну форму, а деякі дослідження показують наявність паличкоподібної, лускоподібної, голкоподібної або пластинчастої форми. Вважається, що зміна морфології та розмірів частинок не залежить від методу або джерела отримання БГА [69-71]. Використання додаткового помелу допомагає зменшити розмір частинок до нанометричного розміру, близького до природного ГА. Крім того, нанорозмірні частинки мають переваги з точки зору високої поверхневої активності, вищої біоактивності та кращої резорбції, порівняно з частинками мікронного розміру, а також дозволяє покращити спікання та ущільнення, уникаючи утворення мікротріщин і знижує апоптотичну загибель клітин [74-79].

Збільшення споживання риби в усьому світі спричинило значне зростання кількості рибних відходів у вигляді луски та кісток. Відновлення *рибної луски та кісток* дозволяє отримувати БГА і зменшувати тверді відходи в рибній промисловості [80]. Попередню обробку риб'ячих кісток/луски проводять різними методами: кип'ятінням, замочуванням у низькій концентрації соляної кислоти для процесу депротейнізації, з подальшим промиванням у проточній воді [80-85].

У таблиці 1.3 представлені основні методи, які використовують для отримання БГА з кісток та луски риб. Використання методів гідролізу (у лужному середовищі, ферментативний гідроліз) та методу попередньої іонної обробки може дозволити екстрагувати чистий ГА без перетворення його в інші фази СаР. Гідроліз видаляє лише органічний компонент кістки або луски, не змінюючи хімічну структуру апатиту. Крім того, метод прожарювання дозволяє отримувати матеріал з вищим ступенем кристалічності, порівняно з іншими методами.

Співвідношення Са/Р БГА, отриманого з кісток та луски риб не було подібним до стехіометричного. Як підсумовано в таблиці 1.3, метод прожарювання дозволяв отримати матеріал, у якому співвідношення Са/Р

було близьким до стехіометричного (1,62–1,71). В іншому випадку, використовуючи гідроліз, співвідношення Ca/P збільшувалося до 2,01.

Таблиця 1.3 - Властивості БГА з кісток та луски риб, залежно від методів одержання

Властивості	Методи			
	Прожарювання [81-83]	Гідроліз (лужний і ферментативний) [84-86]	Попередня обробка іонною рідиною [87]	Комбінований [80]
Морфологія	Неправильна, майже сферична, утворення агломератів	Плоскопластинчата, шестигранна, стрижнеподібна, неправильна	Змінна	Утворення агломератів
Розмір частинок	5-1000 нм	5-719 нм	1870 нм	76 нм
Кристалічність	Висока	Низька	Низька	Висока
Співвідношення Ca/P	1.62-1.71	1.66-2.01	1.60	1.62
Присутність мікроелементів	<ul style="list-style-type: none"> • Mg • Mg, Sr, Na, K 	-	-	-

Відповідно до даних, більш високе співвідношення Ca/P, було зумовлене наявністю карбонатних іонів, які замінюють фосфат у структурі апатиту (карбонат В-типу) [84]. Крім того, елементний аналіз підтвердив наявність мікроелементів, при цьому іони Mg були присутні в апатиті як з риб'ячої кістки, так і з луски, тоді як такі мікроелементи, як Sr, Na та K, були знайдені в БГА, отриманого з риб'ячої луски.

Зазвичай, панцирі, мушлі та шкаралупа яєць є в природі у великій кількості і потрапляють до відходів, однак, вони надзвичайно багаті карбонатом кальцію (CaCO_3), який можна перетворити на гідроксиapatит. Як правило, природні оболонки промивають дистильованою водою для видалення піску та бруду та додатково очищують за допомогою відбілювача. Потім їх прожарюють для утворення CaO [87], який разом із надлишком

CaCO_3 використовують для подальшої обробки хімічними речовинами для отримання високочистого БГА.

Таблиця 1.4 - Властивості БГА з природних оболонок (панцирів, мушель, шкаралупи яєць), залежно від методів одержання

Властивості	Методи (включають в себе попереднє прожарювання)			
	Хімічне осадження [87-89]	Гідротермальний [90]	Механо-хімічний [91]	Мікрохвильове опромінення [92]
Морфологія	Сферична, стрижнеподібна, голчаста, краплеподібна	Голчаста, стрижнеподібна	Утворення полігональних агломератів	Стрижнеподібна
Розмір частинок	5-100 нм	24-200 нм	53-67 нм	30-70 нм
Співвідношення Ca/P	1.68 – 1.8	1.76 - 1.8	1.6	1.65

У таблиці 1.4 узагальнено властивості ГА, екстрагованого з оболонок. Слід зазначити, що для отримання ГА високої чистоти потрібні додаткові етапи синтезу. Перший крок синтезу передбачає перетворення CaCO_3 на CaO , після чого відбувається реакція з джерелом фосфату, таким як фосфорна кислота, розчин аміаку або гідрофосфат діамонію, а потім додаткова обробка для перетворення цих джерел кальцію та фосфату в гідроксиапатит. Методи синтезу включають хімічні (хімічне осадження), механічні (механохімічні) і термічні реакції.

Рослини (листя папаї, календули, чайного куща, м'яти, базилику), водорості (мікрowodорості Scenedesmus sp. і червоні водорості C. officinalis) та їх відходи (наприклад, апельсинова та картопляна шкірки) також є одним із джерел, які використовуються для отримання БГА. Так, повідомляють про використання листя папаї та квітів календули для отримання БГА методом хімічного осадження. Частини рослини кип'ятили у воді протягом 10 хвилин,

фільтрат змішували з лужним розчином тетрагідрату нітрату кальцію та інкубували протягом 24 годин при 30 °С. Після цього отриманий розчин додавали до 0,156 М лужного розчину діамоній гідрофосфату, перемішували та витримували протягом одного тижня при 30°C. Морфологія отриманих частинок апатиту змінювалася залежно від методу обробки, і очевидно, що такі біомолекули, як еноєві кислоти в екстракті картопляної шкірки, бета-каротин і вітаміни, присутні в екстракті листя папаї та лімонен в апельсиновій шкірці відіграють важливу роль у контролі морфології та розміру частинок БГА [93]. Однак, у більшості методів отримання БГА з рослин необхідне додавання прекурсора кальцію або фосфату через відсутність одного з цих компонентів у самій рослині.

Окрім листя та стебел, джерелом отримання БГА є також *деревна частина рослин*, але цей процес технологічно достатньо складний. У дослідженнях використовували комбінацію з п'яти етапів для досягнення повного фазового перетворення соснової деревини в чистий ГА [94]. Етапи включають піроліз, окислення, карбонізацію та фосфатування. Кожна стадія супроводжується фазовим перетворенням хімічних компонентів у деревині, аж поки не з'являлася чиста фаза апатиту.

Загалом, використання ГА, отриманого з природних джерел, можна вважати екологічно чистим, стійким і економічно вигідним процесом виготовлення біогенних матеріалів, оскільки вихідна сировина доступна у великих кількостях.

1.4 Наночастинки магнетиту (Fe_3O_4) та їх застосування у біомедицині

Наночастинки оксиду заліза використовуються у більшості досліджень завдяки їх біосумісності, високій намагніченості насичення, високій магнітній сприйнятливості та хімічній стабільності. Але, в той же час, наночастинки (НЧ) з високими магнітними властивостями, включаючи нікель і кобальт,

легко окислюються і токсичні. На сьогоднішній день, згідно зі стандартними токсикологічними і фармакологічними дослідженнями препарати на основі наночастинок магнетиту (Fe_3O_4) є достатньо безпечними, тому ці засоби впроваджуються у практичну медицину [95], а також є найбільш використовуваними у біомедичних цілях [96]. Вони демонструють відмінні електричні та магнітні характеристики в результаті перенесення іонів від Fe^{2+} до іонів Fe^{3+} . Магнітні наночастинки (МНЧ), що використовуються в біомедичній галузі, зазвичай менше 20 нм, завдяки чому проявляють властивості суперпарамагнетизму. Вони також широко використовуються порівняно з іншими завдяки їх біосумісній хімії поверхні, високій величині намагніченості насичення, звуженому розподілу частинок за розміром (<100 нм) та властивості суперпарамагнетизму [97].

1.4.1 Структура та магнітні властивості магнетиту

Основні деталі будови магнетиту були встановлені в 1915 році - це була одна з перших мінеральних структур, до якої застосовували дифракцію рентгенівських променів (Bragg, 1915; Nishikawa, 1915). Магнетит має кристалічну структуру, яка являє собою кубічну зворотну структуру шпінелі, упаковану уздовж площини (1, 1, 1), в якій Fe^{2+} і Fe^{3+} займають октаедричні порожнини решітки, а Fe^{3+} - порожнини тетраедричної решітки, як показано на рисунку 1.5 (а).

Формулу магнетиту можна позначити як $\text{Fe}^{3+}(\text{A})[\text{Fe}^{2+} \text{Fe}^{3+}](\text{B})\text{O}_4$, де А – тетраедричний шар, а В – октаедричний шар. На рисунку 1.5 (б) показана послідовність Fe- та O-шарів, а розріз цієї структури з трьома октаедрами та двома тетраедрами зображений на рисунку 1.5 (в). Швидкі електрони, що перміщуються на октаедричних ділянках між іонами Fe^{2+} та Fe^{3+} можуть стимулювати провідність магнетиту [98].

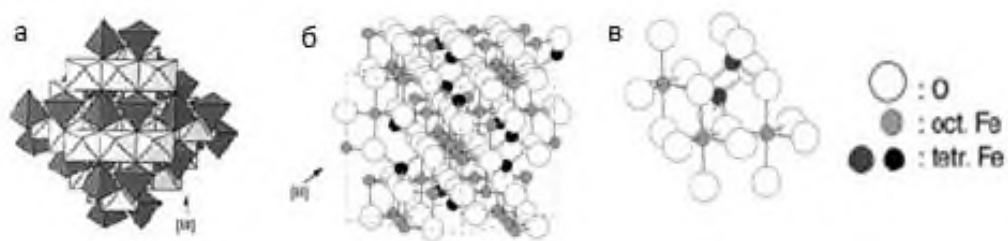


Рисунок 1.5 - Структура магнетиту: а – багатогранна модель з чергуванням октаедричних та тетраедричних шарів; б – послідовність Fe- та O- шарів; в – модель послідовності O- Fe- шарів та у октаедричному та тетраедричному шарах [99]

Магнетит походить із сімейства шпінелей. Здебільшого він має різні кінетичні характеристики: поведінка магнітних частинок відрізняється за трьох різних фаз температури. Першою фазою є температура Вервея, де перехід Вервея коливається від 0 до 119 К. На цій фазі магнетит перетворюється з напівпровідникової в металеву фазу. Другою фазою є температура Кюрі, яка коливається від 120 до 840 К. Третя фаза - коли температура перевищує 840 К, де частинки поведуться як парамагнітний метал [100]. Теплові властивості частинок магнетиту дуже важливі в біомедицині, особливо при терапії гіпертермією.

Для застосування наночастинок магнетиту в біомедицині, вони повинні мати нульовий магнітний залишок за відсутності зовнішнього магнітного поля, тобто вони повинні мати властивості суперпарамагнетизму. Це явище відбувається лише нижче T_b (енергетичного бар'єру). Тому значення T_b повинні бути нижче кімнатної температури, щоб збільшити потенціал наночастинок [101]. Іншими словами, при низькому T_b суперпарамагнітні властивості магнітних наночастинок, як правило, набагато кращі, що призводить до більшої контрастності речовини для магнітно-резонансної терапії (МРТ) та більш високої тепловіддачі при гіпертермії.

Будь-який ферромагнітний матеріал зазвичай має залишкову намагніченість і коерцитивність, як показано на рисунку 1.6 [102]. Зменшення

розміру частинок до nano-, зменшує кількість обмінних спінів, які спонтанно збуджують магнітну переорієнтацію. Це явище призводить до суперпарамагнітної поведінки.



Рисунок 1.6 - Петля гістерезису типового ферромагнетизму [102]

Намагніченість насичення - це точка, в якій певний матеріал не може далі намагнічуватися за допомогою прикладеного магнітного поля. Значення намагніченості насичення відображає магнітну силу матеріалу. Високі значення намагніченості насичення наночастинок Fe_3O_4 є однією з найважливіших властивостей з точки зору біомедичного застосування. Це допомагає в доставці ліків до ракових клітин через зовнішнє магнітне поле і діє як хороший контрастний агент для проекції зображення з високою роздільною здатністю при магнітно-резонансній томографії.

1.4.2 Методи синтезу магнітних наночастинок

Магнетит синтезують хімічними, фізичними та біологічними методами. Фізичні методи - це переважно складні технологічні процеси, головним недоліком яких є неможливість контролювати розмір частинок в

нанометровому діапазоні, однак, в той же час, перевагами є швидкість процесу синтезу, краща чистота та вузький розподіл за розмірами вихідних наночастинок [103, 104]. Головними перевагами біологічних методів синтезу є вибірковість та точність утворення магнітних частинок та екологічність процесів. На противагу цьому, недоліками є труднощі в контролі розміру та властивостей вихідних наночастинок [105]. Хімічні методи синтезу мають ряд переваг, таких як простота та ефективність можливості контролю розміру, форми та структури наночастинок. Також, суттєвою перевагою є хороша відтворюваність експерименту, низька собівартість продукції та прибутковість [106].

Хімічне (спільне) осадження. В загальному, цей спосіб полягає у змішуванні іонів заліза (Fe^{2+}) та заліза (Fe^{3+}) у мольному співвідношенні 1:2 в базовому розчині. Суміш залишають для проходження реакції або при кімнатній температурі, або при підвищеній температурі. Розмір, форма та магнітні властивості наночастинок магнетиту залежать від типу використовуваних солей, молярного співвідношення іонів двовалентного та тривалентного заліза, значення рН, швидкості перемішування, температури проходження реакції та інших параметрів. Ці фактори потрібно ретельно контролювати, щоб частинки магнетиту потрапляли в обраний діапазон значень необхідних параметрів.

Основними недоліками методу спільного осадження є низька кристалічність, полідисперсність та великий розподіл частинок за розмірами, утворення агломератів. Це спричиняє низький рівень намагніченості насичення (від 30 до 50 emu^{-1} , у порівнянні з 92 emu^{-1} природного магнетиту). В той же час, головною його перевагою є простота, метод є одним із найуспішніших та найрізноманітніших шляхів синтезу магнітних наночастинок у світі. Метод спільного осадження має значно нижчу швидкість реакції та температуру, ніж гідротермічний та термічний розклади. Крім того, використання води як розчинника є екологічно чистим, що також забезпечує масштабне та продуктивне виробництво.

Термічний розклад (термоліз) ґрунтується на використанні дуже високої теплової енергії для руйнування хімічних зв'язків прекурсора заліза до того, як відбудеться інша реакція з утворенням наночастинок магнетиту. В основному термічний розклад відбувається при розкладанні металорганічного прекурсора заліза високою температурою за допомогою органічного розчинника з високою температурою кипіння (феніловий ефір або дифеніловий ефір) у присутності поверхнево-активної речовини (ПАР). Найпоширеніші металорганічні прекурсоры поділяються на три сімейства:

- карбоксилат заліза (ацетилацетонат заліза $\text{Fe}(\text{acac})_3$, олеат заліза $\text{Fe}(\text{oleate})_3$),
- карбоніл заліза (пентакарбоніл заліза $\text{Fe}(\text{CO})_5$),
- купферонат заліза ($(\text{Fe}(\text{Cup}))_3$).

Найпоширенішими ПАР є жирні кислоти, гексадециламін, олеїнова кислота. Морфологією та розміром наночастинок магнетиту можна керувати за допомогою різних параметрів, таких як співвідношення вихідних реагентів, тип використовуваного розчинника або ПАР, перемішування, температура реакції, час реакції.

Гідротермальний метод. Суть гідротермального методу полягає в тому, що наночастинки магнетиту з контрольованими розмірами та формою синтезуються шляхом нагрівання різних прекурсоров заліза при високій температурі. Реакцію можна проводити як у водному середовищі в реакторах, так і в автоклавах під високим тиском (0,3 до 4 МПа) і високою температурою (від 130 °С до 250 °С). Як правило, сіль Fe^{3+} використовують як прекурсор у розчиннику. Такі параметри синтезу, як тип використовуваного прекурсора заліза, співвідношення прекурсора до розчинника, час реакції та температура реакції, повинні контролюватися, для того, щоб отримати необхідну форму та хорошу кристалічність наночастинок магнетиту.

Мікроемульсійний метод. Суть методу полягає у використанні двофазного гетерогенного розчину вода-в-маслі, де перемішуються прекурсоры заліза [107]. Як місце зародження наночастинок використовують

водні фази і процес відбувається, як правило, у присутності молекул ПАР з метою утворення міцел. Процес осадження магнетиту починається в міцелі, коли дві однакові мікроемульсії, що містять бажаний реагент, змішуються. Розмір і полідисперсність наночастинок всередині міцел можна регулювати зміною швидкості перемішування, об'ємної температури, типу використовуваного розчинника, використовуваного ПАР, додавання електроліту, концентрації реагенту та молярного співвідношення води до ПАР [108].

Золь-гель метод. Цей метод базується на гідроксилюванні та конденсації молекулярних прекурсорів у розчині. Отриманий «золь» з нанометричних частинок сушать або «гелюють» шляхом видалення розчинника, або за допомогою хімічної реакції для отримання тривимірної оксидної металевої решітки. В якості розчинника використовується вода, але прекурсори можуть гідролізуватися за допомогою кислоти або луги. Базовий каталіз дає колоїдний гель, тоді як кислотний каталіз формує полімерний гель. Реакцію проводять при кімнатній температурі, однак для отримання кінцевого кристалічного стану необхідна термічна обробка [109].

Параметрами, що впливають на синтез є рН, природа та концентрація прекурсора солі, кінетика, температура, перемішування та властивості гелю. Перевагами золь – гель методу є синтез матеріалів із заданою структурою, чистою аморфною фазою, монодисперсність, хороший контроль розміру частинок, контроль мікроструктури, однорідність вихідних частинок [110]. Недоліком методу є те, що він генерує тривимірні оксидні решітки, а отже, він обмежений у своїй ефективності щодо утворення окремих нанорозмірних частинок.

Поліольний метод – це перспективна методика отримання наночастинок із контролем розміру та форми. За допомогою контролю кінетики осадження можна отримати неагломеровані частинки з чітко визначеною формою та розміром. По суті, частинки диспергуються у водному полярному середовищі та мають високу кристалічність завдяки високій температурі поблизу точки

кипіння поліолу, що застосовується під час процесу. Кращий контроль середнього розміру частинок можна отримати, висіявши реакційне середовище сторонніми частинками (гетерогенне зародження). Таким чином, етапи зародження та росту можуть бути повністю відокремлені, що дасть однорідні частинки.

Розчинники у вигляді поліолів, наприклад, поліетиленгліколь, мають ряд властивостей - завдяки своїм високим діелектричним константам вони діють як розчинники, здатні розчиняти неорганічні сполуки, а завдяки відносно високим температурам кипіння вони мають широкий діапазон робочих температур (від 25 ° С до температури кипіння) для одержання неорганічних сполук [111]. Поліолі також служать відновниками і стабілізаторами для контролю росту частинок і запобігання агрегації між частинками.

Сонохімічний підхід використовує перетворення звуко-хімічної енергії для синтезу нових магнітних наночастинок. Акустична кавітація (утворення порожнини в рідині) виробляє бульбашки за допомогою високої інтенсивності ультразвуку, який перетворює реагенти в бажані наночастилки. Акустичне опромінення здійснюється за допомогою ультразвукового зонду, який працює на частоті 20 кГц. Щодо ультразвукового опромінення, то постійно змінювані стискаючі та експансивні акустичні хвилі утворюють бульбашки (тобто порожнини) і змушують їх коливатися. Коливальні бульбашки можуть ефективно накопичувати ультразвукову енергію і певною мірою зростати (~ 10 мм). У правильному стані бульбашка може зруйнуватися, виділяючи накопичену кінетичну енергію протягом дуже короткого періоду. Ці кавітаційні руйнування з тиском ~ 1800 атм, температурою 5000 К і швидкістю охолодження понад 10¹⁰ К/с є тимчасовими і добре локалізованими. Форму та розмір частинок можна змінити, контролюючи час опромінення, потужність та час кипіння [112].

Сонохімічний метод має ряд переваг, серед яких швидкість та динаміка хімічних реакцій та однорідність вихідної суміші. Наночастинки, отримані за допомогою цього методу, також є однорідними за розміром і формою [113].

1.4.3 Застосування магнітних наночастинок у біомедичних цілях

Завдяки поєднанню властивостей магнетизму з нанометровими розмірами, магнітні наночастинки є дуже привабливим матеріалом для біомедичних та технологічних застосувань. Також їх привабливість пов'язана з їх здатністю функціонувати на клітинному масштабі. Завдяки невеликому керованому розміру та формі, МНЧ порівняні з біологічними об'єктами і здатні легко взаємодіяти з ними або «наближатися» до них. Дійсно, діапазон розмірів наночастинок (НЧ) може бути близьким до розмірів вірусів (20–450 нм), білків (5–50 нм) та клітин (10–100 мкм), залежно від методів синтезу (Розділ 1.3.2).

Біомедичне застосування наночастинок магнетиту можна розділити залежно від того, знаходяться вони всередині організму (*in vivo*) або поза ним (*in vitro*). Застосування *in vivo* можна додатково класифікувати на діагностичні (МРТ) та терапевтичні (гіпертермія та доставка ліків) застосування. Два основні фактори, які необхідно враховувати при використанні МНЧ *in vivo* - це розмір та модифікація поверхні. Наночастинки мають величезну поверхню, яка може бути модифікована великою кількістю функціональних груп для зшивання з лігандами націленими на пухлину, для діагностичної візуалізації або доставки терапевтичного агента.

Застосування *in vitro* в основному стосуються діагностичної сепарації (розділення), магніторелаксометрії, іммобілізації ензимів та керованого відбору. Завдяки суперпарамагнітним властивостям магнітних частинок, вони успішно використовуються для поділу, очищення та виділення різних біомолекул, таких як антитіла, ДНК, білки, гени, антигени та нуклеїнові кислоти [114]. Також в діагностиці широко використовуються біосенсори -

аналітичні пристрої, основною функцією яких є перетворення біологічної, хімічної чи біохімічної реакції в електричні сигнали [115].

Хоча наночастинки Fe_3O_4 є перспективними у багатьох застосуваннях *in vivo*, основним їх недоліком є розпізнавання їх імунною системою. Перш за все, вони складаються з елементів, які відрізняються від тих, що утворюють молекули живого організму, що провокує реакцію імунної системи, а отже, призводить до швидкого виведення з крові і зниження стабільності у фізіологічних середовищах [116].

По-друге, для біомедичної візуалізації в МРТ в режимі реального часу, залучення МНЧ потребує деяких вимог. Розмір частинок сильно впливає на контраст, а це впливає на кількість, яку потрібно вводити пацієнтам [117]. Слід зазначити, що контрастні речовини з наночастинок в основному складаються з трьох основних частин: ядра посилення сигналу, біосумісного агента та оболонки, та функціональних ланцюгів для цільового використання. Більшість частинок виводиться печінкою через селективне поглинання клітинами Купфера, що складають тканину цього органу. Селезінка, нирки та кістковий мозок також беруть участь у метаболізмі наночастинок. Завдяки швидкому засвоєнню, швидко відбувається і виведення з організму, що дає лише короткий період для досягнення мети, задля якої вводять ін'єкцію. Наприклад, така швидка метаболічна реакція може спричинити недостатню точність діагностики у випадку візуалізації у реальному часі. Такий процес виведення, який зазвичай називають процесом опсонізації, насправді є компромісним для будь-якого типу наночастинок, але його можна контролювати декількома факторами (розмір, морфологія, стан поверхні), щоб подолати проблему швидкого виведення [118]. Так, препарат для поліпшення візуалізації за допомогою МРТ, дозується із розрахунку 2,6 мг заліза/кг, а тому після введення в організм його концентрація в плазмі крові може становити приблизно 0,037 мг заліза/мл. Оскільки період напіввиведення цього препарату близько 30 год, то з часом його концентрація в організмі знижується [119].

Коли НЧ магнетиту використовуються *in vivo*, людський організм здатний перетворювати їх на іони заліза і використовувати залізо, що виділяється, для біологічних процесів, наприклад, утворення еритроцитів [120]. Однак, частинки не повинні піддаватися несподіваному виділенню заліза, що приведе до збільшення його кількості, яке додасться до кількості, вже існуючій в крові, і спричинить перевантаження організму залізом [121]. Але, на противагу цьому, залізо, яке вивільняється, бере участь в обмінних процесах, в тому числі у утворенню гемоглобіну, що дає змогу застосовувати частинки магнетиту для лікування пацієнтів із залізодефіцитною анемією [122].

По-третє, розмір сприяє проникненню МНЧ через тканини або капіляри, що іноді викликає проблеми з екстравазацією (витікання крові або інших рідин з судин у навколишні тканини) після внутрішньовенного введення. Проблеми з екстравазацією досить часті в ракових тканинах, оскільки пухлинні тканини мають судинну систему з неоднорідною морфологією. У випадку МНЧ для лікування раку, проблеми з екстравазацією в пухлинній тканині можуть виникати частіше, ніж у звичайних тканинах, і можуть спричиняти зменшення ефективності дії препаратів у зоні ураження [121]. Щоб спрогнозувати дію магнітних матеріалів *in vivo*, потрібно глибоке розуміння фармакокінетичних механізмів, пов'язаних з виведенням чужерідних сполук з організму. По суті, механізм розподілу метаболізму - виведення чужерідних частинок після опромінення, відповідає процесу ниркової фільтрації із крові. У разі гідророзчинних частинок, виведення буде етапом метаболізму, тоді як ліпофільні сполуки або більші частинки будуть метаболізуватися іншими органами через їх здатність обходити ниркову фільтрацію [118]. Типовий біорозподіл через кілька хвилин після очищення потоку крові від магнітних частинок становить 90% у печінці, 2% у селезінці та 8% у кістковому мозку, але ці дані сильно залежать від розміру [117].

Багато інших факторів впливають на поведінку МНЧ у фізіологічних середовищах, якими слід керувати, щоб запобігти швидкому виведенню та

забезпечити доставку та розподіл частинок у цільовій зоні. Цими факторами є здебільшого, розмір, склад, морфологія та хімія поверхні, але останні досягнення дозволяють отримувати МНЧ, що мають регульовану поверхню, що робить їх непомітними для імунної системи [118].

Повідомлялося, що НЧ можуть бути функціоналізовані через поверхню за допомогою безлічі хімічних модифікацій, включаючи біосумісні молекули, такі як полімери, гідрофільні молекули та ін. Крім того, встановлено, що цитотоксичність частинок Fe_3O_4 залежить від наявності поверхневого покриття [123, 124]. Встановлено, що при використанні НЧ розміром 40–50 нм у концентрації 1 мг/мл, покритих поліетиленгліколем (PEG), понад 99 % клітин залишилися життєздатними порівняно з контрольною групою [125]. Також повідомлялося про дослідження НЧ розміром 45 нм у концентрації 2,0 мг/мл, покритих пулуланом (pullulan), які практично не мали токсичного впливу на культури клітин – 92 % клітин залишалися життєздатними [126]. Також, модифікації поверхні МНЧ можуть ввести в оману імунну систему, відтермінувати стадію метаболізму і посилити затримку магнітних частинок у потоці крові, що є перевагою для ряду терапевтичних програм.

1.5 Хітозан та його застосування у біомедицині

Хітин (рис. 1.7) - другий за поширеністю біополімер після целюлози. Хітозан виробляється з хітину, який є природним полісахаридом, що міститься у крабах, креветках, омарах, коралах, медузах, метеликах, сонечках та грибах. Саме панцирі морських ракоподібних широко використовуються для виробництва хітозану. Критерій розмежування хітину та хітозану стосується їх розчинності у кислих водних розчинах. Хітозан розчинний у розведеному кислому водному розчині (крім водних розчинів сірчаної кислоти), тоді як хітин – ні [127].

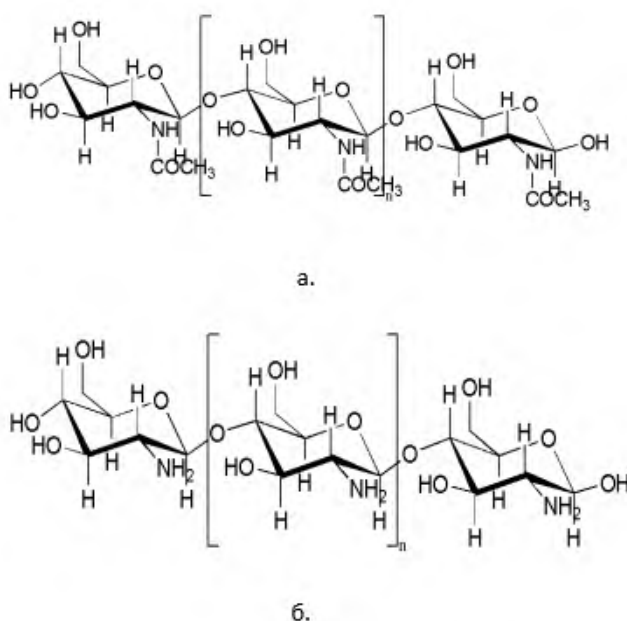


Рисунок 1.7 - Структура а – хітину, б – хітозану

Загалом, хітозан отримують із хітину за допомогою реакції N-деацетилювання (Рис. 1.8). Амідний зв'язок із залишків ацетильованих амінів уздовж ланцюга хітину важко гідролізувати порівняно з іншими карбонільвмісними групами (наприклад, складними ефірами). Отже, цей процес проводять при температурах вище 70 °С (у багатьох підходах температура становить близько 100 °С) з використанням концентрованих водних розчинів лугів (NaOH або KOH) у концентраціях 40-50%.

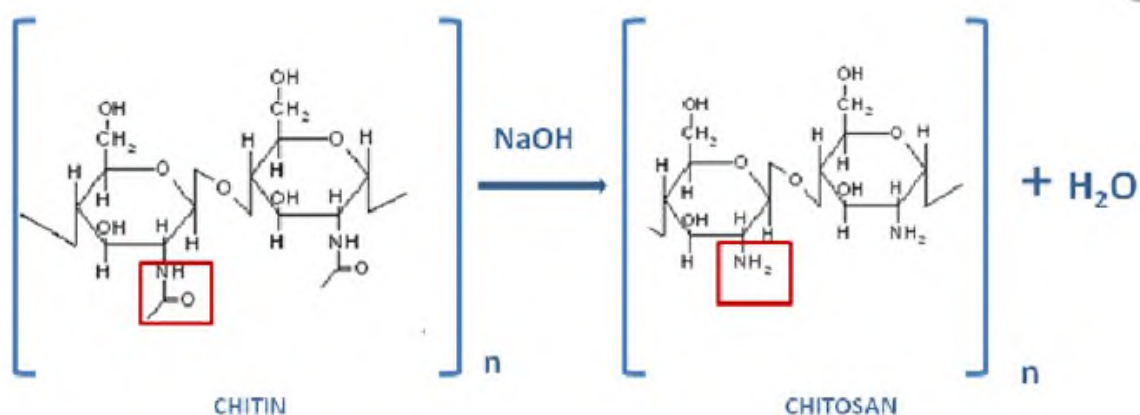


Рисунок 1.8 - Схема деацетилювання хітозану [128]

Властивості хітозану залежать від ряду параметрів процесу, таких як концентрація лугу, масове співвідношення між твердою основою та хітином, час реакції деацетилювання, тип хітину, що використовується в якості сировини, розмір частинок хітину, спосіб деацетилювання та реакційна атмосфера [128].

Використання хітозану у біомедичних цілях вперше було описано в 1994 році, коли Оя та ін. запропонували внутрішньовенне введення 5-фторурацилу, протипухлинного препарату, що переносився частинками хітозану, отриманих шляхом емульгування та зшивання. Відтоді модифіковано та описано ряд методів синтезу наночастинок хітозану: емульсійно-краплинна коалесценція, дифузія емульсійного розчинника, зворотний міцелярний метод, іонне гелеутворення, комплексоутворення поліелектролітів та дезольвація [129].

Хітозан має специфічні властивості, які роблять його перспективним біоматеріалом, для застосування у багатьох галузях медицини. Цей полімер демонструє як чудову біосумісність, майже нетоксичний для людей та тварин, має високу біоактивність, біорозкладаність, вибірккову проникність, поліелектролітну дію, антимікробну активність, здатність утворювати гель і плівку, хелатну, реакційну та абсорбційну здатність [130]. Ці особливі властивості забезпечують різноманітне застосування, наприклад: як носій лікарського засобу з контрольованим вивільненням, антибактеріальний та антикислотний агент; пригнічування утворення бактеріального нальоту та декальцифікацію зубної емалі; сприяння остеогенезу; жиропоглинаючу дію та сприяння загоєнню виразок та вогнищ ураження [131-134].

Хітозан має визнану антимікробну активність, оскільки це є однією з основних властивостей полімеру. Кілька дослідників кажуть, що цей полісахарид має антимікробну дію щодо великої кількості різноманітних мікроорганізмів, таких як водорості, гриби, дріжджі, бактерії [135]. Повідомляється, що хітозан діє у клітинній стінці мікроорганізму, змінюючи електричний потенціал клітинної мембрани. Цей полісахарид також посилює

інші інгібуючі препарати, таких, наприклад, як хлоргексидиновий гель, збільшуючи час дії препарату [136].

Через свої погані механічні властивості та знижену біоактивність, чистий хітозан не підходить для відновлення дефектів кісткових тканин. Але при створенні композиційних матеріалів для відновлення кісток, хітозан має подібну хімічну структуру та біологічну поведінку з компонентами позаклітинного матриксу в процесі біомінералізації зубів або кісток. Так як чистий каркас з хітозану має деякі недоліки, такі як швидка деградація, недостатня механічна міцність та відсутність біоактивних сигнальних молекул клітин, додавання біомінералів, особливо ГА, може значно покращити щільність композиту, в'язкість руйнування та біоактивність [137].

1.6 Композиційні матеріали на основі гідроксиапатиту та їх біомедичне застосування

Дослідження останніх років зосередилися на створення ряду функціональних матеріалів на основі БГА, модифікованого різними, як неорганічними, так і органічними добавками. Можна виділити 2 основні форми апатиту в складі таких матеріалів: а) у вигляді порошку або як іншого виду наповнювача для надання біоактивності різноманітним біокомпозитам і гібридним біоматеріалам; б) виготовлення щільних або пористих каркасів, що володіють достатніми механічними властивостями за рахунок додаткового легування.

Хоча БГА вважається хорошим матеріалом для відновлення та регенерації кісткової тканини, остеоіндуктивних властивостей чистого апатиту недостатньо, щоб виправляти великі кісткові дефекти. Для уникнення цих недоліків використовують біологічно активні сполуки, такі як, наприклад, фактори росту, які відіграють ключову роль у процесі ремоделювання кістки [138-139]. З точки зору остеогенної активності та прискореного загоєння кісток, повідомляють про хороші результати для композитів на основі БГА та

натуральних або синтетичних полімерів, модифікованих морфогенетичним білком кісток – 2 (BMP-2) [140-142]. Багатообіцяючі композиції на основі БГА для ортопедичних і ортодонтичних застосувань також були розроблені шляхом модифікації фактором росту фібробластів (FGF) і ендотеліальним фактором росту судин (VEGF), які сприяють мінералізації кісткового матриксу, остеобластогенезу та формуванню нової кістки, osteointegraції імплантату та васкуляризації [143, 144].

Кілька досліджень засвідчили також антиостеопоротичну ефективність композитів на основі БГА, модифікованих алендронатом, ризедронатом і золедронатом (біофосфонати для лікування остеопорозу та хвороби Паджета) з визначенням значного покращення остеогенних процесів [145-147]. Повідомляється про використання декількох форм даних композитів, в тому числі покриттів для імплантатів, каркасів композиційного матеріалу та ін'єкційних препаратів [148, 149]. Також було запропоновано композиційний каркас на основі БГА, наповненого поліпептидом кальцитоніну лосося для сублінгвального лікування остеопорозу [150]. Багатообіцяючі результати також були отримані для біоматеріалів на основі БГА, наповнених антирезорбтивним агентом (деносумаб) або анаболічним агентом (теріпаратид) [151, 152].

Використання природних полімерів у складі матеріалу на основі БГА також сприяє зменшенню їх конструкційних і терапевтичних недоліків, серед яких особливу увагу привертають недосконалість механічних властивостей, неконтрольована здатність до розкладання, імуногенність та сприйнятливність до мікробного забруднення. Дослідження довели, що композит БГА/хітозан має механічні властивості, схожі до кортикальної кістки людини: міцність на вигин становила 100 МПа, а міцність на стиск до 23,3 МПа [153, 154].

У порівнянні з природними полімерами, синтетичні полієфіри (наприклад, полілактид, полі(лактид-ко-гліколід), полікапролактон і полігідроксіалканоати) забезпечують кращі механічні характеристики, підвищену хімічну та структурну стабільність, а також здатність до

біологічного розкладання [155, 156]. Однак через їхні характерні хіміко-біологічні обмеження, включаючи гідрофобність, повільну швидкість розпаду та проблематичну метаболізацію/виведення побічних продуктів, вони потребують додаткових технологічних та конструкційних рішень для інженерії композиційних матеріалів на основі БГА.

Щоб підвищити структурну цілісність і мати можливість змодельовати взаємодію між біологічним оточенням імплантату і неорганічною структурою, було досліджено модифікацію поверхні матеріалів на основі БГА. Було показано, що з'єднання природних або синтетичних полімерів на поверхні БГА покращує колоїдну стабільність і механічні якості матеріалу [157, 158]. При використанні матеріалів з даним покриттям для наповнення кісток такі структури можуть додатково діяти як активні депо для тривалого вивільнення фармацевтичних препаратів, у тому числі ліків та біомолекул. Це стосується як порошкових, так і пористих каркасних форм БГА. Пористі структури, просочені відповідним лікарським засобом, утворюють систему, яка доставляє ліки до ураженої ділянки, а також є каркасом для утворення нової кістки [159]. Ця властивість використовується при розробці нових систем доставки антибіотиків (БГА, покритий нанорозмірними частинками титану, для транспортування молекул дексаметазону; БГА з ячної шкаралупи, навантажений ібупрофеном) та ліків у терапії та профілактиці кісткових захворювань, насамперед остеопорозу, кісткових пухлин (нанострижні ГА, завантажені доксорубіцином, модифікованим фолієвою кислотою) і кісткових метастазів (частинки БГА, функціоналізовані аміном; люмінесцентний БГА із мезопористого стронцію і гадолінію) [160].

Ряд досліджень показали перспективність використання композитів на основі БГА, збагачених мікроелементами, такими як селен (Se) [161], цинк (Zn) [162], срібло (Ag) [163], магній (Mg) [164], мідь (Cu) [165] для відновлення та регенерації травмованої або враженої остеопорозом кісткової тканини і навіть значне апоптотичне пошкодження ракових клітин [166].

Окремої уваги заслуговують композити, які поєднують у собі каркасну матрицю з БГА, неорганічну складову і біополімери. Так, перспективним матеріалом вважають композит на основі БГА, модифікований магнетитом (Fe_3O_4) та хітозаном. Останні дослідження доводять, що даний матеріал володіє біосумісністю, антибактеріальними властивостями, високою гемосумісністю, одночасно з механічними характеристиками, близькими до людської кістки [167-171]. Хоча ролі заліза в регенерації кісткової тканини приділялося мало уваги в літературі, декілька досліджень показали, що існує певний позитивний зв'язок між метаболізмом заліза та проліферація *in vitro* кісткових клітин [172]. Щодо практичного застосування, зазначається, що каркаси з композиту такого складу будуть відігравати роль фіксованої «станції» при імплантуванні у безпосередній близькості до місця ураження тканин, яка забезпечить, відповідно до потреб пацієнта, можливість керування магнітним моментом під дією зовнішнього магнітного поля [173].

1.7 Обґрунтування вибору напрямків дослідження

Враховуючи огляд джерел літератури, використання композиційних матеріалів на основі гідроксиапатиту, зокрема біогенного походження, є багатообіцяючим напрямком для відновлення кісткової тканини. Перевагами використання саме БГА, у порівнянні з синтетичним гідроксиапатитом, є, в першу чергу, ефективність, економічна вигідність та екологічність методів синтезу. Окрім того, у складі біогенного гідроксиапатиту наявні мікроелементи, що імітують апатит, отриманий з людської кістки, що в значній мірі сприяє процесу формування та регенерації кісткової тканини.

При цьому, головною перевагою синтезу композитів на основі БГА є той факт, що їх характеристики (як з біологічної, так і з технічної точки зору) можна точно оптимізувати під час синтезу, щоб виготовити недорогі біоматеріали з підвищеною ефективністю для терапевтичного та регенераційного використання. Так, наявність у композиті магнітних

наночастинок оксиду заліза (магнетиту) збільшує можливості біомедичних застосувань, серед яких медична візуалізація або лікування раку на основі гіпертермії, для яких чистий БГА непридатний, а також суттєво покращує механічні властивості. Окрім того, використання природного полімеру, такого як, хітозан, який завдяки своїй здатності до біологічного розкладання та нетоксичності для організму, а також особливій схожості з природним позаклітинним матриксом, додатково підвищує антибактеріальні та адсорбційні властивості, і сприяє загоєнню кісткової тканини.

Однак, незважаючи на значну кількість досліджень біокомпозитів та суттєвий попередній доробок, сьогодні багато наукових і технологічних питань залишаються не до кінця вирішеними. Переважна кількість робіт, присвячена композиційним матеріалам в системі ГА-магнетит, описує застосування синтетичного гідроксиапатиту, а роботи, в яких використано БГА практично відсутні. Крім того, не досліджено композиційні матеріали в широкому інтервалі співвідношення компонентів та закономірності впливу кількості магнетиту на структуру та властивості композиційних матеріалів.

У зв'язку з цим основною *метою* дисертаційної роботи є дослідження закономірностей формування структури та властивостей композиційних матеріалів біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан в залежності від кількості та методів синтезу введеного до їх складу магнетиту, та розробка нових матеріалів медичного призначення.

Для досягнення поставленої мети вирішуються наступні *завдання*:

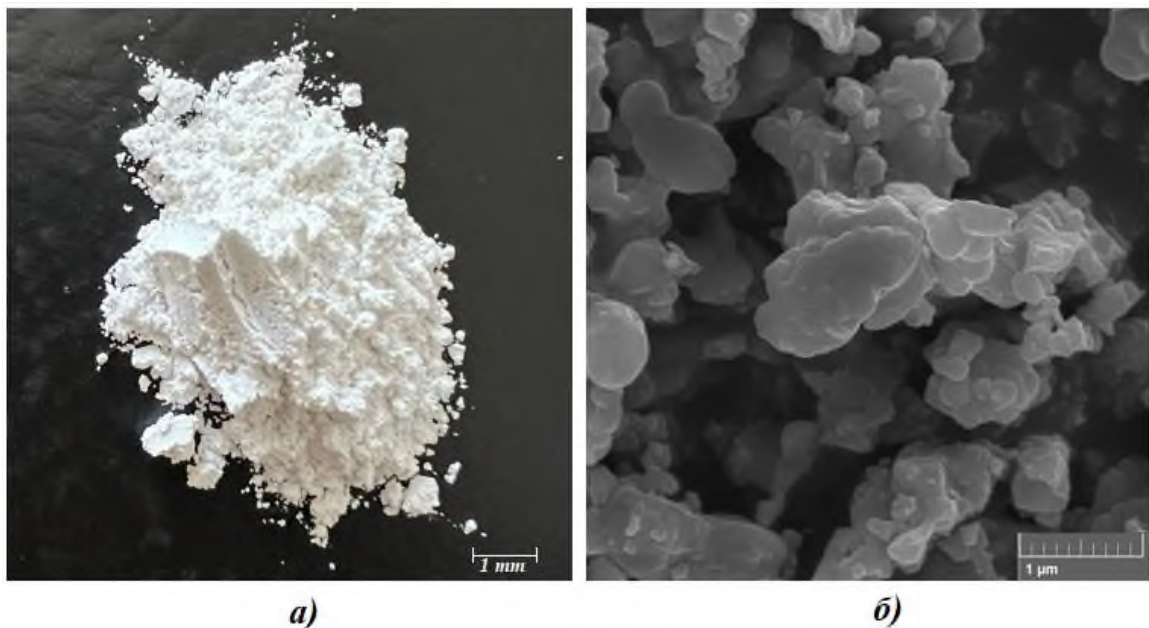
1. синтез нанорозмірного магнетиту методами хімічного осадження хлоридів заліза та термічного розкладу оксалатів заліза;
2. порівняльне дослідження структури та властивостей синтезованих порошків магнетиту та вибір оптимальних для подальшого отримання композитів;
3. отримання порошкових та компактних композитів біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан з різним масовим співвідношенням БГА та магнетиту;

4. порівняльне дослідження структури та властивостей отриманих композитів БГА/магнетит/хітозан;
5. дати рекомендації щодо оптимального медичного призначення одержаних композитів.

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Синтез вихідних матеріалів

Для отримання композиційних матеріалів використовували порошок БГА фракції <160 мкм, отриманий у лабораторних умовах методом відпалу кісток великої рогатої худоби при температурі 800 °С на повітрі протягом 4 годин [174] (рис. 2.1).



а) – загальний вигляд порошку гідроксиапатиту (фракція <160 мкм); б) – мікрофотографія порошку гідроксиапатиту (видиме поле зйомки – 5 мкм)

Рисунок 2.1 – Порошок біогенного гідроксиапатиту

Попередні дослідження встановили, що вміст кальцію та фосфору в складі БГА складає 38,6 та 17,9 мас. %, а співвідношення Ca/P - 1,66, що свідчить про наближення до ідеальної стехіометрії [175]. Окрім того, відповідно до результатів ПЕМ показано, що порошок БГА представлений кругло-пластинчатими агломератами складної нерегулярної форми з розміром частинок 100-500 нм (рис. 2.2) [174].

Встановлено, що БГА має пористу структуру з середнім розміром пор $0,8\pm 0,1$ мкм [175], питомою поверхнею 4 ± 1 м²/г та пікометричною густиною $3,09\pm 0,02$ г/см³.

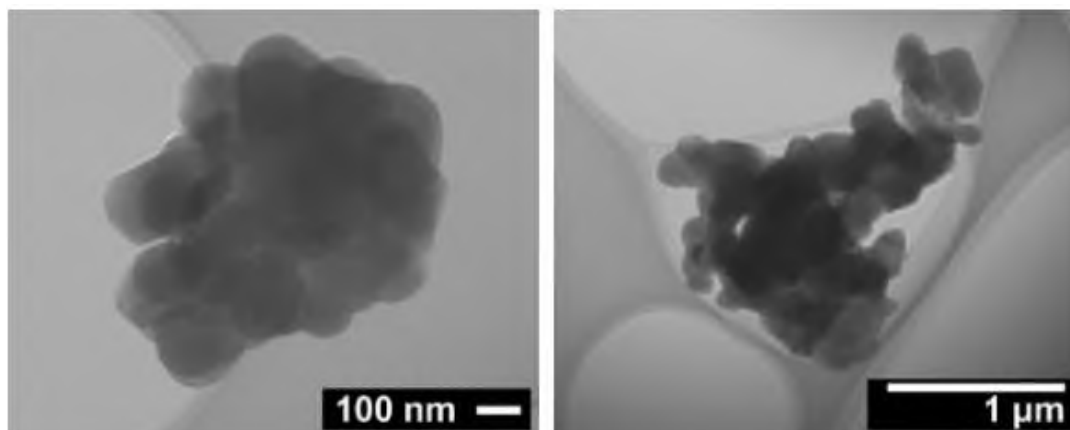
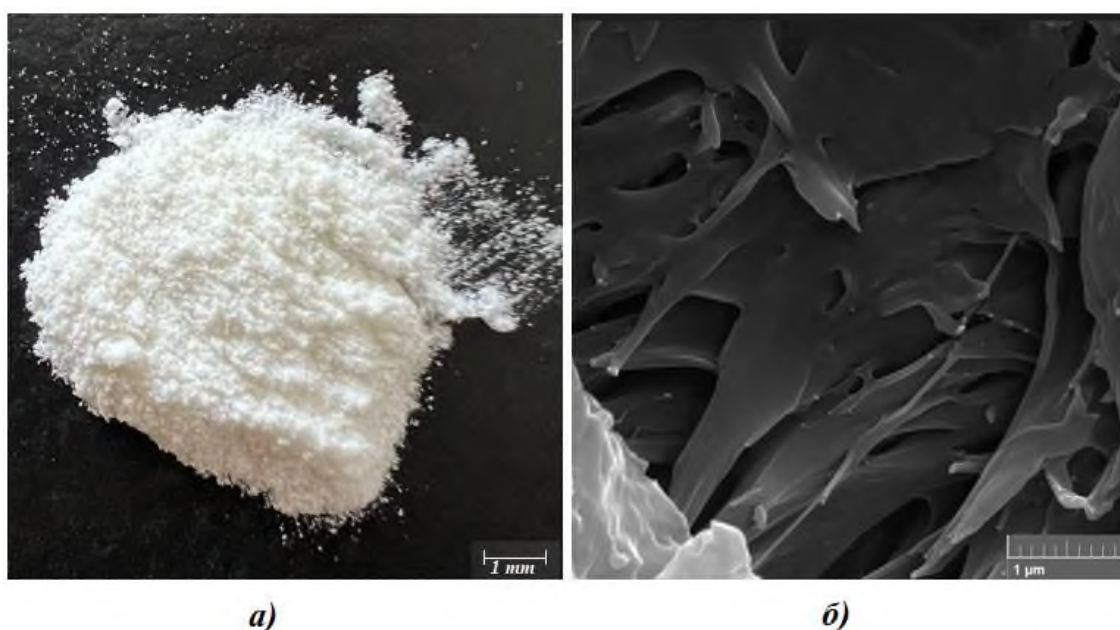


Рисунок 2.2 – Мікроструктура порошку БГА [174]

В якості органічного полімеру обрано комерційний порошок хітозану Chitosan-50 ((C₆H₁₁NO₄)_n, M=500.000, Wako Pure Chemical Industries Ltd) (рис. 2.3).



а) - загальний вигляд порошку хітозану; б) – мікрофотографія порошку хітозану (видиме поле зйомки – 5 мкм)

Рисунок 2.3 – Порошок хітозану

Як видно, хітозан представлений лускоподібними плоскими агломератами розміром від 15 нм до 170 мкм. Встановлено, що питома поверхня порошку хітозану становить $0,8 \pm 0,1$ м²/г, а піконометрична густина - $1,49 \pm 0,01$ г/см³ [176].

2.1.1 Отримання порошків магнетиту

Синтез магнетиту Fe₃O₄ проводився двома методами:

- метод хімічного осадження (хім.);
- метод термічного розкладу або термоліз (терм.).

В основу методу отримання магнетиту хімічним осадження покладено рівняння хімічної реакції (2.1):



Для синтезу як вихідні речовини використовували чотирьохводний хлорид заліза (II) FeCl₂·4H₂O (х.ч., “Хімлаборреактив”) та шестиводний хлорид заліза (III) FeCl₃·6H₂O (х.ч., “Хімлаборреактив”). До водного розчину суміші солей з молярним співвідношенням Fe²⁺:Fe³⁺ = 1:2 додавали по краплях 25% розчин аміаку NH₄OH (або гідразину N₂H₄) до перетворення коричневого осаду в чорний. Синтез проводили при постійному перемішуванні на магнітній мішалці Arec heating magnetic stirrer (Velp Scientifica, Італія) (швидкість 400 об./хв) при температурі 80°C протягом різних проміжків часу (5 хв, 30 хв та 1 год для аміаку та 1 год для гідразину), промивали етанолом та сушили в сушильній шафі СП-50 (UOSLAB, Україна) при температурі 100 °C протягом 4 годин. Схематично процедуру синтезу представлено на рисунку 2.4.

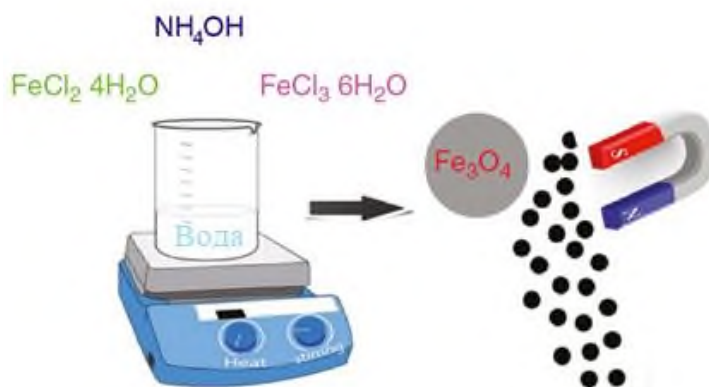
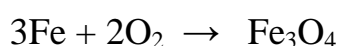
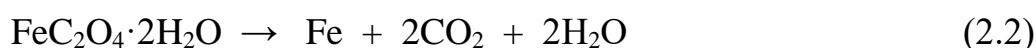


Рисунок 2.4 – Схема синтезу магнетиту хімічним методом осадження

В основу методу отримання порошку магнетиту термічним розкладанням (термолізом) оксалату заліза покладено наступні рівняння хімічних реакції (2.2):



Термоліз оксалату заліза проводили в трубчатій печі Марса при температурі 470°C (нижче точки Кюрі, яка для магнетиту рівна 572°C) протягом 2 годин у вуглеводневому (утворюється за рахунок термодеструкції в замкненому пічному просторі високомолекулярних вуглеводнів) або азотному середовищі. Схематично процедуру термолізу представлено на рисунку 2.5, а схему установки для термолізу – на рисунку 2.6.

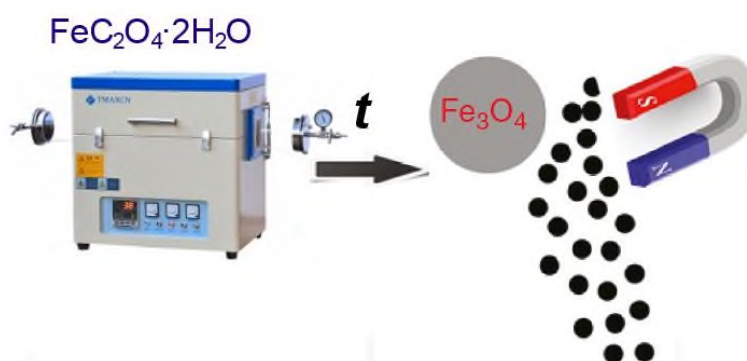
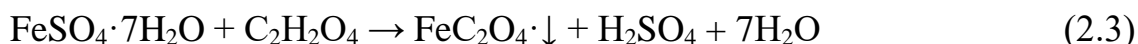
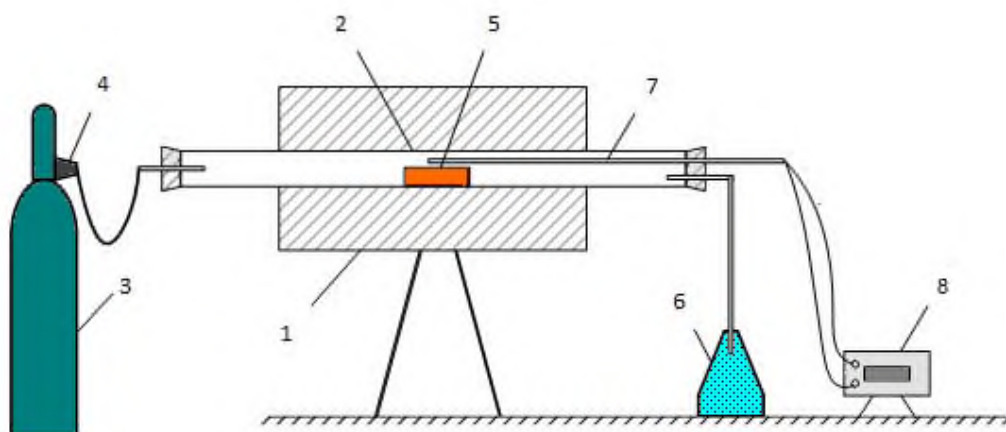


Рисунок 2.5 – Схема синтезу магнетиту методом термолізу

Попередньо проводили синтез оксалату заліза [177]. В основу отримання оксалату заліза покладено наступне рівняння хімічної реакції (2.3):



Для синтезу використані гептагідрат сульфата заліза (II) $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (х.ч., “Хімлаборреактив”) та щавелева кислота $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$, (х.ч., “Хімлаборреактив”). Крім того, для збільшення центрів кристалізації використано ізопропиловий спирт $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$ (х.ч., “Хімлаборреактив”) ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$) та сахарозу $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ (х.ч., “Хімлаборреактив”) [178].



1 – піч Марса; 2 – кварцова трубка; 3 – балон з азотом (о.ч.); 4 – редуктор з манометром; 5 – контейнер з матеріалом для термолізу; 6 – посуд з водою (водяний затвор); 7 – термопара; 8 – прилад комбінований цифровий Щ4313.

Рисунок 2.6 – Схема термолізу оксалатів заліза

Були приготовані водні розчини вихідних матеріалів та покріплинно змішані при постійному інтенсивному перемішуванні (на магнітній мішалці) у такій послідовності: розчин Fe^{2+} , ізопропілового спирту, щавелева кислота та сахароза. Після 3 год відстоювання отриману суміш ретельно перемішували протягом 30 хв, повторюючи дану процедуру тричі. Остаточне відстоювання проводили протягом 12-14 годин, осад відфільтровували, висушували при

кімнатній температурі, розтирали у ступці та використовували для отримання магнетиту. У випадку використання вуглеводневого середовища, яке створювали за рахунок декструкції високомолекулярного вуглеводня (парафіну), до складу оксалату заліза додавали вуглець (у вигляді сажі), що сприяло підвищенню відновлювального потенціалу системи під час розкладу оксалату заліза з одночасним його відновленням, у кількості 3,7-3,9 мас.%, змішували у кульовому млині в середовищі етилового спирту протягом 3 год та використовували для отримання магнетиту. Охолодження зразків проводили в атмосфері азоту.

2.2.2 Синтез композиційного матеріалу БГА/магнетит/хітозан

Синтез композиційного матеріалу є багатостадійним та реалізується наступним чином (рис. 2.7):

1) Хітозан розчиняли у 1% розчині оцтової кислоти у співвідношенні 1:100 та ретельно розмішували для отримання однорідного гелеподібного розчину.

2) Отриманий розчин хітозану додавали до порошку магнетиту у розрахунку 10 % хітозану від маси магнетиту та ретельно перемішували для отримання феррогелю. У випадку використання магнетиту, отриманого методом хімічного осадження, розчин хітозану додавали під час синтезу (Розділ 2.1.1) після промивки етанолом осадженого магнетиту. Утворений феррогель піддавали ультразвуковій обробці протягом 3 хв.

3) До утвореного феррогелю додавали порошок біогенного гідроксиапатиту у кількості 99, 95, 75, 50 % маси композиту. Отриману суміш механічно перемішували та піддавали ультразвуковій обробці протягом 5 хв. Кінечний композит сушили у сушильній шафі при температурі 50 °C протягом 18 годин.

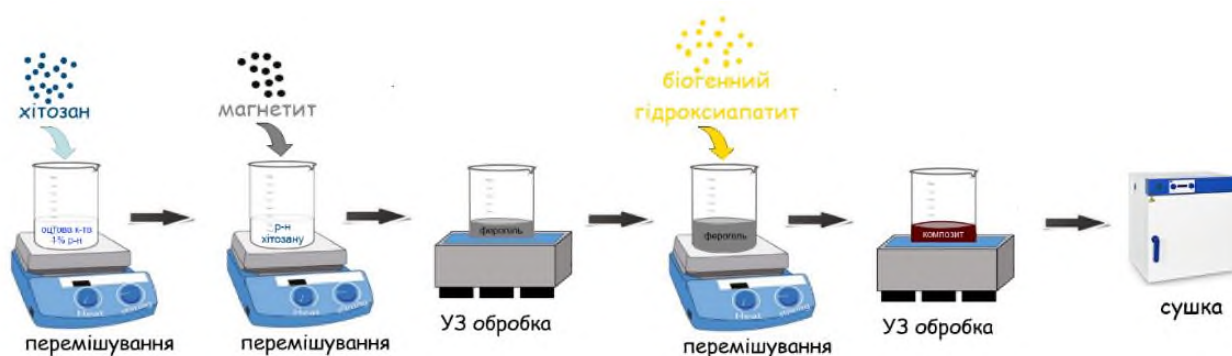
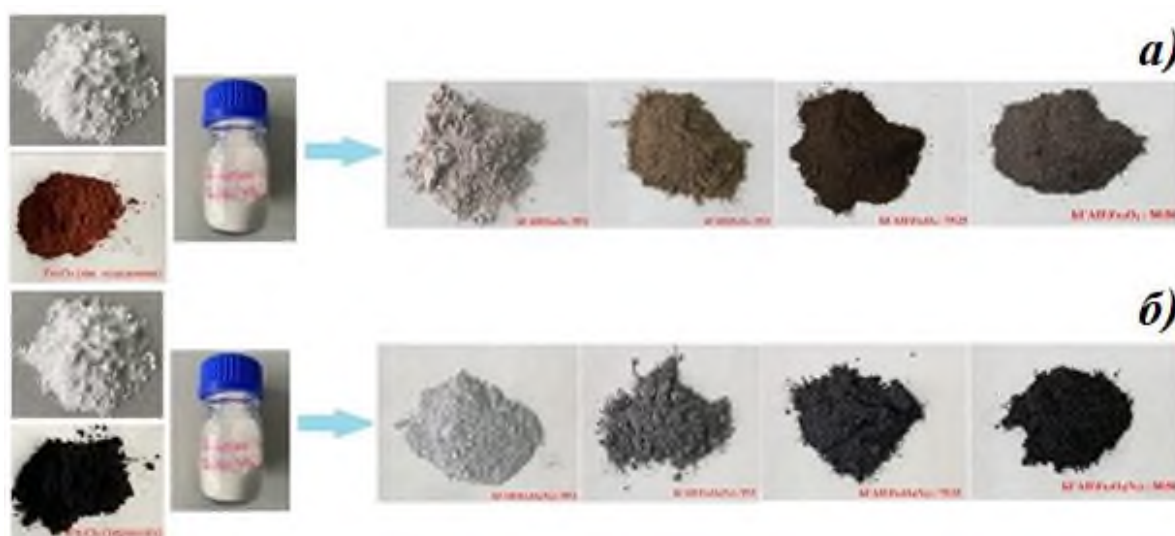


Рисунок 2.7 – Схема отримання композиційного матеріалу
БГА/магнетит/хітозан

Дослідження характеристик отриманих матеріалів проводилися як на порошкоподібних, так і на компактних зразках композитів. На рисунку 2.8 представлені отримані зразки порошкових композитів.



а) – магнетит, отриманий методом хімічного осадження; б) – магнетит, отриманий методом термолізу.

Рисунок 2.8 – Загальний вигляд порошкових композитів з різним масовим співвідношенням БГА і магнетиту різних типів

Як видно, забарвлення порошкових композитів змінюється відповідно до підвищення вмісту магнетиту – від пісочного до темно-коричневого у випадку використання магнетиту, отриманого методом хімічного осадження

протягом 5 хв, та від світло сірого до чорного у випадку використання магнетиту, отриманого методом термолізу оксалатів заліза в азотному середовищі.

2.2 Методики та методи дослідження

2.2.1 Методики дослідження фазового та хімічного складу

Дослідження фазового складу матеріалів проводили *методом рентгенофазового аналізу (РФА)* – одним з дифракційних методів дослідження структури, в основі якого покладено явище дифракції рентгенівських променів на тривимірній кристалічній ґратці, оскільки кожна кристалічна речовина дає специфічну інтерференційну картину з певною кількістю, розташуванням та інтенсивністю інтерференційних ліній, які визначаються природою та розташуванням атомів у даній речовині [179]. Рентгенофазовий аналіз багатоконпонентних композитів є важливим інструментом дослідження матеріалів, оскільки дозволяє зробити висновки не тільки про фазовий склад, а і про кристалічну структуру дослідних зразків. Це, в свою чергу, допомагає краще зрозуміти внутрішню будову матеріалу.

Аналіз порошкових композитів проводили за допомогою дифрактометра ДРОН-3 (Буревестник, РФ) з випромінюванням $\text{Cu-K}\alpha$ ($\lambda=1,54178 \text{ \AA}$). Обробка отриманих дифрактограм проводилася із залученням картотеки JCPDS (International Centre for Diffraction Data) та PDF (Powder Diffraction Files), а також програми PDWin.

На основі дифракційних кривих розраховано розмір частинок (кристалітів) за формулою Шеррера (2.4), використовуючи пік відбиття (002) при $2\theta 26^\circ$ для розрахунку в напрямку вісі c (D_c) і пік відбиття (300) при $2\theta 35^\circ$ для розрахунку в напрямку вісі a (D_a):

$$D = (K \cdot \lambda) / (\beta \cdot \cos\theta_{hkl}), \quad (2.4)$$

де D – середній розмір кристалітів, нм;

K – коефіцієнт форми частинок (константа Шеррера, $K \approx 1$);

λ – довжина хвилі рентгівського випромінювання, нм;

β – фізичне уширення дифракційного рефлексу hkl , рад;

θ_{hkl} – дифракційний кут Брега, рад.

Інфрачервона спектроскопія – це один із видів молекулярної оптичної спектроскопії з використовуваними довжинами хвиль від 0,5 до 1000 мкм, Даний метод оснований на взаємодії речовини з електромагнітним випромінюванням в інфрачервоному діапазоні (між червоним краєм видимого спектра (хвильове число 14000 см^{-1}) і початком короткохвильового радіодіпазону (20 см^{-1})) і базується на здатності речовин поглинати інфрачервоне випромінювання за рахунок коливань окремих груп атомів в молекулах [180]. ІЧ-спектроскопія зазвичай використовується для визначення складу та структури матеріалів.

Спектри поглинання порошкових композитів отримано за допомогою ІЧ фур'є-спектрометру ФСМ 1202 (Інфраспектр, РФ) в діапазоні частот $4000\text{--}400 \text{ см}^{-1}$. Для проведення дослідження попередньо методом ізостатичного пресування були отримані прозорі зразки з суміші дослідного композиційного матеріалу та броміду калію (KBr) у співвідношенні 1:300 мг. Наявні хімічні зв'язки було ідентифіковано за положенням у спектрі максимумів поглинання енергії, їх ширини та інтенсивності.

Дослідження *хімічного складу*, а саме наявності в порошкових композитах *кальцію* та *фосфору* було проведено фотоколориметричним методом з використанням приладу ФЕК-56М (ЗОМЗ, РФ) [181]. Метод заснований на визначенні вмісту речовин у розчинах по поглинанню немонохроматичного випромінювання світла у видимій області спектра. Для визначення готували еталонний розчин речовини відомої концентрації, яка наближається до концентрації досліджуваного розчину. Визначали оптичну густину цього розчину за певної довжини хвилі. Потім визначали оптичну густину досліджуваного розчину за тієї ж довжини хвилі і за тієї ж товщини шару. Порівнюючи значення оптичної густини досліджуваного та еталонного розчинів, знаходили невідому концентрацію речовини, що визначається.

Вміст заліза визначали методом титрування розчину трьохвалентного заліза розчином трилону Б у присутності амінооцтової кислоти з сульфосаліциловою кислотою в якості індикатора відповідно до ISO 7990:1985 “Manganese ores and concentrates — Determination of total iron content — Titrimetric method after reduction and sulfosalicylic acid spectrophotometric method”.

Контроль хімічного складу також здійснювали методом неруйнівного енергодисперсійного рентгенфлуоресцентного елементного аналізу, який є одним з сучасних спектроскопічних методів дослідження матеріалів та без руйнування зразка дозволяє швидко та достовірно визначити його елементний склад. Метод базується на аналізі енергії емісії рентгенівського спектру досліджуваної речовини. В дослідженні використовували експрес-аналізатор хімічного складу EXPERT 3L (ІНАМ, Україна).

2.2.2 Методика дослідження морфології

Дослідження *морфології* матеріалів проводили на порошкових композитах методом скануючої електронної мікроскопії (СЕМ), який базується на скануванні поверхні досліджуваного зразка тонко сфокусованим пучком електронів. Зображення, отримані за допомогою мікроскопу є трьохвимірними і дають інформацію про морфологію поверхні зразка та її склад. При дослідженні було використано мікроскоп Tescan Mira 3 LMU (Tescan, Чехія) з наступними режимами зйомки: прискорююча напруга 10 кВ, густина струму 8 мА, розмір кроверу 2,9 нм. Для отримання чіткого розміру наночастинок, основний режим зйомки проводився в режимі InBeam з фокусною відстанню в діапазоні 1,8-2,2 мм. Сканування поверхні відбувалося при значення видимого поля 0,641 нм, 1 нм, 5 нм, 15 нм, 50 нм.

Також, використовуючи мікроскоп Tescan Mira 3 LMU (Tescan, Чехія), було проведено СЕМ-ЕДС аналіз. Дана методика дослідження базується на

аналізі енергії емісії рентгенівського спектру, за допомогою якої визначається елементний склад досліджуваної речовини.

Морфологію отриманих матеріалів також оцінювали за допомогою використання програми АМІС ("Автоматичний аналізатор мікроструктури"), розробленої д.т.н. О.І. Хоменко в Інституті проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України і призначеної для аналізу кольорових цифрових зображень мікроструктур, отриманих за допомогою оптичної та електронної мікроскопії [182]. В основу програми покладено принцип Кавальєрі-Акера-Глаголева, що встановлює співвідношення між об'ємами частинок структурних складових, площами їхніх проєкцій на площину шліфа [183].

Програма дозволяє отримувати дані про максимальні, мінімальні та середні діаметри Фере (відстані між паралельними лініями, дотичними до випадково орієнтованої частинки і перпендикулярними до шкали окуляра мікроскопа), об'ємні частки структурних складових, гістограми розподілу частинок за розміром і формою, а також фактор форми. У звіті про результати аналізу програма виводить значення максимального, мінімального та середнього діаметрів Фере. Також програма дає можливість визначити фактор форми частинки за методом Салтикова (2.5):

$$F = 4 \pi S/P^2, \quad (2.5)$$

де S – площа проєкції частинки на площині зображення,

P – периметр проєкції частинки на площині зображення.

Відповідно до цього методу, чим менше значення фактору форми, тим більше форма частинок відрізняється від сферичної, так фактор форми для кулеподібної форми становить 1, для шестикутної – 0,953, для квадратної – 0,886, для трикутної – 0,777 [183].

Питому поверхню визначали методом газової адсорбції, оснований на теорії Брунауера-Еммета-Теллера (БЕТ) з застосуванням приладу Gemini 2360 (Micromeritics, США) відповідно до ISO 9277:2010 "Determination of the specific surface area of solids by gas adsorption — BET method". Теорія БЕТ - це теоретична модель, яка використовується для опису адсорбції молекул газу на

поверхні твердих матеріалів. Суть методу полягає у визначенні внутрішньої поверхні пористих матеріалів шляхом низькотемпературної адсорбції азоту з азот-гелієвої суміші (рис. 2.9). Питому поверхню виражають відношенням загальної поверхні пористого або диспергованого у даному середовищі матеріалу до його об'єму або маси.

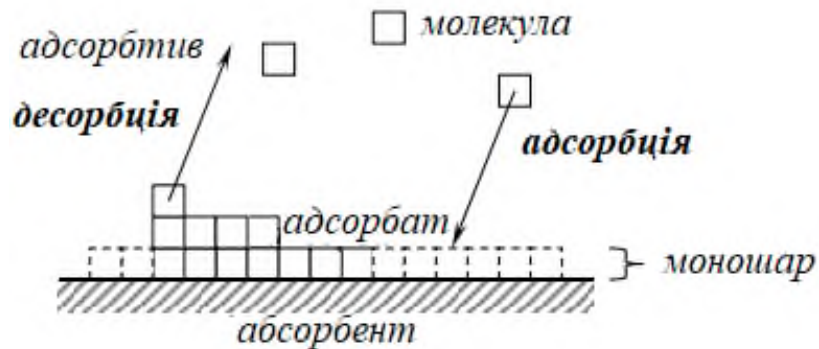


Рисунок 2.9 – Схематичне зображення полімолекулярного процесу адсорбції на поверхні твердого тіла (адсорбента)

На основі значень питомої поверхні було розраховано *розмір частинок* порошкових композитів, припускаючи, що всі частинки сферичні та однакові за формулою (2.9):

$$D = N / (SSA \cdot \rho), \quad (2.9)$$

де D – середній діаметр частинок, нм;

N – коефіцієнт форми ($N=6$ для сферичних частинок);

SSA – площа питомої поверхні, $\text{м}^2/\text{г}$;

ρ – густина матеріалу, $\text{г}/\text{см}^3$.

Також на основі теорії BET з використанням приладу Gemini 2360 (Micromeritics, США) було визначено *об'єм пор матеріалу*.

2.2.3 Методика дослідження фізико-механічних властивостей

Дослідження механічних властивостей є важливим напрямком в дослідженні, оскільки біокомпозити здатні поєднувати переваги біологічних

матеріалів з покращеними механічними характеристиками завдяки використанню підсилюючих (армуючих) компонентів. В даному розділі об'єднані дослідження як суто механічні властивостей матеріалів, такі як міцність на стиск, розтяг і модуль пружності, так і параметри матеріалів, які безпосередньо впливають на ці властивості: поруватість, уявна та піконометрична густина, площа питомої поверхні.

Механічні випробування на одноосьовий стиск та Бразильський тест (аналог тесту на розтяг) проводили на універсальній випробувальній машині Ceram Test System (Україна). Для проведення дослідження виготовляли компактні зразки у вигляді циліндрів (діаметр $12 \pm 0,2$ мм, висота $12 \pm 0,2$ мм, вага $2,50 \pm 0,2$ г) методом напівсухого пресування у прес-формі при максимальному тиску 50 МПа з подальшою сушкою при 80 °С. Суть методу механічних випробувань полягає у прикладанні до зразка, поміщеному між двома паралельно розташованими опорами, навантаження в певному напрямку до досягнення очікуваної деформації або руйнування.

Міцність на стиск та розтяг є важливою характеристикою для біокомпозитів, які застосовуються у структурних або навантажених деталях, якими є кісткові замінники. *Межу міцності на стиск* (σ , МПа) розраховували за формулою (2.6):

$$\sigma = \frac{F}{S_0}, \quad (2.6)$$

де F – навантаження, Н;

S_0 - площа поперечного перерізу зразка, мм².

Модуль Юнга (E , ГПа) розраховували за формулою (2.7):

$$E = \frac{\sigma_{001/0,01}}{1000}, \quad (2.7)$$

де σ_{001} – границя пружності, МПа.

Уявна густина враховує масу матеріалу у відношенні до його об'єму. Уявну густину розраховували як відношення маси компактного композиту до його об'єму. Масу зразків визначали шляхом зважування на електронних аналітичних вагах OHAUS Pioneer PA214C (OHAUS, Китай) з точністю

0,0001 г. Розміри зразків, а саме діаметр та висоту, визначали за допомогою цифрового штангенциркуля Dnipro-M HP-15 (Dnipro-M, Україна).

Пікнометрична або істинна густина - це маса одиниці об'єму матеріалу в абсолютно щільному стані, тобто без пор і пустот. Пікнометричну густину вимірювали на порошкових композитах з застосуванням гелієвого пікнометру AccuPyc II 1340 (Micromeritics, США) при кімнатній температурі відповідно до ISO 12154:2014 «Determination of density by volumetric displacement – Skeleton density by gas pycnometry». Перед вимірюваннями матеріали сушили у вакуумі при температурі 50 °С протягом 5 год. з застосуванням станції десорбції VacPrep 061 Sample Degas System (Micromeritics, США).

Загальну пористість композиційних матеріалів було визначено за формулою (2.8):

$$\Theta_{\text{заг}} = \left(1 - \frac{\rho_y}{\rho_{\text{п}}}\right) \cdot 100\%, \quad (2.8)$$

де ρ_y – уявна густина, г/см³;

$\rho_{\text{п}}$ – пікнометрична густина, г/см³.

2.2.4 Методика дослідження магнітних властивостей

Магнітні властивості (*питому намагніченість, коерцитивну силу та залишкову індукцію*) визначали за методикою, що полягає у вимірюванні зміни магнітного потоку через розташовану навколо зразка вимірювальну котушку, при зміні намагнічуючого поля [184]. Дослідження проводили на порошкових композитах, використовуючи балістичний магнітометр БМ–1 ІМФ, розроблений на базі Інституту металофізики ім. Г. В. Курдюмова НАН України при кімнатній температурі в діапазоні полів до 1 Тл.

В основу роботи балістичного магнітометра покладено використання балістичного гальванометру, принцип роботи якого полягає у наступному: на обмотку приладу подається струм, який намагнічує котушку, при цьому у вимірювальній обмотці індукується струм, який діє на гальванометр,

показання якого тим більше, чим більш інтенсивно намагнічується зразок в полі, яке створюється первинною котушкою.

2.2.5 Методика дослідження кінетики адсорбційно-десорбційних процесів

Дослідження *кінетики адсорбційно-десорбційних процесів* в системі тверде тіло - газ проводили з застосуванням гравіметричного методу аналізу. Методика дослідження розроблена в Інституті проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України і дозволяє вивчати кінетику гетерогенних процесів в автоматичному безперервному режимі в широкому інтервалі тисків і температур (від 0 до 1000 °С). Чутливість вимірювальної системи складає $1 \cdot 10^{-5}$ г.

З метою видалення адсорбованої в процесі зберігання порошкових композитів вологи їх попередньо просушували протягом 1-3 годин при температурі 80 °С. Адсорбцію парів води проводили в потоці зволоженого повітря із відносною вологістю 100 %, 70 % та 60 % в інтервалі температур до 650 °С. Об'ємна швидкість потоку газової фази становила 50 мл/хв. Для зменшення впливу дифузії складових газової фази в товщу шару засипки порошку використовували мінімальні наважки матеріалу (75-100±0,2 мг).

Для аналізу *кінетичних показників адсорбційно-десорбційних процесів* використовували часову залежність зміни маси адсорбата (2.10):

$$\alpha = \Delta m / m_0, \quad (2.10)$$

де $\Delta m = m_i - m_0$ - приріст маси досліджуваного матеріалу;

m_0 - початкова маса адсорбенту після термодесорбційної обробки;

m_i - поточна змінна маса в адсорбційному та десорбційному процесі.

Показник адсорбційної активності одиниці поверхні адсорбенту (m^{-2}) при 100% вологості визначали за формулою (2.11):

$$A = - \Delta m / m_0 S_{\text{пит}}, \quad (2.11)$$

де A – адсорбційна активність досліджуваного матеріалу;

$S_{\text{пит}}$ – площа питомої поверхні досліджуваного матеріалу.

2.2.6 Методика проведення термогравіметричного аналізу

Диференційний термогравіметричний аналіз є одним із методів термічного аналізу, який використовується для вивчення змін маси зразків залежно від температури. Цей метод дозволяє досліджувати процеси, пов'язані з термічним розкладанням, втратою маси, або хімічними реакціями, які відбуваються в зразку під впливом зміни температури.

Принцип ДТГА полягає у тому, що зразок нагрівається зі сталою швидкістю, а зміна маси зразка вимірюється сенсором. Якщо в реакції відбувається екзотермічне (виділення тепла) або ендотермічне (поглинання тепла) поглинання, то в момент реакції може відбутися зміна маси зразка.

Дослідження проводили на порошкових композитах за допомогою дериватографа Q-1000 Derivatograph (МОМ, Угорщина) системи Паулік-Паулік-Ердей (Paulik-Paulik-Erdey). В якості еталонного зразка використовували Al_2O_3 - інертний матеріал з близькими до дослідних значень теплоємності та теплопровідності, який у діапазоні відповідних температур не зазнає структурних і фазових змін. Дослідні зразки композитів і еталон нагрівали зі швидкістю $5\text{ }^\circ\text{C}/\text{хв}$ на повітрі від 20 до $1100\text{ }^\circ\text{C}$.

2.2.7 Методика дослідження резорбційних властивостей

Дослідження *резорбційних властивостей* композитів проводилися *in vitro* на компактних зразках у вигляді таблеток (діаметр $12\pm 0,2$ мм, висота $4\pm 0,2$ мм, вага $1\pm 0,2$ г). Досліди проводили у фізіологічному розчині - $0,9\%$ водний розчин NaCl (Дарниця, Україна), який є ізотонічним розчином рідин живого організму.

Попередньо зразки висушували в сушильній шафі при температурі $50\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 2-8 годин, зважували на аналітичних вагах OHAUS Pioneer PA214C

(OHAUS Corporation, Китай) з точністю 0,0001 г та поміщали у розчин NaCl при співвідношенні тверда фаза:рідка фаза = 1:50. Постійну температуру $36,5 \pm 0,5$ °C підтримували термостатом ТС-1/80 СПУ (ОАО "Смоленское СКТБ СПУ", РФ). Через 2, 10, 16 та 31 добу зразки вилучали з рідини, ретельно промивали дистильованою водою, висушували при температурі 50 °C протягом 18-20 год. та зважували на аналітичних вагах. Швидкість резорбції (розчинність) матеріалу визначали як питому втрату маси протягом дослідного часу.

Динаміку зміни вмісту хімічних елементів, а саме кальцію, фосфору та заліза, оцінювали шляхом дослідження фільтратів фізіологічного розчину після взаємодії з композиційними матеріалами протягом 31 доби. Для цього після 2, 10, 16 та 31 доби експерименту проводили контроль хімічного складу фільтратів за методикою, описаною в Розділі 2.2.1.

Контроль pH фізіологічного розчину після резорбції матеріалів проводили з використанням портативного pH-метра Checker HI 98127 (Hanna Instruments, США) та лабораторного pH-метра ADWA AD1030 (ATC, Угорщина).

2.2.8 Методика дослідження цитотоксичності МТТ-методом

Аналіз МТТ використовується для вимірювання клітинної метаболічної активності як показника життєздатності клітин, проліферації та цитотоксичності [185]. Цей колориметричний аналіз заснований на відновленні жовтої солі тетразолію (3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифенілтетразолію броміду або МТТ) до фіолетових кристалів формазану метаболічно активними клітинами. Продукт реакції можна визначити кількісним спектрофотометричним методом. Чим темніший розчин, тим більша кількість життєздатних клітин (Рис. 2.10). Дозозалежно перетворення МТТ в формазан під впливом досліджуваних токсичних для клітин речовин зменшується при загибелі клітин.

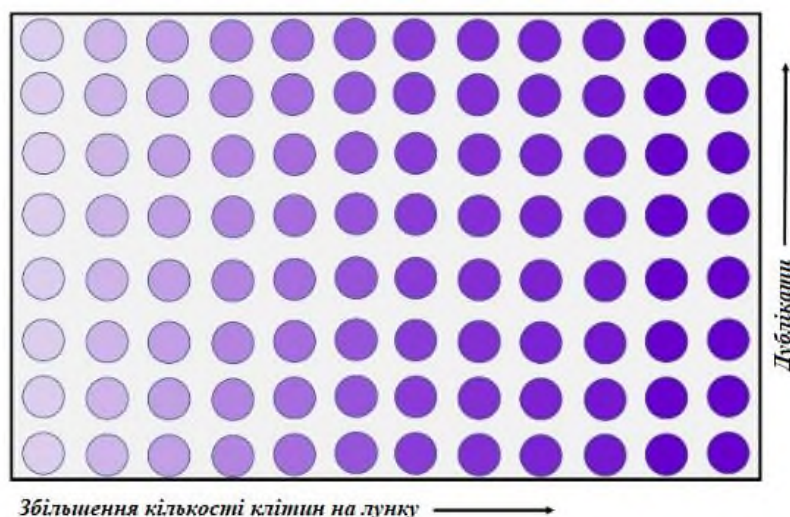


Рисунок 2.10 – Перетворення МТТ до солі формазану життєздатними клітинами в 96-лунковому планшеті [185]

Субстрат МТТ (Sigma, США) розчиняли в стерильному фосфатному буфері (рН 7,2) при кімнатній температурі до концентрації 5 мг/мл. В об'ємі 20 мкл профільтрований розчин МТТ вносили в лунки 96-лункової планшети та інкубували з клітинами при 37 °С протягом 2-4 год. Середовище видаляли після інкубації клітин. До клітин додавали 96 % етанолу по 150 мкл для розчинення кристалів формазану. Оптичну густину розчинів визначали спектрофотометрично при довжині хвилі 540 нм, використовуючи спектрофотометр для плашок Multiscan FC (ThermoFisherScientific, США).

Контролем слугувала оптична густина розчинника, з якою порівнювали визначені значення оптичної густини кожної лунки. *Відсоток життєздатності клітин* за дії різних концентрацій порошкового композиту БГА/магнетит/хітозан вираховували за формулою (2.12):

$$\text{Життєздатність клітин [\%]} = \frac{A}{B} \cdot 100 \quad (2.12)$$

де А – середнє значення оптичної густини дослідних зразків для певної концентрації сполуки,

Б – середнє значення оптичної густини зразків контролю клітин.

РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ПАРАМЕТРІВ ТА МЕТОДІВ СИНТЕЗУ НА СТРУКТУРУ ТА ВЛАСТИВОСТІ МАГНЕТИТУ

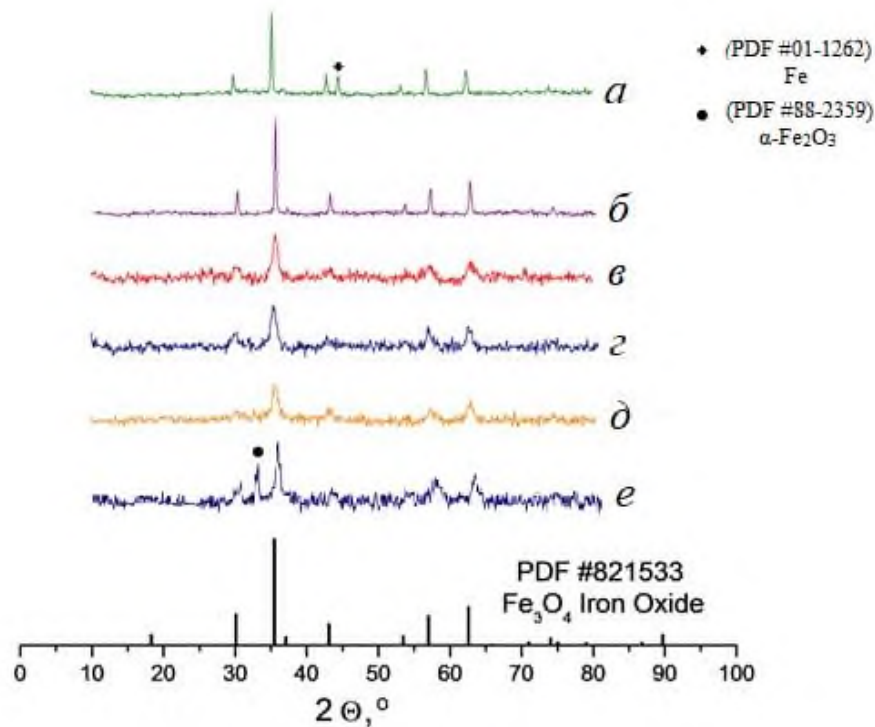
Одним із етапів створення композиційного матеріалу БГА/магнетит/хітозан є синтез порошку магнетиту. З метою отримання найбільш відповідного з точки зору властивостей та технологічності матеріалу, порошки магнетиту були синтезовані методом хімічного осадження хлоридів заліза, з використанням як осаджувача 25 % розчин аміаку (тривалість синтезу 5 хв, 30 хв, 1 год) та гідразину (1 год), а також, термічним розкладом оксалатів заліза у вуглеводневому та азотному середовищах.

3.1 Дослідження фазового та хімічного складу порошків магнетиту

На рисунку 3.1 наведено результати РФА порошків магнетиту, отриманих методом хімічного осадження хлоридів заліза різної тривалості з використанням як осаджувача розчин аміаку (5 хв, 30 хв, 1 год) та гідразину (1 год), а також, термолізом оксалатів заліза у вуглеводневому та азотному середовищах. Усі дифрактограми відповідають магнетиту як основній фазі, що узгоджується з PDF-файлом бази даних ICDD 821533 для стандартного Fe_3O_4 . Тривалість хімічного осадження, з використанням як осаджувача розчин аміаку, не впливав на фазовий склад отриманих порошків. Після хімічного осадження з використанням як осаджувача розчин гідразину (N_2H_4), на дифрактограмі з'являється пік відбиття слабкої інтенсивності на кутах $2\theta \sim 30\text{-}32^\circ$. Це свідчить про наявність в складі невеликої кількості гематиту $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (PDF 88-2359).

У випадку методу термічного розкладу відповідно до інтенсивності, чіткості та вузької форми піків можна зробити висновок, що термічне розкладання FeC_2O_4 дозволяє отримати вищий ступінь кристалічності магнетиту. На рентгенограмі магнетиту, отриманого методом розкладання в

умовах азотного середовища, фіксується слабкий пік відбиття заліза (PDF-файл 01-1262) при $2\Theta \sim 44-46^\circ$, який може утворюватися за рахунок відновлення атмосфери під час синтезу.



а) – термоліз в азотному середовищі; б) – термоліз у вуглеводневому середовищі; в) – хімічне осадження 5 хв; г) – хімічне осадження 30 хв; д) – хімічне осадження 1 год; е) – хімічне осадження 1 год (гідразин).

Рисунок 3.1 – Результати РФА магнетиту в залежності від методу та параметрів синтезу

Слід зазначити, що магнетит має дефіцит атомів заліза та його формулу можна записати як $\text{Fe}_{3-y}\text{O}_4$ [186]. Як правило, вважається, що дефіцит металу відповідає наявності в кристалічній ґратці незаповнених іонами Fe^{3+} та Fe^{2+} катіонних вузлів. База стандартних рентгенівських даних для магнетиту стехіометричного складу, що відповідає хімічній формулі Fe_3O_4 , видає значення параметра кристалічної ґратки, переважно, в інтервалі значень a 0,8394 – 0,8399 нм. Однак, наводяться також у базі файли зі значеннями a 0,8374 нм та 0,8491 нм. Для оксидів з коефіцієнтом (y) при металі в інтервалі

2,90–2,99, тобто які відповідають хімічній формулі $\text{Fe}_{2,9-2,99}\text{O}_4$, періоди (параметри) кристалічної ґратки змінюються в межах 0,8384–0,8417 нм.

Таблиця 3.1 – Параметри кристалічної структури магнетиту в залежності від методу та параметрів синтезу

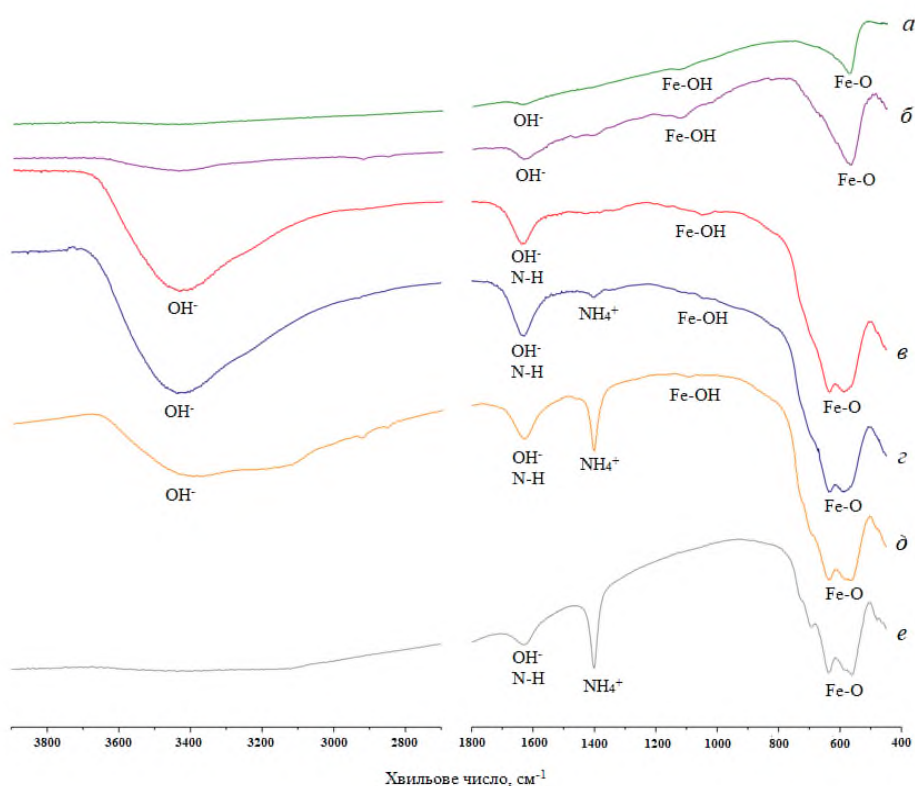
Параметри синтезу магнетиту		a , нм
термоліз	N_2	0,843
	СН	0,841
хімічне осадження	5 хв	0,835
	30 хв	0,837
	1 год	0,834
	1 год (гідрозин)	0,838

Можна відзначити, що параметри кристалічної ґратки (a) отриманого магнетиту (таб. 3.1) як термічним розкладом в азотному та вуглеводневому середовищах, так і хімічним методом осадження, цілком узгоджуються зі стандартними значеннями для магнетиту стехіометричного складу ($a=0,8374$ нм) згідно з базою стандартних рентгенівських даних.

На рисунку 3.2 та в таблиці 3.2 представлено результати дослідження отриманих порошків магнетиту методом ІЧ-спектроскопії. На присутність Fe_3O_4 вказує наявність двох піків поглинання, що характеризують коливання функціональних груп Fe-O в діапазоні частот $\nu \sim 640-570 \text{ см}^{-1}$ [187]. Для порошків магнетиту, отриманих в різних умовах і з різних вихідних матеріалів, характерна зміна частот і форми піків поглинання в зазначеному діапазоні. Крім того з'являються нові піки в межах інтервалу частот $\nu \sim 697-670 \text{ см}^{-1}$. Такі зміни в ІЧ-спектрах досліджених порошків вказують на дефектність структури магнетиту, яка належить до структури феррошпінелі оберненого типу, і може бути викликана зміною симетрії, упорядкуванням заряду і ступенем інверсії атомів в октаедричних і тетраедричних позиціях [188-190].

У частотному діапазоні $\nu \sim 567-470 \text{ см}^{-1}$ проявляються слабкі смуги поглинання, які можуть характеризувати коливання функціональних груп Fe-

О в гематиті $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ [191, 192]. Слабка інтенсивність піків вказує на присутність незначної кількості цієї фази, яка не фіксується методом РФА.



а) – термоліз в азотному середовищі; б) – термоліз у вуглеводневому середовищі; в) – хімічне осадження 5 хв; г) – хімічне осадження 30 хв; д) – хімічне осадження 1 год; е) - хімічне осадження 1 год (гідразин).

Рисунок 3.2 – ІЧ спектри магнетиту в залежності від методу та параметрів синтезу

Слабкі смуги поглинання в діапазоні частот $\nu \sim 1125\text{-}1050 \text{ cm}^{-1}$ відносяться до деформаційних коливань груп Fe-OH, а різна частота вказує на різну координацію OH груп. Крім того, для зразка, отриманого термічним розкладанням FeC_2O_4 у вуглеводневому середовищі відзначаються слабкі піки з частотами $\nu \sim 1466, 1403 \text{ i } 824 \text{ cm}^{-1}$, які відносяться до коливань карбонат-

Таблиця 3.2 - Положення частот ІЧ-смуг поглинання магнетиту в залежності від методу та параметрів синтезу

Параметри синтезу		Частота ІЧ поглинання, см ⁻¹													
		v ₁	v ₂	v ₃	v ₄	v ₅	v ₆	v ₇	v ₈	v ₉	v ₁₀	v ₁₁	v ₁₂	v ₁₃	v ₁₄
термоліз	N ₂	—	—	571 С.ш.	613 Сл.	686 Сл.	—	—	—	1125 Сл.	—	—	1634 Сл.	—	3438 Сл.ш.
	СН	—	567 С.ш.	578 С.ш.	615 Сер.	679 Сер.	—	824 Сл.	—	1117 Сл.	1405 Сл.	1466 Сл.	1629 Сл. ш.	—	3440 Сл.ш.
хімічне осадження	5 хв	479 Сл.	562 Пл.	588 С.ш.	635 С.	681 Сер.	—	—	1049 Сл.	—	—	—	1633 Сер. ш.	3241 Пл.	3435 С.ш.
	30 хв	—	567 Пл.	588 С.ш.	635 С.	670 Пл.	—	—	1044 Сл.	—	1403 Сл.	—	1680 С.ш.	3243 Пл.	3430 С.ш.
	1 год	477 Сл.	562 Сер.	583 С.ш.	634 С.	697 Пл.	—	—	1093 Сл.	—	1401 Сер. вуз.	—	1628 Сер.	3182 Сер. ш.	3408 Сер. ш.
	1 год (гідрозин)	474 Сл. вуз.	562 Сер.	588 С.ш.	639 С.	698 Сер.	732 Сл.	—	—	—	1400 С. вуз.	—	1638 Сл.	—	—

Примітка: Сл. – слабка, сер. – середня, с. – сильна, вуз. – вузька, ш. – широка, пл. – плече

іона. Ці смуги характеризують поверхневі групи, які пов'язані з методикою синтезу.

Для порошоків, отриманих методом хімічного осадження з використанням як осаджувачів розчинів аміаку або гідразину, вузька смуга поглинання при $\nu \sim 1400 \text{ см}^{-1}$ характеризує асиметричне деформаційне N-H коливання вільного іона NH_4^+ . Валентні N-H коливання проявляються в частотному діапазоні $\nu \sim 3250\text{--}3050 \text{ см}^{-1}$. Про їх наявність можна стверджувати за зміною форми смуги в частотному діапазоні $\nu \sim 3600\text{--}3050 \text{ см}^{-1}$ [193].

Смуги поглинання з частотами $\nu \sim 1630$ і $3400\text{--}3450 \text{ см}^{-1}$ в ІЧ-спектрах порошоків магнетиту відносяться, відповідно, до деформаційних і валентних коливань зв'язку O-H. Оскільки магнетит був синтезований в водних розчинах, атоми Fe і O, які вільні (нескомпенсовані) і не прореагували, на поверхні будуть зв'язуватися з OH^- і H^+ , відповідно, утворюючи гідроксильні групи на поверхні частинок.

Отже, аналіз ІЧ-спектрів синтезованих порошоків показав, що досліджені зразки мають структуру магнетиту з незначними включеннями гематиту і поверхневим кожухом з функціональних груп OH і N-H. Отримані результати узгоджуються з результатами, отриманими методом РФА.

3.2 Дослідження морфології та питомої поверхні порошоків магнетиту

Морфологія порошоків магнетиту, отриманих в різних технологічних умовах була досліджена за допомогою скануючої електронної мікроскопії (рис. 3.3). Встановлено, що частинки сферичні та нанорозмірні, з середнім діаметром 23-34 нм та 33-84 нм для методу хімічного осадження та методу термолізу, відповідно, але агломеровані. Як видно, час хімічного осадження практично не впливав на розмір частинок. Отримані результати для методу термічного розкладання оксалатів заліза узгоджуються з розміром частинок, розрахованим на основі даних РФА (таблиця 3.3).

В той же час, значення розміру частинок порошків, отриманих шляхом хімічного осадження і розрахованих на основі вимірювання питомої поверхні та формули Шеррера на основі РФА, в 3-4 рази нижчі (~ 8 нм), ніж на основі СЕМ, що може бути пов'язано з агломерацією порошків.

Таблиця 3.3 – Розмір частинок магнетиту в залежності від методів та параметрів синтезу

Параметри синтезу		Розмір частинок, нм		
		БЕТ	РФА	СЕМ
термоліз	N ₂	48	35	48-76
	СН	59	37	33-84
хімічне осадження	5 хв	9	8	24-34
	30 хв	9	8	28-34
	1 год	10	8	23-32
	1 год (гідразин)	14	10	27-49

На рисунку 3.4 наведено результати розподілу частинок магнетиту за розміром, отримані на основі мікроструктурних досліджень та програмного забезпечення АМІС, які свідчать про рівномірний розподіл за розміром частинок для всіх порошків незалежно від методів та технологічних особливостей синтезу.

При отриманні методом хімічного осадження більшість частинок (93–97%) мають розмір 6–56 нм у випадку тривалості синтезу 5 і 30 хв, і лише при синтезі протягом 1 год розмірна область синтезованих частинок магнетиту звужується до 6–40 нм і складає 95 % від загальної кількості. При отриманні порошків методом термолізу в азотному та вуглеводневому середовищі 90 % частинок мають розмір 26–84 нм та 18–76 нм відповідно. Таким чином, можна зазначити, що порошки, отримані хімічним осадженням мають частинки у “більш вузькому” розмірному діапазоні (до 56 нм) порівняно з методом термолізу, для якого характерним є розмір частинок до 84 нм.

Крім того, морфологію порошків було оцінено за фактором форми, що представлено на рисунку 3.5, з якого добре видно, що розподіл частинок в

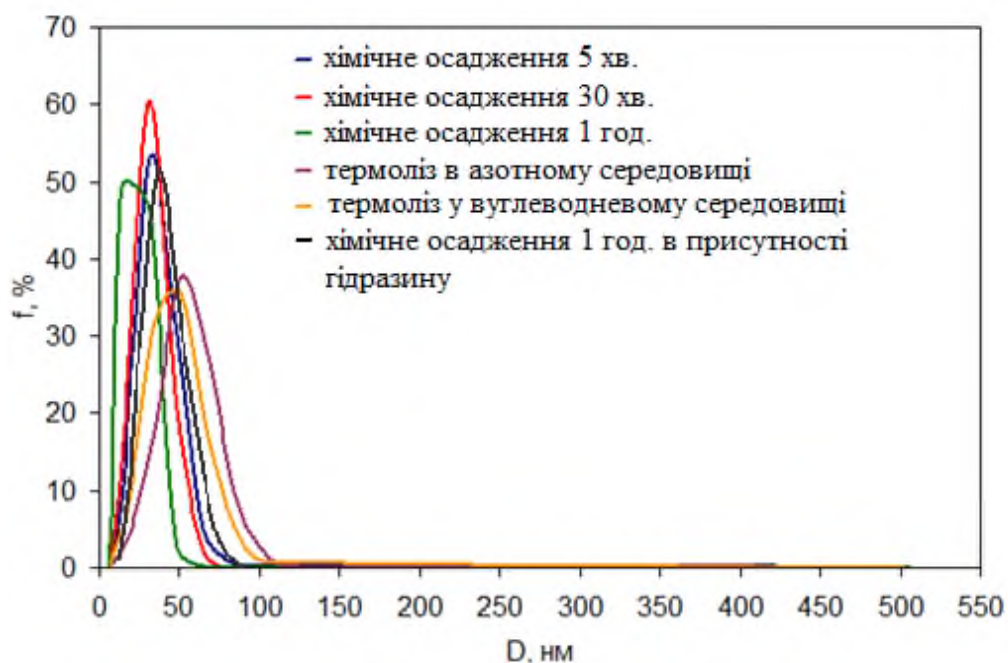


Рисунок 3.4 – Розподіл частинок за розміром порошків магнетиту в залежності від методів та параметрів синтезу

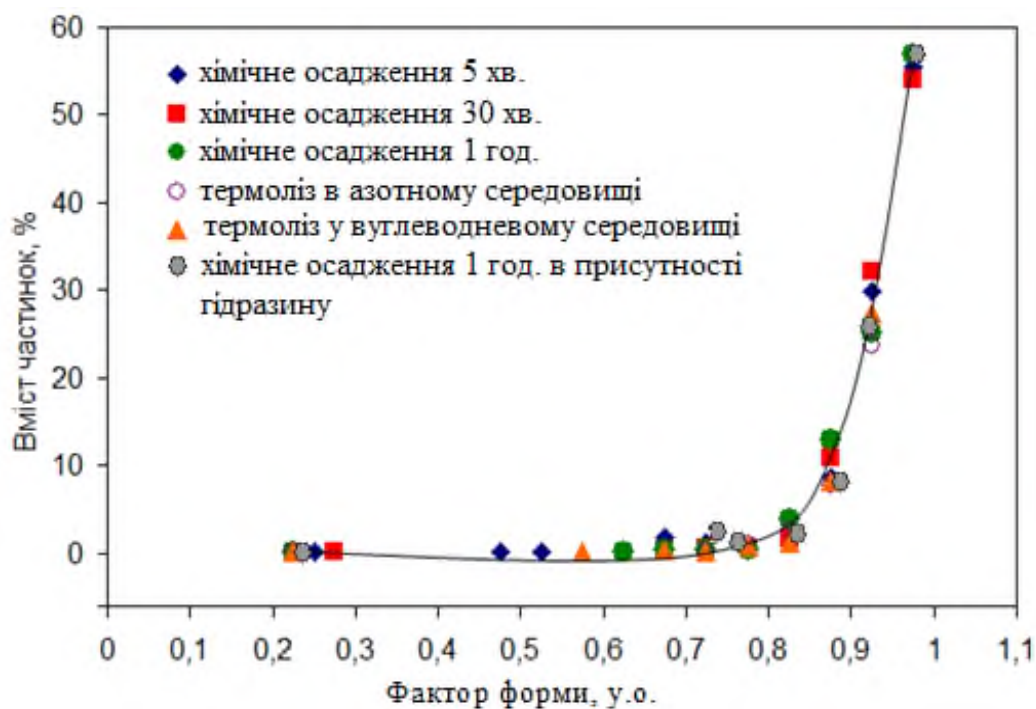
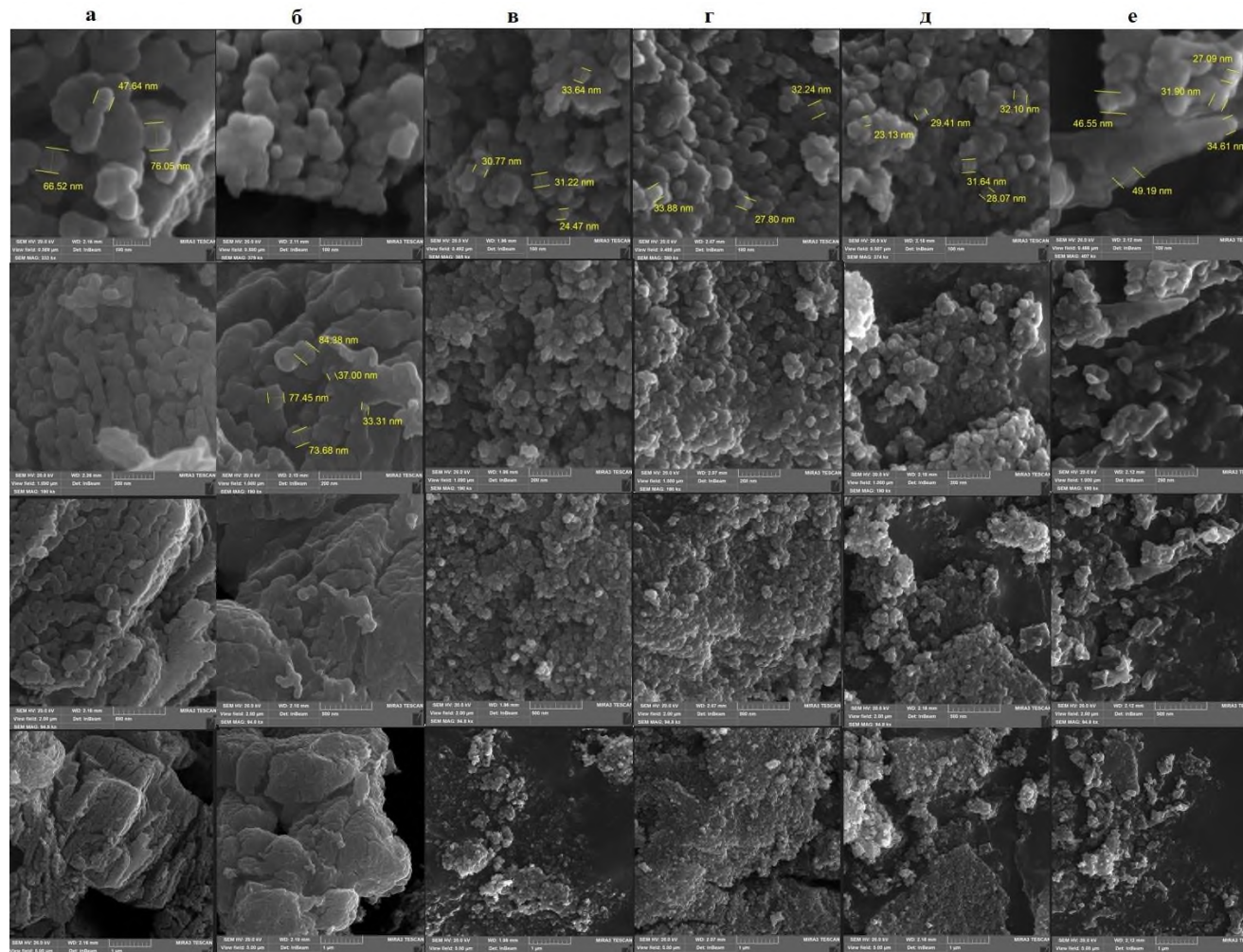


Рисунок 3.5 – Залежність фактору форми порошків магнетиту від методів та параметрів синтезу

порошках магнетиту, отриманих хімічним методом осадження та термолізом, за фактором форми подібний.



а) – термоліз в азотному середовищі; б) – термоліз у вуглеводневому середовищі; в) – хімічне осадження 5 хв;
 г) – хімічне осадження 30 хв; д) – хімічне осадження 1 год; е) – хімічне осадження 1 год (гідразин).

Рисунок 3.3 – Морфологія порошків магнетиту в залежності від методів та параметрів синтезу

Оскільки для всіх порошків більше 98 % частинок мають фактор форми понад 0,7, то можна говорити про формування порошинок правильної форми як у випадку застосування хімічного методу осадження незалежно від його тривалості, так і у випадку термолізу в азотному та вуглеводневому середовищах для синтезу магнетиту.

На рисунку 3.6 представлені результати визначення питомої поверхні магнетиту, отриманого в різних умовах.

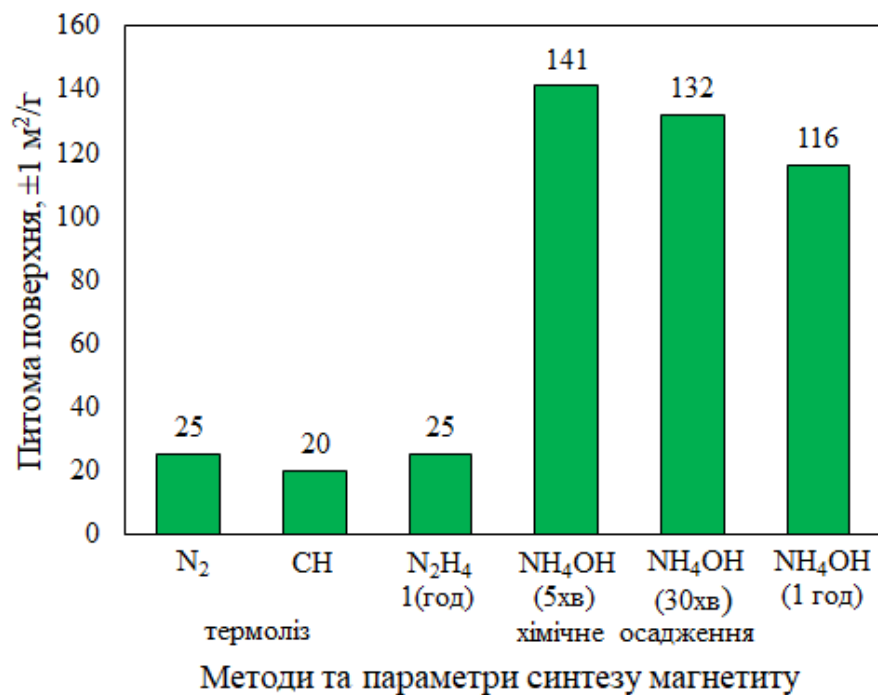


Рисунок 3.6 — Питома поверхня порошків магнетиту в залежності від методів та параметрів синтезу

Показано, що питома поверхня зменшується із збільшенням часу синтезу порошків, отриманих методом хімічного осадження з використанням як осаджувача розчин аміаку. Порошок магнетиту з найбільшим значенням питомої поверхні ($141 \pm 1 \text{ м}^2/\text{г}$) можна отримати синтезом з розчину суміші хлоридів заліза протягом 5 хв з використанням як осаджувача розчин аміаку. Порошки, отримані методом термолізу та методом хімічного осадження з використанням як осаджувача розчин гідразину, мають у 5,5-7 разів нижчі значення питомої поверхні. Оскільки питома поверхня є важливим

параметром, який визначає розмір зони взаємодії матеріалу з іншими матеріалами (в нашому випадку – БГА та хітозаном – складовими композиту) та можливості для молекулярної або хімічної взаємодії між матеріалами, що сприяє зчепленню між різними компонентами, то найбільш перспективним у подальшому використанні можна вважати магнетит, отриманий методом хімічного осадження протягом 5 хв.

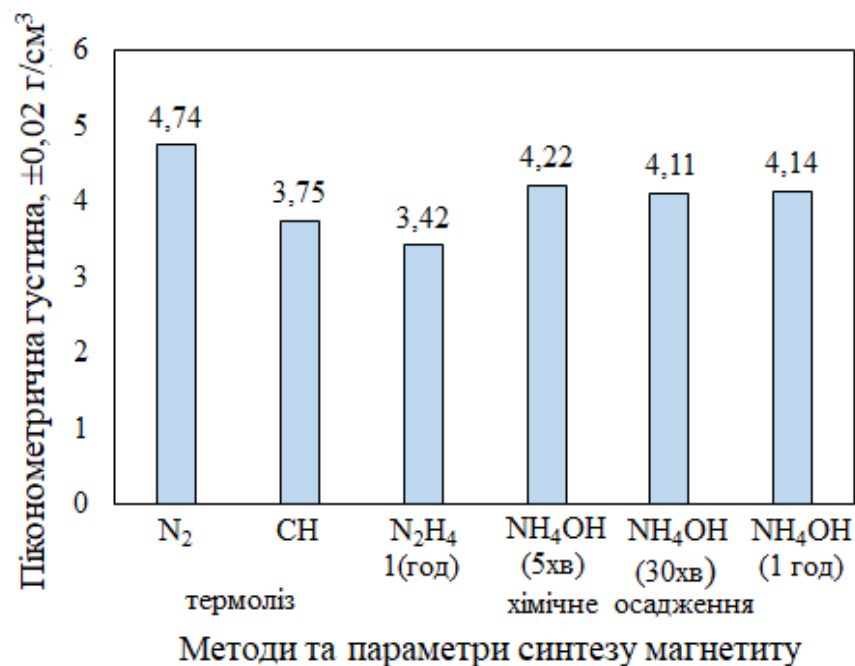


Рисунок 3.7 - Істинна (пікнометрична) густина порошків магнетиту в залежності від методів та параметрів синтезу

Подібна закономірність справедлива і для визначених значень пікнометричної густини (рис. 3.7). Збільшення часу синтезу методом хімічного осадження практично не впливає на густину матеріалів, значення якої відрізняються у межах похибки вимірювання. Спостерігається лише незначне зменшення показнику пікнометричної густини – від $4,22 \pm 0,02$ г/см³ для магнетиту, отриманого протягом 5 хв до $4,14 \pm 0,02$ г/см³ для магнетиту, отриманого протягом 1 год. Вищі більш ніж на 20 % значення густини порошку, отриманого методом термолізу в азотному та вуглеводневому середовищах, можуть бути пов'язані з вищим ступенем кристалічності

матеріалу. Значення густини для магнетиту, отриманого методом хімічного осадження з використанням як осаджувача розчин гідразину є найнижчим, серед усіх зразків – $3,42 \pm 0,02$ г/см³. Слід зазначити, що всі отримані порошки мають нижчі значення густини порівняно з теоретичними ($4,9-5,2$ г/см³) через нижчий ступінь кристалічності.

3.3 Магнітні властивості порошоків магнетиту

Результати визначення магнітних властивостей отриманих порошоків магнетиту у порівнянні з літературними даними наведено у таблиці 3.4. Встановлено, що питома намагніченість насичення Fe₃O₄ суттєво залежить від умов синтезу у випадку хімічного методу осадження: чим більший час перемішування (тривалість синтезу), тим менша питома намагніченість насичення магнетиту, при цьому найменше значення питомої намагніченості демонструє магнетит, синтезований з використанням як осаджувача розчин гідразину. У той же час термічне розкладання FeC₂O₄ дозволяє збільшити питому намагніченість насичення до $109 \pm 0,1$ А·м²/кг та $135 \pm 0,1$ А·м²/кг для вуглеводневого та азотного середовища, відповідно (рис. 3.8).

Коерцитивна сила також залежить від умов синтезу магнетиту. Найвищі значення ($23,8 \pm 0,01-24,0 \pm 0,01$ кА/м) отримані для магнетиту, отриманого методом термолізу. Для порошоків Fe₃O₄, синтезованих методом хімічного осадження з використанням як осаджувача розчин аміаку при тривалості перемішування 30 хв, встановлено, що коерцитивна сила становить $3,0 \pm 0,01$ кА/м, і лише у випадку тривалості синтезу 5 хв коерцитивна сила мала значення $18,1 \pm 0,01$ кА/м (рис. 3.9).

Отримані результати узгоджуються з даними, отриманими іншими дослідниками (Таб.3.4) і, в комплексі зі значенням залишкової індукції, доводять суперпарамагнітні властивості порошоків магнетиту. Крім того, використання термічного розкладу FeC₂O₄ дозволяє значно покращити магнітні властивості магнетиту.

Таблиця 3.4 – Магнітні властивості магнетиту

Питома намагніченість насичення, А·м ² /кг	Коерцитивна сила, кА/м	Залишкова намагніченість насичення, А·м ² /кг	Параметри синтезу
135±0,1	24,0±0,01	1,20±0,01	термоліз, N ₂
109±0,1	23,8±0,01	0,13±0,01	термоліз, СН
93–98	22,3–23,4	—	термоліз (20-300 К) [194]
62±0,1	18,1±0,01	0,02±0,01	Хімічне осадження FeCl ₂ ·4H ₂ O, FeCl ₃ ·6H ₂ O, NH ₄ OH, 5 хв.
61±0,1	3,0±0,01	0,02±0,01	
54±0,1	3,0±0,01	0,004±0,01	
35±0,1	0,2±0,01	0,004±0,01	
69	46,0	—	
54	—	—	
62	16,0	—	
47	—	—	
54	—	—	
57	19,3	—	
88	—	—	
79	—	—	

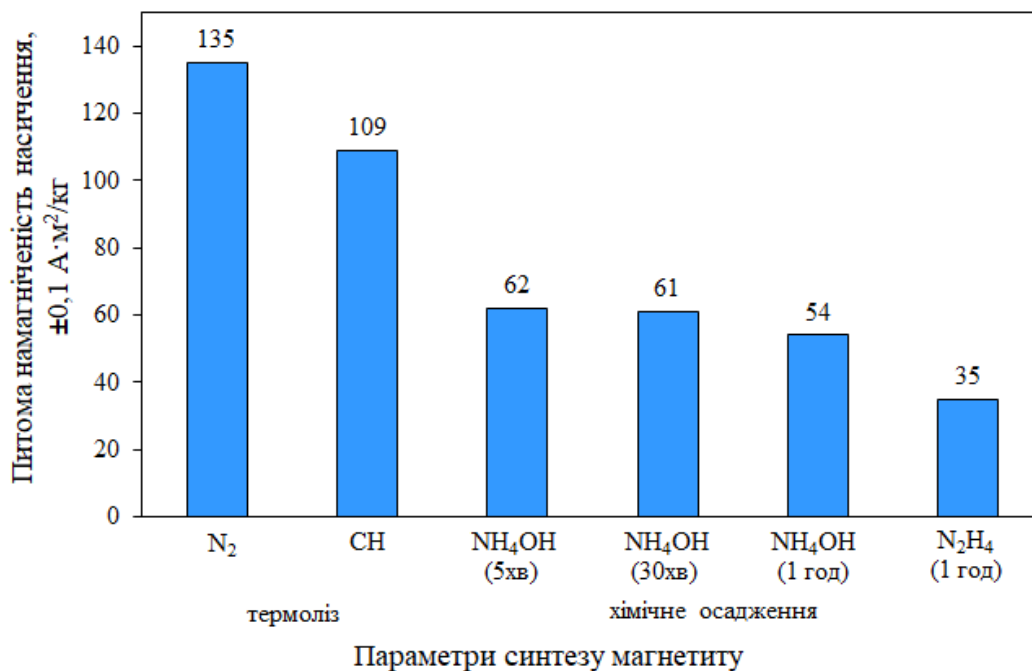


Рисунок 3.8 - Залежність питомої намагніченості насичення від методів та параметрів синтезу порошків магнетиту

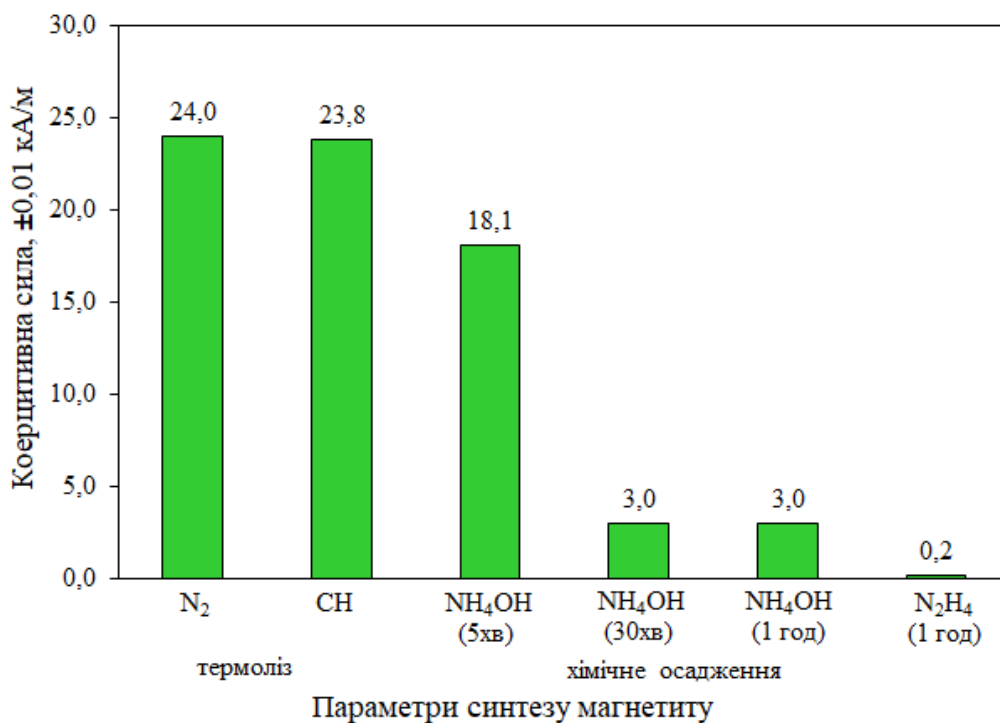


Рисунок 3.9 - Залежність коерцитивної сили від методів та параметрів синтезу порошків магнетиту

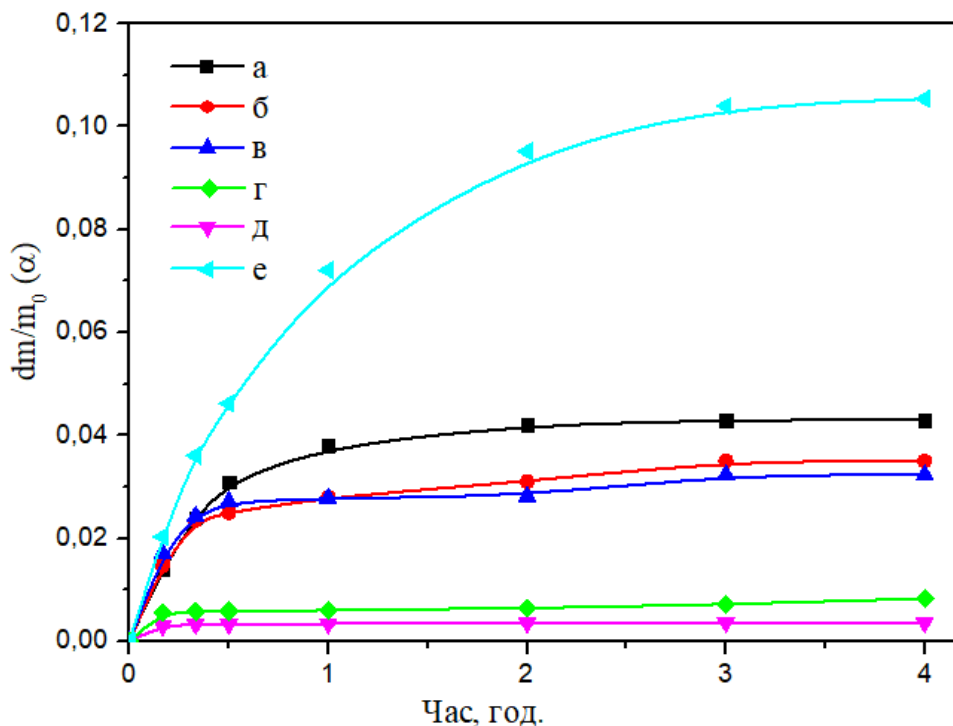
3.4 Дослідження кінетики адсорбції парів води на поверхні порошоків магнетиту

Проведено порівняльне дослідження кінетики адсорбції та десорбції парів води для порошоків магнетиту, отриманих хімічним методом осадження хлоридів заліза, а також методом термолізу в азотному та вуглеводневому середовищах.

Узагальнені порівняльні часові криві адсорбції парів води при 60 % та 100 % вологості та швидкості процесу адсорбції при 100 % вологості для порошоків магнетиту, отриманих методом хімічного осадження різної тривалості з використанням як осаджувача розчин аміаку та протягом 1 год з використанням як осаджувача розчин гідразину, а також термолізом в азотному та вуглеводневому середовищі, представлено на рисунках 3.10, 3.11 та 3.12, відповідно.

В умовах вологості 60 % інтенсивна ділянка адсорбційного процесу для порошоків, отриманих хімічним методом осадження, відбувалась в перші 0,5 год і протягом 4 год практично виходить на плато без подальшої інтенсивної зміни (рис. 3.10 (криві а-в)). Однак, аналіз отриманих результатів показав, що даний порошок, отриманий з використанням як осаджувача розчин гідразину протягом 1 год має вдвічі вищі адсорбційні показники у порівнянні з магнетитом, отриманим з використанням як осаджувача розчин аміаку (рис. 3.10 (крива е)). Так, величина приведеної адсорбційної маси при 60 % вологості досягає значення $dm/m_0 = 0,1038$ у порівнянні з 0,054 для магнетиту, отриманого методом хімічного осадження протягом 1 год з використанням як осаджувача розчин аміаку. В свою чергу швидкість процесу адсорбції досягала в початковий момент значення $0,122 \text{ год}^{-1}$ у порівнянні з $0,084 \text{ год}^{-1}$, відповідно. Також слід зазначити, що швидкість адсорбції при 100 % вологості на порошок магнетиту, отриманого методом хімічного осадження з використанням як осаджувача розчин гідразину

стабілізується, і в інтервалі часу від 0,5 до 4,5 години була близька до постійного значення – 0029 год⁻¹ (рис. 3.11 (крива е)) [203].



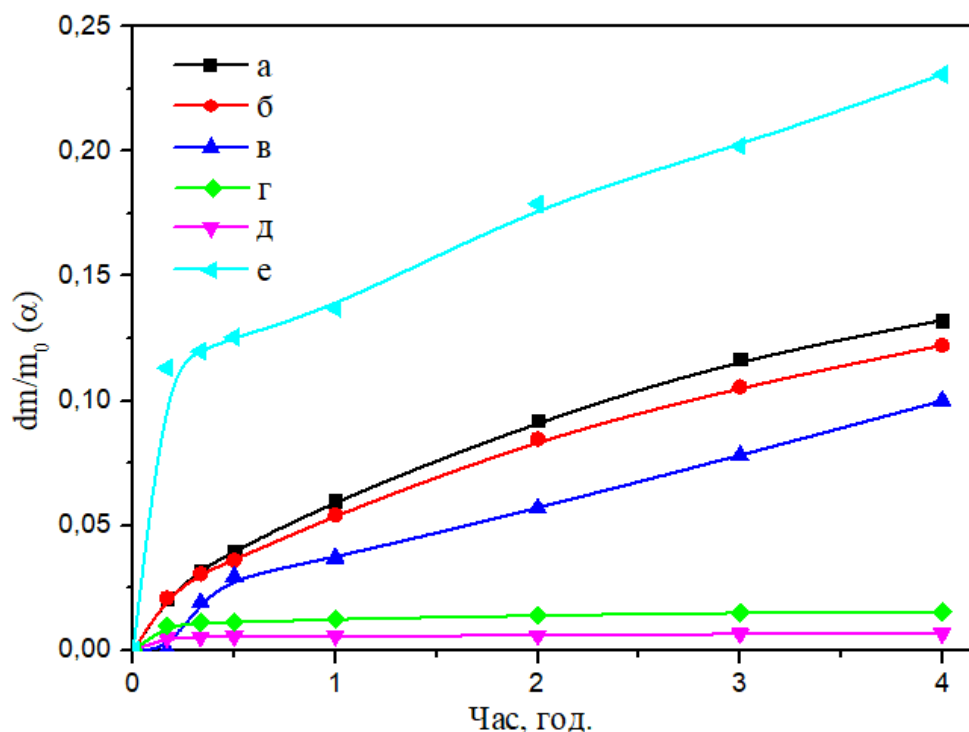
а) – хімічне осадження 5 хв; б) – хімічне осадження 30 хв;
 в) – хімічне осадження 1 год; г) – термоліз в азотному середовищі;
 д) – термоліз у вуглеводневому середовищі; е) - хімічне осадження протягом 1 год (гідразин).

Рисунок 3.10 - Залежність адсорбції парів води при вологості 60 % на порошках магнетиту від часу в залежності від методів та параметрів синтезу

В той же час, для 100 % вологості найінтенсивніша область адсорбції порошоків магнетиту знаходиться в початковому 20-хвилинному інтервалі (рис. 3.11). Слід зазначити, що в початковий період часу масові значення зміни маси адсорбату при стовідсотковій вологості мають більш вищий показник порівняно з показниками збільшення маси адсорбенту при 60% вологості.

Спостерігалось також збільшення швидкості адсорбції зі збільшенням парціального тиску води або вологості газової фази.

Як видно з наведених результатів, адсорбція парів води, а також швидкість процесу суттєво залежить від методу синтезу, його тривалості та газового

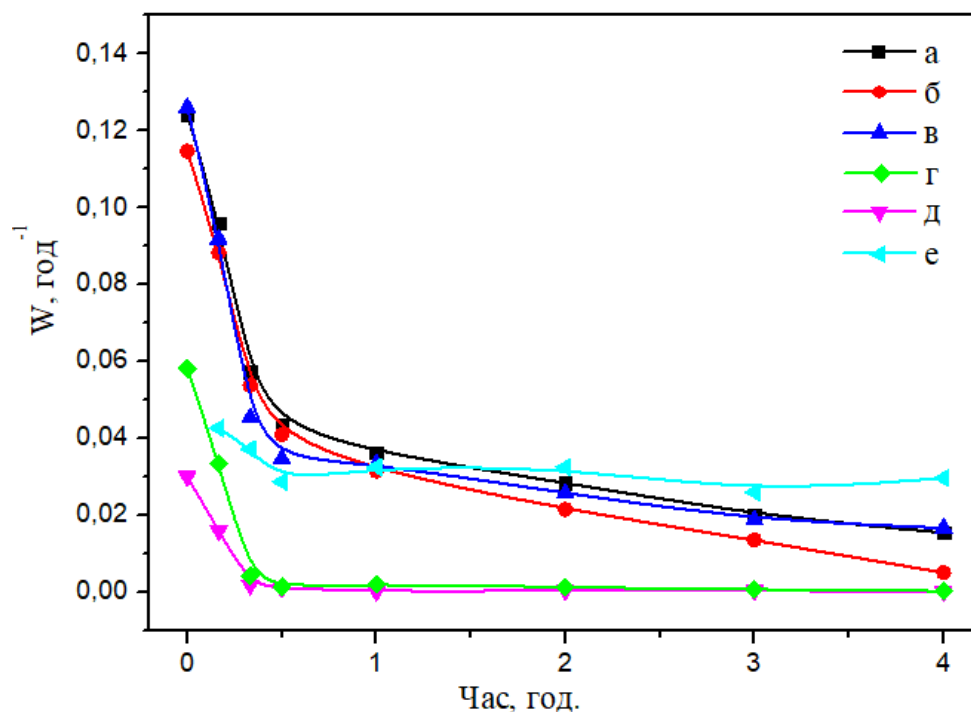


а) – хімічне осадження 5 хв; б) – хімічне осадження 30 хв;
 в) – хімічне осадження 1 год; г) – термоліз в азотному середовищі;
 д) – термоліз у вуглеводневому середовищі; е) - хімічне осадження протягом 1 год (гідразин).

Рисунок 3.11 - Залежність адсорбції парів води при вологості 100 % на порошках магнетиту від часу в залежності від методів та параметрів синтезу

середовища термолізу (рис. 3.11). Значення адсорбції $\Delta m/m_0$ порошків магнетиту при 100 % вологості, отриманих хімічним осадженням, знаходяться в інтервалі від 0,132 до 0,105 і трохи зменшуються зі збільшенням тривалості синтезу від 5 хв до 1 год (рис. 3.11 (криві а-в)). В той же час, значення адсорбції

для порошків, отриманих методом термолізу, відрізняється більш ніж на порядок і складає 0,015 та 0,007 для порошку, отриманого в азотному та вуглеводневому



а) – хімічне осадження 5 хв; б) – хімічне осадження 30 хв;
 в) – хімічне осадження 1 год; г) – термоліз в азотному середовищі;
 д) – термоліз у вуглеводневому середовищі; е) - хімічне осадження
 протягом 1 год (гідразин).

Рисунок 3.12 - Залежність швидкості адсорбції при вологості 100% на порошках магнетиту від часу в залежності від методів та параметрів синтезу

середовищі, відповідно у випадку 100 % вологості та в 2 рази менше при вологості 60 % (рис. 3.11 (криві г, д)). Інтенсивний адсорбційний процес протікав у початковому 20-хвилинному інтервалі часу як при 60 %, так і при 100 % вологості. Протягом 24 годин адсорбована маса парів води досягала значення не більше 0,03-0,04 одиниць приведеної маси.

Початкова швидкість адсорбції порошоків магнетиту (рис. 3.12), отриманих методом хімічного осадження, знаходиться в інтервалі $0.126\text{--}0.115 \text{ год}^{-1}$ і практично не залежить від тривалості синтезу. Протягом 0,5 год швидкість зменшується до $0,05\text{--}0,04 \text{ год}^{-1}$, а протягом 4 год адсорбційного процесу – до $0,022\text{--}0,005 \text{ час}^{-1}$ за лінійною залежністю. Для порошоків, отриманих методом термолізу, швидкість адсорбційного процесу на початковій стадії становила $0,058$ і $0,030 \text{ час}^{-1}$ для азотного та вуглеводневого середовища термолізу, відповідно, переходячи практично в рівноважний стан протягом 20 хв.

Зменшення величин адсорбції парів води та її швидкості для порошоків магнетиту напряму пов'язано з питомою поверхнею (рис. 3.6). Магнетит, отриманий методом хімічного осадження має в 5-7 разів більшу питому поверхню у порівнянні з порошком, отриманим методом термолізу. Середовище отримання порошку магнетиту методом термолізу також суттєво впливає на адсорбцію та її швидкість. Так, магнетит, отриманий в середовищі азоту має вдвічі вищі показники адсорбції незважаючи на те, що їх питомі поверхні відрізняються лише на 20 %. Отриманий результат пов'язаний з впливом вуглеводневого середовища при отриманні магнетиту. Вуглецевий компонент реакційного середовища, ймовірно, впливає на формування адсорбційної здатності магнетиту до полярних молекул газоподібної фази води. Крім того, при термолізі в азотному і вуглеводневому середовищах можлива також пасивація або каталітичне отруєння поверхні синтезованого магнетиту, що призводить до зменшення адсорбційної активності. Таким чином, магнетит, отриманий термолізом, має меншу спорідненість поверхні до молекул води.

Також для всіх порошоків магнетиту, незалежно від методів і параметрів синтезу за формулою (2.11) був розрахований показник адсорбційної активності при 100 % вологості. Незважаючи на той факт, що дана величина залежить від площі поверхні, збільшення показника адсорбційної активності у порошоків, отриманими методом хімічного осадження і термолізу не є суттєвим.

Так, значення адсорбційної активності для магнетиту, отриманого методом хімічного осадження протягом 5 хв, який має найбільшу площу питомої поверхні ($141 \pm 1 \text{ м}^2/\text{г}$) становить $0,09 \cdot 10^2 \text{ м}^2$, тоді як цей показник для магнетиту, отриманого методом термолізу в вуглеводневому середовищі, що має найменшу площу питомої поверхні ($20 \pm 1 \text{ м}^2/\text{г}$) становить $0,06 \cdot 10^2 \text{ м}^2$.

3.5 Вибір порошків магнетиту для створення біокомпозитів

3.5.1 Обґрунтування вибору типу магнетиту для створення біокомпозитів

На підставі проведених порівняльних досліджень та аналізу впливу параметрів та методів синтезу на структуру та властивості магнетиту, як оптимальний варіант для створення композиційного матеріалу БГА/магнетит/хітозан обрано магнетит, отриманий методом хімічного осадження протягом 5 хв з використанням як осаджувача розчин аміаку та методом термолізу оксалатів заліза в азотному середовищі. Основні параметри обраних порошків представлені у таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 – Параметри порошків магнетиту, обраних для синтезу композиту

Параметр	Тип (метод і параметр синтезу) магнетиту	
	Хімічне осадження протягом 5 хв	Термоліз в азотному середовищі
1	2	3
Розмір частинок, нм		
БЕТ	9	48
РФА	8	35
СЕМ	29	62
Площа питомої поверхні, $\text{м}^2/\text{г}$	141 ± 1	25 ± 1

Продовження Таблиці 3.5

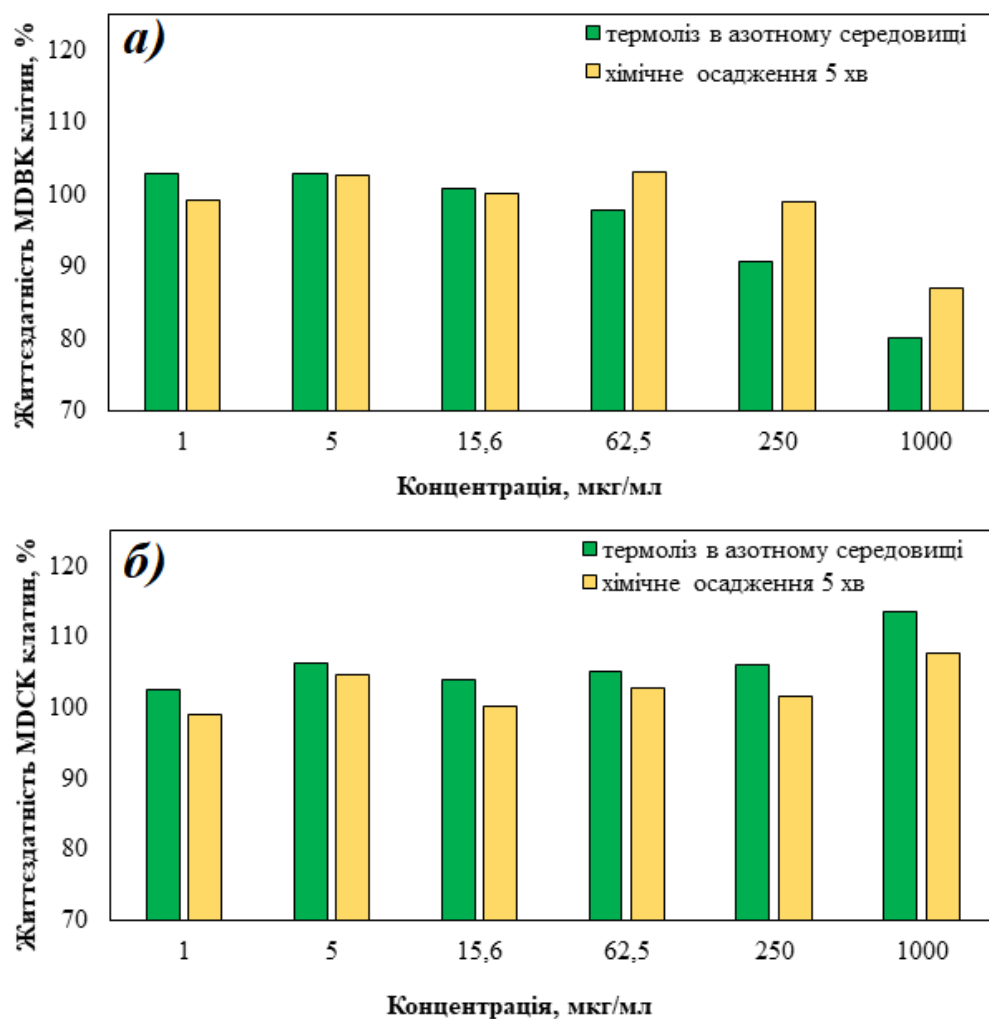
1	2	3
Піконометрична густина, г/см ³	4,22±0,02	4,74±0,02
Питома намагніченість насичення, А·м ² /кг	62±0,1	135±0,1
Коерцитивна сила, кА/м	18,1±0,01	24,0±0,01
Залишкова намагніченість насичення, А·м ² /кг	0,02±0,01	1,24±0,01
Показник адсорбційної активності, м ⁻²	0,09·10 ²	0,06·10 ²

В першу чергу, обираючи магнетит для подальшого синтезу композиту, слід враховувати ефективність процесу. Магнетит, отриманий методом хімічного осадження протягом 5 хв, відповідає вимогам щодо структури, розміру частинок, питомої поверхні, магнітних та адсорбційних властивостей, що робить його кращим варіантом порівняно з тривалішими методами синтезу (протягом 30 хв, 1 год та 1 год в присутності гідрозину).

Хоча магнетит, отриманий методом термолізу в азотному середовищі у порівнянні з магнетитом, отриманим методом хімічного осадження протягом 5 хв має більший розмір частинок, меншу питому поверхню, а отже і адсорбційні властивості, його перевагою є високі магнітні властивості (питома намагніченість насичення та коерцитивна сила). Цей параметр дозволяє зробити припущення, що композити, створені на його основі будуть також мати більш високі значення магнітних властивостей, що в перспективі може дозволити більш широке їх використання в якості магніточутливого матеріалу.

3.5.2 Дослідження цитотоксичності порошоків магнетиту для створення біокомпозитів

Для порошоків магнетиту, які були обрані для створення біокомпозиту, було проведено дослідження на цитотоксичність, оскільки з магнетиту в процесі взаємодії з організмом людини виділяється залізо, що може мати негативний вплив на живі клітини [151] (Рис. 3.20).



а) - дослідження на кітинах MDBK; б) - дослідження на клітинах MDCK

Рисунок 3.20 – Цитотоксичний ефект магнетиту, отриманого методом хімічного осадження протягом 5 хв та методом термолізу в азотному середовищі

Показник цитотоксичності визначали за допомогою МТТ-аналізу вимірювання клітинної метаболічної активності. Відсоток життєздатності клітин, згідно використаного методу, визначається за допомогою значення оптичної густини розчинника (як контроль клітин) в порівнянні зі середнім значенням оптичної густини дослідних зразків для певної концентрації порошків магнетиту для кожної лунки 96-лункового планшету. Дослідження, проведені на клітинах нирок великої рогатої худоби Мадіна-Дарбі (MDBK) та на клітинах нирок собак Мадіна-Дарбі (MDCK) показало, що в діапазоні концентрацій 1 мг/мл - 1 мкг/мл порошки магнетиту не мають цитотоксичної дії, оскільки відсоток життєздатності клітин обох видів становить більше 80 % (рис. 3.20).

Спостерігається невелике зниження життєдіяльності, порядку 20%, для магнетиту(терм.) при концентрації 1 мг\мл на клітини MDBK, але було виявлено, що це зниження не пов'язане з впливом магнетиту на клітини, оскільки під час спостереження зразків під мікроскопом, чітко спостерігався поверхневий моношар клітин (рис. 3.20 (а)).

Що стосується дії обраних порошків на клітини MDCK, то максимально зафіксоване зниження життєдіяльності менше 1 % (рис. 3.20 (б)). В той же час, відсоток життєдіяльності клітин більше 100 свідчить про те, що клітини метаболізують більше формазану з субстрату МТТ, ніж контрольна група.

В цілому, враховуючи, що відсоток життєздатності клітин складає більше 80 %, навіть за максимальної концентрації, порошки магнетиту не виявляють цитотоксичного впливу на живі клітини і є перспективними для подальшого використання при синтезі композиційного матеріалу БГА/магнетит/хітозан.

Висновки до розділу

Методами хімічного осадження (тривалістю 5 хв, 30 хв та 1 год з використанням як осаджувачів розчини аміаку або гідрозину) та термолізу (в

азотному та вуглеводневому середовищі) отримано порошки магнетиту та досліджено вплив параметрів та методів синтезу на їх структуру та властивості з метою вибору оптимального для подальшого застосування з метою створення композиційних матеріалів БГА/магнетит/хітозан. Встановлено, що:

- незалежно від застосованого методу синтезу, порошки мають структуру магнетиту, є сферичними та нанорозмірними, з середнім діаметром 23-34 нм та 33-84 нм для хімічного методу осадження та методу термолізу, відповідно, але схильні до агломерації, що узгоджується з розрахованими величинами розмірів частинок на основі значень питомої поверхні, а також формули Шеррера за результатами рентгенофазового аналізу;

- питома поверхня порошоків зменшується зі збільшенням тривалості хімічного осадження, а магнетит з питомою поверхнею 141 ± 1 м²/г можна отримати синтезом з розчину суміші хлоридів заліза протягом 5 хв, в той час як порошки, отримані методом термолізу, мають у 5,5-7 разів нижчі значення питомої поверхні (20 ± 1 - 25 ± 1 м²/г);

- метод хімічного осадження з використанням як осаджувача розчин аміаку дозволяє отримати порошок з магнітними властивостями (питома намагніченість насичення $54 \pm 0,1$ - $62 \pm 0,1$ А·м²/кг, коерцитивна сила $3,0 \pm 0,01$ - $18,1 \pm 0,01$ кА/м, залишкова індукція $0,004 \pm 0,01$ - $0,02 \pm 0,01$ А·м²/кг), співставними з літературними даними, а використання методу термолізу оксалатів заліза – з питомою намагніченістю насичення $109 \pm 0,1$ - $135 \pm 0,1$ А·м²/кг, що в 1,5-2 рази перевищує аналоги;

- магнетит, отриманий методом хімічного осадження, має більш ніж на порядок вищі адсорбційні властивості у порівнянні з порошками, отриманими методом термолізу, що корелює зі значеннями питомої поверхні. Крім того, вуглеводневе середовище у порівнянні з азотними вдвічі знижує адсорбційні властивості;

- враховуючи вищезазначене, для створення композиційних матеріалів БГА\магнетит\хітозан було обрано порошки магнетиту, синтезованого методом хімічного осадження хлоридів заліза протягом 5 хв, та методом термолізу оксалатів заліза в азотному середовищі, оскільки вихідні властивості, такі як розмір частинок, питома поверхня, магнітні та адсорбційні властивості, а також відсутність токсичного впливу на живі клітини, є найбільш оптимальними для створення композитів медичного призначення.

РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ТА СТРУКТУРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ БІОКОМПОЗИТІВ НА ОСНОВІ ГІДРОКСИПАТИТУ, МОДИФІКОВАНИХ МАГНЕТИТОМ ТА ХІТОЗАНОМ

Створення композитів на основі біогенного гідроксиapatиту – одному з ключових компонентів кісткової тканини, – виокремлюється особливою актуальністю, оскільки вони знаходять широке застосування в медицині та біотехнології. Для досягнення бажаних функціональних властивостей цих біоматеріалів, важливим є проведення фундаментального дослідження їх фізико-хімічних та структурних параметрів.

Дослідження проводилися на порошкових та компактних зразках композитів біогенний гідроксиapatит/магнетит/хітозан з різним масовим співвідношенням БГА та магнетиту (99/1, 95/5, 75/25 і 50/50 мас. %) різних типів (методів синтезу) при вмісті хітозану 10 % від маси магнетиту. Головним завданням є встановлення залежностей між складом матеріалу та його основними властивостями, як біокомпозиту: структурними, хімічними, фізичними, механічними та магнітними. Вивчення властивостей та особливостей формування структури композитів проводилися згідно методик, описаних у Розділі 2.2.

4.1 Композиційні матеріали на основі біогенного гідроксиapatиту, модифіковані магнетитом, отриманим методом хімічного осадження та хітозаном

4.1.1 Дослідження фазового та хімічного складу композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Загальний вигляд порошкових композитів, в залежності від співвідношення БГА та магнетиту, представлений на рисунку 4.1.



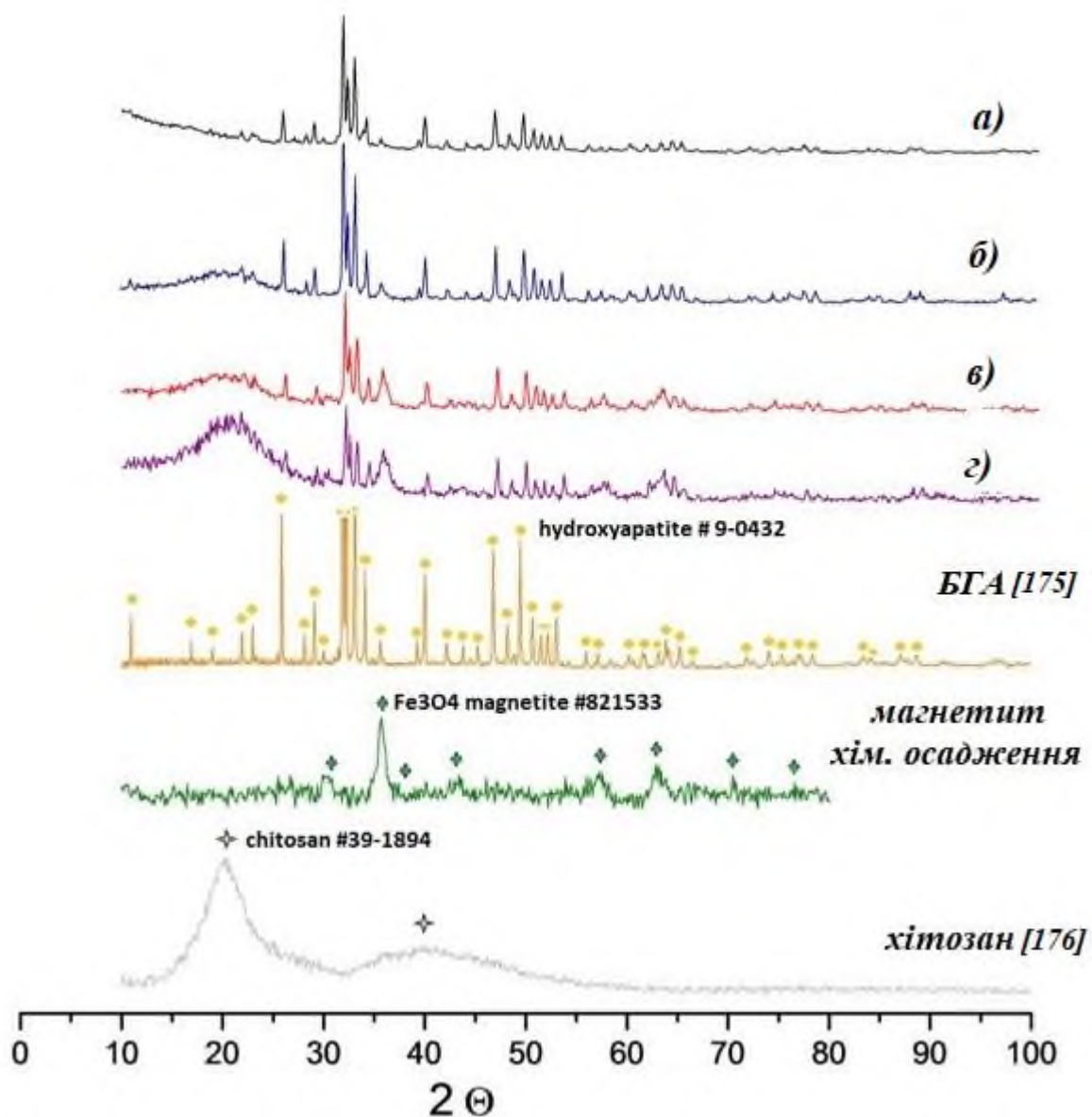
а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) – БГА/магнетит: 50/50.

Рисунок 4.1 – Загальний вигляд композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан з різним масовим співвідношенням компонентів

Відповідно до результатів, отриманих за допомогою рентгенофазового аналізу, на дифрактограмах композиту, які представлені на рисунку 4.2, можна чітко виділити основну фазу гідроксиapatиту (JCPDS № 9-0432). Іншою фазою є магнетит, який представлений характерними піками (JCPDS № 821533) при значеннях кутів відбиття 2θ $35,5^\circ$, $57,2^\circ$ та $62,9^\circ$.

Оскільки хітозан ($2\theta=20,1^\circ$) має близький порядок атомів в той час, як дальній порядок атомів порушений, то це призводить до формування рентген аморфного гало на рентгенограмі.

Представлений на рисунку 4.3 фрагмент дифрактограми композиту з вмістом 1 % магнетиту(хім.), дозволяє більш чітко проаналізувати вплив Fe_3O_4 на фазовий склад гідроксиapatиту. Враховуючи, що характерні піки гідроксиapatиту та композитів збігаються з еталонними значеннями, можна стверджувати, що введення Fe_3O_4 не призвело до утворення будь-яких вторинних кристалічних фаз.

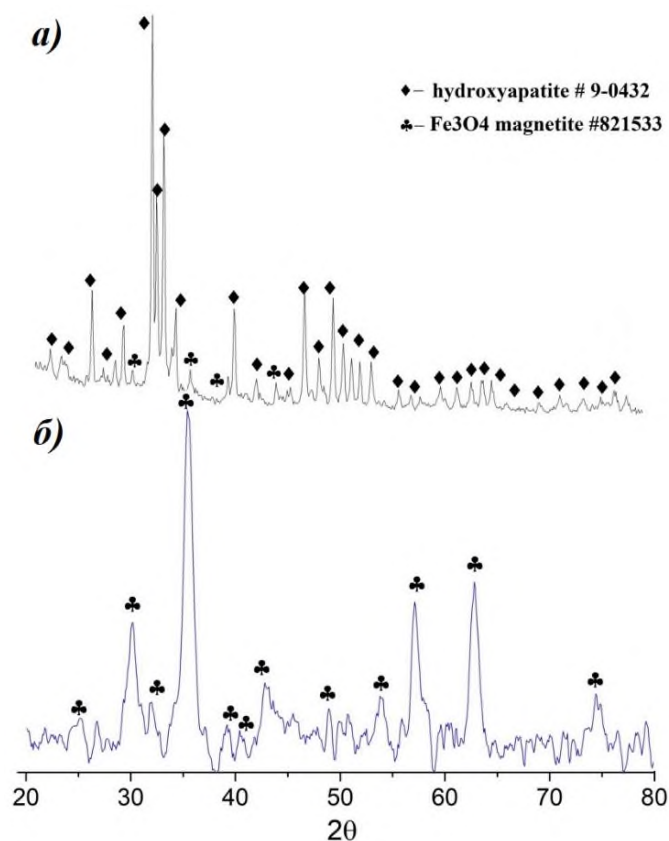


а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) – БГА/магнетит: 50/50.

Рисунок 4.2 – Дані РФА для композитів з різним масовим співвідношенням БГА/магнетит і вихідних матеріалів – БГА, магнетит(хім.), хітозан

При збільшенні кількості магнетиту в складі композиту і збільшення інтенсивності характерних піків Fe_3O_4 на кутах 2θ : $35,5^\circ$, $57,2^\circ$ та $62,9^\circ$ та

зменшення характерних піків БГА, притаманна всім композитам, незалежно від масового співвідношення БГА/магнетит.

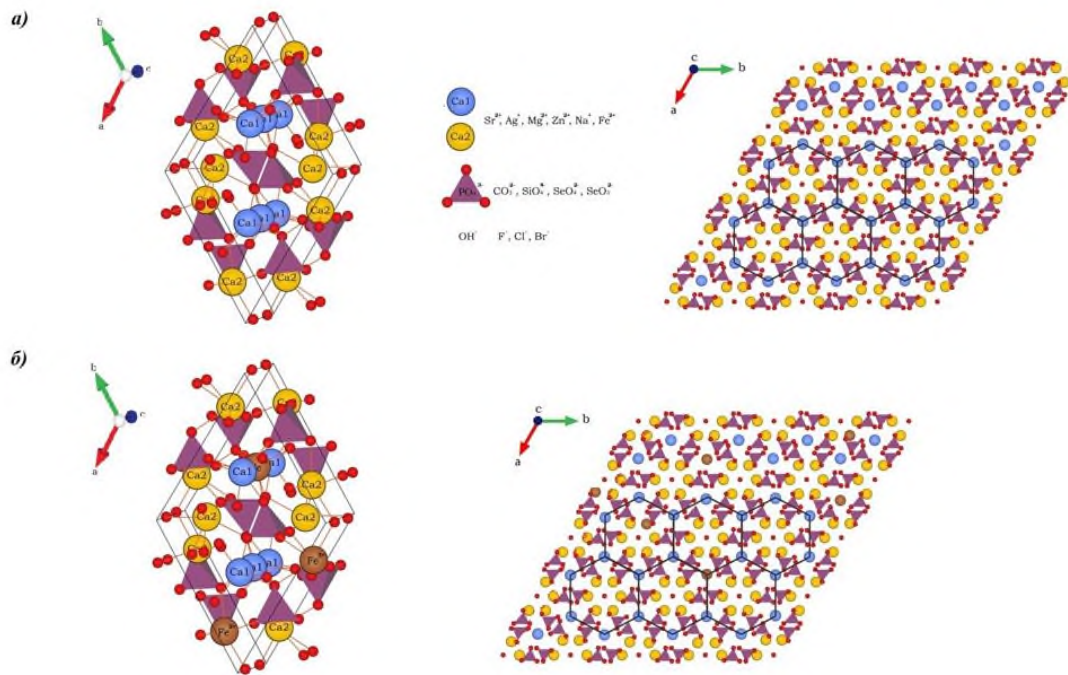


а) – композит БГА/магнетит(хім.)/хітозан: 99/1; б) – магнетит, отриманий методом хімічного осадження

Рисунок 4.3 – Дані РФА для композиту з масовим співвідношенням БГА/магнетит 99/1 та магнетиту(хім.)

Згідно даних рентгенофазового аналізу, були встановлені параметри кристалічної структури отриманих композиційних матеріалів (Таблиця 4.1). Встановлено, що розмір частинок варіюється від 44 нм до 50 нм, а розмір кристалітів вздовж вісі a та c та об'єм кристалічної ґратки змінюються в залежності від співвідношення БГА/магнетит.

Відомо, що кристалічна решітка БГА допускає катіонні (Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Ag^+ , Na^+ та ін.) і аніонні (SiO_4^{4-} , Cl^- , Br^- та ін.) заміщення (рис. 4.4). При цьому іони Fe^{2+} , які мають менший радіус, заміщують іони Ca^{2+} і відбувається закономірне зменшення розмірів кристалітів вздовж вісі a та c [204].



а) – кристалічна ґратки ГА з можливими іонними заміщеннями; б) – кристалічна ґратки ГА з ймовірним заміщенням іонів Ca^{2+} на іони Fe^{2+}

Рисунок 4.4 - Схематичне зображення кристалічної структури гідроксиапатиту, заміщеної іонами Fe^{2+} (препринт з [205])

За даними, наведеними у таблиці 4.1 видно, що введення магнетиту призводить до зменшення розміру кристалітів, як вздовж вісі a , так і вздовж вісі c . Це свідчить про те, що у кристалічній структурі БГА відбулися іонні заміщення. Порівняно з чистим БГА ($D_a = 9,411$ нм, $D_c = 6,918$ нм), спостерігається закономірне зменшення розмірів кристалітів D_a та D_c , разом зі збільшенням кількості магнетиту у складі композиту.

Таблиця 4.1 – Параметри кристалічної структури композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

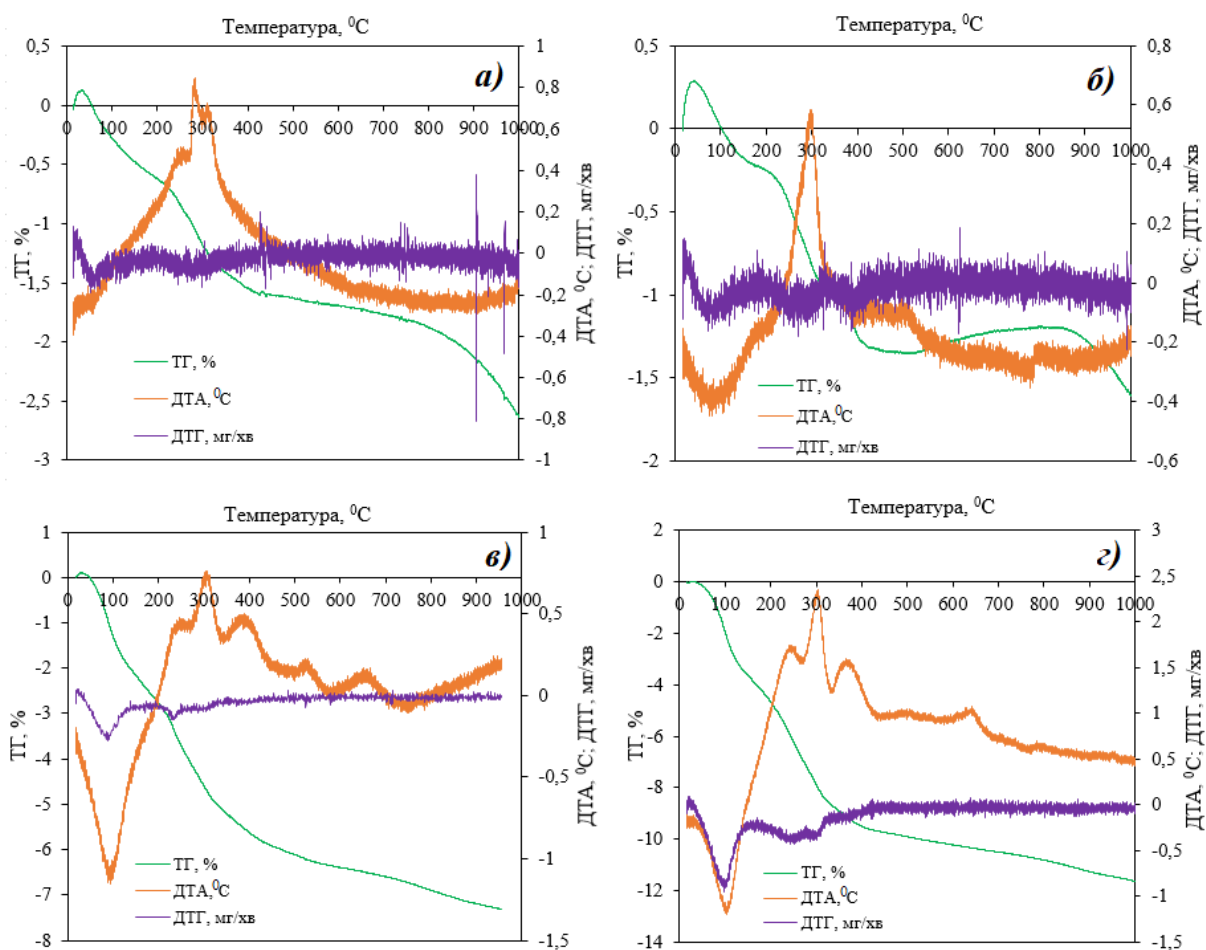
Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту	Розмір кристалітів D_a , нм	Розмір кристалітів D_c , нм	Об'єм кристалічної ґратки, Å^3	Розмір частинок (згідно даних РФА), нм
БГА [175]	9,411	6,918	531	-
99/1	9,410	6,914	530	50
95/5	9,394	6,909	528	49
75/25	9,393	6,874	525	45
50/50	9,387	6,852	523	44

Як видно з Таблиці 4.1, при збільшенні вмісту магнетиту від 1 до 50% розмір кристалітів збільшується від $D_a = 9,400$ нм, $D_c = 6,914$ нм (для 1% вмісту) до $D_a = 9,387$ нм, $D_c = 6,852$ нм (до 50% вмісту). При цьому, об'єм кристалічної ґратки зменшується від 530 Å^3 до 523 Å^3 , для відповідних композитів.

В той же час, введення 1 % магнетиту майже не впливає на розмір кристалітів і на об'єм кристалічної ґратки композиту (Таб. 4.1), що може свідчити про найменшу кількість заміщення іонів Ca^{2+} на іони Fe^{2+} .

Для встановлення впливу магнетиту на склад і можливі фазові переходи отриманих композитів досліджували методом диференційного термогравіметричного аналізу (рис. 4.5).

Дані ДТА та ДТГ свідчать про ряд ендотермічних та екзотермічних процесів, які відбуваються у композитах під час нагрівання і відповідають наступним перетворенням [206] (рис. 4.5). Для області температур $\sim 30\text{-}260$ °С всіх композитів спостерігається ендотермічний ефект. Мінімум температур збільшується для кожного зразка, відповідно до збільшення кількості магнетиту у складі: якщо для композиту з вмістом 1 % магнетиту мінімум температури складає ~ 60 °С, то для 50 % цей показник становить ~ 97 °С.



а) – 99/1; б) – 95/5; в) – 75/25; г) – 50/50

Рисунок 4.5 – Термогравіметричний аналіз композитів

БГА/магнетит(хім.)/хітозан з різним масовим співвідношенням компонентів

На кривих ДТГ також спостерігаються мінімуми, значення яких збільшується з вмістом магнетиту: для 1 % - 63 °С, для 5 % - 83 °С, для 25 % - 90 °С, для 50% - 98 °С. Втрата ваги на цій ділянці пов'язана з виділенням адсорбованої вологи з матеріалу і становить ~1,5 % для композитів з вмістом 1-5 % магнетиту, ~5,5% для композиту з вмістом 25 % магнетиту та ~11 % для композиту з вмістом 50 % магнетиту. Тобто, магнетит адсорбує більше вологи з навколишнього середовища і зі збільшенням його кількості в складі композитів

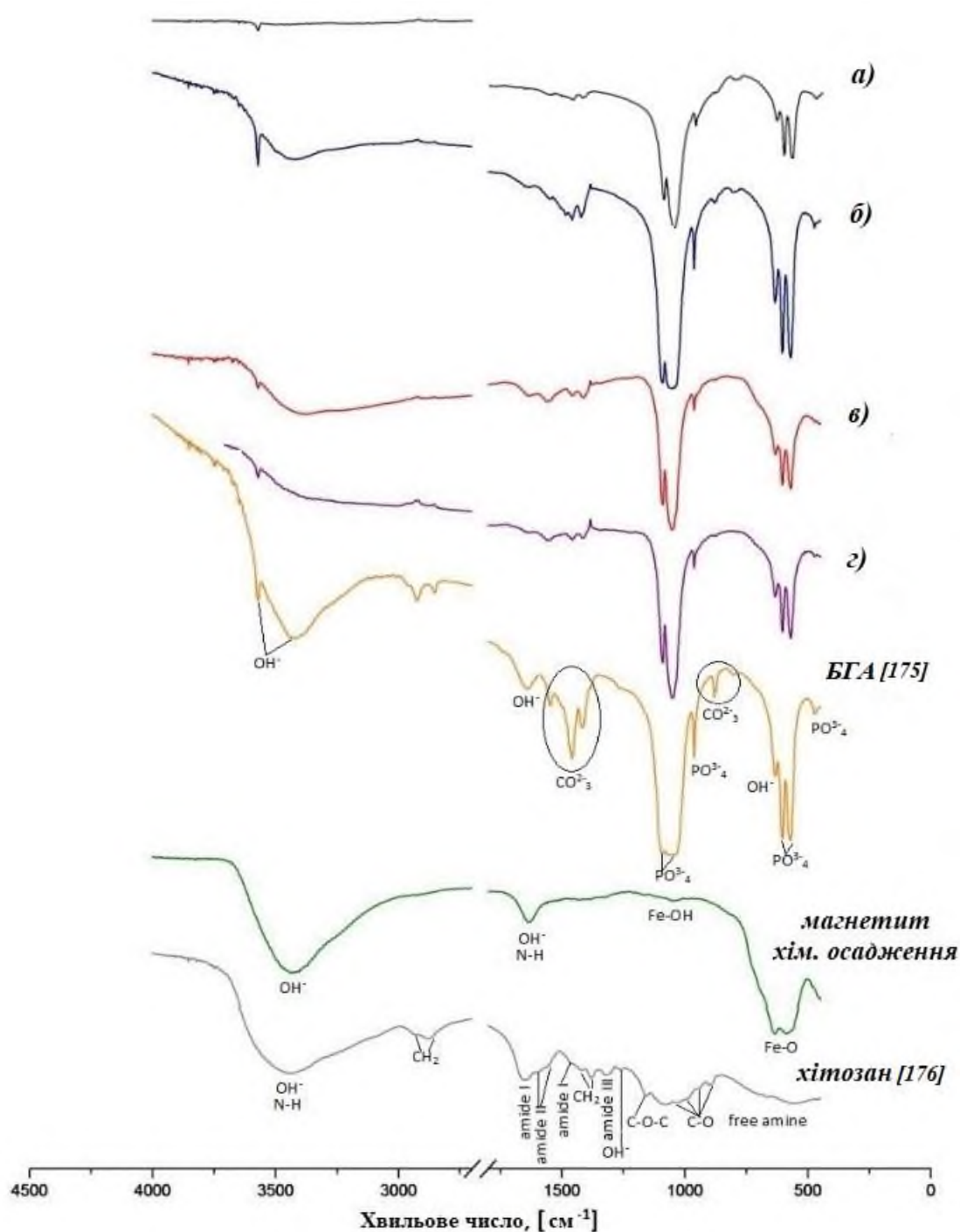
зростає втрата ваги на цій ділянці. Наступна ділянка на кривих ДТА з мінімумами температур при $\sim 215-270$ °C відповідає виділенню структурної вологи [207].

Ідентична для всіх зразків найбільша екзотермічна ділянка на кривих ДТА при $\sim 280-300$ °C може свідчити про розклад карбонатної групи, при цьому її інтенсивність зменшується зі зменшенням вмісту БГА у композитах, що підтверджує отримані результати.

Встановлено, що під час нагрівання зразків із вмістом 1, 5 та 25 % магнетиту можна спостерігати незначну зону приросту ваги (приблизно 0,1 – 0,2 %) при $\sim 20-40$ °C, що пов'язано з частковою взаємодією магнетиту із залишковим киснем (рис. 4.5 (а), (б), (в)). На кривих ТГ для всіх композитів спостерігаються чітко виділені ділянки, які відповідають етапам втрати ваги при підвищенні температури. При $\sim 205-215$ °C відбувається випаровування адсорбованої води з поверхні матеріалів, яке продовжується при $\sim 420-440$ °C з початком кристалізації БГА. Остання ділянка, яка припадає на $\sim 740-800$ °C свідчить про ймовірне руйнування зв'язків HPO_4 [208].

Загалом, втрата ваги композитів залежить від кількості магнетиту у їх складі – від найменшої, яка становить 2,7 % для композиту з вмістом 1 % магнетиту (рис. 4.5 (а)), до найбільшої – 11,5 % для композиту з вмістом 50 % магнетиту (рис. 4.5 (г)). Як було показано раніше, майже вся втрата ваги пов'язана з виділенням адсорбованої води на початкових етапах нагрівання до 300°C.

Одним із методів дослідження складу матеріалів є інфрачервона спектроскопія, яка дозволяє визначити функціональні групи, які присутні в композиті, та розпізнати хімічні сполуки за спектрами коливань молекул. Отримані дані інфрачервоної спектроскопії (рис. 4.6) повністю співставні з даними рентгенофазового аналізу.



а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) – БГА/магнетит: 50/50.

Рисунок 4.6 - Дані інфрачервоної спектроскопії для композитів з різним масовим співвідношенням БГА/магнетит і вихідних матеріалів – БГА, магнетит(хім.), хітозан

Як видно, спостерігається накладення (перекриття) смуг ІЧ-поглинання БГА, магнетиту(хім.) та хітозану. Представлений спектр є типовим для композитів, на основі гідроксиапатиту.

Для всіх композитів, незалежно від співвідношення БГА/магнетит, спостерігається закономірна картина. Так, інтенсивність Р-О-колювання груп PO_3^{4-} при 962 см^{-1} , 1045 см^{-1} і 1089 см^{-1} , а також 603 см^{-1} і 568 см^{-1} закономірно зменшуються зі зростанням кількості магнетиту. Така ж сама картина спостерігається при аналізі смуг пропускання при 3872 , 1683 і 632 см^{-1} , які відповідають колюванням іона OH^- , аналогічно з інтенсивністю карбонатних груп CO_3^{2-} (1540 та 975 см^{-1}). Уширення та зменшення інтенсивності смуг поглинання груп PO_3^{4-} в діапазоні 603 і 568 см^{-1} пов'язано з впливом Fe-O групи, притаманній магнетиту.

Контроль вмісту в композитах основних елементів, а саме заліза та кальцію, проводили методом ЕДРФА, результати якого наведено на рисунку 4.7.

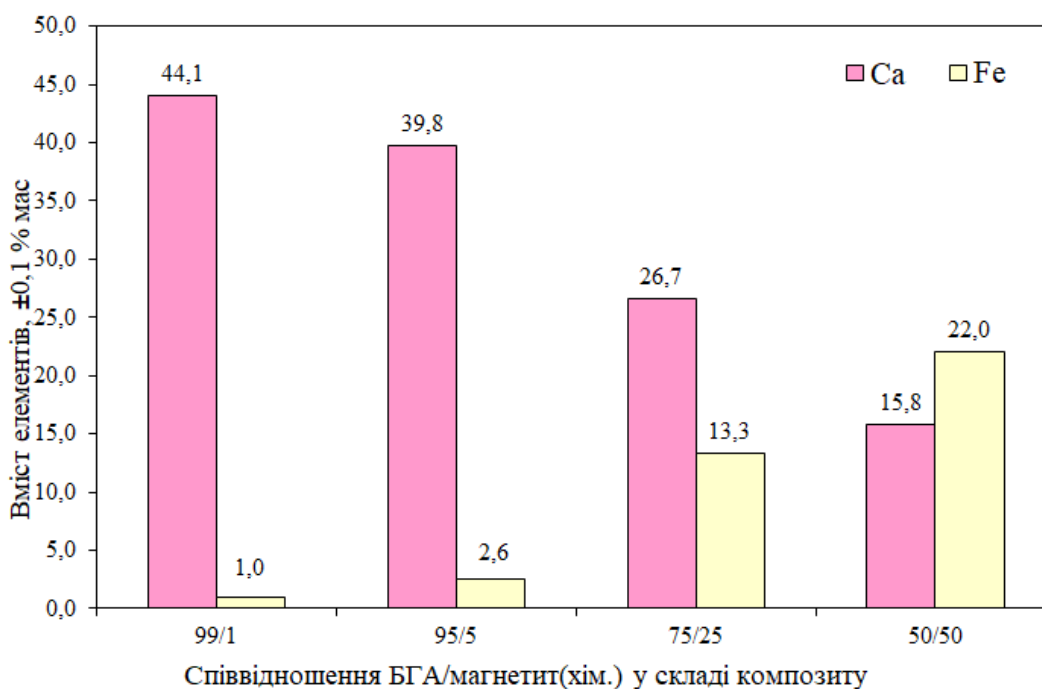


Рисунок 4.7 – Вміст елементів кальцію та заліза у складі композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

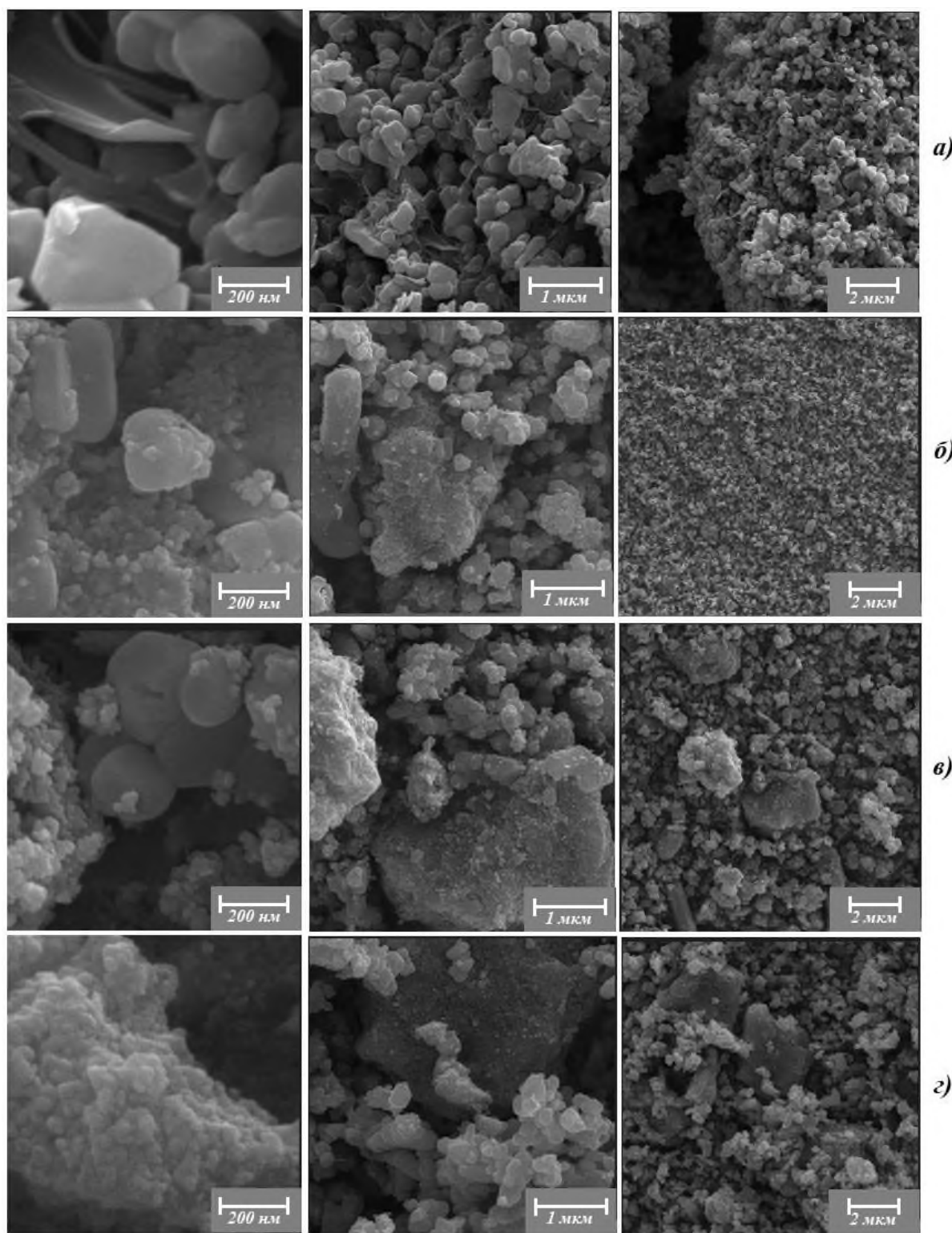
Масова частка кальцію та заліза у складі композитів корелює із співвідношенням БГА та магнетиту. При цьому, кількість заліза у зразках з вмістом 50 % магнетиту, а саме 22 % мас., може викликати питання щодо небажаного впливу на клітини організму. Однак, слід зазначити, що дослідження цитотоксичності чистого магнетиту, отриманого методом хімічного осадження не виявило цитотоксичного впливу на живі клітини, що детально описано у Розділі 3.8. Якщо ж казати загалом, то кількість заліза, що вважається токсичною для організму людини, залежить від декількох факторів, таких як вік, стать, стан здоров'я, загальний рівень заліза в організмі, тип та місце імплантування матеріалу [121, 124]. Результати дослідження цитотоксичного впливу композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан на живі клітини докладно розглянуті в Розділі 5.5.

4.1.2 Дослідження морфології композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Морфологія отриманих порошкових композитів, досліджена методом скануючої електронної мікроскопії представлена на рисунку 4.8.

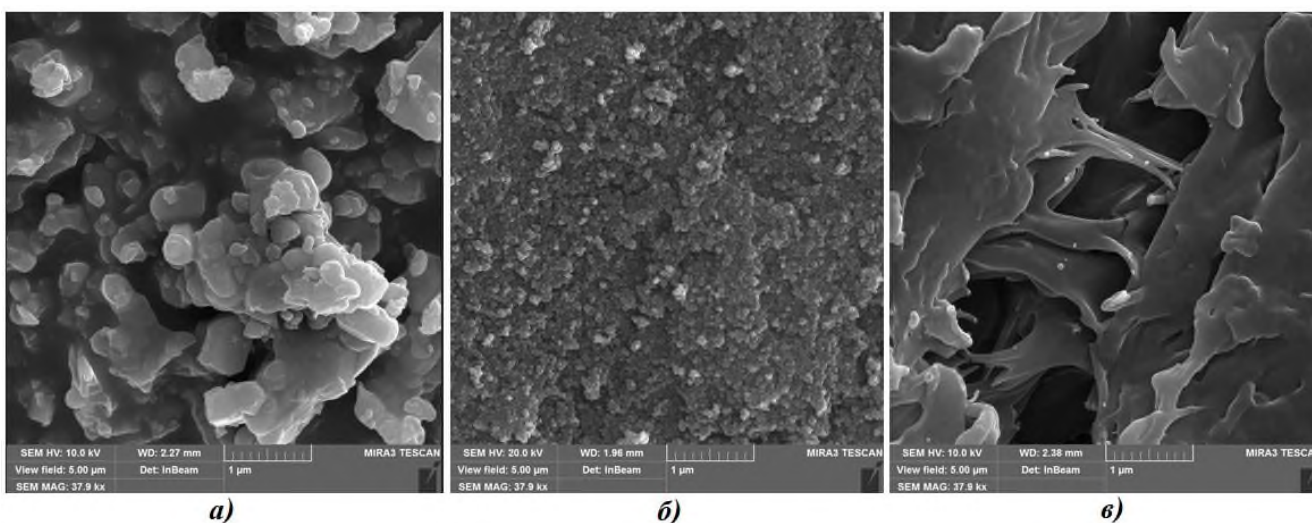
Як видно, порошки представлені округлими агломератами різного розміру. Встановлено, що розмір частинок залежить від масового співвідношення БГА та магнетиту. Так, найменший розмір, згідно дослідження СЕМ, спостерігається для зразка з вмістом 50 % магнетиту – 35 нм. Найбільший же розмір частинок має матеріал з вмістом 1 % магнетиту – 50 нм. Зменшення розміру частинок, очевидно, залежить від збільшення кількості магнетиту у складі, оскільки вихідний магнетит має розміри 24 нм (Розділ 3.4), на відміну від більших частинок БГА (рис. 4.9 (а), (б)).

Також, на рисунку 4.8 (а), на якому зображений композит з вмістом 1% магнетиту добре розрізняються пластинчасті структури хітозану, зображення якого представлено на рисунку 4.9 (в).



а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) – БГА/магнетит: 50/50.

Рисунок 4.8 – Морфологія композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан



а) – БГА; б) – магнетит(хім.); в) – хітозан

Рисунок 4.9 – Морфологія вихідних матеріалів

Макроструктура композитів також залежить від співвідношення БГА та магнетиту - чим більший вміст біогенного гідроксиапатиту в композиті – тим більш виражена гладка поверхня з нерівномірною структурою (рис.4.10).

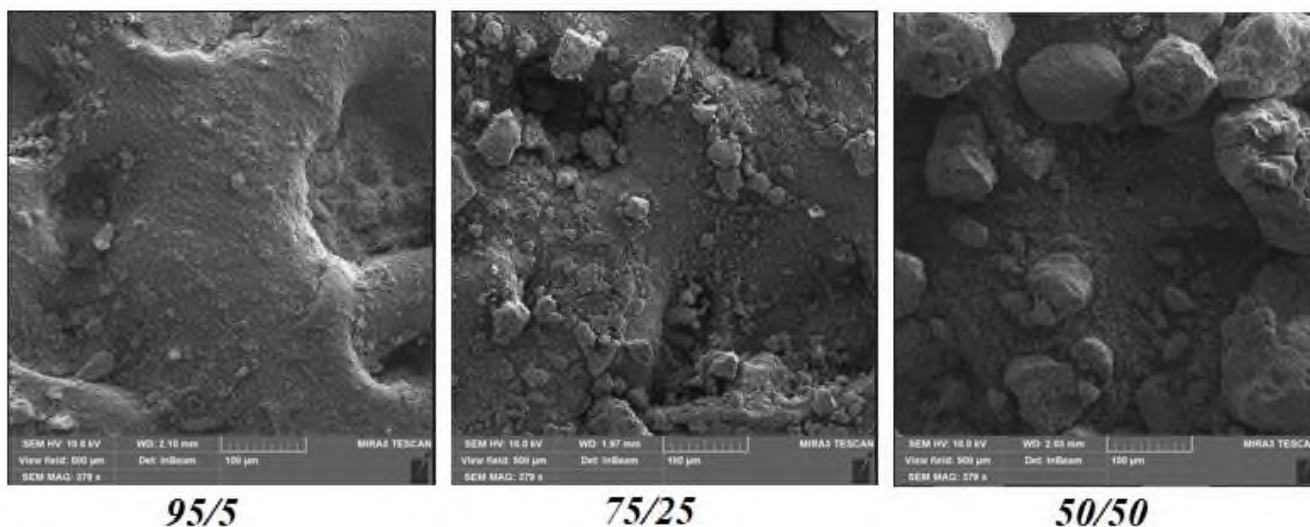


Рисунок 4.10 – Макроструктура композитів з різним масовим співвідношенням БГА та магнетиту(хім.)

На основі отриманих зображень скануючої електронної мікроскопії, за допомогою програмного забезпечення АМІС, був проведений аналіз розподілу частинок композиту за розміром (рис. 4.11). Спостерігається рівномірний розподіл частинок за розміром для всіх матеріалів незалежно від співвідношення БГА та магнетиту у складі композиту. Можна також зазначити, що композити з вмістом 1 та 5 % магнетиту мають частинки у більш вузькому розмірному діапазоні.

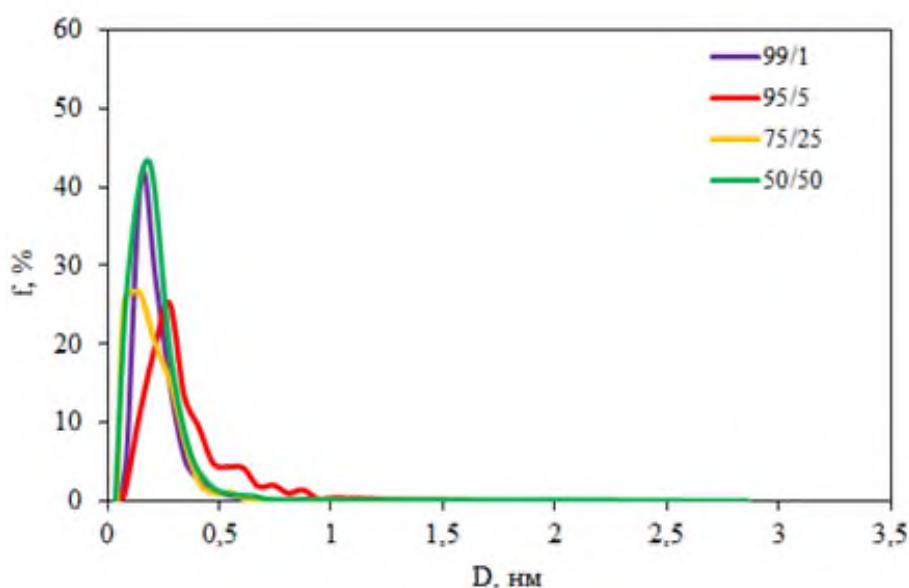


Рисунок 4.11 - Розподіл частинок композитів за розміром в залежності від масового співвідношення БГА та магнетиту(хім.)

Крім того, морфологію порошків було оцінено за фактором форми, що представлено на рисунку 4.12. Згідно отриманих даних, можна зробити висновок, що розподіл частинок за фактором форми подібний. Відповідно до методу Салтикова (Розділ 2), чим менше значення фактору форми, тим більше форма частинок відрізняється від сферичної. Встановлено, що для всіх складів композитів більше 89 % частинок мають фактор форми понад 0,8, тому можна говорити про формування порошків правильної форми.

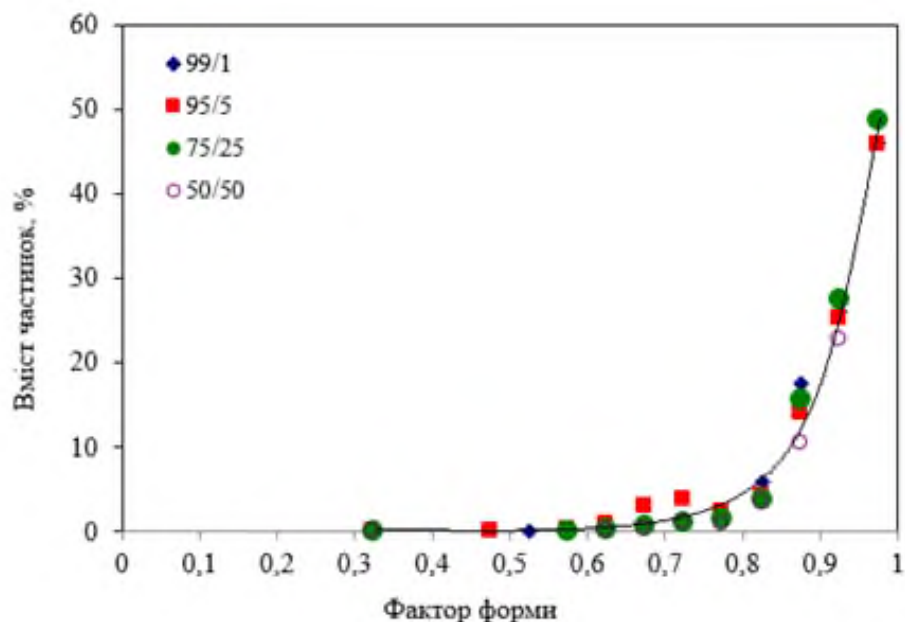


Рисунок 4.12 - Залежність фактору форми частинок композитів від масового співвідношення БГА та магнетиту(хім.)

Дослідження зміни площі питомої поверхні, об'єму пор та пікометричної густини композитів в залежності від співвідношення БГА/магнетит представлено в збірній Таблиці 4.2.

Таблиця 4.2 – Властивості композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан та вихідних матеріалів – БГА та магнетиту(хім.)

Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту	Питома поверхня, $\pm 1 \text{ м}^2/\text{г}$	Об'єм пор, $\pm 0,002 \text{ см}^3/\text{г}$	Пікометрична густина, $\pm 0,02 \text{ г}/\text{см}^3$
БГА	4	0,001	3,09
магнетит (хім.)	141	0,024	4,22
99/1	5	0,002	3,07
95/5	10	0,004	3,10
75/25	34	0,010	3,08
50/50	47	0,014	3,08

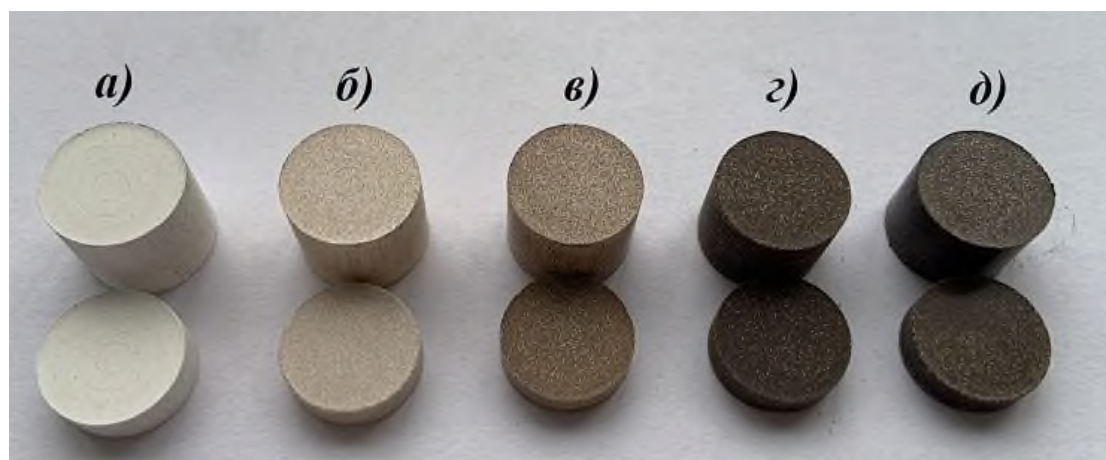
Як видно, спостерігається збільшення питомої поверхні відповідно до збільшення кількості магнетиту у складі композиту. Додавання 5 % магнетиту(хім.) у склад композиту призводить до підвищення питомої поверхні більше ніж в 2 рази та об'єму пор в 4 рази, у порівнянні з немодифікованим БГА, тоді як зміна піконометричної густини лежить в межах стандартної похибки вимірювання. Загалом, збільшення кількості магнетиту не призводить до зростання значень істинної густини, що пов'язано з відповідними параметрами вихідних БГА та магнетиту. Збільшення питомої поверхні та об'єму пор разом зі збільшенням кількості магнетиту у складі композиту пов'язано з тим, що вихідний магнетит має нанорозмірні частинки (8-24 нм) з великою питомою поверхнею у порівнянні з немодифікованим гідроксиапатитом (Таб. 4.2). При додаванні магнетиту, він, ймовірно, заповнює пори вихідного БГА, що збільшує питому поверхню внаслідок більшої кількості частинок, що контактують з зовнішнім середовищем.

4.1.3 Дослідження механічних властивостей композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Однією з головних характеристик матеріалів, які розроблюються в якості кісткових замінників є їх механічні властивості. Гідроксиапатит має іонний тип хімічного зв'язку, що обумовлює його досить високу крихкість. Механічні властивості значно знижуються зі збільшенням вмісту аморфної фази, а висока кристалічність і низька пористість, в свою чергу, призводять до підвищення міцності на стиск, розтяг та розрив [209]. Межа міцності на згин, стиск і розтяг щільних зразків не модифікованого гідроксиапатиту знаходиться в межах 38–250 МПа, 120–900 МПа та 38–300 МПа, відповідно, тоді як подібні значення для пористого немодифікованого гідроксиапатиту є суттєво нижчими: 2–11 МПа, 2–100 МПа та ~3 МПа, відповідно [210]. Тому, однією із причин модифікації

гідроксиapatиту та створення композитів на його основі є саме покращення механічних властивостей.

Вищенаведені літературні дані підтверджуються отриманими результатами дослідженням механічних властивостей БГА та композиційних матеріалів БГА/магнетит(хім.)/хітозан. Дослідження проводилися на компактних зразках, виготовлених за технологією, описаною у Розділі 2.2.3 (рис. 4.13).



а) – БГА; б) – 99/1; в) – 95/5; г) – 75/25; д) – 50/50

Рисунок 4.13 – Загальний вигляд компактних зразків композитів з різним масовим співвідношенням БГА і магнетиту(хім.)

Виявлено, що на механічні властивості композиту впливає кількість введеного магнетиту. Так, не модифікований (чистий) БГА має найнижчу міцність на стиск і на розтяг, аніж композиційні матеріали БГА/магнетит/хітозан, не залежно від масового співвідношення гідроксиapatиту і магнетиту у їх складі (Таб. 4.3). Це пояснюється декількома факторами, головними з яких є кристалічна структура та пористість гідроксиapatиту. Як вже було показано вище (рис. 4.5, таб. 4.1), ймовірно, в кристалічній ґратці БГА відбулися заміщення іонів Ca^{2+} на іони Fe^{2+} , що призводить, в тому числі, і до підвищення механічних характеристик.

Таблиця 4.3 – Механічні характеристики композитів
БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту	$\rho_{уявн},$ $\pm 0,2 \text{ г/см}^3$	$\sigma_{02},$ МПа	$\sigma_p,$ МПа	E, $\pm 0,1 \text{ ГПа}$
БГА	1,7	4,7 \pm 0,5	4,9 \pm 0,5	0,42
99/1	1,7	6,6 \pm 0,7	6,7 \pm 0,7	0,59
95/5	1,8	10,9 \pm 0,8	11,7 \pm 0,8	0,98
75/25	1,8	32,1 \pm 2,1	32,9 \pm 2,1	2,74
50/50	1,9	33,5 \pm 2,1	34,3 \pm 2,1	2,88

Відомо, що кісткова тканина поділяється на два типи: щільна кортикальна, яка формує зовнішню оболонку скелетних структур, та пориста (губчаста) трабекулярна, що виконує роль амортизатора, забезпечуючи скелету гнучкість та еластичність. Губчасті кістки розташовані, в основному, на кінцях довгих кісток, і вони відрізняються від щільних кісток завдяки вищим остеогенним та остеоіндуктивним властивостям, обумовленим більшою пористістю, яка становить 40-90 % [211]. Міцність пористої кістки при стиску в холоді коливається від 2 до 65 МПа, а модуль Юнга складає від 0,05 до 0,5 ГПа, залежно від області [212, 213]. Враховуючи ці дані, міцність отриманих компактних композитів є співставною з міцністю губчастих кісток людини.

Спостерігається залежність між підвищенням механічних властивостей та зменшенням пористості разом зі збільшенням масового співвідношення магнетиту у дослідних зразках (Таб.4.3). Збільшення кількості магнетиту в композитах також призводить до росту напруження на стиск, що можна пояснити збільшенням щільності композиту в цілому (рис. 4.14).

Аналіз діаграми навантаження композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан в залежності від співвідношення компонентів (рис. 4.15), показав крихкий характер руйнування матеріалів, що є типовим для матеріалів на основі гідроксиапатиту.

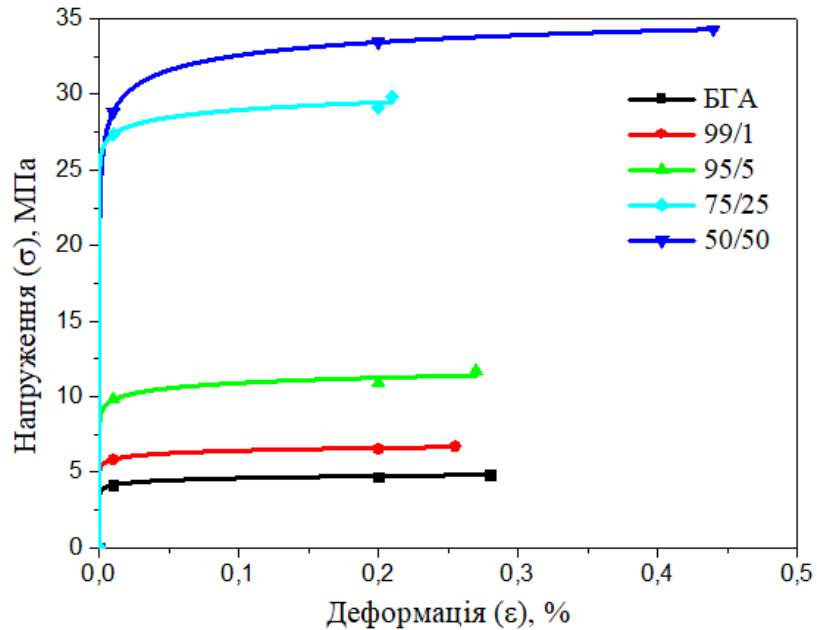


Рисунок 4.14 - Залежність напруження стиску від деформації для композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан в залежності від співвідношення компонентів

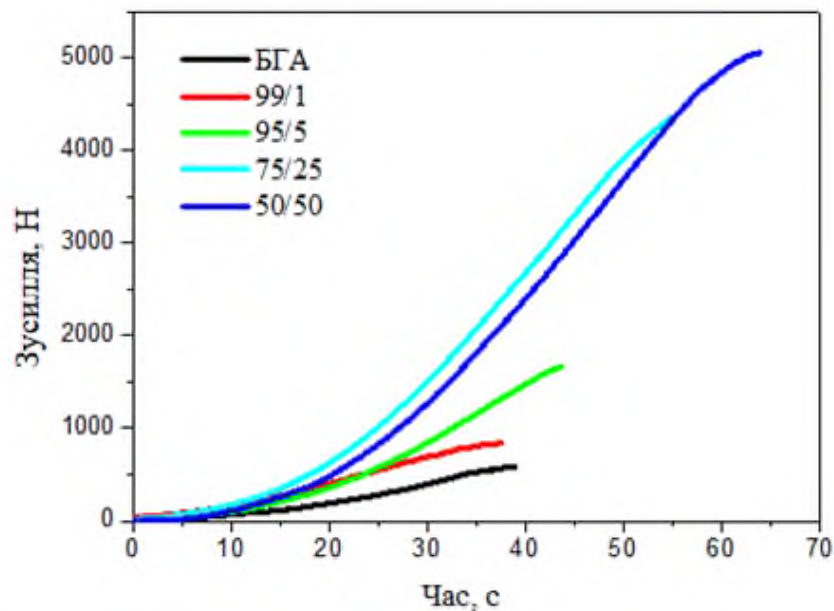


Рисунок 4.15 - Діаграма навантаження композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан в залежності від співвідношення компонентів

Встановлено, що введення всього 1 % магнетиту(хім.) у склад композиційного матеріалу підвищує міцність на 49 %. При цьому, модуль Юнга складає $0,59 \pm 0,1$ ГПа. Закономірно із цим відбувається і зменшення загальної пористості – від $45 \pm 0,5$ % для не модифікованого БГА до $44 \pm 0,5$ % (рис. 4.16).

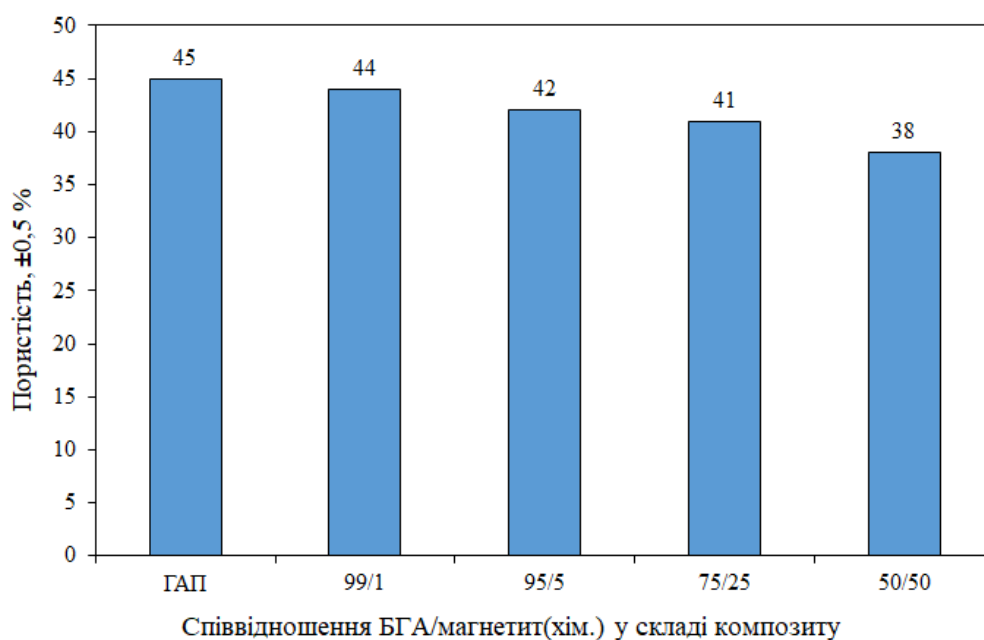


Рисунок 4. 16 – Зміна показника пористості для композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Композити з вмістом 50 % магнетиту мають найвищі показники міцності – $33 \pm 2,1$ МПа у порівнянні з $4,7 \pm 0,5$ МПа для не модифікованого БГА. Модуль пружності для цих композитів складає $2,9 \pm 0,1$ ГПа, в той час, як дані зразки мають найменші показники пористості – $38 \pm 0,5$ %. Отже, чітко просліджується закономірність – чим більша кількість магнетиту, тим менша пористість композитів, і більша міцність на стиск.

Така ж закономірність – зростання міцності на розтяг в залежності від збільшення кількості магнетиту в складі композиту - спостерігається і для вимірювань, які проводили за допомогою Бразильського тесту (непрямого тесту на розтяг), результати якого представлені на Рисунку 4.17.

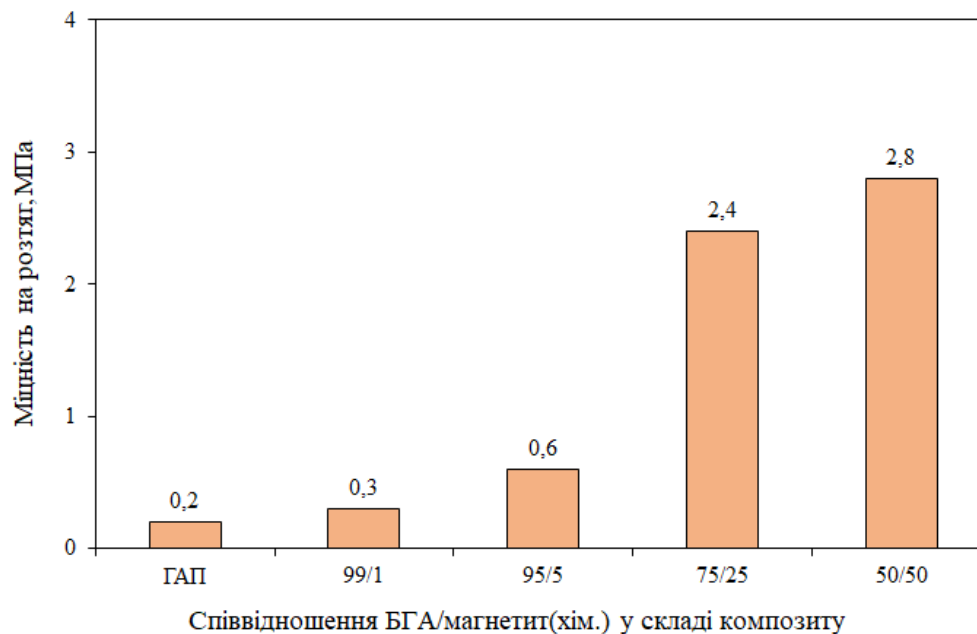


Рисунок 4.17 – Значення показника міцності на розтяг для композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

4.1.4 Дослідження магнітних властивостей композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Оскільки в складі досліджуваних композиційних систем є магнетит, закономірним буде оцінка магнітних властивостей, оскільки отримані матеріали можна віднести до категорії магніточутливих. Магніточутливі або магнітосенсорні матеріали – це матеріали, в тому числі і біомедичні, які виявляють чутливість до дії зовнішнього магнітного поля. Основними напрямками використання магніточутливих матеріалів в медицині є створення контрастних речовин для медичної візуалізації, адресна доставка ліків під дією зовнішнього магнітного поля та лікування пухлин гіпертермією [30, 116].

На рисунку 4.18 приведено залежність питомої намагніченості від напруженості магнітного поля (петлі гістерезису) для композитів, в залежності від співвідношення БГА та магнетиту(хім.). Як видно, для всіх зразків характерні

вузькі петлі гістерезису, що свідчить про малі втрати енергії при перемагнічуванні, а отже матеріали зберігають свої магнітні властивості протягом тривалого терміну без суттєвих змін [206]. Окрім того, отримані дані свідчать про суперпарамагнітні властивості композиту з вмістом 25–50 % магнетиту.

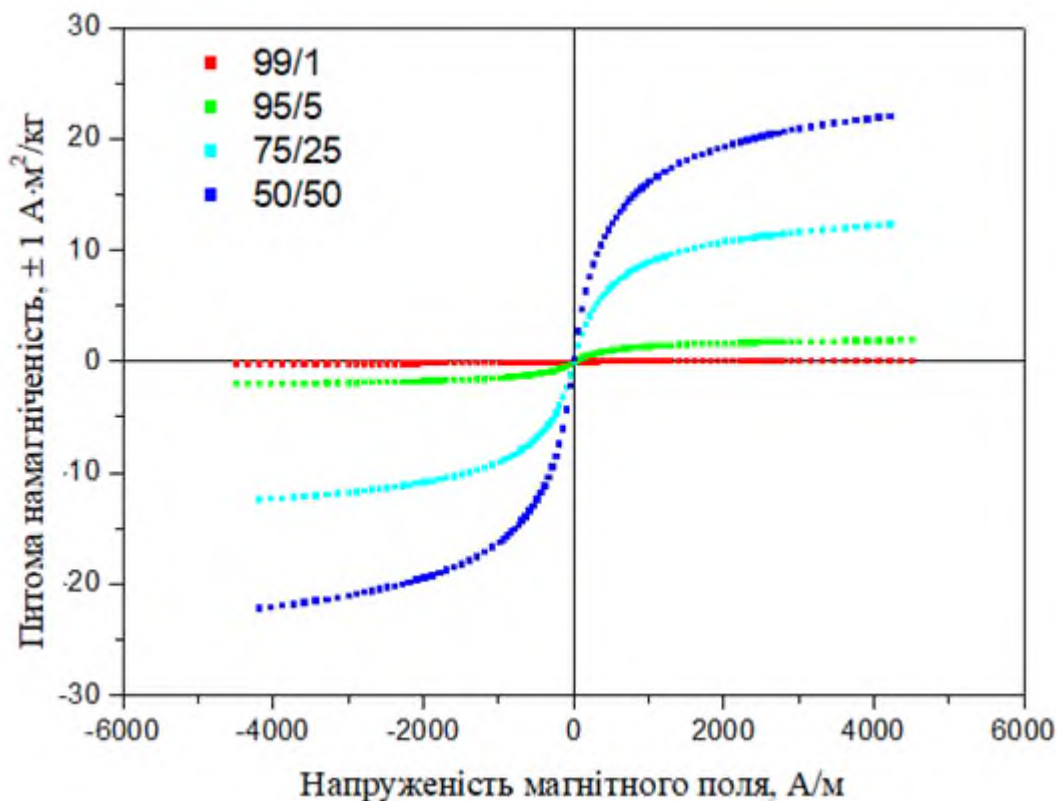


Рисунок 4.18 – Петлі гістерезису для композитів

БГА/магнетит(хім.)/хітозан в залежності від співвідношення компонентів

Окрім того, встановлено, що зі збільшенням кількості магнетиту(хім.) в композиті, спостерігалось збільшення питомої намагніченості насичення (σ_s) та коерцитивної сили (H_c), що свідчить про підвищення магнітних властивостей та стійкості композиту до демагнетизації (Таб. 4.4). Це обумовлено магнітними характеристиками вихідного магнетиту, які докладно описані у Розділі 3.5.

Таблиця 4.4 – Магнітні властивості магнетиту, отриманого методом хімічного осадження та композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту	Питома намагніченість насичення (σ_s), $\pm 0,1 \text{ A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}$	Коерцитивна сила (H_c), $\pm 0,01 \text{ kA/m}$	Залишкова намагніченість насичення (σ_r), $\pm 0,01 \text{ A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}$
Магнетит - хімічне осадження 5 хв	62	18,1	0,02
99/1	0,1	0,01	0,001
95/5	2	0,02	0,003
75/25	12	0,02	0,16
50/50	22	0,04	0,31

Встановлено, що при додаванні максимальної кількості, а саме 50 % магнетиту, досліджені магнітні властивості дозволяють оцінити перспективність композиту в якості магніточутливого матеріалу. Так, коерцитивна сила складає $0,04 \pm 0,01 \text{ kA/m}$ при питомій намагніченості насичення $22 \pm 0,1 \text{ A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}$, тоді як залишкова намагніченість насичення - магнітна індукція, яка залишається в магнітному матеріалі після зняття зовнішнього магнітного поля, для цього ж матеріалу складає всього $0,31 \pm 0,01 \text{ A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}$.

Коерцитивна сила вказує на мінімальну магнітну інтенсивність, необхідну для зняття намагніченості з матеріалу після його насичення. Низьке значення коерцитивної сили сприяє швидкому та ефективному зняттю намагніченості, що може бути корисним при застосуванні композитів для контрольованої доставки лікарських речовин або в тих випадках, де потрібне точне визначення об'єкту, який був заздалегідь промаркований магнітовмісним матеріалом. Окрім того, низьке значення цього параметру також беруть до уваги, оскільки він напряду пов'язаний з залишковою намагніченістю насичення. Відсутність залишкової намагніченості або її мінімальне значення, в свою чергу, є критичним аспектом

для перешкодження коагуляції крові [214]. Підвищення вмісту магнетиту з 1 % до 50 % призводить до досить незначного збільшення коерцитивної сили та залишкової намагніченості насичення, що свідчить про перспективність використання композиту, навіть з максимальною кількістю магнетиту у складі (50 %) в якості матеріалу для цільової доставки ліків або терапевтичних агентів.

Питома намагніченість насичення – основний параметр для оцінки магніточутливих композитів, який забезпечує потрібну магнітну індукцію для більш точного спрямування лікарських засобів під дією зовнішнього магнітного поля. Однак, матеріали з високим значенням питомої намагніченості насичення можуть призвести до небажаних ефектів, таких як перегрівання дотичних до імплантата тканин. Розглядаючи безпечне практичне застосування аналогічних матеріалів, повідомляється про успішне випробування *in vitro* композитів гідроксиапатит/магнетит зі значенням намагніченості насичення $18 \text{ A}\cdot\text{m}^2/\text{кг}$ для доставки хіміотерапевтичного агенту – андрографоліду на клітини раку епідермоїдної шкіри людини [215]. Отримані композити з вмістом 25 та 50 % магнетиту(хім.) мають наближені значення питомої намагніченості насичення, а саме $12\pm 0,1 \text{ A}\cdot\text{m}^2/\text{кг}$ та $22\pm 0,1 \text{ A}\cdot\text{m}^2/\text{кг}$.

4.1.5 Дослідження адсорбційних властивостей композитів

БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Відомо, що питома поверхня матеріалів має прямий зв'язок з їх адсорбційними властивостями. Адсорбція відбувається, коли молекули або іони зовнішнього середовища поглинаються і затримуються на поверхні матеріалу. Чим більша площа питомої поверхні, тим більше місць доступно для взаємодії з молекулами або іонами. Дослідження адсорбції парів води проводили згідно методики, описаної у Розділі 2.

Узагальнені порівняльні часові криві адсорбції парів води при 100% вологості для вихідних БГА, магнетиту, хітозану та композиційних матеріалів БГА/магнетит(хім.)/хітозан, представлено на рисунку 4.19.

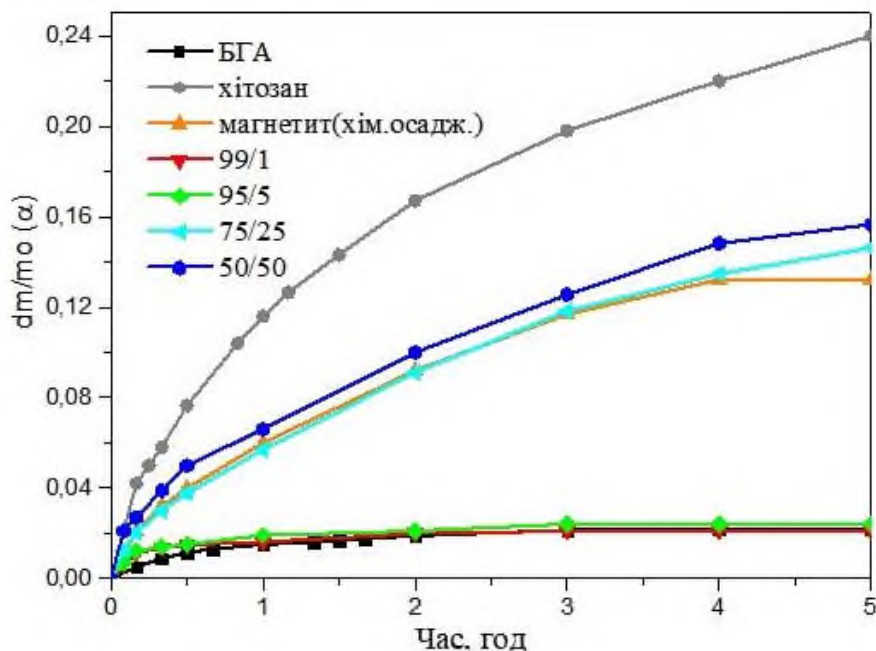


Рисунок 4. 19 – Узагальнені криві адсорбції парів води при 100 % вологості для вихідних матеріалів та композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Аналіз кривих адсорбції для композитів показав, що адсорбція парів води напряму пов'язана зі співвідношенням гідроксиapatиту і магнетиту(хім.) та вмісту хітозану. Разом із тим, процес адсорбції протікає рівномірно для всіх композитів. Для зразків з вмістом 1 та 5 % магнетиту спостерігається більш чітко виражені етапи швидкого приросту маси протягом перших 15 хв з подальшим досягненням рівноваги і стабілізацією маси зразків. Як видно на рис. 4.19, магнетит, отриманий методом хімічного осадження має майже вдвічі вищі адсорбційні властивості у порівнянні з чистим БГА. В той же час, для хітозану спостерігалася найінтенсивніша адсорбція парів води з максимальною швидкістю в початковий момент $0,25 \text{ год}^{-1}$. Протягом 5 год адсорбційного процесу маса хітозану збільшилась на 24 %, а за 13 год - на 27 %, що може бути

пов'язано з досягненням точки роси газової фази реакційної системи внаслідок коливання температури в інтервалі 20–15 °С, у зв'язку з чим протікає конденсація парів води на агломерованій структурі сполуки. При цьому, довготривалий експеримент показав, що адсорбційна маса БГА протягом 24 год практично не змінювалась. Таким чином, на відміну від магнетиту, отриманого методом хімічного осадження та хітозану, немодифікований БГА не має високих характеристик адсорбційної активності і магнетит, разом із хітозаном мають більший вплив показники адсорбції композитів, ніж БГА [221]. Це пояснює рівномірний стабільний приріст маси протягом 5 год для зразків з вмістом 25 та 50 % магнетиту.

Додатково для всіх композитів була проведена оцінка приросту маси при адсорбції в системі тверде тіло-газ при 70 % вологості (рис. 4.20).

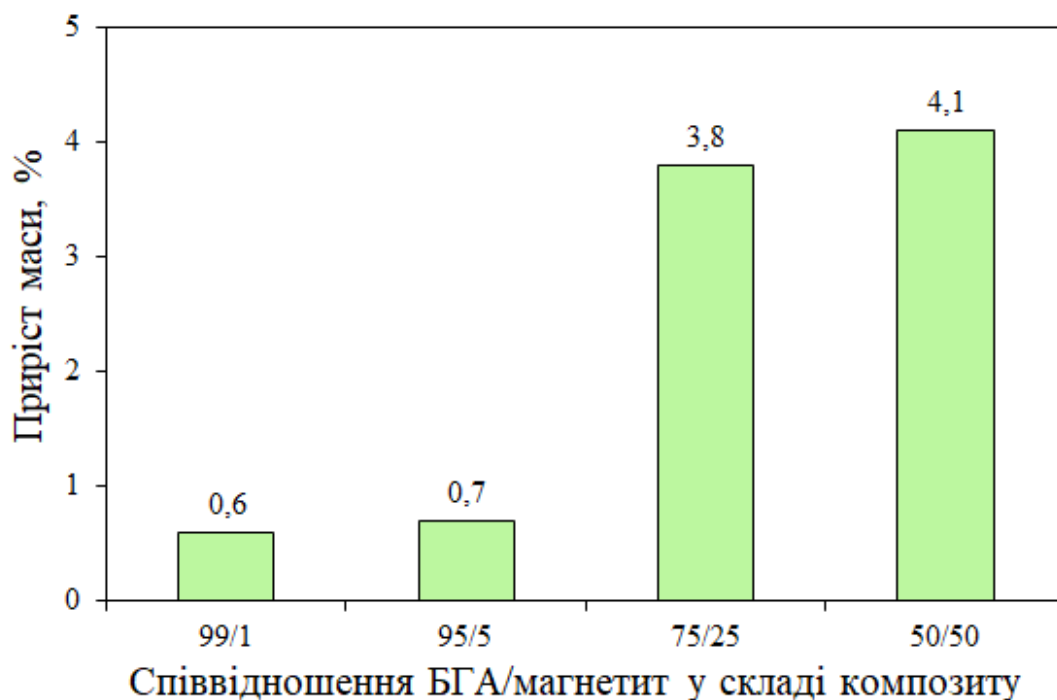


Рисунок 4.20 – Зміна приросту маси в залежності від кількості магнетиту(хім.) у складі композитів

Встановлено, що приріст маси композитів пов'язаний зі співвідношенням гідроксиapatиту і магнетиту в матеріалах, збільшуючись з ростом вмісту

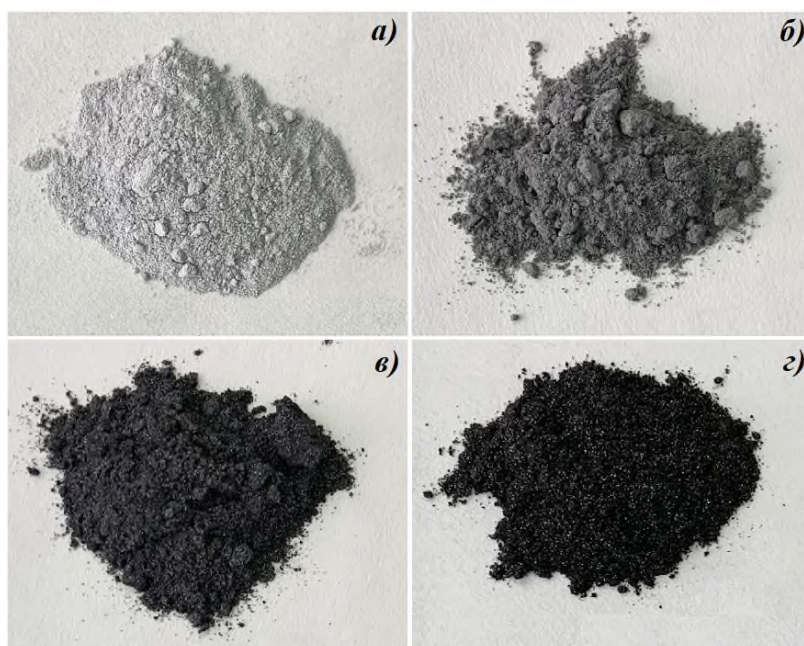
магнетиту, що підтверджує наявність фізико-хімічних процесів взаємодії молекул газу з активними центрами молекул досліджуваних матеріалів. Так, збільшення кількості магнетиту від 1 % до 5 % призводить до збільшення приросту маси на 0,12 %, тоді як збільшення кількості магнетиту до 50 % збільшує приріст маси на 3,5 %.

Відповідно до формули (2.11) був розрахований показник адсорбційної активності одиниці поверхні композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан при 100% вологості. Встановлено, що не зважаючи на те, що питома поверхня зразка з вмістом 1 % магнетиту майже в 7 разів менша від питомої поверхні зразка з вмістом 25 % магнетиту (Таб. 4.2), показники адсорбційної активності для цих композитів майже однакові – $0,40 \cdot 10^2 \text{ м}^{-2}$ і $0,43 \cdot 10^2 \text{ м}^{-2}$, відповідно. Це може свідчити про оптимальну взаємодією між компонентами композитів та створенням великої кількості активних центрів адсорбції на поверхні зразків. Найменший показник адсорбційної активності отримано для композиту з вмістом 5 % магнетиту – $0,24 \cdot 10^2 \text{ м}^{-2}$.

4.2 Композиційні матеріали на основі біогенного гідроксиapatиту, модифіковані магнетитом, отриманим методом термолізу та хітозаном

4.2.1 Дослідження фазового та хімічного складу композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Загальний вигляд композитів на основі біогенного гідроксиapatиту, модифікованих магнетитом, отриманого методом термолізу оксалатів заліза в азотному середовищі та хітозаном представлений на рисунку 4.21.

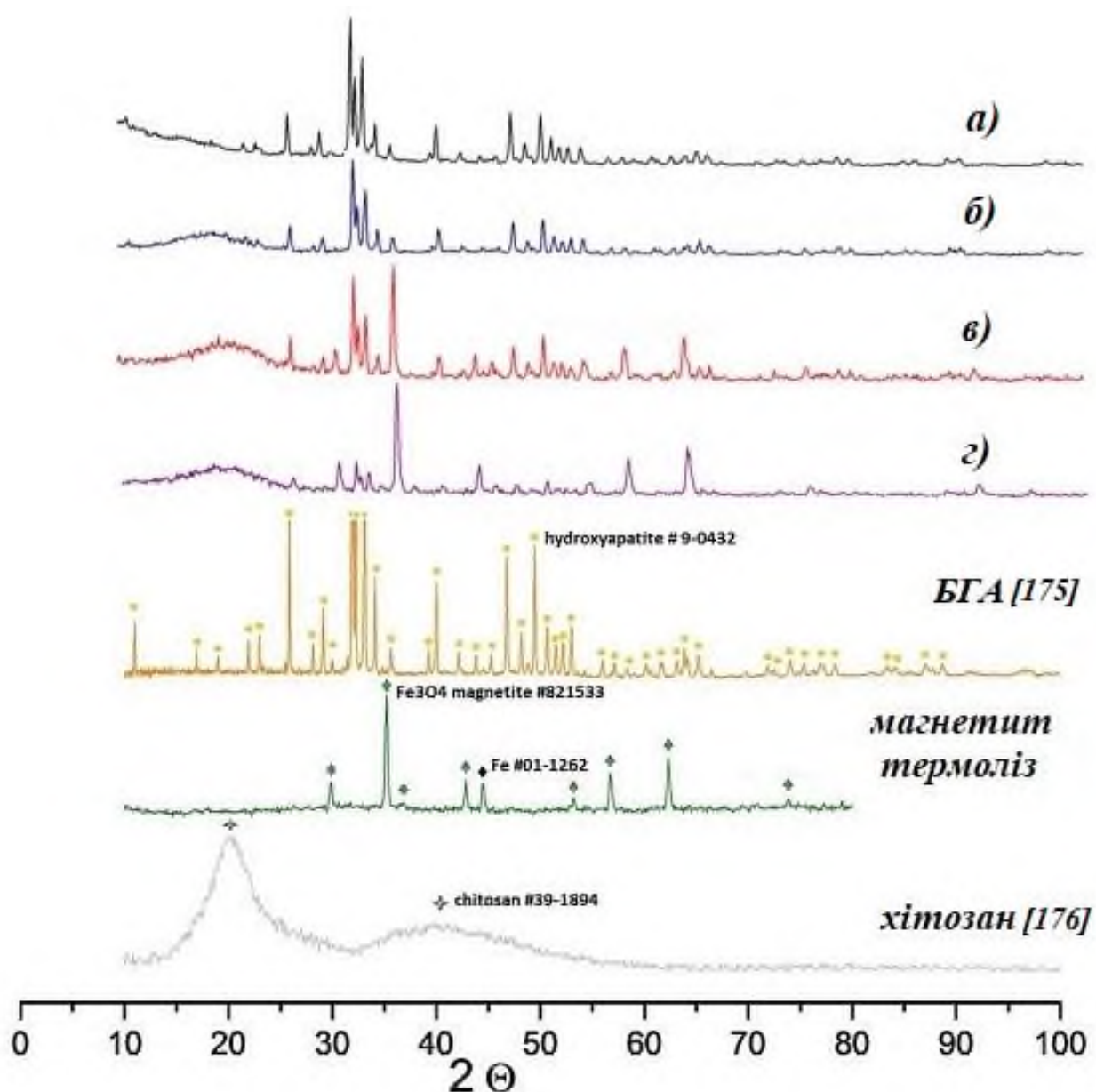


а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) – БГА/магнетит: 50/50.

Рисунок 4.21 – Загальний вигляд композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Результати дослідження композитів, отримані за допомогою РФА показують, що на дифрактограмах чітко виділяються дві основні фази вихідних матеріалів – гідроксиапатит та магнетит(терм.) (рис. 4.22). Як і у випадку дослідження композитів модифікованих магнетитом(хім.) (Розділ 4.1.1), присутнє явище рентген аморфного гало, що свідчить про вплив хітозану на фазовий склад композитів.

Хоча фазовий склад композитів в складі яких магнетит різного типу подібний, рентгенограми композитів модифікованих магнетитом(терм.) дещо відрізняється від композитів модифікованих магнетитом(хім.) (рис. 4.2). Чіткість і вузькість форми піків, представлені на рисунку 4.22, особливо на кутах відбиття 2θ $35,5^\circ$, пов'язані з більшою кристалічністю вихідного магнетиту, отриманого методом термолізу, у порівнянні з магнетитом, отриманим методом хімічного осадження, що було описано в Розділі 3.1.



а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) – БГА/магнетит: 50/50.

Рисунок 4.22 – Дані РФА для композитів з різним масовим співвідношенням БГА/магнетит і вихідних матеріалів – БГА, магнетит(терм.), хітозан

Параметри кристалічної структури розраховані на основі даних РФА представлені у Таблиці 4.5.

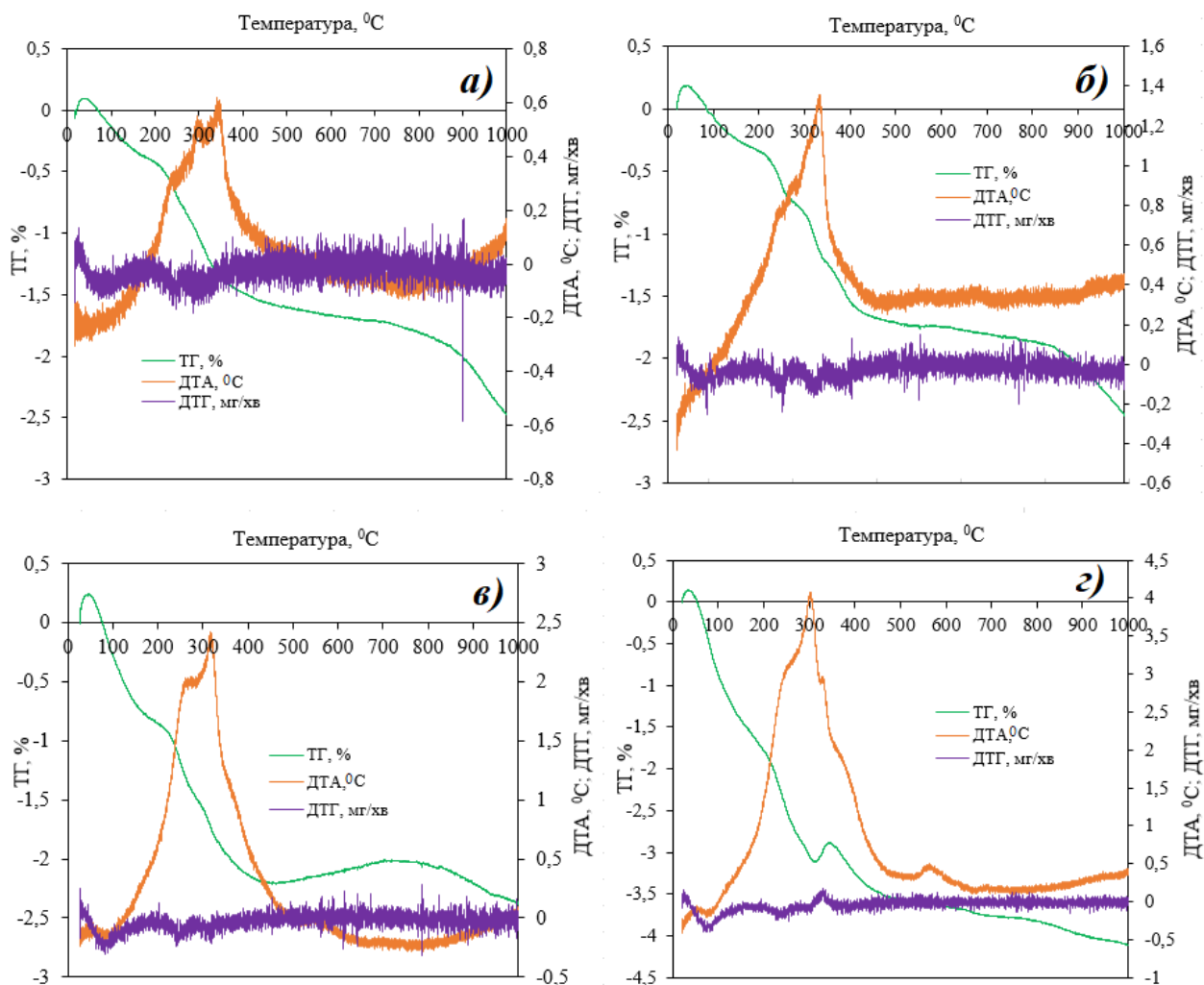
Таблиця 4.5 – Параметри кристалічної структури композитів БГА/магнетит (терм.)/хітозан

Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту	Розмір кристалітів D_a , нм	Розмір кристалітів D_c , нм	Об'єм кристалічної ґратки, Å^3	Розмір частинок (згідно даних РФА), нм
БГА [175]	9,411	6,918	531	-
99/1	9,410	6,918	530	46
95/5	9,407	6,911	530	45
75/25	9,406	6,860	526	43
50/50	9,404	6,826	523	40

Встановлено, що як і у випадку композитів модифікованих магнетитом(хім.), зменшення кристалітів вздовж вісі a і вісі c , а також зменшення об'єму кристалічної ґратки відбувається пропорційно збільшенню кількості магнетиту(терм.) у складі композитів. Однак, зменшення кристалітів, порівняно з чистим БГА ($D_a = 9,411$ нм, $D_c = 6,918$ нм), більш суттєве для композитів, в складі яких магнетит(хім.): наприклад, при співвідношенні БГА/магнетит 50/50, розміри кристалітів вздовж вісей становлять $D_a = 9,387$ нм, $D_c = 6,852$ нм (хімічне осадження, Розділ 4.1.1) та $D_a = 9,404$ нм, $D_c = 6,826$ нм (термоліз). Ймовірно, це пов'язано з методом синтезу композиційних матеріалів, оскільки в першому випадку БГА та хітозан вводилися безпосередньо під час синтезу магнетиту методом хімічного осадження, і відбулося більша кількість заміщень іонів Ca^{2+} на іони Fe^{2+} , ніж у випадку синтезу шляхом механічного перемішування при використанні магнетиту, отриманого методом термолізу.

Дослідження, проведені за допомогою ДТГА свідчать про протікання декількох ендо- та екзотермічних процесів (рис. 4. 23).

Під час нагрівання зразків до 20-80 °С для всіх матеріалів спостерігається незначний приріст ваги на 0,1 – 0,25 %, що, ймовірно, пов'язано з взаємодією із залишковим киснем.



а) – 99/1; б) – 95/5; в) – 75/25; г) – 50/50

Рисунок 4.23 – Термогравіметричний аналіз композитів

БГА/магнетит(терм.)/хітозан в залежності від співвідношення компонентів

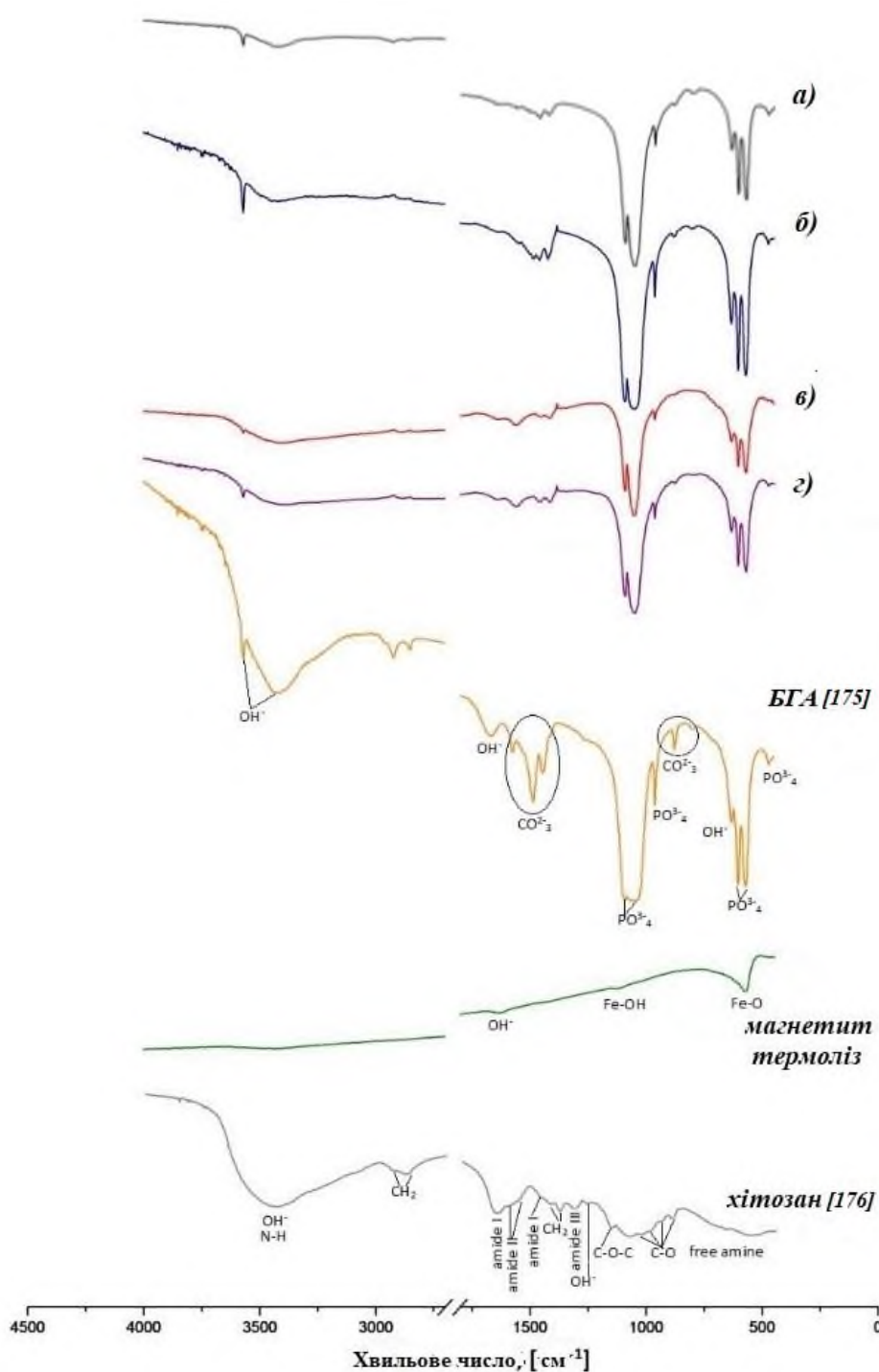
На ділянках кривих ДТГ в області температур $\sim 50-105$ °С спостерігається ендотермічний ефект, інтенсивність піку якого змінюється в залежності від кількості магнетиту у складі композиту. Відповідно до цього, на кривих ДТА також спостерігаються мінімуми температур: для композиту з вмістом 1 % магнетиту при 57 °С, 25 % - 95 °С, 50 % - 98 °С. Втрата ваги на цій ділянці, як і у випадку композитів з магнетитом(хім.) пов'язана з виділенням адсорбованої вологи з поверхні зразків. Згідно кривих ТГ, для композитів з вмістом 1-5 %

магнетиту(терм.) втрата ваги становить приблизно 0,4 % і це значення зростає відповідно до збільшення кількості магнетиту – для вмісту 25 % магнетиту – 0,8 %, для 50 % – 1,7 %. Інша характерна ендотермічна ділянка, яка присутня на кривих ДТГ та ДТА всіх композитів в області температур $\sim 250-290$ °C свідчить про виділення структурної вологи.

Ділянка з найбільшим екзотермічним ефектом, присутня на кривих ДТА при температурі $\sim 303-340$ °C свідчить про розклад карбонатної групи, при цьому, зі збільшенням кількості магнетиту температура зменшується – від 343 °C для зразка з вмістом 1 % магнетиту до 303 °C для зразка з вмістом 50 % магнетиту(терм.). Екзотермічна ділянка при температурі $\sim 530-590$ °C, яка спостерігається тільки для зразка з вмістом 50 % магнетиту на рисунку 4.23 (г) пов'язана з окисненням FeO до $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, що відповідає реакції розкладу магнетиту [206].

Встановлено, що втрата ваги, яка спостерігається на кривих ТГ на пряму залежить від кількості магнетиту(терм.) в складі композитів. При цьому, цей показник майже ідентичний для зразків з вмістом 1-25 % магнетиту і складає приблизно 2,5 %, тоді як для зразка з вмістом 50 % магнетиту втрата ваги становить 4 %.

Дані інфрачервоної спектроскопії, як і у випадку дослідження композитів модифікованих магнетитом(хім.) є типовим для матеріалів на основі гідроксиапатиту (рис. 4.24). Спостерігається накладення смуг поглинання основних піків БГА, магнетиту(терм.) та хітозану. Спектри БГА з характерними смугами поглинання функціональних груп PO_4^{3-} , OH^- та CO_3^{2-} завдяки своїй інтенсивності перекривають смуги поглинання функціональних груп Fe-O, деформаційних коливань груп Fe-OH, які характерні для магнетиту, при чому збільшення кількості магнетиту у складі призводить до зменшення інтенсивності характерних піків БГА.



а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) – БГА/магнетит: 50/50.

Рисунок 4.24 - Дані інфрачервоної спектроскопії для композитів з різним масовим співвідношенням БГА/магнетит і вихідних матеріалів – БГА, магнетит(терм.), хітозан

Спектри БГА також перекривають і смуги метилену (CH_2), амиду I ($\text{C}=\text{O}$), амиду II (N-H деформації NH_2), амиду III ($\text{C}-\text{N}$), деформаційні коливання CH_3 , асиметричні коливання $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ зв'язки та $\text{C}-\text{O}$, вібраційні коливання гідроксильних груп, притаманних для структури хітозану, що призводить також до їх уширення та зменшення інтенсивності.

Дослідження хімічного складу показало майже аналогічну до композитів модифікованих магнетитом(хім.) картину співвідношення елементів кальцію і заліза – зі збільшенням кількості магнетиту зростає і кількість іонів заліза (рис. 4.25). Так, для композиту зі співвідношенням БГА/магнетит(хім.) 99/1, кількість заліза становить 1 %, тоді як для композиту, в складі якого магнетит(терм.) спостерігається збільшення кількості Fe всього на 0,1 % - до 1,1 %. Різниця між кількістю іонів заліза в композиті зі співвідношенням БГА/магнетит 50/50 є більш помітною і складає 1,4 %.

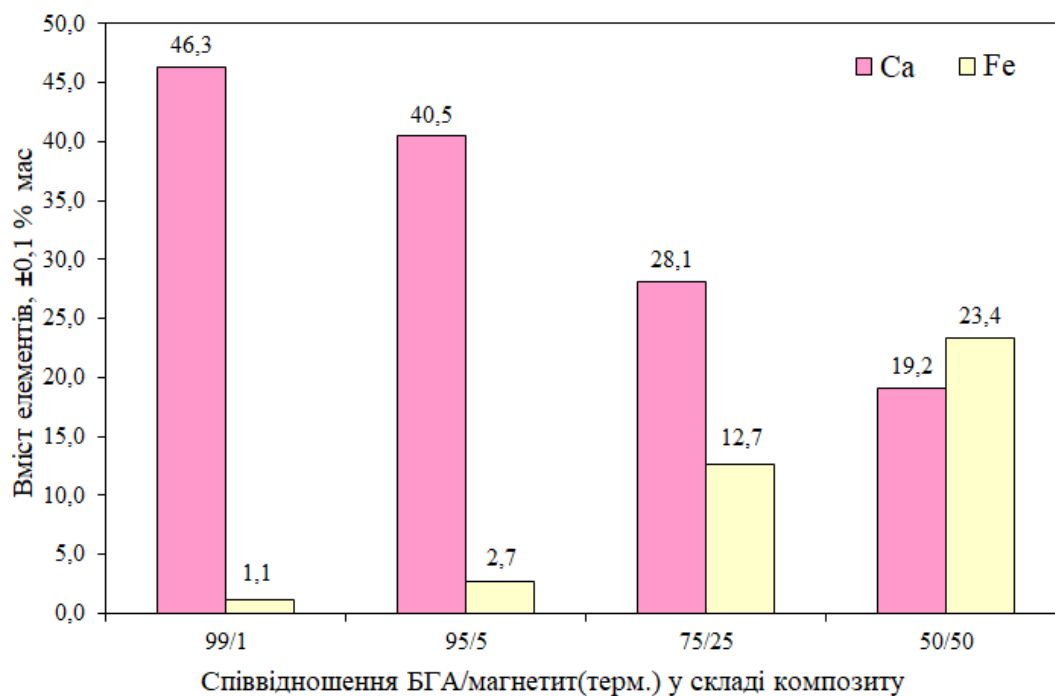


Рисунок 4.25 - Вміст елементів кальцію та заліза у складі композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан

4.2.2 Дослідження морфології композитів

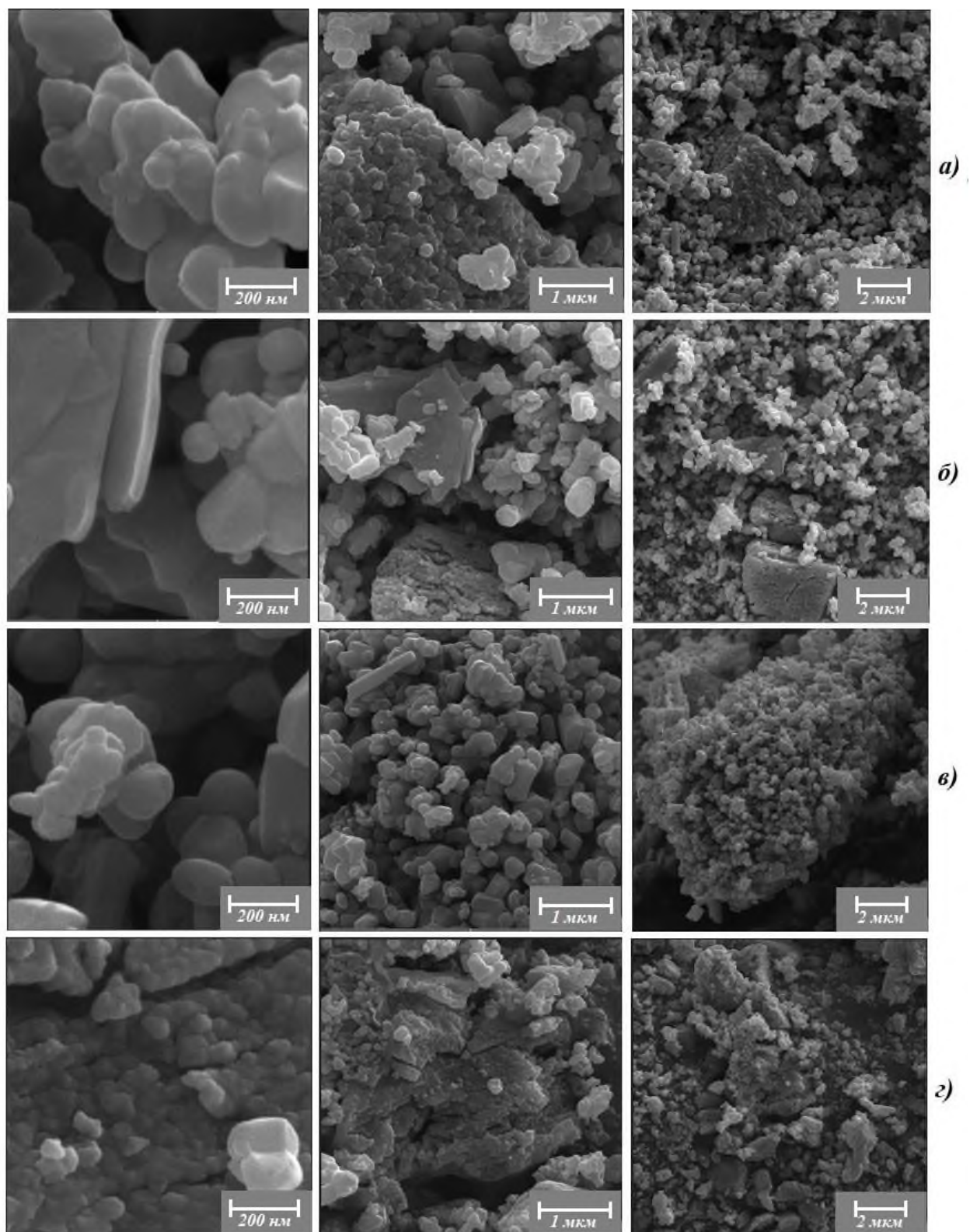
БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Морфологія порошкових композитів представлена на рисунку 4.26. Загалом, для структури характерна агломерація частинок, розмір яких залежить від кількості магнетиту. Спостерігається зменшення частинок від 100 нм для композиту з вмістом 1 % магнетиту до 45 нм для композиту з вмістом 50 % магнетиту. При цьому, у структурі також можна відзначити шестигранні структури БГА (рис. 4.26 (в), (г)) та пластинчаті структури хітозану (рис. 4.26 (б)).

Встановлено, що на відміну від композитів модифікованих магнетитом(хім.), морфологія композитів модифікованих магнетитом(терм.), менш рівномірна і має досить велику кількість видимих агломератів (рис. 4.27). Це, ймовірно пов'язано з дещо відмінними методами синтезу композитів та розмірами вихідного магнетиту, оскільки магнетит, отриманий методом хімічного осадження представлений агломератами меншого розміру (24 нм), ніж магнетит, отриманий методом термолізу (48 нм).

Ці дані також підтверджуються аналізом морфології за допомогою програмного забезпечення АМІС. На рисунку 4.28 зображено розподіл частинок за розміром в залежності від масового співвідношення БГА та магнетиту. Встановлено, що при кількості магнетиту 5-50 % у складі композиту, розподіл частинок за розміром подібний для композитів з вмістом магнетиту(хім.) – більше 80 % частинок мають розмір в діапазоні 40 – 380 нм. У випадку ж мінімальної кількості магнетиту у складі (1 %), розподіл частинок за розміром має більш широкий діапазон, а саме – 90 % частинок мають розмір 58 – 460 нм.

Оцінка фактору форми композитів показала, що незалежно від вмісту магнетиту(терм.), більше 92 % всіх частинок мають фактор форми більше 0,8,



а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) – БГА/магнетит: 50/50.

Рисунок 4.26 – Морфологія композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан

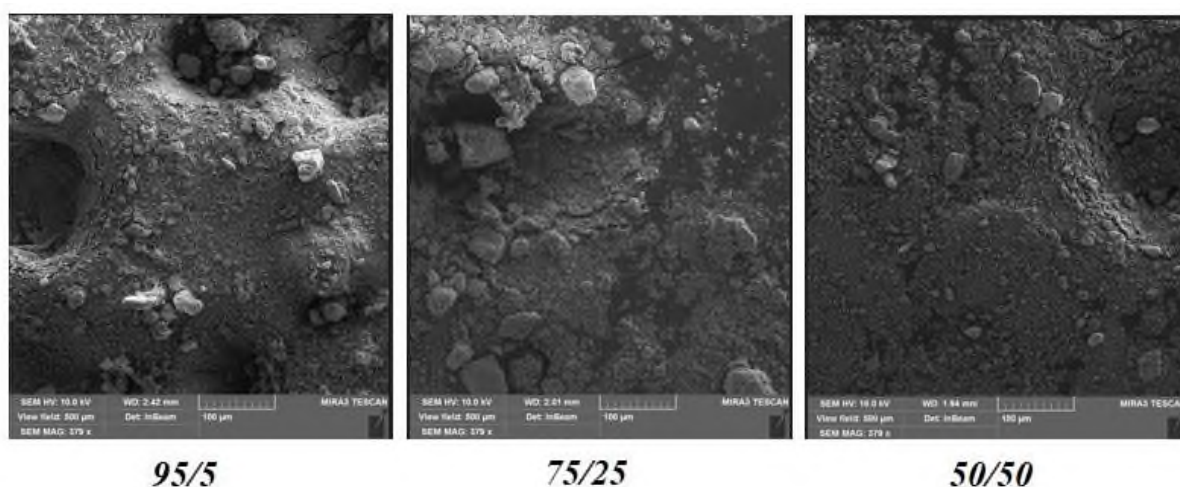


Рисунок 4.27 - Макроструктура композитів з різним масовим співвідношенням БГА та магнетиту(терм.)

що, відповідно до методу Салтикова, вказує на формування порошинок правильної форми (рис. 4.29).

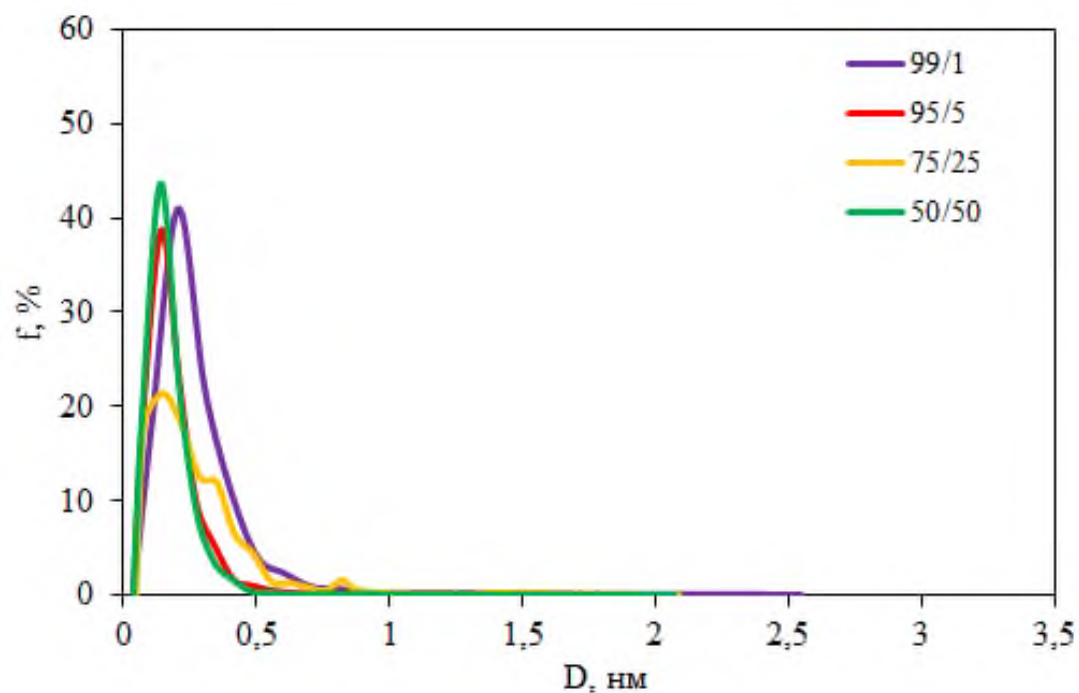


Рисунок 4.28 - Розподіл частинок композитів за розміром в залежності від масового співвідношення БГА та магнетиту(терм.)

Аналіз збільшення значення питомої поверхні разом зі збільшенням об'єму пор (Таб. 4.6) вказує на зміни в структурі пористого БГА, які на пряму пов'язані з підвищенням вмісту магнетиту в складі композитів.

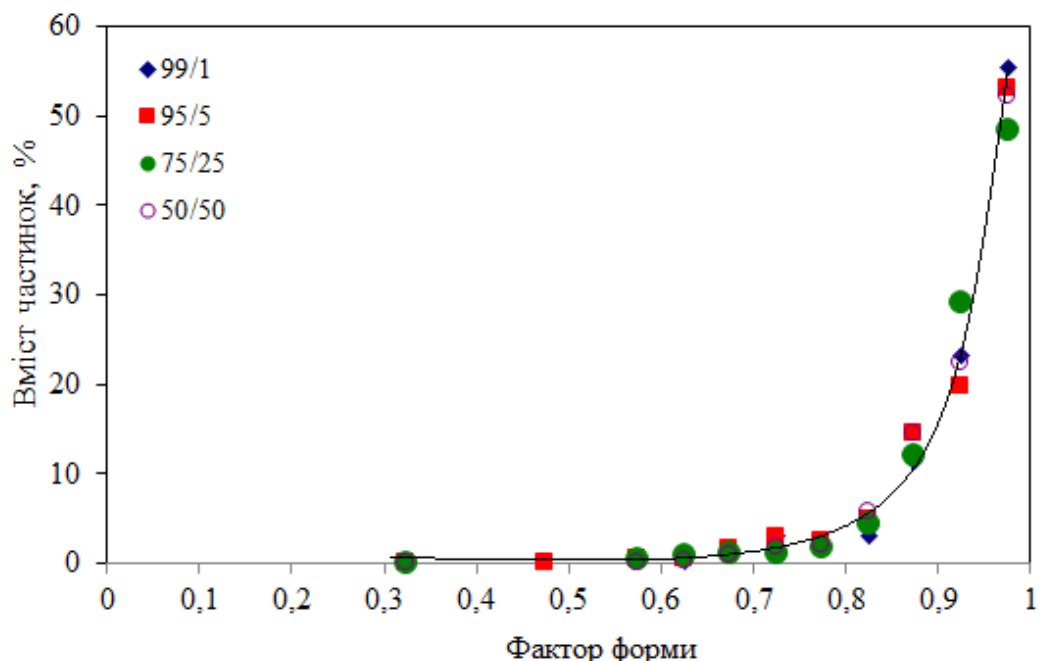


Рисунок 4.29 - Залежність фактору форми частинок композиційних систем від масового співвідношення БГА та магнетиту(терм.)

Встановлено, що введення 1% магнетиту має мінімальний вплив на питому поверхню композиту, яка становить 5 ± 1 м²/г, у порівнянні з чистим БГА, питома поверхня якого становить 4 ± 1 м²/г. Подальше підвищення вмісту магнетиту призводить до більш суттєвих змін цього показника. Так, введення 50% магнетиту призводить до збільшення питомої поверхні майже у 4 рази. Однак, порівняння з аналогічним зразком описаним у Розділі 4.1.2 (Таб. 4.2), показує, що використовуючи магнетит(хім.), можна досягти збільшення питомої поверхні у 10 разів (47 ± 1 м²/г для композиту БГА/магнетит(хім.)/хітозан з вмістом 50% магнетиту).

Таблиця 4.6 – Властивості композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан та вихідних матеріалів – БГА та магнетиту, отриманого методом хімічного осадження

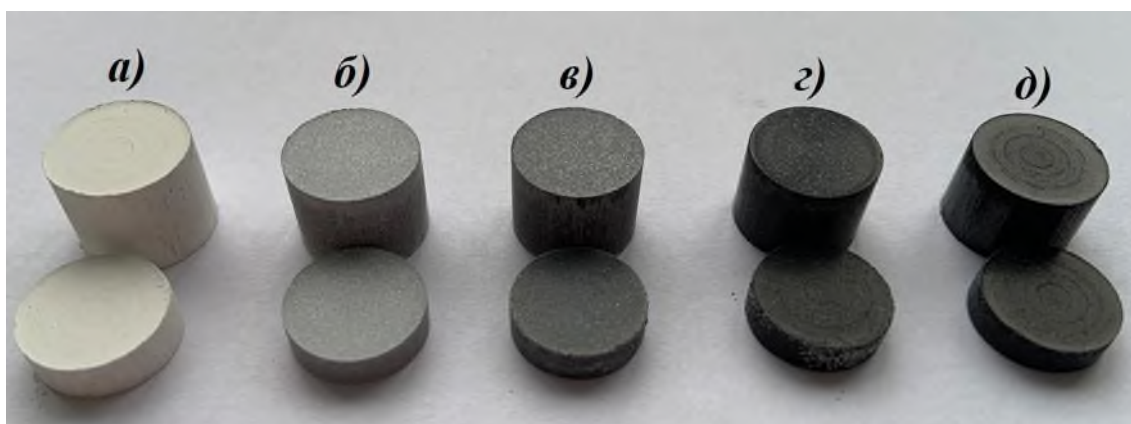
Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту	Питома поверхня, $\pm 1 \text{ м}^2/\text{г}$	Об'єм пор, $\pm 0,002 \text{ см}^3/\text{г}$	Пікометрична густина, $\pm 0,02 \text{ г}/\text{см}^3$
БГА	4	0,001	3,09
магнетит (терм.)	25	0,004	4,74
99/1	5	0,002	3,04
95/5	6	0,002	3,13
75/25	11	0,004	3,27
50/50	13	0,004	3,33

Однак, на відміну від композитів, модифікованих магнетитом(хім.) для зразків, в складі яких є магнетит(терм.) спостерігається також і збільшення пікометричної густини зі збільшенням вмісту останнього. Така різниця пов'язана з методами синтезу композитів і значеннями питомої площі поверхні вихідних порошків магнетиту (Таб. 3.5).

4.2.3 Дослідження механічних властивостей композитів

БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Дослідження механічних характеристик композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан проводилися на компактних зразках, представлених на рисунку 4.30.



а) – БГА; б) – 99/1; в) – 95/5; г) – 75/25; д) – 50/50.

Рисунок 4.30 – Загальний вигляд компактних зразків композитів з різним масовим співвідношенням БГА і магнетиту(терм.)

Спостерігається загальне підвищення міцності на стиск і на розтяг зі збільшенням кількості магнетиту у складі композитів (Таб. 4.7), аналогічно до композитів модифікованих магнетитом(хім.) (Таб. 4.3). Це пояснюється тим, що всі досліджувані композити, незалежно від типу використаного магнетиту, є подібними за складом та масовим співвідношенням компонентів, а отже в структурі цих матеріалів відбувається процес заміщення іонів Ca^{2+} на іони Fe^{2+} , що було описано раніше.

Таблиця 4.7 – Механічні характеристики композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту	$\rho_{\text{уявн}}, \pm 0,2 \text{ г/см}^3$	$P_{\text{заг}}, \pm 0,5 \%$	$\sigma_{02}, \text{ МПа}$	$\sigma_{\text{р}}, \text{ МПа}$	$\sigma_{\text{бр}}, \text{ МПа}$	$E, \pm 0,1 \text{ ГПа}$
БГА	1,7	45	$4,7 \pm 0,5$	$4,9 \pm 0,5$	$0,2 \pm 0,02$	0,42
99/1	1,8	40	$7,1 \pm 0,7$	$7,4 \pm 0,7$	$0,2 \pm 0,02$	0,64
95/5	1,9	39	$6,6 \pm 0,7$	$6,6 \pm 0,7$	$0,3 \pm 0,03$	0,59
75/25	1,9	38	$13,5 \pm 0,9$	$14,2 \pm 0,8$	$0,8 \pm 0,08$	1,28
50/50	1,9	38	$15,5 \pm 0,9$	$15,7 \pm 0,9$	$2,7 \pm 0,08$	1,32

Введення 1 % магнетиту(терм.) призводить до підвищення міцності на стиск на 34 % ($7,1 \pm 0,7$ МПа) і зменшення пористості на 5 %, а введення 50 % - до підвищення міцності на стиск на 69 % ($15,5 \pm 0,9$ МПа) і зменшення пористості на 7 %, у порівнянні з не модифікованим БГА.

На відміну від значень міцності на стиск, збільшення міцності на розтяг починає відбуватися при введенні більше 5 % магнетиту, оскільки введення 1% не впливає на даний параметр, який складає $0,2 \pm 0,02$ МПа, аналогічно до значень не модифікованого БГА. Введення 50 % магнетиту призводить до збільшення міцності на розтяг на 92 % - до $2,7 \pm 0,08$ МПа.

Аналіз діаграми навантаження композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан загалом вказує на типовий характер руйнування матеріалів на основі гідроксиапатиту (рис. 4.31).

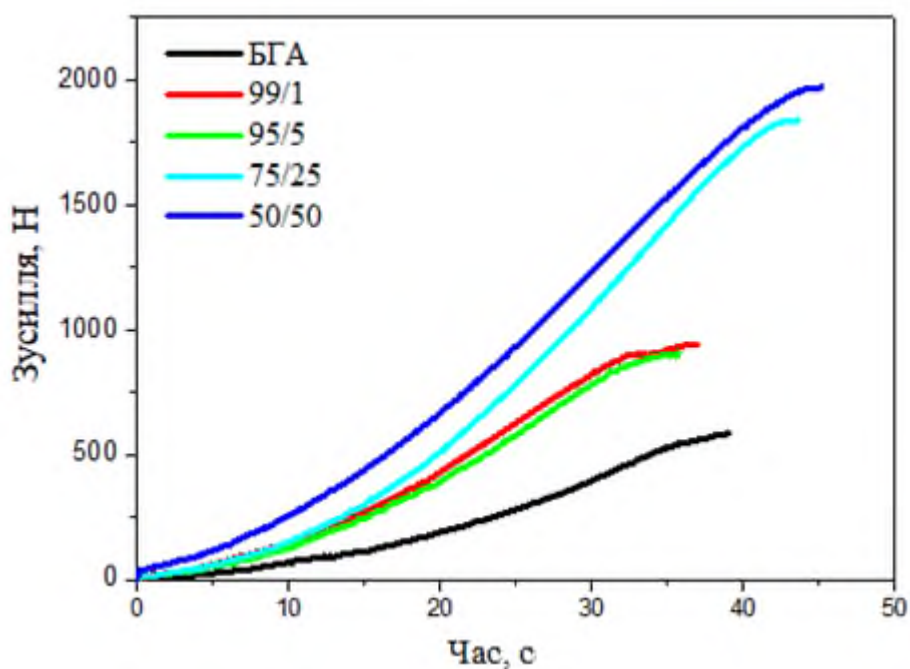


Рисунок 4.31 - Діаграма навантаження композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан в залежності від співвідношення компонентів

Однак, встановлено, що граничне зусилля, при якому відбувається руйнування зразків, незалежно від кількості магнетиту(терм.), є меншим, ніж для

композитів модифікованих магнетитом(хім.). Розглянемо це на прикладі найміцніших матеріалів – зі співвідношенням БГА/магнетит 50/50. Так, максимальне прикладене зусилля для матеріалу модифікованого магнетитом(хім.) становить 5055 Н, а повне руйнування відбувається через 64 с (рис. 4.15). Тоді як максимальне зусилля для матеріалу, в складі якого магнетит(терм.) становить 1970 Н і повне руйнування відбувається через 45 с. При цьому, модуль пружності першого в 2 рази більший – $2,88 \pm 0,1$ ГПа у порівнянні з $1,32 \pm 0,1$ ГПа, відповідно.

Ймовірно, це пов'язано з методом синтезу композиційних матеріалів, оскільки в першому випадку БГА та хітозан вводилися безпосередньо під час синтезу магнетиту методом хімічного осадження, і відбулася більша кількість заміщень іонів Ca^{2+} на іони Fe^{2+} , що призвело до підвищення загальної міцності композиту, ніж у випадку синтезу шляхом механічного перемішування при використанні магнетиту, отриманого методом термолізу.

Отримані значення механічні властивості отриманих матеріалів є співставними з міцністю губчастих кісток людини, що робить їх перспективними матеріалами для заміщення ненавантажених ділянок кісткової тканини. Так, композити з вмістом 1-5 % магнетиту (міцність на стиск $6,7 \pm 0,7$ - $11,7 \pm 0,8$ МПа, модуль пружності 0,59-0,98 ГПа для зразків, модифікованих магнетитом(хім.); міцність на стиск $7,4 \pm 0,7$ - $6,6 \pm 0,7$ МПа та модуль пружності 0,64-0,59 ГПа для зразків, модифікованих магнетитом(терм.)), є багатообіцяючими в якості замінників частини нижньої щелепи та частини хребців шийного відділу. В свою чергу, на порядок вищі механічні властивості композитів з вмістом 25-50 % магнетиту (міцність на стиск $32,9 \pm 2,1$ - $34,2 \pm 2,1$ МПа, модуль пружності 2,74-2,88 ГПа для зразків, модифікованих магнетитом(хім.); міцність на стиск $14,2 \pm 0,8$ - $15,7 \pm 0,9$ МПа та модуль пружності 1,28-1,32 ГПа для зразків, модифікованих магнетитом(терм.)) є достатніми для матеріалів-замінників верхніх частин (епіфізу) плечової та ліктьової кісток, а також п'ястя на фалангів пальців.

4.2.4 Дослідження магнітних властивостей композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Оскільки магнетит має безпосередній вплив на фізико-хімічні властивості композитів, то зважаючи на магнітні властивості вихідного магнетиту(терм.), які на порядок вищі ніж у магнетиту(хім.) (Таб. 3.5), можна очікувати вищі показники магнітних властивостей для композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан.

На рисунку 4.32 приведено залежність питомої намагніченості від напруженості магнітного поля (петлі гістерезису) для композитів, в залежності від співвідношення БГА та магнетиту. Як видно, характерним є уширення петель гістерезису зі збільшенням кількості магнетиту, що свідчить про наявність втрат енергії, які виникають через тертя магнітних доменів або виникнення затримки відновлення магнітної індукції до вихідного значення під час зміни зовнішнього магнітного поля.

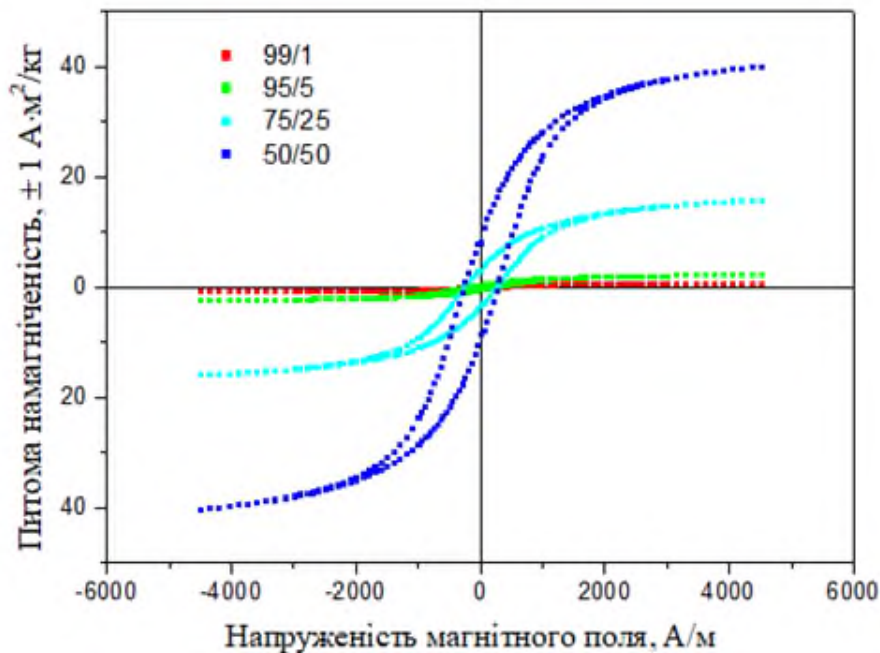


Рисунок 4.32 – Петлі гістерезису для композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан в залежності від співвідношення компонентів

Як і очікувалося, визначені за допомогою балістичного магнітометра магнітні властивості композитів БГА(магнетит(терм.)/хітозан (Таб. 4.8) є на порядок вищими, ніж у композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан (Таб. 4.4). Так, при мінімальній кількості магнетиту (1 %) питома намагніченість насичення композиту модифікованого магнетитом(терм.) в 5 разів вища ніж для композиту модифікованого магнетитом(хім.). Однак, подальше підвищення вмісту магнетиту не призводить до суттєвого збільшення питомої намагніченості насичення.

Таблиця 4.8 – Магнітні властивості магнетиту, отриманого методом термолізу та композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту	Питома намагніченість насичення (σ_s), $\pm 0,1$ А·м ² /кг	Коерцитивна сила (H_c), $\pm 0,01$ кА/м	Залишкова намагніченість насичення (σ_r), $\pm 0,01$ А·м ² /кг
Магнетит - термоліз в азотному середовищі	135	24,0	1,24
99/1	0,7	17,0	0,14
95/5	2	20,2	0,24
75/25	16	19,9	0,31
50/50	40	21,3	0,50

Значення питомої намагніченості насичення для композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан експоненційно підвищується зі збільшенням кількості магнетиту у складі і зберігається залежність – чим більша частка магнетиту в композиті, тим більша намагніченість насичення. Ця залежність, як і у випадку композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан пояснюється тим, що використані частинки магнетиту є суперпарамагнітними за рахунок

нанорозмірності та внутрішніх магнітних взаємодій між іонами заліза, на відміну від фосфатних та гідроксильних іонних зв'язків у БГА.

Композити на основі ГА з високим значення питомої намагніченості насичення, зазвичай, використовують в якості носіїв для адресної доставки препаратів [216]. Повідомляється, що мезопористий композит на основі гідроксиапатиту з 50% вмістом частинок магнетиту зі значенням питомої намагніченості насичення $\sim 49 \text{ A}\cdot\text{m}^2/\text{кг}$, який був успішно протестований для адресної доставки ліків (в якості модельного препарату використовувався ванкоміцин) [217].

Встановлено, що коерцитивна сила не змінюється суттєво зі збільшенням вмісту магнетиту, що свідчить про рівномірне розташування магнітних доменів у структурі композитів. Достатньо високе значення коерцитивної сили, у порівнянні зі значеннями, отриманими для зразків модифікованих магнетитом(хім.) (Таб. 4.3), свідчить, що матеріал менш схильний до втрати намагніченості під впливом зовнішніх факторів. Окрім того, матеріали з достатньо високими значеннями коерцитивної сили є перспективними для магнітної гіпертермії. Так, наночастинки на основі гідроксиапатиту з включенням іонів заліза та платини, зі значеннями коерцитивної сили $13,8 \text{ кА/м}$, були успішно протестовані як засіб для лікування раку легенів для гіпертермії [218].

4.2.5 Дослідження адсорбційних властивостей композитів

БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Значення питомої поверхні, разом із пористістю та об'ємом пор є одними із ключових моментів, які впливають на адсорбцію – важливий параметр для біоматеріалів. Дослідження адсорбції парів води при 100% вологості проводилися згідно методики, описаної у Розділі 2 (рис. 4.33).

На відміну від кривих адсорбції зразків БГА/магнетит(хім.)/хітозан та відповідного магнетиту (Розділ 4.1.5, рис. 4.19), де процес протікав рівномірно, у випадку використання в композиті магнетиту(терм.), можна спостерігати три послідовні етапи. Перший – швидкий, майже лінійний ріст маси, який відбувається протягом перших 20 хв для композитів і протягом перших 10-15 хв для вихідного магнетиту(терм.). При цьому, максимальний приріст маси (3,4 %) на цьому етапі спостерігається для зразка з вмістом 25 % магнетиту, а мінімальний для зразка з вмістом 1 % магнетиту (1,1 %). Другий етап – поступове гальмування процесу адсорбції і росту приросту маси.

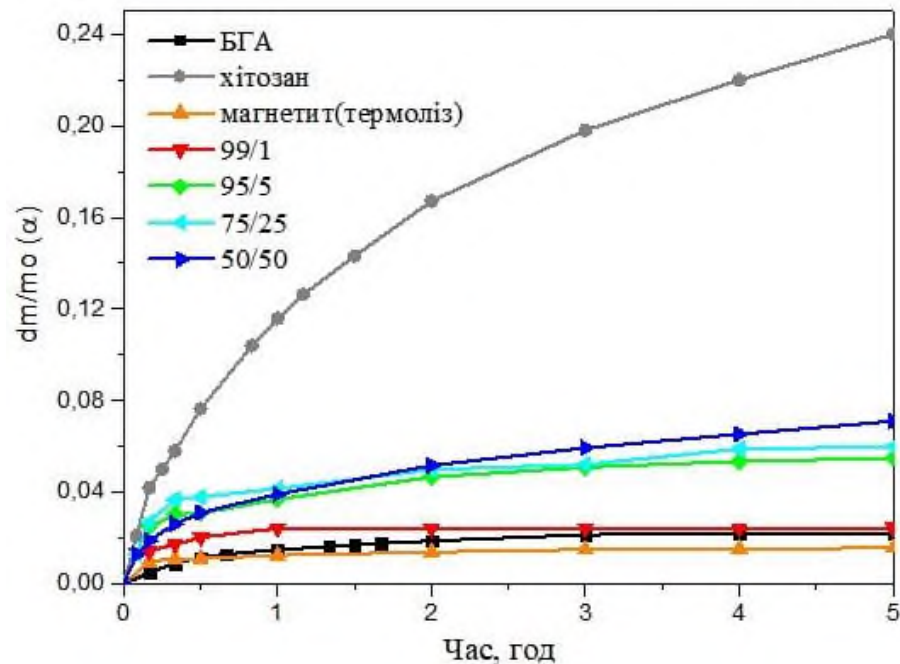


Рисунок 4.33 – Узагальнені криві адсорбції парів води при 100% вологості для вихідних матеріалів та композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Характерним є те, що для зразка з 50 % магнетиту даний етап не є чітко вираженим і після лінійного приросту маси спостерігається перехід на третій етап. Останній етап – це стан рівноваги і стабілізації маси зразків. Не зважаючи на те, що на першому етапі більший приріст маси спостерігався для зразка з

вмістом 25 % магнетиту, загальний приріст маси протягом 5 год збільшується зі зростанням вмісту магнетиту.

Зі зростанням кількості магнетиту, а з ним і хітозану, в композиті спостерігалось також нелінійне зміщення показника адсорбційної активності. При найнижчій концентрації магнетиту (1 %) показник адсорбційної активності складав $0,51 \text{ м}^{-2} \cdot 10^2$ при площі питомої поверхні $5 \text{ м}^2/\text{г}$. Це свідчить про можливу взаємодію молекул водяного пару з поверхнею композиту. При збільшенні вмісту магнетиту до 5 % показник зріс до $0,87 \text{ м}^{-2} \cdot 10^2$ при площі питомої поверхні $6 \text{ м}^2/\text{г}$, що пов'язано зі збільшенням кількості активних адсорбційних центрів на поверхні композиту за рахунок магнетиту. При подальшому зростанні кількості магнетиту до 25 % та 50 % спостерігалось зменшення показника адсорбційної активності до $0,35 \text{ м}^{-2} \cdot 10^2$ при площі питомої поверхні $13 \text{ м}^2/\text{г}$ та $0,54 \text{ м}^{-2} \cdot 10^2$ при площі питомої поверхні $17 \text{ м}^2/\text{г}$ відповідно. Це може бути зумовлено процесом насичення поверхні магнетиту та зменшенням доступу до активних центрів адсорбції.

Відповідно до отриманих експериментальних даних дослідження адсорбційних процесів, була проведена оцінка приросту маси в системі тверде тіло-газ при 70 % вологості, в залежності від кількості магнетиту(терм.) в складі композитів (Рис. 4.34).

Встановлено, що найбільш різкий приріст маси відбувається при збільшенні кількості магнетиту від 1 % до 5 % - майже в 2 рази. Однак, при зростанні з 5 до 50 % спостерігається незначний приріст маси - від 1,8 % до 1,93 % відповідно. Це може свідчити про досягнення максимальної кількості доступних адсорбційних центрів, при якому збільшення вмісту магнетиту та хітозану не призводить до покращення адсорбційних властивостей в цілому.

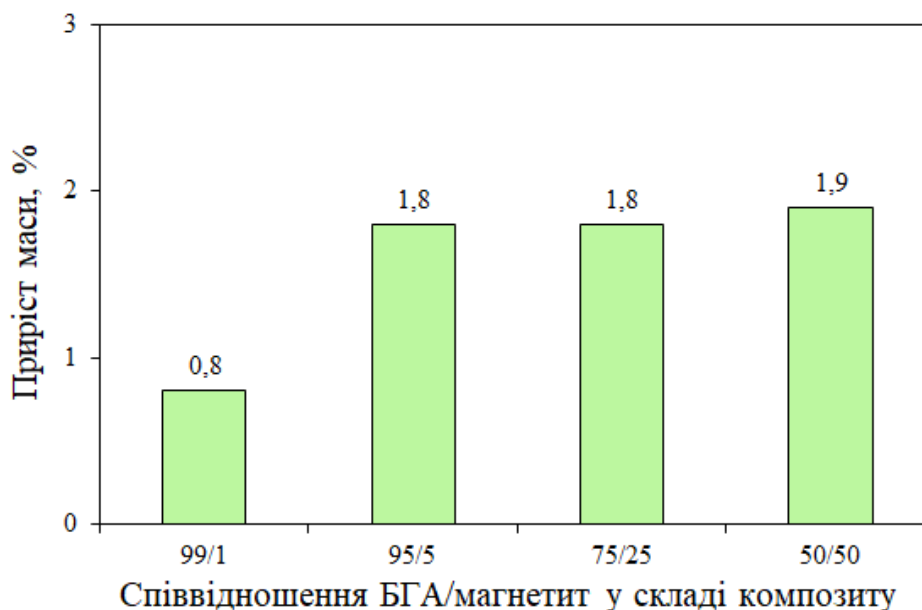


Рисунок 4.34 - Зміна приросту маси в залежності від кількості магнетиту(терм.) у складі композитів

Висновки до розділу

На основі порівняльного дослідження структури та фізико-механічних властивостей отриманих композиційних матеріалів БГА/ магнетит/ хітозан на основі магнетиту, отриманого хімічним осадженням протягом 5 хв, а також термолізом в азотному середовищі з різним співвідношенням компонентів (мас. % БГА/магнетит: (99/1, 95/5, 75/25 та 50/50 при вмісті хітозану 10 % від маси магнетиту), показано, що:

- композити незалежно від методів синтезу використаного магнетиту містять в своєму складі гідроксиапатит, магнетит та хітозан, що підтверджено результатами РФА та ІЧ спектроскопії. Крім того, в кристалічній структурі композитів спостерігається зменшення кристалітів вздовж вісі a і вісі c , а також зменшення об'єму кристалічної ґратки пропорційно збільшенню кількості магнетиту, незалежно від методів синтезу, що свідчить про заміщення іонів Ca^{2+} на іони Fe^{2+} у кристалічній ґратці БГА;

- композити є нанорозмірними та агломерованими з рівномірним розподілом частинок правильної форми за розміром ≤ 50 нм, причому зі збільшення вмісту магнетиту спостерігається зменшення розміру частинок. Крім того, застосування магнетиту, синтезованого методом осадженням у кількості 1-5 % дозволяє отримати композити з розміром частинок у більш вузькому розмірному інтервалі;

- питома поверхня композитів залежить від типу та співвідношення компонентів і складає $5\pm 1-47\pm 1$ м²/г та $5\pm 1-13\pm 1$ м²/г для композитів на основі магнетиту, отриманого хімічним осадженням та термолізом, відповідно, збільшуючись зі збільшенням вмісту магнетиту;

- збільшення вмісту магнетиту у складі композиту від 1 до 50 мас.% призводить до значного підвищення міцності на стиск та модуля Юнга (у 7 разів при введенні магнетиту, отриманого хімічним осадженням, та у 3 рази при введенні магнетиту, отриманого термолізом), у порівнянні з чистим біогенним гідроксиапатитом, та є співставним з міцністю губчастих кісток людини, що робить дані композити перспективними матеріалами для заміщення ненавантажених ділянок кісткової тканини. Крім того, композити, що містять магнетит у кількості понад 1 %, отриманого хімічним осадженням, довше чинять опір руйнуванню у порівнянні з чистим гідроксиапатитом та композитами, що містять в своєму складі магнетит, отриманий термолізом;

- магнітні властивості композитів зростають зі збільшенням вмісту магнетиту, причому композити, що містять у своєму складі магнетит, отриманий термолізом, мають на порядок вищі магнітні властивості, ніж композити, що містять у своєму складі магнетит, отриманий методом осадження, що пов'язано з характеристиками вихідних порошків магнетиту. В той же час аналіз петель гістерезису вказує на те, що завдяки малим втратам енергії при перемагнічуванні, композити БГА/магнетит(хім.)/хітозан зберігають свої магнітні властивості протягом більш тривалого терміну без суттєвих змін, що є достатнім для

перспективи їх використання як магніточутливих матеріалів у гіпертермії та магнітотерапії;

- адсорбція парів води пов'язана зі співвідношенням гідроксиапатиту, магнетиту та хітозану в композитах. При цьому, основний вплив на адсорбцію має магнетит, незалежно від методу синтезу, маючи більшу питому поверхню і вищу спорідненість з молекулами води та хітозан, враховуючи його високі адсорбційні характеристики. Композити з вмістом магнетиту 1 % та 50 %, отриманого методом хімічного осадження, демонструють підвищену адсорбційну активність у порівнянні з чистим гідроксиапатитом, тоді як композити з вмістом магнетиту ≤ 5 %, отриманого методом термолізу, мають вищу адсорбційну активність при суттєво нижчій питомій поверхні.

РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ ПОВЕДІНКИ КОМПОЗИТІВ НА ОСНОВІ БІОГЕННОГО ГІДРОКСИПАТИТУ, МОДИФІКОВАНИХ МАГНЕТИТОМ ТА ХІТОЗАНОМ В УМОВАХ IN VITRO

Поведінка матеріалів в модельному середовищі є необхідним критерієм прогнозування поведінки в живому організмі з перспективою застосування в медицині, оскільки дослідження в умовах *in vitro* є першим кроком для аналізу взаємодії композитів БГА/магнетит/хітозан з клітинами організму. В якості модельного середовища використовували 0,9 % водний розчин NaCl, який широко використовується у дослідженнях *in vitro* для створення біологічних умов, аналогічних фізіологічним, завдяки подібному до крові людини вмісту солей.

Для оцінки поведінки, а також морфологічних та структурних змін в композитах БГА/магнетит/хітозан після перебування в модельному розчині, згідно методик, описаних у Розділі 2, були проведені рентгеноструктурний аналіз, інфрачервона спектроскопія, дослідження морфології, питомої поверхні та пікометричної густини. Дослідження швидкості резорбції, а також контроль елементного складу і зміну рН вихідного розчину NaCl проводили протягом 2, 10, 16 та 31 днів для оцінки динаміки змін, як складу та структури композитів БГА/магнетит/хітозан, так і модельного середовища.

5.1 Дослідження резорбції композитів на основі БГА, модифікованих магнетитом, отриманого методом хімічного осадження та хітозаном

Результати дослідження резорбції композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан представлені на рисунку 5.1. Порівняння швидкості резорбції композитів різного складу дозволяє зробити висновок, що вміст магнетиту істотно впливає на резорбцію матеріалів.

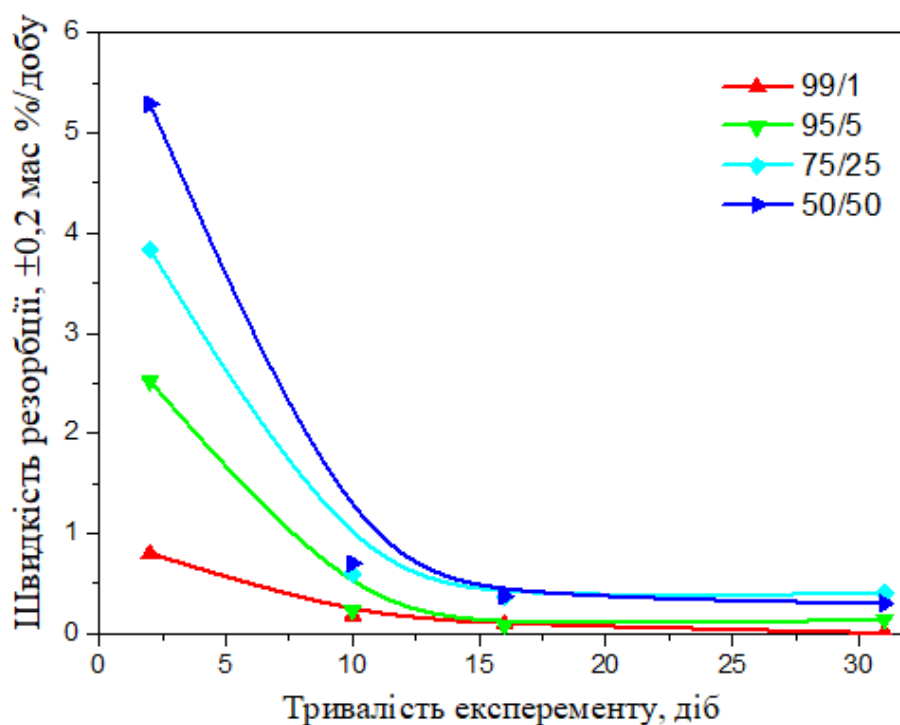


Рисунок 5.1 – Швидкість резорбції композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Встановлено, що найінтенсивніше процес резорбції протікає перші 2 доби. Так, швидкість резорбції композиту з вмістом 1 % магнетиту становить $0,8 \pm 0,2$ мас.%/добу і співставна зі швидкістю резорбції не модифікованого БГА ($0,8 \pm 0,2$ мас.%/добу) [219]. Підвищення кількості магнетиту до 5 % призводить до збільшення швидкості резорбції у 3 рази ($2,52 \pm 0,2$ мас.%/добу), а введення 50 % магнетиту – у 6 разів ($5,29 \pm 0,2$ мас.%/добу).

Наступні 8 дів спостерігається різке зменшення швидкості резорбції у 6-9 разів для композитів з 5-50 % магнетиту у складі. Для композиту з вмістом 1 % магнетиту у цей період швидкість резорбції зменшується у 2 рази – до $0,18 \pm 0,2$ мас.%/добу. Протягом останніх 15 дів спостерігається рівномірна швидкість резорбції без істотних змін для всіх матеріалів.

Довготривалий експеримент протягом 31 доби і наступне порівняння швидкості резорбції композиційних матеріалів і не модифікованого БГА підтверджує вплив магнетиту на резорбцію матеріалів (рис. 5.2). Як і у випадку

експерименту протягом 2 діб, введення 1 % магнетиту не підвищує швидкість резорбції у порівнянні з БГА. Найбільш суттєва втрата ваги дослідних зразків відбувається при введенні більш ніж 5 % магнетиту. При цьому, швидкість резорбції матеріалу з вмістом 25 та 50 % магнетиту практично однакова і знаходиться в межах статистичної похибки.

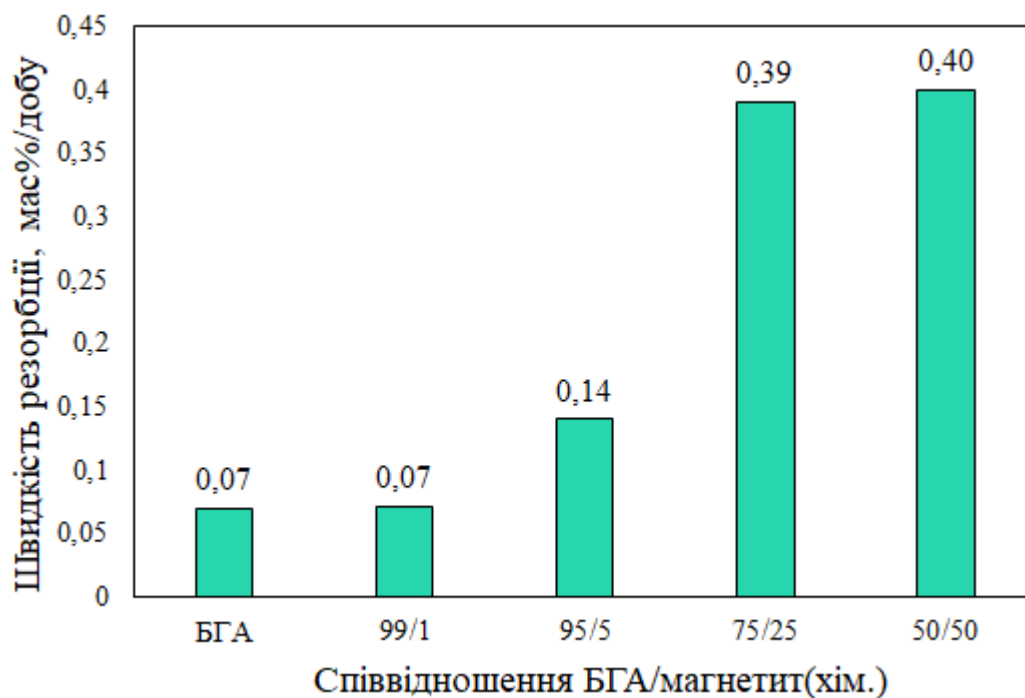


Рисунок 5.2 – Швидкість резорбції протягом 31 доби вихідного БГА та композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Збільшення швидкості резорбції з підвищенням вмісту магнетиту напряму пов'язана з питомою поверхнею, оскільки велика питома поверхня призводить до більшої кількості хімічних реакцій матеріалу з фізіологічним розчином, які прискорюють процес резорбції. Встановлено, що закономірність збільшення питомої поверхні з кількістю магнетиту зберігається і після 2 та 31 доби взаємодії з фізіологічним розчином (рис. 5.3). Через 2 доби знаходження в модельному

розчині, площа питомої поверхні збільшується, в середньому, на 17 %. Через 31 добу збільшення питомої поверхні від вихідної, в середньому, становить 34 %.

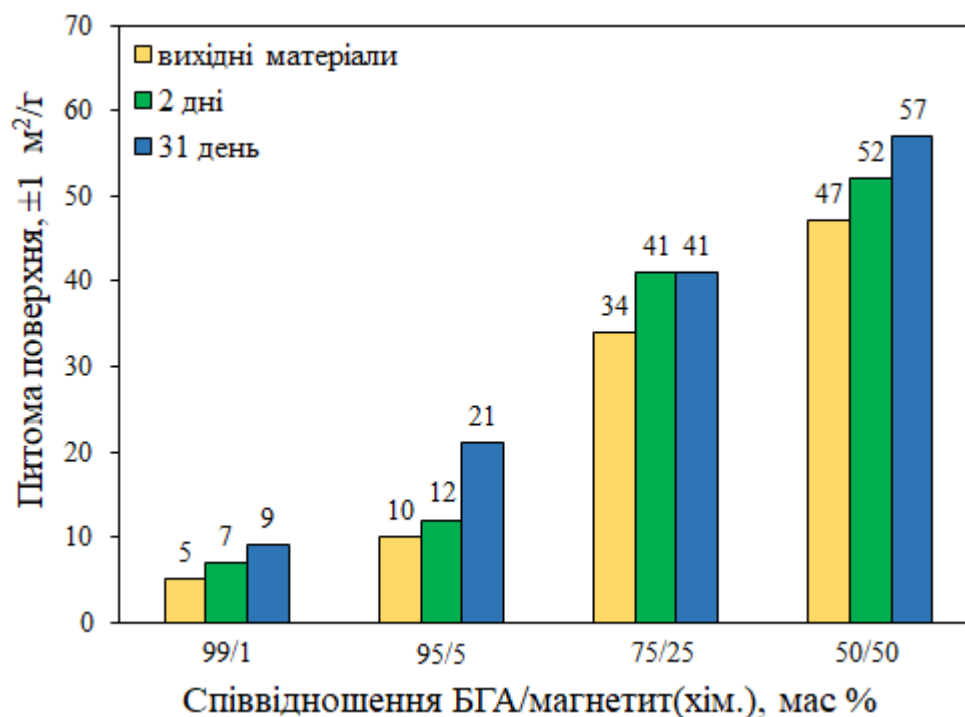


Рисунок 5.3 – Питома поверхня композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан до та після 2 та 31 доби взаємодії з фізіологічним розчином

Протікання процесу резорбції підтверджується також результатами елементного аналізу фільтратів фізіологічних розчинів після кожного з етапів експериментів *in vitro*. У фільтратах виявлено наявність таких хімічних елементів, як кальцій, фосфор і залізо, що пов'язано з резорбцією гідроксиапатиту та магнетиту та насиченням розчину виділеними іонами, при цьому, вміст елементів у фізіологічному розчині безпосередньо залежить від співвідношення БГА/магнетит.

Встановлено, що інтенсивна резорбція протягом перших 2 діб пов'язана з виділенням іонів Ca^{2+} та фосфат-іону (PO_4^{3-}). При цьому, кількість виділених іонів в модельне середовище для композитів з вмістом 1-25 % магнетиту(хім.) є

практично однаковою – $9,3 \pm 0,1 \cdot 10^{-4} \%$ для кальцію та $3,6 \pm 0,1 \cdot 10^{-4} \%$ для фосфору (Таб. 5.1).

Таблиця 5.1 – Вміст іонів кальцію, фосфору та заліза в фізіологічному розчині після взаємодії з композитами БГА/магнетит(хім.)/хітозан

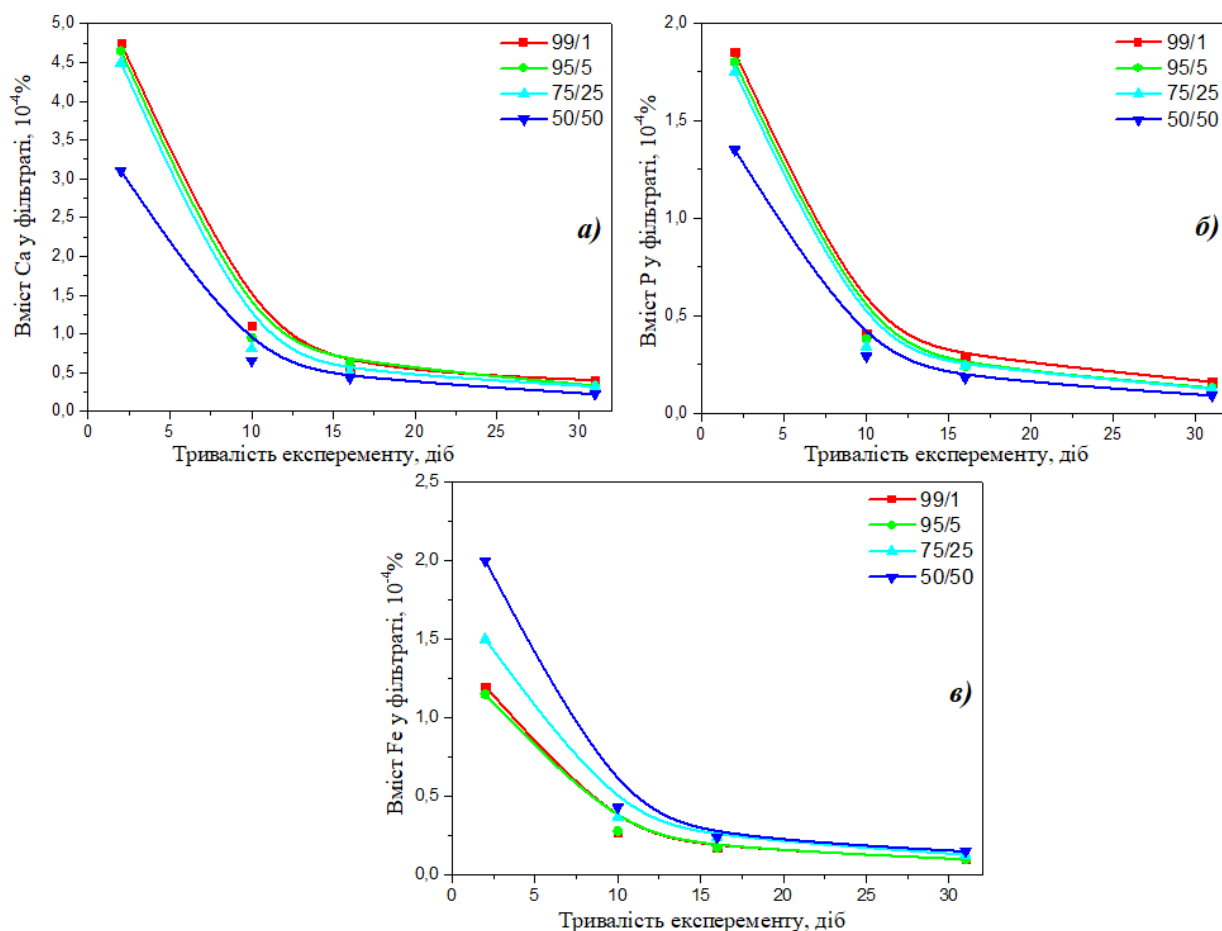
Вміст елементів, $\pm 0,1 \cdot 10^{-4} \%$	Тривалість експерименту, діб	Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту			
		99/1	95/5	75/25	50/50
Ca	2	9,5	9,3	9,0	6,2
	10	11,1	9,5	9,6	6,5
	16	11,6	10,1	9,8	6,8
	31	12,5	10,3	10,1	6,9
P	2	3,7	3,6	3,5	2,7
	10	4,1	3,8	3,4	2,9
	16	4,6	3,9	3,8	2,9
	31	4,9	4,0	3,9	3,0
Fe	2	2,4	2,3	3,0	4,0
	10	2,7	2,8	3,7	4,3
	16	2,8	2,8	3,9	4,5
	31	3,2	3,4	4,1	4,5

Аналіз фільтрату після взаємодії з композитом з вмістом 50 % магнетиту показав дещо менші значення, а саме $6,2 \pm 0,1 \cdot 10^{-4} \%$ для кальцію та $2,7 \pm 0,1 \cdot 10^{-4} \%$ для фосфат-іону. Підвищена швидкість резорбції даного зразка пов'язана, ймовірно, з виділенням іонів заліза, значення якого складає $4 \pm 0,1 \cdot 10^{-4} \%$, що в 2 рази більше, ніж для композиту з вмістом 1 % магнетиту ($2,4 \pm 0,1 \cdot 10^{-4} \%$).

На Рисунку 5.4 показані графіки питомої зміни вмісту хімічних елементів у фільтратах модельного розчину, дослідження яких проводили згідно методики, описаній в Розділі 2.2.7.

Аналіз питомого вмісту хімічних елементів у фільтратах розчину протягом довготривалого експерименту свідчить про поступове зниження динаміки

виділення іонів Ca^{2+} , PO_4^{3-} та Fe^{2+} , що напряму пов'язано з уповільненням процесу резорбції матеріалів (Рис. 5.4).



а) – вміст кальцію; б) – вміст фосфору; в) – вміст заліза

Рисунок 5.4 – Питомий вміст хімічних елементів у фізіологічному розчині після взаємодії з композитами БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Встановлено, що найактивніше виділення іонів елементів у модельне середовище відбувається протягом перших 2-10 діб, що пов'язано зі швидкістю резорбції досліджуваних матеріалів.

Також, оцінка динаміки виділення іонів заліза, які можуть бути токсичними у великій концентрації для організму людини під час довготривалого експерименту встановила, що найінтенсивніше насичення розчину іонами Fe^{2+}

відбувається протягом перших 2 діб. Однак, оцінка питомого вмісту даного елемента вказує на сповільнення процесу виділення заліза після 10 доби експерименту (Рис. 5.4 (в)), при цьому, фактичний вміст не перевищував $4,5 \pm 0,1 \cdot 10^{-4}\%$ для композиту з максимальним вмістом магнетиту (Таб. 5.1), а питома вивільнення іонів заліза у модельне середовище практично однакове для всіх зразків ($\sim 0,15 \cdot 10^{-4}\%$) (Рис. 5.4 (в)).

Взаємодія фізіологічного розчину з композитами БГА/магнетит(хім.)/хітозан також підтверджується зміною рН розчину з часом (рис. 5.5).

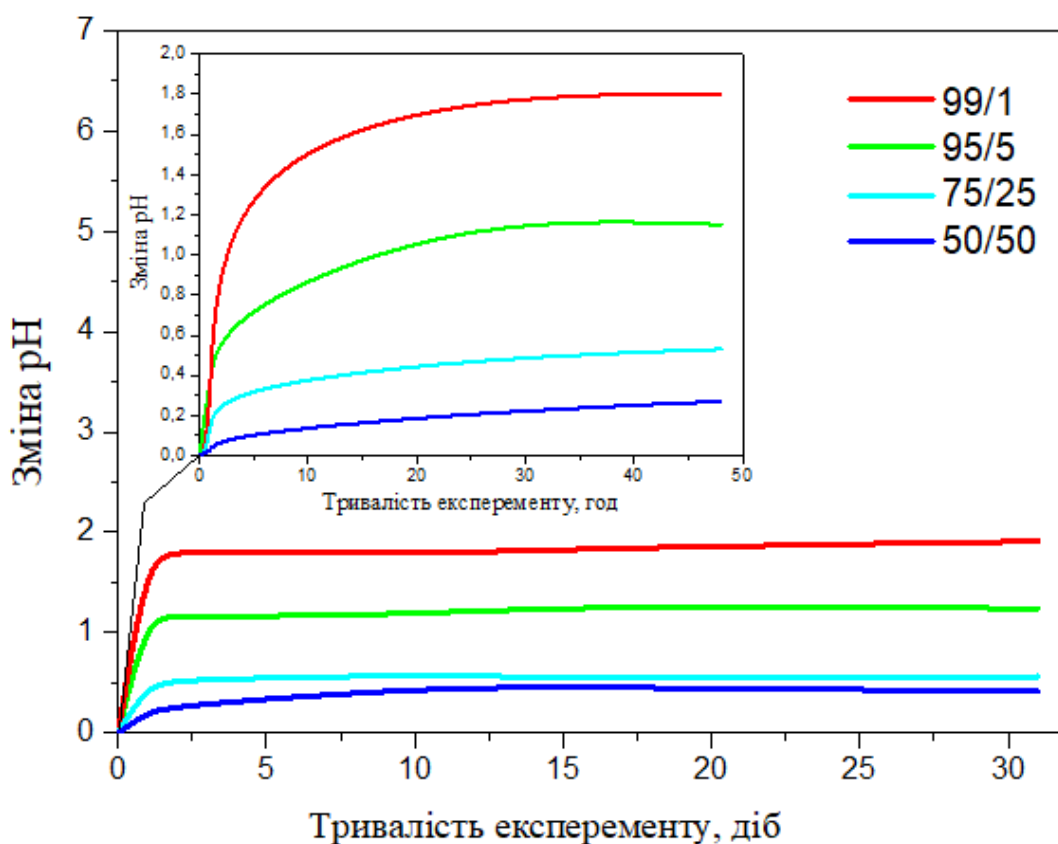
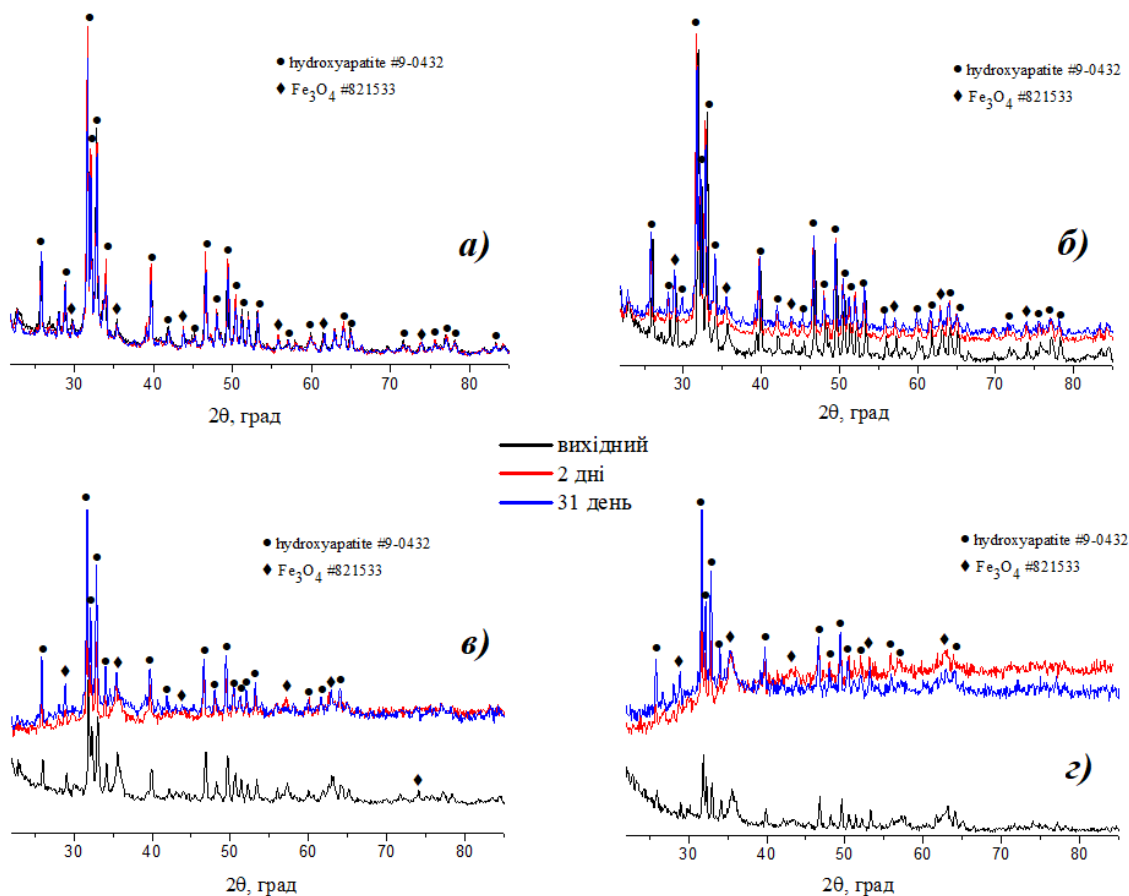


Рисунок 5.5 - Зміна рН фізіологічного розчину протягом 31 доби в присутності композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан

Інтенсивна зміна рН відбувалася протягом перших 2 діб експерименту з подальшою стабілізацією. Так, максимальне значення рН фізіологічного розчину було зафіксовано на 2 добу для композиту з вмістом 5% магнетиту – $9,3 \pm 0,1$ при початковому рівні $7,0 \pm 0,1$. При цьому, значення рН фіз. розчину для композиту з вмістом 1 % магнетиту становило $9,1 \pm 0,1$, а для композиту з вмістом 50% магнетиту – $7,3 \pm 0,1$. Це цілком узгоджується з результатами хімічного аналізу фільтратів, представленими на рисунку 5.4 і тим фактом, що найбільший вплив на швидкість резорбції протягом перших 2 діб має виділення іонів Ca^{2+} та PO_4^{3-} , які присутні у кристалічній ґратці БГА.

Виходячи з приведених даних дослідження резорбції і взаємодії композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан з фізіологічним розчином в термостатичних умовах, встановлено, що незважаючи на кількість магнетиту у складі, всі матеріали резорбують в умовах *in vitro*. Додатково був проведений контроль фазового складу після 2 та 31 доби взаємодії з модельним середовищем, результати якого наведено на рисунку 5.6.

Перебування у фізіологічному розчині композиційних матеріалів протягом 2-31 днів не вплинуло на фазовий склад і на усіх дифрактограмах, незалежно від кількості магнетиту та тривалості перебування у фізіологічному розчині, спостерігається присутність та перекриття основних піків відбиття, характерних для вихідних компонентів, а саме гідроксиапатиту (PDF файл № 09-0432) та магнетиту (PDF файл № 821533). Інтенсивність характерних піків напряму залежить від співвідношення БГА/магнетит у складі досліджуваних зразків. На всіх дифрактограмах спостерігається збільшення інтенсивності піків відбиття зі збільшенням перебування композитів у фізіологічному розчині одночасно зі збільшенням аморфності, що підтверджує протікання процесу резорбції (розчинення) матеріалів.



а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) – БГА/магнетит: 50/50

Рисунок 5.6 - Результати рентгенофазового аналізу до та після взаємодії композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан з фізіологічним розчином протягом 2 та 31 діб

Згідно даних РФА, було розраховано параметри кристалічної структури композитів після взаємодії з фізіологічним розчином (Таб. 5.2).

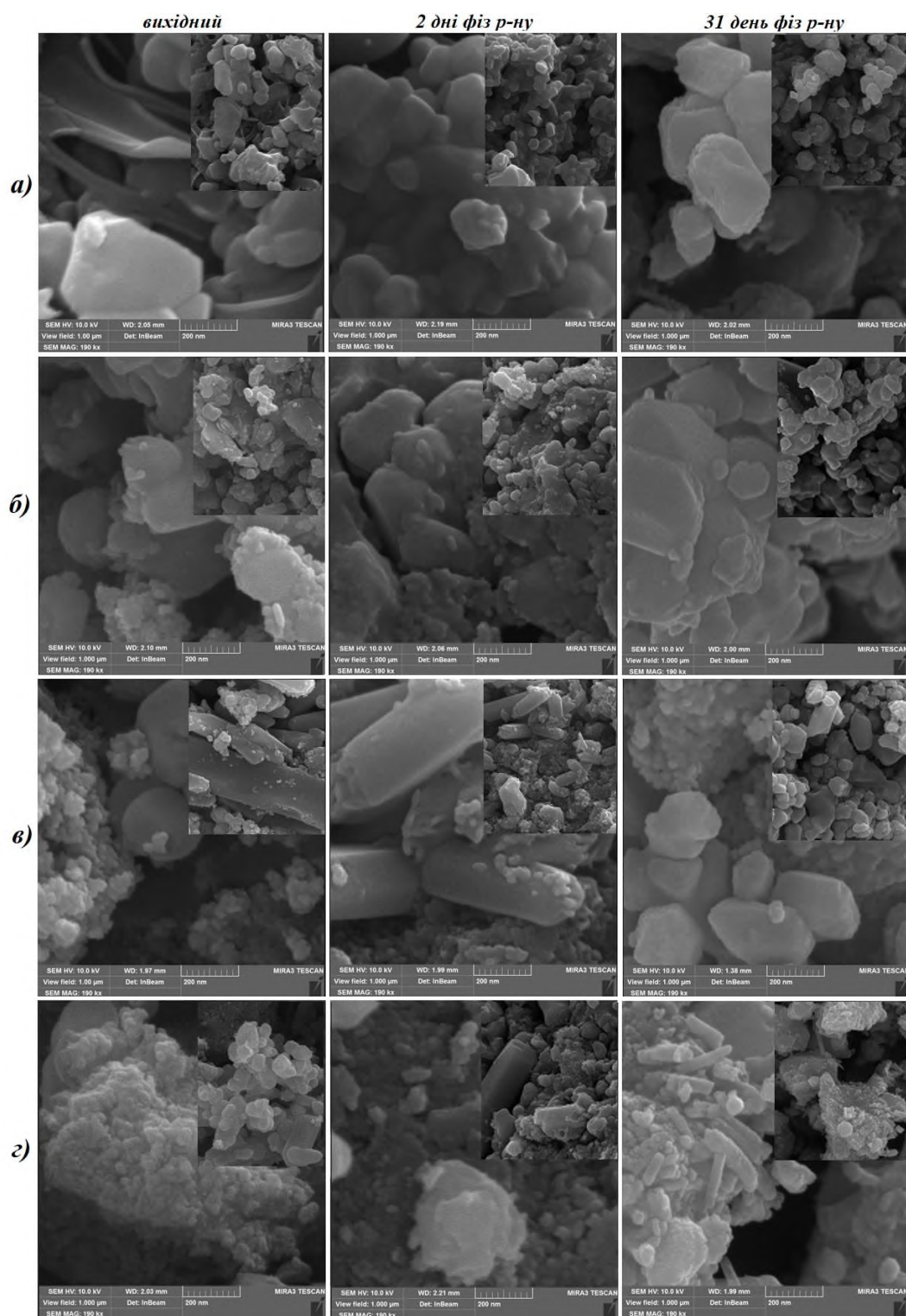
Встановлено, що для всіх композитів характерним є помітне збільшення розміру кристалітів та об'єму кристалічної ґратки після 2 діб взаємодії з модельним середовищем. Це є наслідком резорбції матеріалів, а також повністю корелює з отриманими даними визначення питомої поверхні (рис. 5.3).

Характерно, що збільшення кристалітів та об'єму ґратки, як і збільшення питомої поверхні через 31 добу перебування у модельному середовищі є менш суттєвим, у порівнянні зі значеннями, отриманими після 2 діб експерименту.

Таблиця 5.2 - Параметри кристалічної структури композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан до та після взаємодії з фізіологічним розчином протягом 2 та 31 діб.

Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту	Розмір кристалітів, нм						Об'єм кристалічної ґратки, Å ³		
	По вісі Da			По вісі Dc					
	вихідний	після фіз. розчину (2 доби)	після фіз. розчину (31 доба)	вихідний	після фіз. розчину (2 доби)	після фіз. розчину (31 доба)	вихідний	після фіз. розчину (2 доби)	після фіз. розчину (31 доба)
БГА	9,411	—	9,449	6,918	—	6,895	530,6	—	533,1
99/1	9,410	9,453	9,444	6,914	6,885	6,88	530,2	532,8	531,2
95/5	9,394	9,436	9,427	6,909	6,886	6,885	528,0	531,0	529,9
75/25	9,393	9,45	9,437	6,874	6,892	6,885	525,2	533,0	531,0
50/50	9,387	9,461	9,443	6,852	6,893	6,896	522,9	534,3	532,5

Взаємодія композитів з фізіологічним розчином також призводить до зміни морфології частинок. На рис. 5.7 показана початкова морфологія порошкових композитів, а також морфологія після експериментів *in vitro* в залежності від співвідношення компонентів. Встановлено, що після взаємодії з фізіологічним розчином частинки візуально стають більш округлими та рівними, що пов'язано з розчиненням композитів. Характерні структури хітозану (рис.5.7 (а, вихідний)) перестають візуалізуватися вже після 2 діб знаходження в модельному середовищі. Однак, навіть після 31 доби експерименту чітко розрізняються більш великі видовженої форми частинки гідроксиапатиту та маленькі округлі частинки магнетиту.



а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) – БГА/магнетит: 50/50

Рисунок 5.7 – Морфологія композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан до та після взаємодії з фізичним розчином протягом 2 та 31 днів

За допомогою програмного забезпечення АМІС морфологію композитів було також оцінено за фактором форми (рис. 5.8).

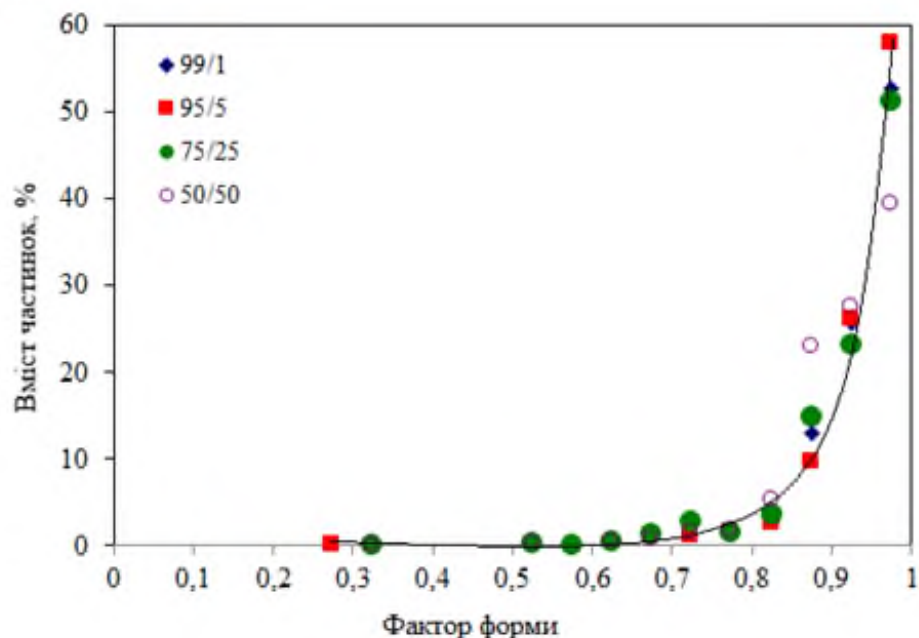


Рисунок 5.8 – Розподілення частинок композитів

БГА/магнетит(хім.)/хітозан за фактором форми після взаємодії з фізіологічним розчином протягом 31 доби

Встановлено, що 92-96 % частинок мають фактор форми більше 0,8, що свідчить про формування порошків правильної форми. Збільшення кількості частинок сферичної форми у порівнянні з вихідними композитами (89-95 % частинок яких мали фактор форми більше 0,8 (Розділ 4.1)) підтверджує зміну морфології матеріалу після взаємодії з фізіологічним розчином.

Підсумовуючи дані, отримані за допомогою СЕМ, РФА та вимірювання питомої поверхні, була сформована порівняльна таблиця розмірів частинок вихідних композитів та після взаємодії з фіз. розчином протягом 2 діб (Таб. 5.3).

Таблиця 5.3 – Розміри частинок порошкових композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан до та після взаємодії з фізіологічним розчином протягом 2 днів.

Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту	Розмір частинок, нм					
	СЕМ (мін)		БЕТ		РФА	
	вихідні	після фіз. розчину	вихідні	після фіз. розчину	вихідні	після фіз. розчину
99/1	50	30	376	273	50	47
95/5	40	30	194	167	49	45
75/25	37	26	58	44	45	43
50/50	35	24	42	27	43	33

Розмір частинок, визначений на основі значень питомої поверхні (БЕТ) для композитів з вмістом 1-5 % магнетиту на порядок відрізняються від значень, отриманих на основі СЕМ та РФА, що пов'язано з агломерацією частинок, яка притаманна як вихідним композитам, так і після взаємодії з фізіологічним розчином. Виключивши дані для цих двох зразків, встановлено, що в середньому розмір частинок після взаємодії з фізіологічним розчином на 40 % менший від вихідного, що пов'язано з процесом резорбції матеріалу. Також зберігається закономірність зменшення розміру частинок з підвищенням вмісту магнетиту у складі композитів.

5.2 Дослідження резорбції композитів на основі БГА, модифікованих магнетитом, отриманого методом термолізу та хітозаном

Оскільки попередні дослідження, описані в Розділі 4 довели подібність ряду фізико-хімічних та структурних властивостей композитів на основі БГА, то очікувано, що динаміка резорбції композитів модифікованих магнетитом різного типу буде співставною.

Дослідження резорбції композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан, представлене на рисунку 5.9, показує, що як і у випадку резорбції композитів БГА/магнетит(хім.)/хітозан найінтенсивніше процес проходив у перші 2 доби, однак на наступних етапах експерименту динаміка резорбції дещо відрізняється.

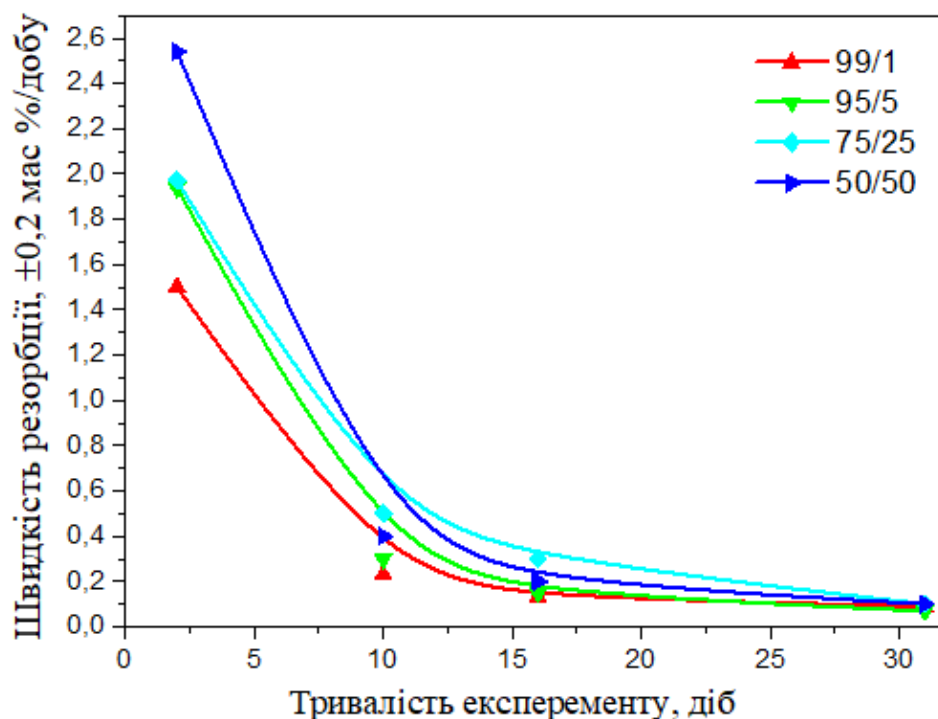


Рисунок 5.9 - Швидкість резорбції композитів
БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Встановлено, що введення 1 % магнетиту(терм.) підвищує резорбцію композиту, у порівнянні з чистим БГА на 17% (Рис. 5.10). Протягом перших 2 діб експерименту найбільша швидкість резорбції спостерігається для композиту з вмістом 50 % магнетиту – $2,54 \pm 0,2$ мас.%/добу, що практично у 2 рази менше, ніж швидкість резорбції композиту з аналогічним вмістом магнетиту(хім.) ($5,29 \pm 0,2$ мас.%/добу, Рис. 5.1). Наступні 10 днів відбувається інтенсивне зниження швидкості резорбції і на 16 день експерименту вона майже ідентична для всіх композитів і складає $0,2 \pm 0,5$ мас.%/добу. Питома втрата ваги, виміряна після 31 доби взаємодії з фізіологічним розчином показала однакове значення для

всіх композитів: $0,08-0,09 \pm 0,2$ мас.%/добу. Таким чином, не дивлячись на різницю швидкості резорбції протягом перших 12 діб, отримані дані свідчать, що кількість магнетиту(терм.) у складі композиту не впливає на довготривале (більше 31 доби) розчинення дослідних матеріалів.

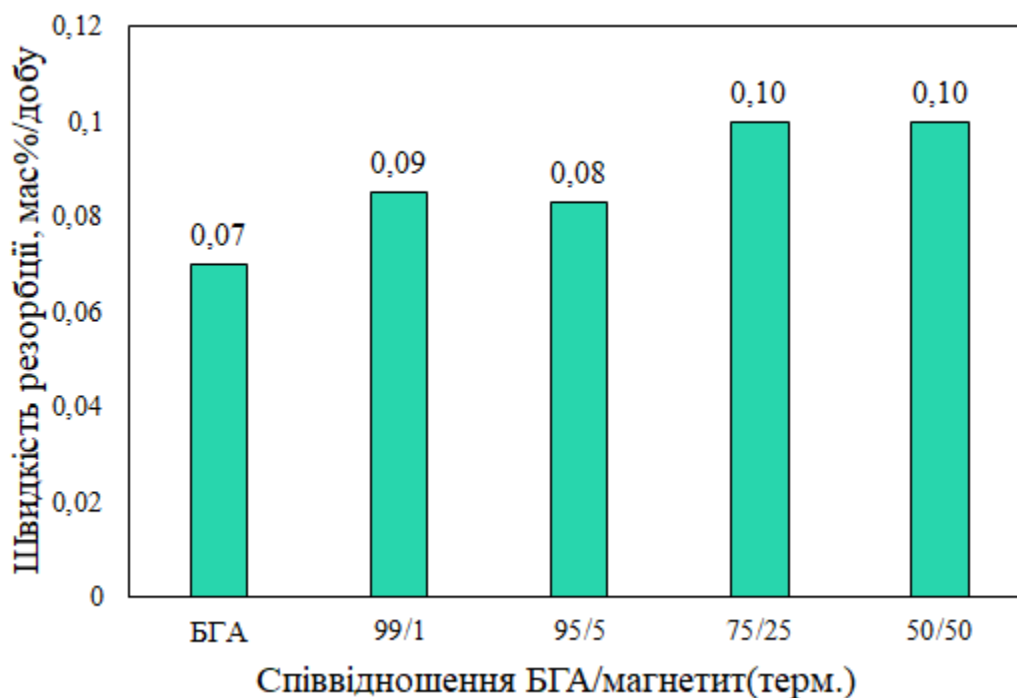


Рисунок 5.10 – Швидкість резорбції протягом 31 доби вихідного БГА та композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Загалом, швидкість резорбції композитів модифікованих магнетитом(терм.) протягом 31 доби в середньому в 2 рази повільніша, ніж для композитів модифікованих магнетитом(хім.). Ймовірно, це пов'язано з структурними особливостями, а саме з пористістю вихідних композитів, оскільки для композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан вона в 1,3 рази менша, ніж для БГА/магнетит(хім.)/хітозан (Розділ 4).

Збільшення швидкості резорбції з підвищенням кількості магнетиту, незалежно від методу синтезу є характерною ознакою досліджуваних композитів. Це пов'язано з питомою поверхнею вихідних матеріалів, яка збільшується під час

взаємодії композитів з фізіологічним розчином, що пов'язано з процесом резорбції матеріалів. Зміна питомої поверхні після 2 та 31 доби експерименту *in vitro* представлена на рисунку 5.11. Протягом перших 2 діб експерименту питома поверхня композитів збільшується, в середньому, на 10 %, а найбільше приріст демонструє композит з вмістом 25% магнетиту – 14 %. Через 31 добу знаходження в фізіологічному розчині значення питомої поверхні збільшується, в середньому, на 21 %. При цьому, найменше збільшення питомої поверхні зафіксовано для композиту з вмістом 50% магнетиту – 8%, що підтверджує отримані дані швидкості резорбції даного матеріалу.

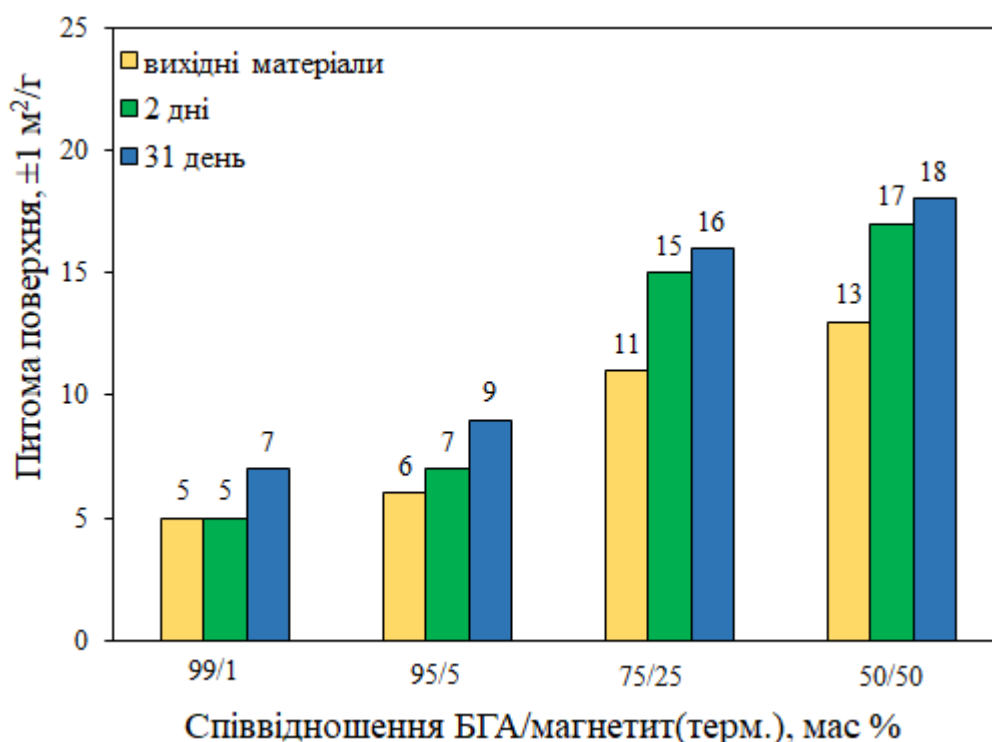


Рисунок 5.11 – Питома поверхня композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан до та після 2 та 31 доби взаємодії з фізіологічним розчином

Процес резорбції підтверджується не тільки зміною питомої поверхні та втратою ваги, а і виділенням у модельне середовище елементів кальцію, фосфору

та заліза, які були досліджені за допомогою хімічного аналізу фізіологічного розчину (Таб. 5.4).

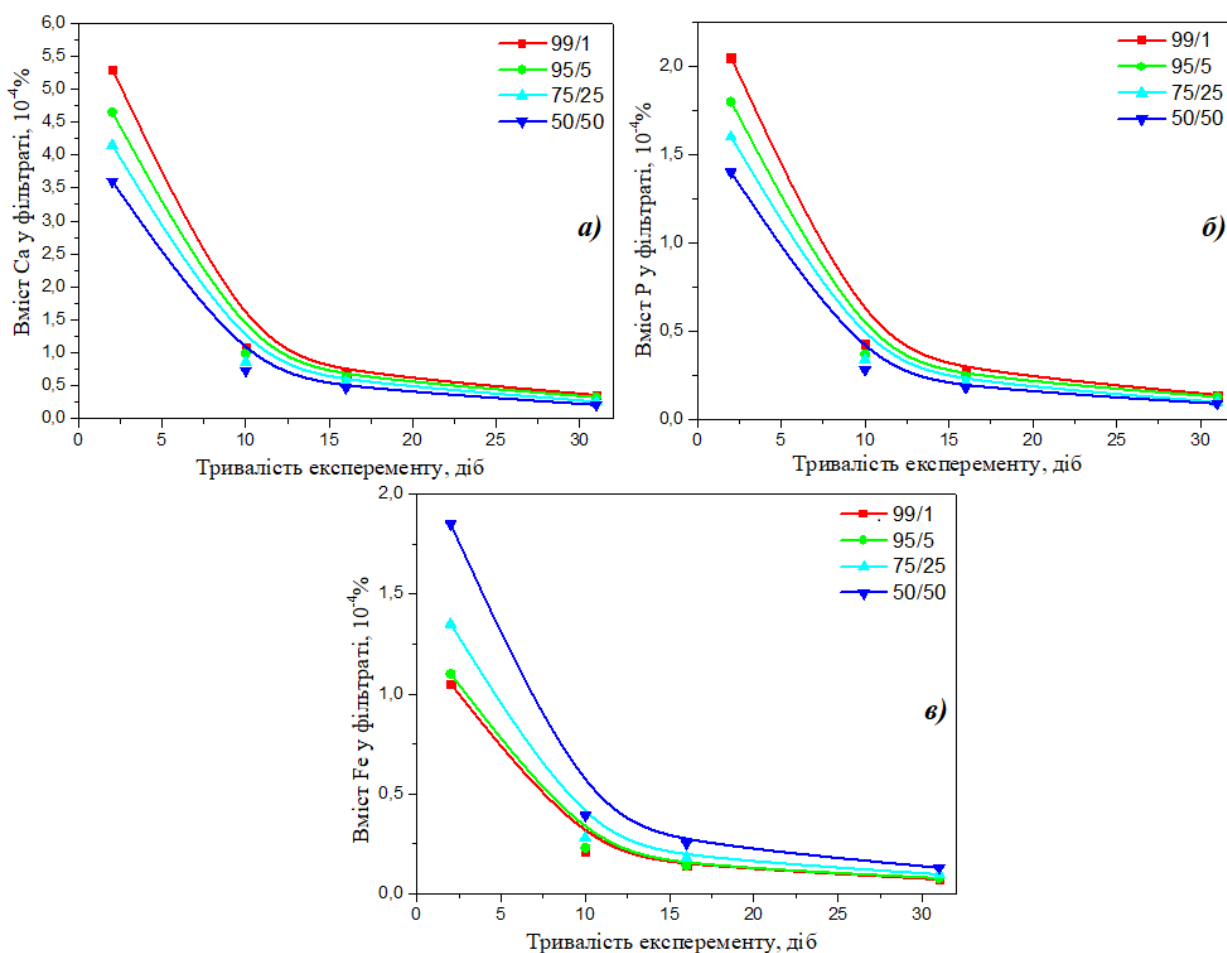
Таблиця 5.4 – Фактичний вміст іонів кальцію, фосфору та заліза в фізіологічному розчині після взаємодії з композитами БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Вміст елементів, $\pm 0,1 \cdot 10^{-4}\%$	Тривалість експерименту, діб	Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту			
		99/1	95/5	75/25	50/50
Ca	2	10,6	9,3	8,3	7,2
	10	10,9	9,9	8,6	7,3
	16	11,1	10,0	8,9	7,5
	31	11,3	10,3	9,2	7,5
P	2	4,1	3,6	3,2	2,8
	10	4,3	3,7	3,4	2,8
	16	4,4	3,9	3,4	2,9
	31	4,4	4,0	3,5	2,9
Fe	2	2,1	2,2	2,7	3,7
	10	2,1	2,3	2,8	3,9
	16	2,2	2,3	2,9	4,0
	31	2,2	2,4	3,0	4,0

Встановлено, що найінтенсивніше виділення іону кальцію та фосфат-іону відбувалося у перші 2 доби, при чому фактична кількість даних елементів у фільтратах залежить від кількості БГА в складі композитів (Таб. 5.4). Так, максимальна кількість іонів Ca^{2+} - $10,6 \pm 0,1 \cdot 10^{-4}\%$ та PO_4^{3-} - $4,1 \pm 0,1 \cdot 10^{-4}\%$ зафіксована для композиту зі співвідношенням БГА/магнетит 99/1, а мінімальна ($7,2 \pm 0,1 \cdot 10^{-4}\%$ та $2,8 \pm 0,1 \cdot 10^{-4}\%$, відповідно) для композиту зі співвідношенням БГА/магнетит 50/50, при цьому, різниця між граничними значеннями не перевищує 3 %. Така ж різниця між максимальною та мінімальною кількістю виділених іонів кальцію та фосфат іонів зафіксована і для композитів

БГА/магнетит(хім.)/хітозан (Таб. 5.1), що пов'язано з безпосереднім впливом гідроксиapatиту на резорбцію в перші 2 доби.

Аналіз питомого насичення іонами фільтратів на 10, 16 та 31 добу експерименту показав практично однакову зміну вмісту Ca^{2+} (різниця показників не перевищувала $\pm 0,1 \cdot 10^{-4}\%$) та PO_4^{3-} (різниця показників не перевищувала $\pm 0,2 \cdot 10^{-4}\%$) для всіх композитів, незалежно від складу, що свідчить про повільну та поступову резорбцію матеріалів (Рис. 5.12 (а), (б)).



а) – вміст кальцію; б) – вміст фосфору; в) – вміст заліза

Рисунок 5.12 – Динаміка зміни вмісту хімічних елементів у фізіологічному розчині після взаємодії з композитами

БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Максимальний вміст іонів Fe^{2+} , як і у випадку дослідження композитів модифікованих магнетитом(хім.), зафіксований для зразка з вмістом 50% Fe_3O_4 : в перші 2 доби кількість даного елементу у фільтраті становила $3,7 \pm 0,1 \cdot 10^{-4} \%$ (Таб. 5.1). Зафіксована кількість іонів заліза у фільтратах модельного розчину після взаємодії з композитами з вмістом 1-5 % магнетиту(терм.) однакова – $2,1-2,2 \pm 0,1 \cdot 10^{-4} \%$, при цьому питомі зміни кількості елементів у фільтратах зберігаються протягом всього експерименту (Рис. 5.12 (в)). Встановлено, що з 16 по 31 добу взаємодії з композитами, питома вивільнення іонів заліза у модельне середовище практично однакове для всіх зразків і не перевищує $0,1 \cdot 10^{-4} \%$.

Зміна показника рН фізіологічного розчину протягом 2, 16 та 31 доби експерименту представлена на рисунку 5.13. Інтенсивна зміна рН протягом

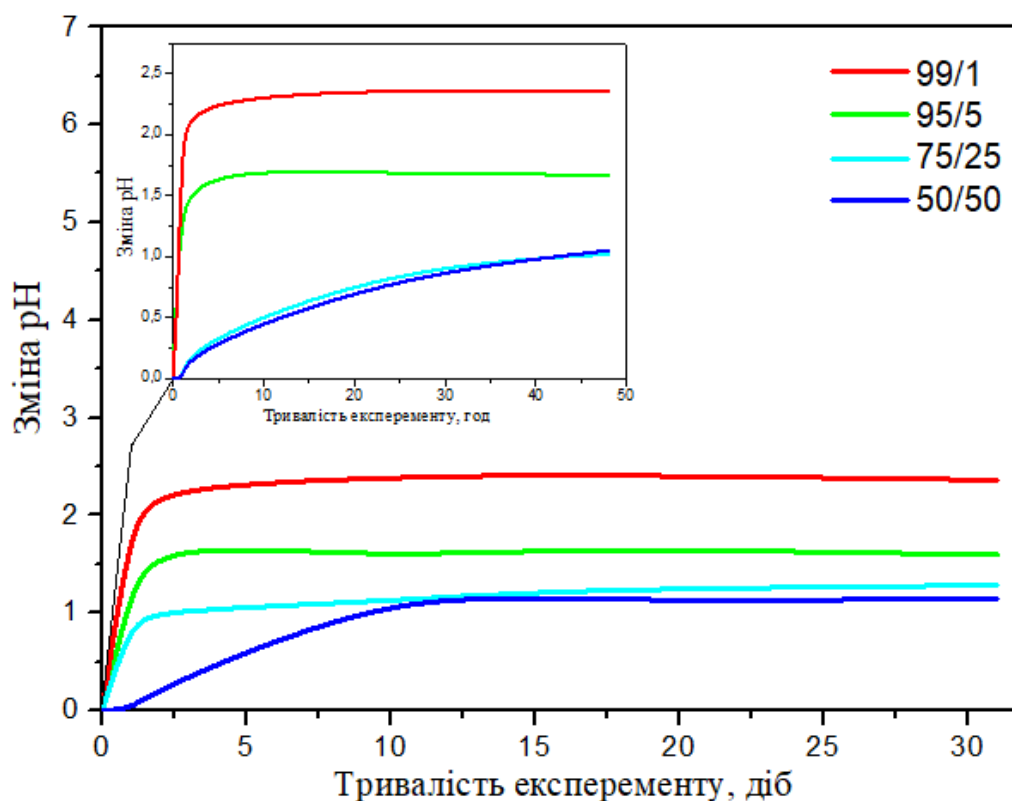
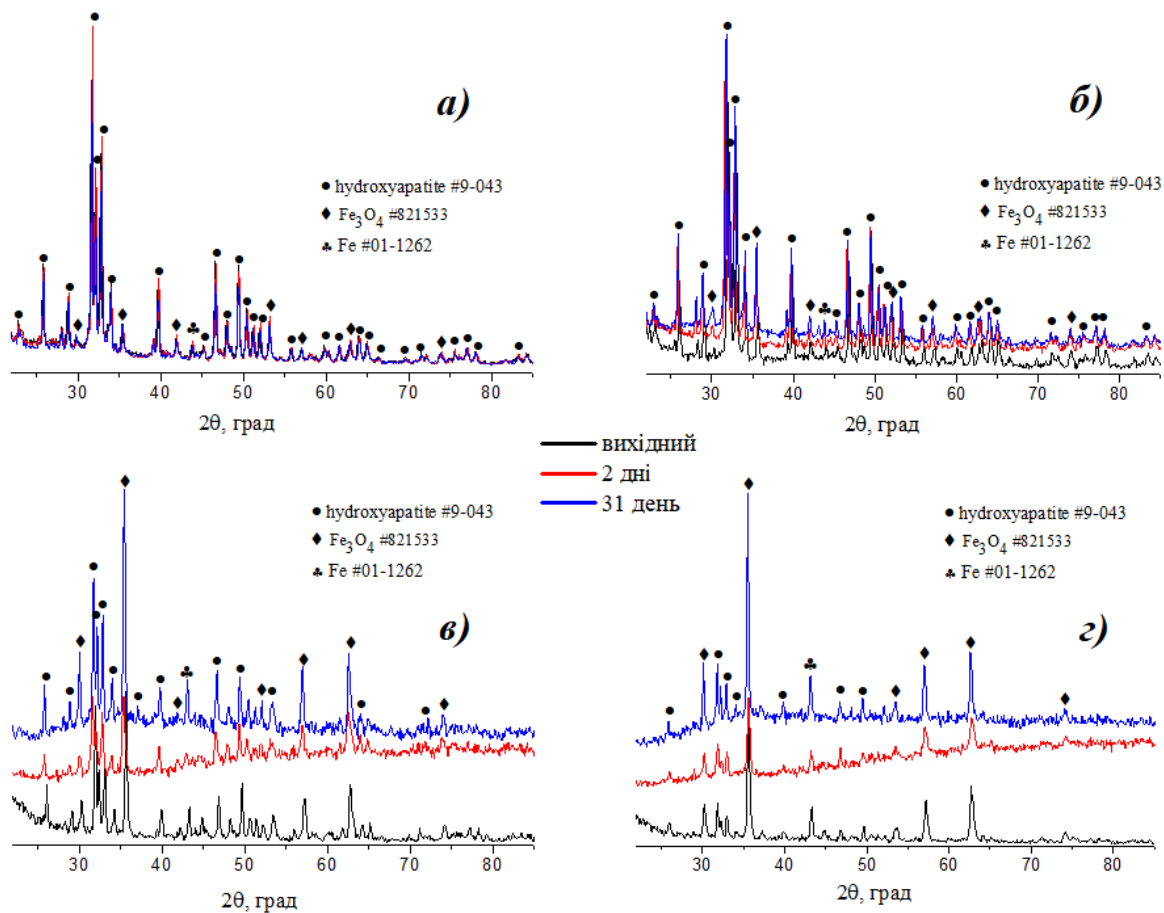


Рисунок 5.13 - Зміна рН фізіологічного розчину протягом 31 доби в присутності композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан

перших 2 діб на пряму пов'язана з активним розчиненням композитів у цей період часу, а також виділенням елементів кальцію, фосфору та заліза у модельний розчин. Для композитів з вмістом 1-25 % магнетиту(терм.) характерним є стрімке підвищення рівня рН протягом перших 24 год експерименту. Показник рН в цей час збільшується від $7,0 \pm 0,1$ до $9,3 \pm 0,1$. Дещо інша картина спостерігається для композиту з вмістом 50 % магнетиту – підвищення рН відбувалося поступово, без різких змін. Максимальне значення – $8,3 \pm 0,1$ – було зафіксовано через 10 діб. Подальша зміна рН була практично аналогічна з показниками композиту з вмістом 25 % магнетиту. Ймовірно, це пов'язано з тим, що динаміка резорбції, а також виділення іонів кальцію та фосфат-іонів, які мають найбільший вплив на зміну рН розчину, для даних двох зразків є майже ідентичними.

Проведений рентгенофазовий аналіз показав, що як і у випадку дослідження зразків модифікованих магнетитом(хім.), фазовий склад композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан до та після взаємодії з фізіологічним розчином протягом 2 та 31 доби не змінюється (Рис. 5.14). Спостерігається присутність та накладення характерних піків відбиття вихідних матеріалів – гідроксиапатиту (на кутах відбиття 2θ $32-34^\circ$, 40° , 46° , 50°), магнетиту (на кутах відбиття 2θ 35° , 57° та 63°) та домішки заліза (на кутах відбиття 2θ $\sim 44-46^\circ$), що є характерною для композиту, модифікованого магнетитом(терм.). Крім того, зберігається залежність – чим вищий вміст магнетиту, тим інтенсивніші його піки відбиття на дифрактограмах.



а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) –
БГА/магнетит: 50/50

Рисунок 5.14 - Результати рентгенофазового аналізу до та після взаємодії композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан з фізіологічним розчином протягом 2 та 31 діб

Підтвердженням резорбції композитів є не тільки зміна інтенсивності характерних піків на дифрактограмах, а і розраховані параметри кристалічної ґратки (Таб. 5.5).

Таблиця 5.5 - Параметри кристалічної структури порошкових композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан до та після взаємодії з фізіологічним розчином протягом 2 та 31 діб.

Співвідношення БГА/магнетит у складі композиту	Розмір кристалітів, нм						Об'єм кристалічної гратки, Å ³		
	По вісі Da			По вісі Dc			вихідний	після фіз. розчину (2 доби)	після фіз. розчину (31 доба)
	вихідний	після фіз. розчину (2 доби)	після фіз. розчину (31 доба)	вихідний	після фіз. розчину (2 доби)	після фіз. розчину (31 доба)			
БГА	9,411	—	9,449	6,918	—	6,895	530,6	—	533,2
99/1	9,410	9,427	9,444	6,918	6,885	6,886	530,5	529,9	531,9
95/5	9,407	9,45	9,433	6,911	6,892	6,877	529,6	533,0	529,9
75/25	9,406	9,470	9,437	6,86	6,884	6,892	525,6	534,6	531,5
50/50	9,404	9,457	9,426	6,826	6,818	6,889	522,8	533,3	530,1

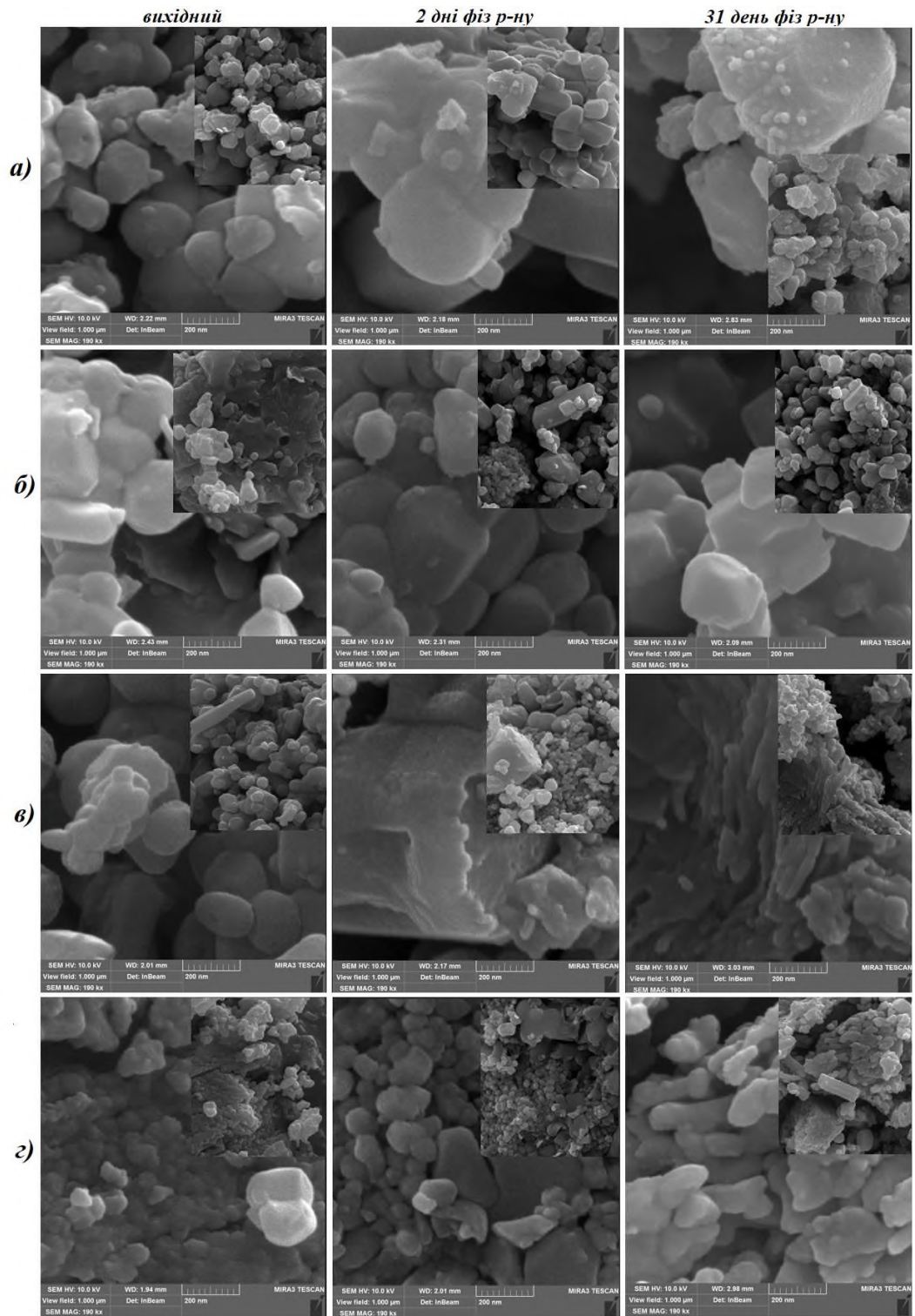
Результатом взаємодії дослідних матеріалів з фізіологічним розчином, як і у випадку дослідження композиту модифікованого магнетитом(хім.), є збільшення розміру кристалітів вздовж вісі *a* та вісі *c*, а також збільшення об'єму кристалічної гратки. Встановлено, що збільшення протягом 2 та 31 доби експерименту, залежить від кількості магнетиту(терм.). Мінімальне збільшення на 0,12 % протягом 2 діб та на 0,76 % (від вихідного значення) протягом 31 доби було зафіксоване для композиту з вмістом 1 % магнетиту. Розмір частинок даного зразку, розрахований на основі отриманих даних, зменшився від 46 нм до 41 нм. Максимальне збільшення – 1,9 % та 1,3 %, відповідно, встановлене композиту з вмістом 50 % магнетиту, а розмір частинок зменшився від 40 нм до 28 нм.

При цьому, встановлено, що середнє збільшення об'єму кристалічної гратки всього на 1 % протягом перших 2 діб призводить до середнього збільшення розміру частинок на 18 % та питомої поверхні на 10 % (Рис. 5.11).

Зміни після взаємодії з модельним середовищем також можна оцінити за зміною морфології та розмірів частинок, досліджених за допомогою СЕМ (Рис. 5.15). Візуально помітно згладження частинок матеріалів, порівняно з вихідними порошковими композитами. При цьому, навіть після 31 доби знаходження в фізіологічному розчині розрізняються продовгуваті шестигранні структури гідроксиапатиту (Рис. 5.15 (г)) та невеликі округлі частинки магнетиту (Рис. 5.15 (а)). Розміри частинок після взаємодії з фізіологічним розчином протягом 2 діб зменшилися в $1,4 \pm 0,2$ рази, в порівнянні з розмірами вихідних композитів, що є підтвердженням процесу резорбції композитів.

На основі зображень, отриманих за допомогою СЕМ, була проведена оцінка фактору форми частинок після 31 доби взаємодії з фізіологічним розчином (Рис. 5.16). Встановлено, що більше 90% проаналізованих частинок мають фактор форми понад 0,8, що є ознакою формування частинок правильної форми (близької до сферичної).

Задля додаткового контролю хімічного складу та концентрації хімічних сполук, присутніх у структурі композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан було проведено СЕМ-ЕДС аналіз (Рис. 5.17, табл. 5.6). Дане дослідження було проведено тільки для композиту з вмістом 50% магнетиту(терм.) після 31 доби взаємодії з фізіологічним розчином, оскільки, встановлено, що всі досліджувані матеріали, не зважаючи на тип магнетиту, яким вони модифіковані, мають ряд спільних фізико-хімічних та структурних особливостей. Кількісні характеристики встановлених елементів змінюються, в залежності від вмісту магнетиту, але загальна картина хімічного складу композитів залишається незмінною.



а) – БГА/магнетит: 99/1; б) – БГА/магнетит: 95/5; в) – БГА/магнетит: 75/25; г) – БГА/магнетит: 50/50

Рисунок 5.15 – Морфологія композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан до та після взаємодії з фізичним розчином протягом 2 та 31 доби

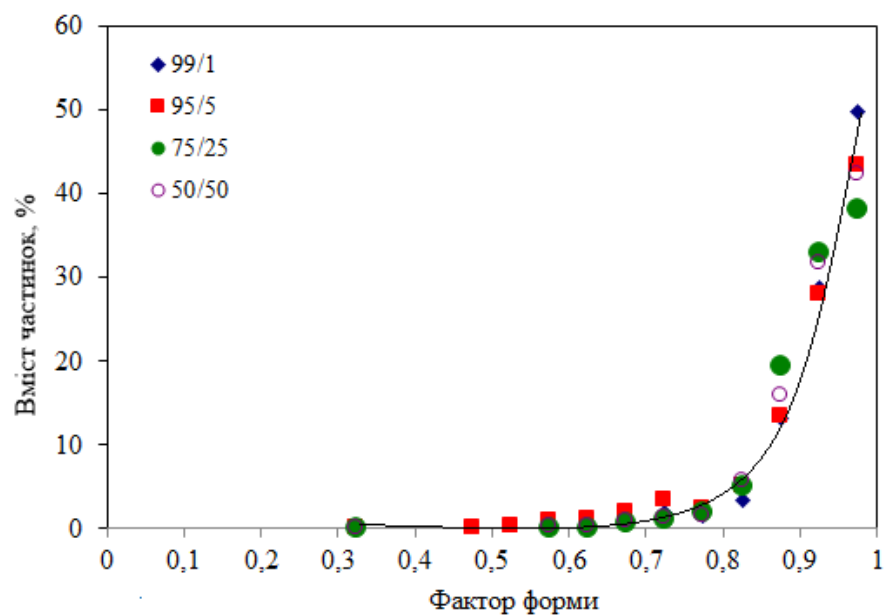


Рисунок 5.16 - Розподілення частинок композитів БГА/магнетит(терм.)/хітозан за фактором форми після взаємодії з фізіологічним розчином протягом 31 доби.

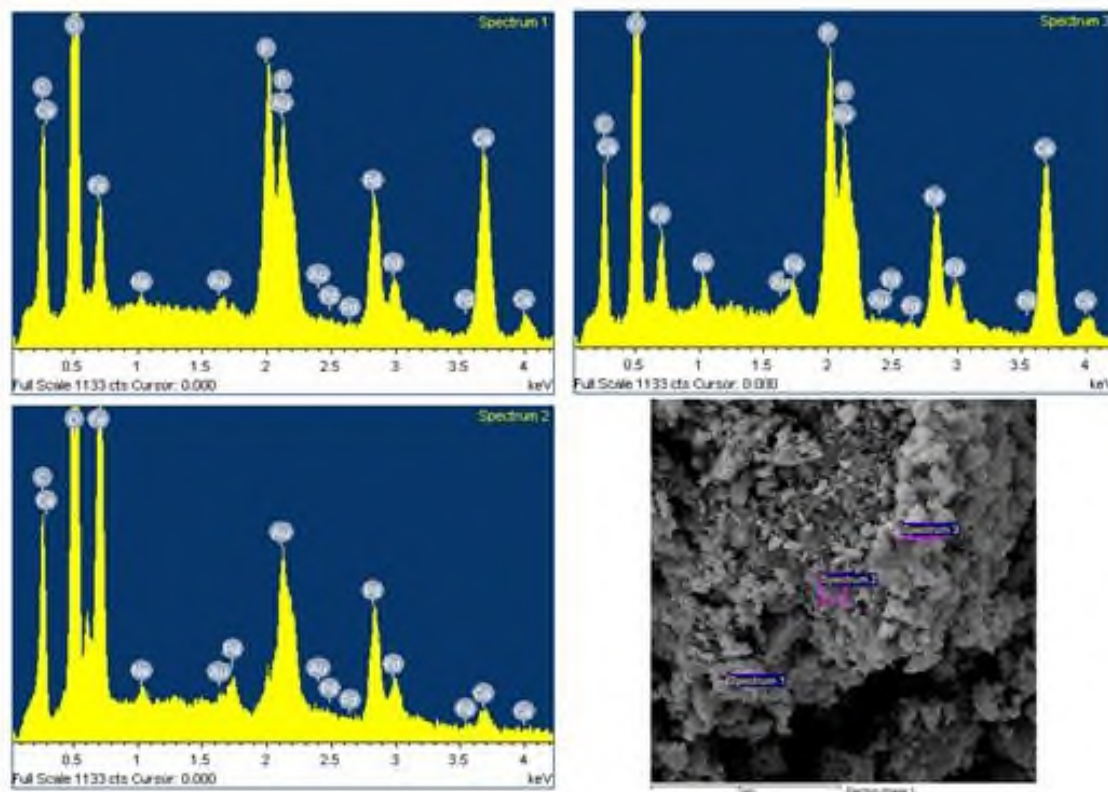


Рисунок 5.17 – SEM-ЕДС аналіз композиту з 50% вмісту магнетиту(терм.)

Відповідно до отриманих даних, у складі композиту присутні наступні хімічні елементи: Ca, P, Fe, C, O, Na, Au, Pd. Золото та паладій є елементами, які необхідні для проведення ЕДС і тому в подальшому вони виключені із аналізу хімічного складу матеріалу.

Таблиця 5.6 – Елементний склад композиту БГА/магнетит(терм.)/хітозан з вмістом 50% магнетиту, згідно даних СЕМ-ЕДС – аналізу

Діапазон спектру	Вміст елементів, %					
	Ca	P	Fe	C	O	Na
Spectrum 1	7,93	5,60	3,41	3,31	4,97	0,20
Spectrum 2	0,93	-	18,41	3,78	4,17	0,61
Spectrum 3	8,66	6,81	4,27	3,23	4,65	0,84

Відповідно до представленого в Таблиці 5.6 елементного вмісту, зафіксованого під час дослідження, присутність кальцію, фосфору та заліза вказує на основні складові композиту – гідроксиапатит та магнетит. Достатньо велика кількість заліза зафіксована на другому діапазоні спектру пов'язана з вибором місця зйомки, яке було обрано навмисне, для підтвердження морфології частинок магнетиту, наявного в складі композиту. Вміст вуглецю та кисню вказує на присутність органічних сполук, а саме – хітозану. Присутність натрію пов'язана з взаємодією композиту протягом 31 дня з модельним середовищем – 9% розчином NaCl.

5.3 Дослідження цитотоксичності композитів на основі біогенного гідроксиapatиту, модифікованих магнетитом та хітозаном

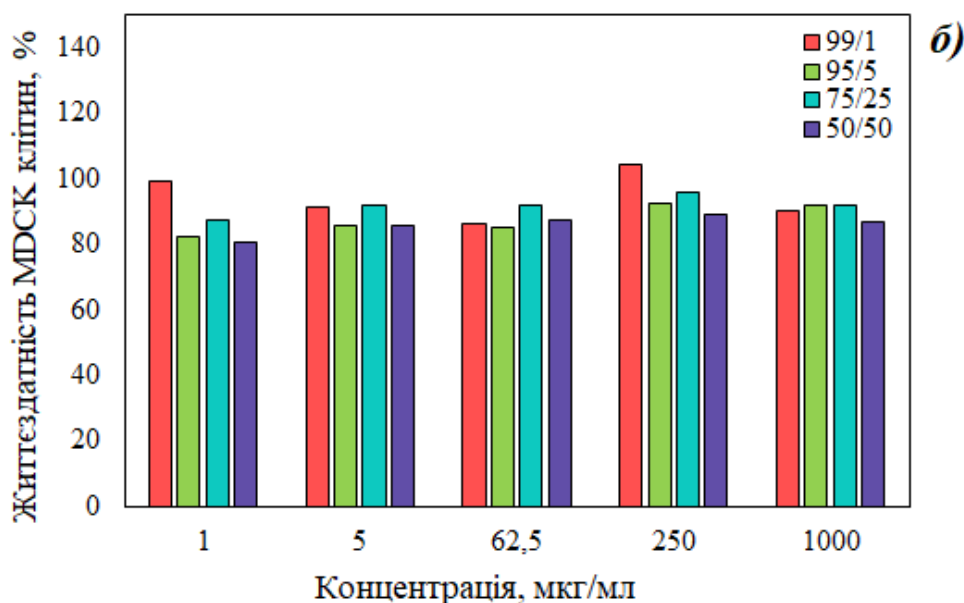
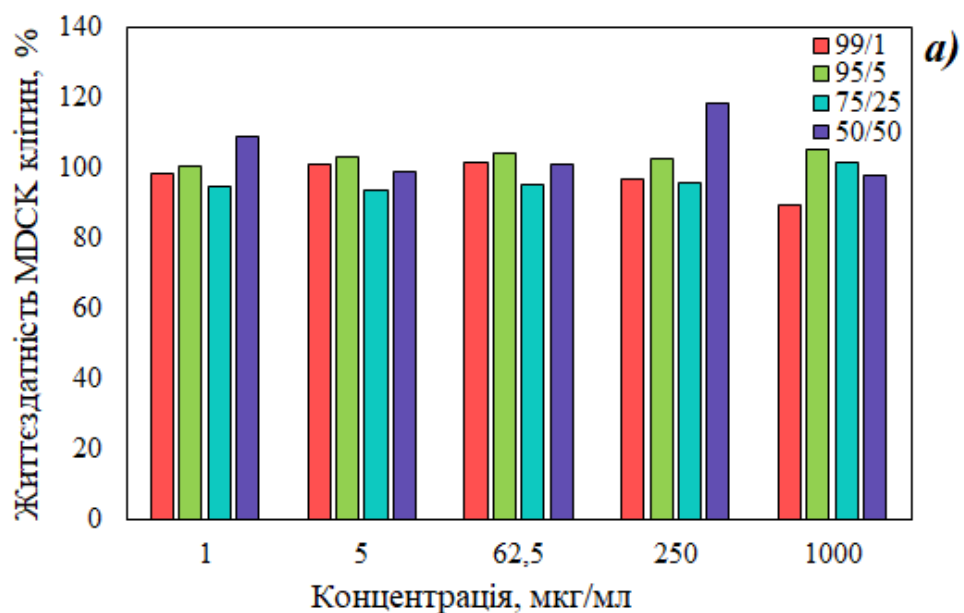
Вивчення цитотоксичності є важливою частиною розробки безпечних та ефективних біоматеріалів для медичних застосувань. Загалом, цитотоксичність – це здатність речовини чи матеріалу завдавати шкоду живим клітинам. У випадку біоматеріалів, це означає визначення впливу матеріалу на живі клітини, такі як клітини тканин, органів або інші біологічні системи. Вивчення цитотоксичності проводили на клітинах двох типів: MDCK – лінія клітин собачої нирки Мадін-Дарбі та MDBK – лінія клітин бичачої нирки Мадін-Дарбі. Обидві лінії клітин сприйнятливі до вірусів та токсичних речовин, і широко використовуються як модель епітеліальних клітин в доклінічних дослідженнях.

Окремі дослідження показали, що чистий БГА та магнетит, незалежно від методу синтезу, не виявляють токсичної дії. Так, в діапазоні концентрацій 0,05–2 мг/мл БГА не має токсичної дії на клітини MDCK, оскільки відсоток живих клітин становить більше 85 % [220]. Дослідження токсичності порошоків магнетиту, яке було описане у Розділі 3, в діапазоні концентрацій 1 мг/мл - 1 мкг/мл показало наявність більше 80 % живих клітин клітини MDCK та MDBK, що також свідчить про відсутність токсичної дії.

На рисунку 5.18 графічно зображено відсоток життєдіяльності клітин MDCK в діапазоні концентрацій 1 мг/мл - 1 мкг/мл порошкових композитів БГА/магнетит/хітозан.

У всьому діапазоні встановлених концентрацій відсоток життєдіяльності клітин MDCK становить більше 80%, незалежно від типу магнетиту і співвідношення БГА/магнетит в складі композитів. Це свідчить про загальну не токсичність досліджуваних матеріалів щодо лінії клітин собачої нирки Мадін-Дарбі. Однак, для композитів модифікованих магнетитом(хім.), спостерігається дещо вищий відсоток життєдіяльності в концентраціях 1-250 мкг/мл – більше

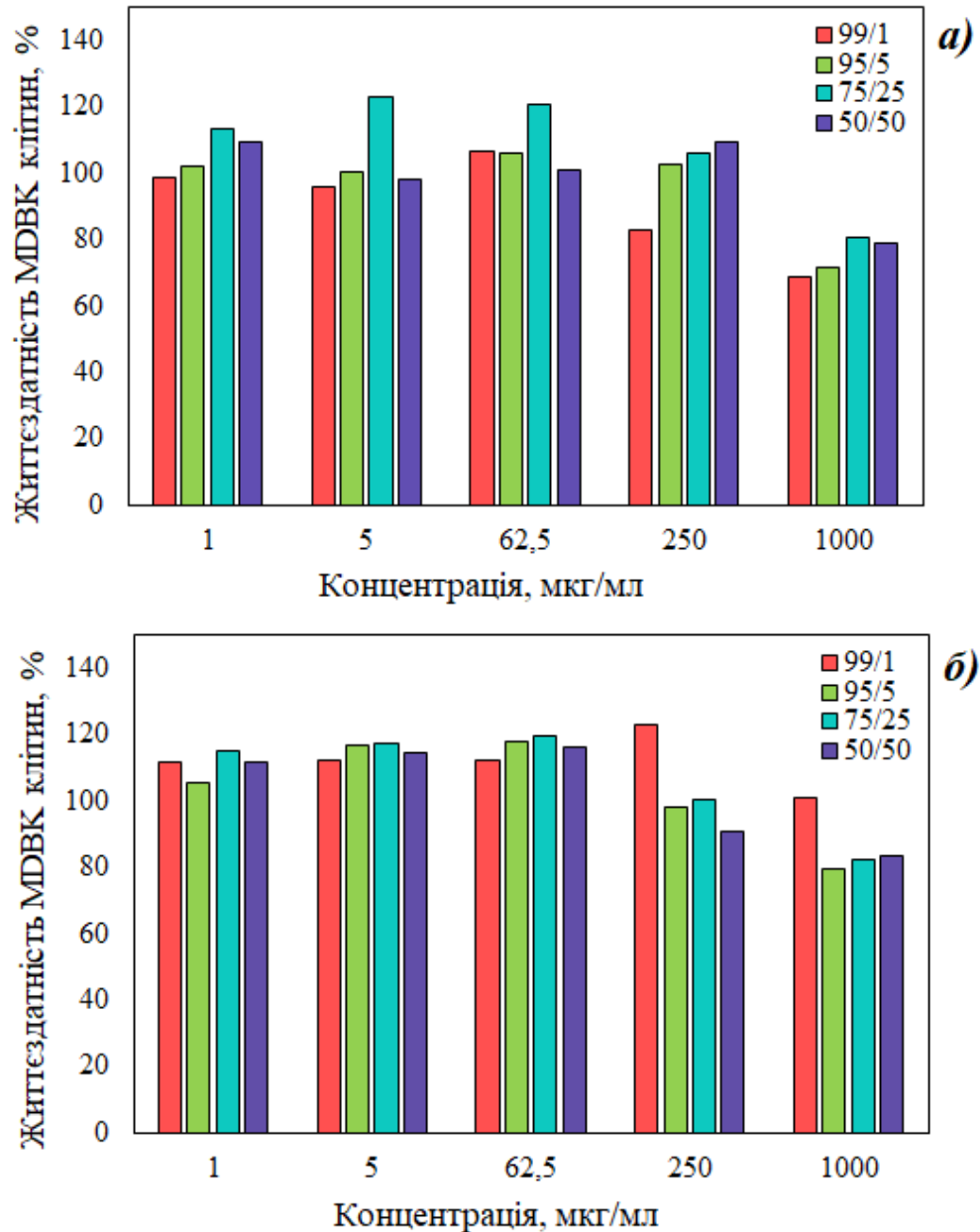
95%, з мінімальним значенням 93 % для композиту з вмістом 25 % магнетиту. Максимальне значення – 118 % - зафіксоване для композиту з вмістом 50 % магнетиту при концентрації 250 мкг/мл.



а) – композити БГА/магнетит(хім.)/хітозан; б) – композити БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Рисунок 5.18 - Цитотоксичність композитів БГА/магнетит/хітозан на клітини MDCK

Значення життєдіяльності клітин MDCK при такій же концентрації для композиту з аналогічним масовим співвідношенням (50/50) модифікованого магнетитом(терм.), складає 89 %.



а) – композити БГА/магнетит(хім.)/хітозан; б) – композити БГА/магнетит(терм.)/хітозан

Рисунок 5.19 - Цитотоксичність композитів БГА/магнетит/хітозан на клітини MDCK

Дані також свідчать про не токсичність досліджуваних матеріалів щодо лінії клітин бичачої нирки Мадін-Дарбі (рис. 5.19). Встановлено, що при концентрації 1-62,5 мкг/мл, незалежно від типу магнетиту і співвідношення БГА/магнетит, життєдіяльність клітин MDBK становить більше 90 %. При концентрації 1000 мкг/мл спостерігається відчутне зниження життєдіяльності клітин для композитів модифікованих магнетитом(хім.). Мінімальний відсоток життєдіяльності клітин MDBK становить 69 % для зразка з вмістом 1% магнетиту. Однак, це не вказує на токсичність даного композиту, оскільки під час дослідження чітко спостерігався поверхневий моношар клітин.

Висновки до розділу

На основі порівняльного дослідження поведінки *in vitro* (резорбції у фізіологічному розчині протягом 2, 10, 16 та 31 доби та цитотоксичності) отриманих композиційних матеріалів БГА/ магнетит/ хітозан на основі магнетиту, отриманого хімічним осадженням протягом 5 хв, а також термолізом в азотному середовищі з різним співвідношенням компонентів (мас. % БГА/магнетит: (99/1, 95/5, 75/25 та 50/50 при вмісті хітозану 10 % від маси магнетиту), встановлено, що:

- при взаємодії композитів з ізотонічним фізіологічним розчином в термостатичних умовах при $36,5 \pm 0,5$ °C відбувається резорбція (розчинення) матеріалу, що підтверджено зміною рН, втратою маси, збільшеннями питомої поверхні на 21 та 34 % для композитів, що містять магнетит, отриманий термолізом та хімічним осадженням, відповідно, зміною морфології та зменшенням розміру частинок матеріалів;

- для всіх композитів незалежно від типу та кількості застосованого магнетиту процес резорбції в статичних умовах найінтенсивніше відбувається в перші 2 доби за рахунок активного виділення іонів Ca^{2+} та фосфат-іону (PO_4^{3-}) в

розчин, після чого спостерігається поступове сповільнення швидкості протягом 8 діб та її стабілізація на 15-16 добу. Максимальний вміст іонів Fe^{2+} у фільтратах було зафіксовано для зразків з вмістом 50 % магнетиту;

- збільшення вмісту магнетиту призводить до зростання резорбції композитів, причому застосування магнетиту, отриманого хімічним осадженням дозволяє досягти швидкості резорбції 2,5-5,3 мас.%/добу, що в 3,5-7,5 разів вище у порівнянні з «чистим» біогенним гідроксиапатитом і в 1,2-2 рази вище у порівнянні з композитами на основі магнетиту, отриманого термолізом в азотному середовищі;

- фазовий склад композитів після взаємодії з фізіологічним розчином не змінюється і представлений фазами гідроксиапатиту, магнетиту та хітозану, незалежно від співвідношення компонентів;

- отримані композиційні матеріали біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан незалежно від типу та кількості введеного до складу магнетиту не проявляють цитотоксичного ефекту, що дозволяє їх рекомендувати для подальших медико-лабораторних досліджень з перспективою до медичного застосування.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі вперше, на основі експериментальних досліджень в широкому діапазоні співвідношень біогенного гідроксиапатиту та магнетиту показано можливість регулювання структури та властивостей композиційних матеріалів БГА/магнетит/хітозан в залежності від співвідношення основних компонентів, методу та середовища синтезу магнетиту, що дозволило вирішити актуальну науково-технічну задачу створення нових магніточутливих композиційних матеріалів медичного призначення.

1. Вдосконалено технологію синтезу магнетиту шляхом скорочення тривалості хімічного осадження до 5 хв при використанні як осаджувача розчин аміаку. Запропонована технологія дозволяє отримати не цитотоксичний нанорозмірний порошок магнетиту з розміром частинок 23-34 нм, суттєво покращеною морфологією та питомою поверхнею 141 м²/г. Синтезовані порошки демонструють на порядок вищі адсорбційні властивості, у порівнянні з більш тривалим синтезом (30 хв та 1 год) або методом термічного розкладу в вуглеводневому або азотному середовищах, а також магнітними властивостями, що не поступаються вітчизняним та закордонним аналогам.

2. Вперше встановлено, що збільшення вмісту магнетиту у складі композиту від 1 до 50 мас.%, а також хітозану (від 0,1 до 5 % фактичного вмісту, розрахованого від мас.% магнетиту) дозволяє у 7 разів підвищити механічні властивості композиційних матеріалів БГА/магнетит/хітозан у порівнянні з чистим біогенним гідроксиапатитом, та у 3 рази – у порівнянні з композитами, що містять магнетит, отриманий термолізом. Механічні властивості одержаних композитів співставні з міцністю губчастих кісток людини.

3. Показано, що питома намагніченість насичення зростає з 0,1 до 22 А·м²/кг для композитів, модифікованих магнетитом(хім.) і з 0,1 до 40 А·м²/кг для композитів, модифікованих магнетитом(терм.) зі збільшенням вмісту магнетиту

з 1 до 50 %. Визначено, що композити, які вміщують у своєму складі більше 25% магнетиту, отриманого термолізом оксалатів заліза в азотному середовищі мають на порядок вищі магнітні властивості, ніж композити з аналогічним масовим співвідношенням БГА/магнетит, що містять у своєму складі магнетит, отриманий методом осадження, що пов'язано з характеристиками вихідних порошків магнетиту.

4. Встановлено, що адсорбційні властивості композитів пов'язані зі співвідношенням БГА і магнетиту, а також вмістом хітозану, оскільки хітозан має високі адсорбційні характеристики, а магнетит, незалежно від методу синтезу, - більшу питому поверхню і вищу спорідненість з молекулами води.

5. Показано, що отримані композити є резорбційними, незалежно від масового співвідношення та методів синтезу магнетиту, що підтверджено зміною рН, втратою маси, збільшеннями питомої поверхні, зміною морфології та зменшенням розміру частинок матеріалів при збереженні вихідного фазового складу в процесі взаємодії з ізотонічним фізіологічним розчином в термостатичних умовах.

6. Вперше показано, що застосування магнетиту, отриманого методом осадження протягом 5 хв при створенні композиційних матеріалів БГА/магнетит/хітозан у кількості від 1 мас.% до 50 мас.%, дозволяє збільшити швидкість резорбції у 3,5-7,5 рази у порівнянні з чистим БГА і в 1,2-2 рази у порівнянні з композитами, що містять магнетит, отриманий термолізом. Визначено, що процес резорбції найінтенсивніше відбувається в перші 2 доби за рахунок активного виділення іонів Ca^{2+} та PO_4^{3-} , після чого спостерігається поступове сповільнення та стабілізація швидкості на 15-16 добу.

7. Показано, що всі отримані композити не проявляють цитотоксичного ефекту, що у комплексі з іншими властивостями дозволяє їх рекомендувати для подальших медико-лабораторних досліджень з перспективою до медичного застосування як заміників ненавантажених ділянок кісткової тканини та носіїв

для цільової доставки ліків під дією зовнішнього магнітного поля при вмісті магнетиту 1-5 % та гіпертермії та магнітотерапії при вмісті магнетиту 25-50 %.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Webster T. J., Ahn E. S. Nanostructured biomaterials for tissue engineering bone. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2007. Vol. 103. P. 275- 308.
2. Rho J. Y., Kuhn-Spearing L., Zioupos P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Med Eng Phys.* 1998. Vol. 20. P. 92-102.
3. Fan J., Abedi-Dorcheh K., Sadat Vaziri A., Kazemi-Aghdam F., Rafieyan S., Sohrabinejad M., Ghorbani M., Rastegar Adib F., Ghasemi Z., Klavins K., Jahed V. A review of recent advances in natural polymer-based scaffolds for musculoskeletal tissue engineering. *Polymers.* 2022. Vol. 14. P. 2097.
4. Keaveny T. M., Morgan E. F., Niebur G. L., Yeh O. C. Biomechanics of trabecular bone. *Annu Rev Biomed Eng.* 2001. Vol. 3. P. 307-333.
5. Barrère F., Mahmood T.A., de Groot K., van Blitterswijk C.A. Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions. *Mat Sci Eng R.* 2008. Vol. 59. P. 38-71.
6. Kaplan F. S., Keaveny T. M., Boskey A., Einhorn T. A., Iannotti J. P. Form and function of bone. *Am Acad Orthop Surg.* 1994. P. 127–184.
7. Cooper D. M., Matyas J. R., Katzenberg M. A., Hallgrimsson B. Comparison of microcomputed tomographic and microradiographic measurements of cortical bone porosity. *Calcif Tissue Int.* 2004. Vol. 74. P. 437-447.
8. Martin R. B. Determinants of the mechanical properties of bones *J Biomech.* 1991. Vol. 24. P. 79-88.
9. Hench L. L., Wilson J. An introduction to bioceramics. *World Scientific.* 1993.
10. Marsell R., Einhorn T. A. The biology of fracture healing. *Injury.* 2011. Vol. 42. P. 551-555.
11. Dimitriou R., Jones E., McGonagle D., Giannoudis P. V. Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Med.* 2011. Vol. 9, No 66.

12. Einhorn T. A. Enhancement of fracture healing. *Instr Course Lect.* 1996. Vol. 45. P. 401-416.
13. Calori G. M., Albisetti W., Agus A., Iori S., Tagliabue L. Risk factors contributing to fracture non-unions. *Injury.* 2007. Vol. 38. P. 11-18.
14. Schlickewei W., Schlickewei C. The use of bone substitutes in the treatment of bone defects-the clinical view and history. *Macromol Symp.* 2007. Vol. 253. P. 10-23.
15. Kolk A., Handschel J., Drescher W., Rothamel D., Kloss F., Blessmann M., Heiland M., Wolff K. D., Smeets R. Current trends and future perspectives of bone substitute materials - from space holders to innovative biomaterials. *J Craniomaxillofac Surg.* 2012. Vol. 40. P. 706-718.
16. Stark G. B., Horch R., Tanczos E. Biological matrices and tissue reconstruction *Springer.* 1998. pp. 197-206.
17. Hutmacher D. W. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage, *Biomaterials.* 2000. Vol. 21. P. 2529-2543.
18. Leon C. L. Y. New perspectives in mercury porosimetry. *Adv Colloid Interface Sci.* 1998. Vol. 76. P. 341-372.
19. Kuboki Y., Takita H., Kobayashi D., Tsuruga E., Inoue M., Murata M., Nagai N., Dohi Y., Ohgushi H. BMP-induced osteogenesis on the surface of hydroxyapatite with geometrically feasible and nonfeasible structures: topology of osteogenesis. *J Biomed Mater Res.* 1998. Vol. 39. P. 190-199.
20. Story B. J., Wagner W. R., Gaisser D. M., Cook S. D., Rust-Dawicki A. M. In vivo performance of a modified CSTi dental implant coating. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998. Vol. 13. P. 749-757.
21. Hutmacher D. W., Schantz J. T., Lam C. X., Tan K. C., Lim T. C. State of the art and future directions of scaffold-based bone engineering from a biomaterials perspective. *J Tissue Eng Regen Med.* 2007. Vol. 1. P. 245-260.
22. Karageorgiou V., Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials.* 2005. Vol. 26. P. 5474-5491.

23. Giannoudis P. V., Einhorn T. A., Marsh D. Fracture healing: the diamond concept. *Injury*. 2007. Vol. 38. P. 3-6.
24. Giannoudis P. V., Einhorn T. A., Schmidmaier G., Marsh D. The diamond concept-open questions. *Injury*. 2008. Vol. 39. P. 5-8.
25. Woodruff M. A., Lange C., Reichert J., Berner A., Chen F., Fratzl P., Schantz J. T., Hutmacher D. W. Bone tissue engineering: from bench to bedside. *Materials Today*. 2012. Vol. 15. P. 430-434.
26. Dorozhkin S. V. Nanosized and nanocrystalline calcium orthophosphates. *Acta biomaterialia*. 2010. Vol. 6. P. 715-734.
27. Dorozhkin S. V., Epple M. Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angewandte Chemie International Edition*. 2002. Vol. 41. P. 3130-3146.
28. Lin K., Wu C., Chang J. Advances in synthesis of calcium phosphate crystals with controlled size and shape. *Acta Biomaterialia*. 2014. Vol. 10. P. 4071-4102.
29. Sadat-Shojai M., Khorasani M., Dinpanah-Khoshdargi E., Jamshidi A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomaterialia*. 2013. Vol. 9. P. 7591-7621.
30. Supová M. Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: A review. *Ceramics International*. 2015. Vol. 41. P. 9203-9231.
31. Данильченко С. Н. Структура и свойства апатитов кальция с точки зрения биоминералогии и биоматериаловедения. *Вісник СумДУ. Серія Фізика, математика, механіка*. 2007. № 2, С. 33-59.
32. Каназава Т. *Неорганические фосфатные материалы*, Під ред. А.П. Шпака и В.Л. Карбовского, Київ. Наукова думка, 1998.
33. Jallota E., Nedelec J. M., Grimault A. S., Chassota E., Grandjean-Laquerrierec A., Laquerrierec P., Laurent-Maquinc D. STEM and EDXS characterisation of physico-chemical reactions at the periphery of sol-gel derived Zn-substituted hydroxyapatites during interactions with biological fluids. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2005. Vol. 42. P. 205-210.

34. Matsunaga K. and Kuwabara A. First-principles study of vacancy formation in hydroxyapatite. *Phys. Rev.* 2007. Vol. 75.
35. Elliott J. C., Wilson R. M., Dowker S. E. P. Apatite structures. *Advances in X-ray analysis.* 2002. Vol. 45. P. 172-181.
36. Leventouri T. Synthetic and biological hydroxyapatites: Crystal structure questions. *Journal of Biomaterials.* 2006. Vol. 27. P. 3339–3342.
37. Mathew M., Takagi S. Structures of Biological Minerals in Dental Research. *J. Res. Inst. Stand. Technol.* 2001. Vol. 106. P. 1035-1044.
38. Rulis P., Ouyang L., Ching W. Y. Electronic structure and bonding in calcium apatite crystals: Hydroxyapatite, fluorapatite, chlorapatite, and bromapatite. *Physical Review B.* 2004. Vol. 70. P. 1-8.
39. Li B., Guo B., Fan H., Zhang X. Preparation of nano-hydroxyapatite particles with different morphology and their response to highly malignant melanoma cells in vitro. *Appl Surf Sci.* 2008. Vol. 255. P. 357–360.
40. Ульянчич Н.В. Формування властивостей кальцій-фосфатної кераміки для регенеративної медицини: автореф. дис. на здобуття наук. канд. техн.наук: 05.02.01. 2021. Київ, 27 с.
41. Wang A., Lu Y., Zhu R., Li S., Ma X. Effect of process parameters on the performance of spray dried hydroxyapatite microspheres. *Powder Technol.* 2009. Vol. 191. P. 1–6.
42. Sun R., Lu Y., Chen K. Preparation and characterization of hollow hydroxyapatite microspheres by spray drying method. *Mater Sci Eng C.* 2009. Vol. 29. P. 1088–1092.
43. Norton J., Malik K., Darr J., Rehman I. Recent developments in processing and surface modification of hydroxyapatite. *Adv Appl Ceram.* 2006. Vol. 105. P. 113–139.
44. Cheang P., Khor K. Effect of particulate morphology on the tensile behaviour of polymer–hydroxyapatite composites. *Mater Sci Eng A.* 2003. Vol. 345. P. 47–54.

45. Bakar A., Cheng M., Tang S., Yu S., Liao K., Tan C., et al. Tensile properties, tension–tension fatigue and biological response of polyetheretherketone hydroxyapatite composites for load-bearing orthopedic implants. *Biomaterials*. 2003. Vol. 24. P. 2245–2250.
46. Zhou H., Lee J. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. *Acta Biomater*. 2011. Vol. 7. P. 2769–2781.
47. Vallet-Regí M., González-Calbet J.M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Prog. Solid State Chem*. 2004. Vol. 32. P. 1–31.
48. Pramanik S., Agarwal A. K., Rai K., Garg A. Development of high strength hydroxyapatite by solid-state-sintering process. *Ceram. Int*. 2007. Vol. 33. P. 419–426.
49. Скороход В.В., Солонін Ю.М., Дубок В.А., Коломієць Л.Л., Пермякова Т.В., Шинкарук О.В. Особливості пресування і спікання подвійних сумішей на основі нанодисперсного гідроксиапатиту. *Порошкова металургія*. 2010. № 09/10.
50. Teshima K., Lee S. H., Sakurai M., Kameno Y., Yubuta K., Suzuki T., et al. Well-formed one-dimensional hydroxyapatite crystals grown by an environmentally friendly flux method. *Cryst. Growth*. 2009. Vol. 9. P. 2937–2940.
51. Fahami A, Ebrahimi-Kahrizsangi R, Nasiri-Tabrizi B. Mechanochemical synthesis of hydroxyapatite/titanium nanocomposite. *Solid State Sci*. 2011. Vol. 13. P. 135–141.
52. Mochales C., Wilson R. M., Dowker S., Ginebra M. P. Dry mechanosynthesis of nanocrystalline calcium deficient hydroxyapatite: structural characterization. *J Alloys Compd*. 2011. Vol. 509. P. 7389–7394.
53. Swain S., Sarkar D. A comparative study: hydroxyapatite spherical nanopowders and elongated nanorods. *Ceram Int*. 2011. Vol. 37. P. 2927–2930.
54. Nakahira A., Sakamoto K., Yamaguchi S., Kaneno M., Takeda S., Okazaki M., et al. Novel synthesis method of hydroxyapatite whiskers by hydrolysis of a tricalcium

- phosphate in mixtures of water and organic solvent. *J Am Ceram Soc.* 1999. Vol. 82. P. 2029–2032.
55. Padmanabhan S. K., Balakrishnan A., Chu M. C., Lee Y. J., Kim T. N., Cho S. J. Sol–gel synthesis and characterization of hydroxyapatite nanorods. *Particuology.* 2009. Vol. 7. P. 466–470.
 56. Murray M., Wang J., Ponton C., Marquis P. An improvement in processing of hydroxyapatite ceramics. *J Mater Sci.* 1995. Vol. 30. P. 3061–3074.
 57. Rouhani P., Taghavinia N., Rouhani S. Rapid growth of hydroxyapatite nanoparticles using ultrasonic irradiation. *Ultrason Sonochem.* 2010. Vol. 17. P. 853–856.
 58. Akram M., Ahmed R., Shakir I., Ibrahim W. A. W., Hussain R. Extracting hydroxyapatite and its precursors from natural resources. *J. Mater. Sci.* 2014. Vol. 49. P. 1461–1475.
 59. Boskey A.L. Natural and synthetic hydroxyapatites. *Biomaterials Science.* 2013. P. 151-161.
 60. Ratner B.D., Hoffman A.S., Schoen F.J., Lemons J.E. Biomaterials Science: an Introduction to Materials in Medicine. *Elsevier Science.* 2004.
 61. Herliansyah M.K., Nasution D.A., Hamdi M., Ide-Ektessabi A., Wildan M.W., Tontowi A.E. Preparation and characterization of natural hydroxyapatite: a comparative study of bovine bone hydroxyapatite and hydroxyapatite from calcite. *Mater. Sci. Forum.* 2007. P. 561–565.
 62. Ayatollahi M.R., Yahya M.Y., Shirazi H.A., Hassan S.A. Mechanical and tribological properties of hydroxyapatite nanoparticles extracted from natural bovine bone and the bone cement developed by nano-sized bovine hydroxyapatite filler. *Ceram. Int.* 2015. Vol. 41. P. 10818–10827.
 63. Ruksudjarit A., Pengpat K., Rujijanagul G., Tunkasiri T. Synthesis and characterization of nanocrystalline hydroxyapatite from natural bovine bone, *Curr. Appl. Phys.* 2008. Vol. 8. P. 270–272.

64. Barakat N.A.M., Khil M.S., Omran A.M., Sheikh F.A., Kim H.Y. Extraction of pure natural hydroxyapatite from the bovine bones bio waste by three different methods. *J. Mater. Process. Technol.* 2009. Vol. 20. P. 3408–3415.
65. Hosseinzadeh E., Davarpanah M., Nemati N.H., Tavakoli S.A. Fabrication of a hard tissue replacement using natural hydroxyapatite derived from bovine bones by thermal decomposition method. *International Journal of Organ Transplantation Medicine.* 2014. Vol. 5. P. 23–31.
66. Sun R.-X., Lu Y., Niu Y.-R., Zhao X.-H., Cao D.-S., Tang J., Sun X.-C., Chen K.-Z. Physicochemical and biological properties of bovine-derived porous hydroxyapatite/collagen composite and its hydroxyapatite powders. *Ceram. Int.* 2017. Vol. 43. P. 16792–16798.
67. Otychenko O., Babutina T., Perekos A., Bykov O., Korichev S., Koval O. Influence of heat treatment medium on properties of the bovine hydroxyapatite/magnetite systems. *Revista Matéria.* 2020. Vol. 25(4).
68. Boutinguiza M., Pou J., Comesana R., Lusquinos F., de Carlos A., Leon B. Biological hydroxyapatite obtained from fish bones. *Mater. Sci. Eng.* 2012. Vol. 32. P. 478–486.
69. Jaber H.L., Hammood A.S., Parvin N. Synthesis and characterization of hydroxyapatite powder from natural Camelus bone. *J. Aust. Ceram. Soc.* 2018. Vol. 54. P. 1–10.
70. Rahavi S.S., Ghaderi O., Monshi A., Fathi M.H. A comparative study on physicochemical properties of hydroxyapatite powders derived from natural and synthetic sources. *Russ. J. Non-Ferrous Metals.* 2017. Vol. 58. P. 276–286.
71. Ofudje E.A., Rajendran A., Adeogun A.I., Idowu M.A., Kareem S.O., Pattanayak D.K. Synthesis of organic derived hydroxyapatite scaffold from pig bone waste for tissue engineering applications. *Adv. Powder Technol.* 2017. Vol. 29. P. 1–8.

72. Janus A.M., Faryna M., Haberko K., Rakowska A., Panz T. Chemical and microstructural characterization of natural hydroxyapatite derived from pig bones. *Microchimica Acta*. 2008. Vol. 161. P. 349–353.
73. Haberko K., Bucko M.M., Brzezinska-Miecznik J., Haberko M., Mozgawa W., Panz T., Zarebski J. Natural hydroxyapatite - its behaviour during heat treatment. *J. Eur. Ceram. Soc.* 2006. Vol. 26. P. 537–542.
74. Rey C., Combes C., Drouet C., Grossin D. Bioactive ceramics: physical chemistry. *Comprehensive Biomaterials*. 2011.
75. Vallet-Regí M., Gonzalez-Calbet J.M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Prog. Solid State Chem.* 2004. Vol. 32. P. 1–31.
76. Cai Y., Liu Y., Yan W., Hu Q., Tao J., Zhang M. Role of hydroxyapatite nanoparticle size in bone cell proliferation. *J. Mater. Chem.* 2007. P. 3780–3787.
77. Wang J., Burken J.G., Zhang X. Effect of seeding materials and mixing strength on struvite precipitation. *Water Environ. Res.* 2006. Vol. 78. P. 125–132.
78. Bose S., Banerjee A., Dasgupta S., Bandyopadhyay A. Synthesis, processing, mechanical, and biological property characterization of hydroxyapatite whiskerreinforced hydroxyapatite composites. *J. Am. Ceram. Soc.* 2009. Vol. 92. P. 323–330.
79. Eriksson M., Liu Y., Hu J., Gao L., Nygren M., Shen Z. Transparent hydroxyapatite ceramics with nanograin structure prepared by high pressure spark plasma sintering at the minimized sintering temperature. *J. Eur. Ceram. Soc.* 2011. Vol. 31. P. 1533–1540.
80. Panda N.N., Pramanik K., Sukla L.B. Extraction and characterization of biocompatible hydroxyapatite from fresh water fish scales for tissue engineering scaffold. *Bioproc. Biosyst. Eng.* 2014. Vol. 37. P. 433–440.
81. Paul S., Pal A., Choudhury A.R., Bodhak S., Balla V.K., Sinha A., Das M. Effect of trace elements on the sintering effect of fish scale derived hydroxyapatite and its bioactivity. *Ceram. Int.* 2017. Vol. 43. P. 15678–15684.

82. Pal A., Paul S., Choudhury A.R., Balla V.K., Das M., Sinha A. Synthesis of hydroxyapatite from Lates calcarifer fish bone for biomedical applications. *Mater. Lett.* 2017. P. 89–92.
83. Sunil B.R., Jagannatham M. Producing hydroxyapatite from fish bones by heat treatment. *Mater. Lett.* 2016. Vol. 185. P. 411–414.
84. Pon-On W., Suntornsaratoon P., Charoenphandhu N., Thongbunchoo J., Krishnamra N., Tang I.M. Hydroxyapatite from fish scale for potential use as bone scaffold or regenerative material. *Mater. Sci. Eng.* 2016. Vol. 62. P. 183–189.
85. Kongsri S., Janpradit K., Buapa K., Techawongstien S., Chanthai S. Nanocrystalline hydroxyapatite from fish scale waste: preparation, characterization and application for selenium adsorption in aqueous solution. *Chem. Eng. J.* 2013. Vol. 215–216. P. 522–532.
86. Muhammad N., Gao Y., Iqbal F., Ahmad P., Ge R., Nishan U., Ullah Z. Extraction of biocompatible hydroxyapatite from fish scales using novel approach of ionic liquid pretreatment. *Separ. Purif. Technol.* 2016. Vol. 161. P. 129–135.
87. Mustaffa R., Mohd Yusof M.R., Abdullah Y. A novelty of synthetic hydroxyapatite from cockle shell and characterization. *Adv. Mater. Res.* 2015. Vol. 1087. P. 429–433.
88. Santhosh S., Prabu S.B. Thermal stability of nano hydroxyapatite synthesized from sea shells through wet chemical synthesis. *Mater. Lett.* 2013. Vol. 97. P. 121–124.
89. Venkatesan J., Qian Z.J., Ryu B., Thomas N.V., Kim S.K. A comparative study of thermal calcination and an alkaline hydrolysis method in the isolation of hydroxyapatite from *Thunnus obesus* bone. *Biomed. Mater.* 2011. Vol. 6. P. 1–12.
90. Mohamad Razali N.A.I., Pramanik S., Abu Osman N.A., Radzi Z., Pinguang Murphy B. Conversion of calcite from cockle shells to bioactive nanorod hydroxyapatite for biomedical applications. *J. Ceram. Process. Res.* 2016. Vol. 17. P. 699–706.

91. Pal A., Maity S., Chabri S., Bera S., Chowdhury A.R, Das M., Sinha A. Mechanochemical synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite from Mercenaria clam shells and phosphoric acid. *Biomed. Phys. Eng. Express*. 2017. Vol. 3. P. 15010.
92. Shavandi A., Bekhit A.E.D.A., Ali A., Sun Z. Synthesis of nano-hydroxyapatite (nHA) from waste mussel shells using a rapid microwave method. *Mater. Chem. Phys.* 2015. Vol. 149 (150). P. 607–616.
93. Nayar S., Guha A. Waste utilization for the controlled synthesis of nanosized hydroxyapatite. *Mater. Sci. Eng.* 2009. Vol. 29. P. 1326–1329.
94. Tampieri A., Sprio S., Ruffini A., Celotti G., Lesci I.G., Roveri N. From wood to bone: multi-step process to convert wood hierarchical structures into biomimetic hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *J. Mater. Chem.* 2009. Vol. 19. P. 4973–4980.
95. Weissleder R., Stark D.D., Engelstad B.L. et al. Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity. *Am. J. Roentgenol.* 1989. Vol. 152(1). P. 167–173.
96. Cornell R.M. and Schwertmann U. The Iron Oxides: Structures, Properties, Reactions, Occurrences and Used. *Weinheim: Wiley*. 2003.
97. Ghazanfari M.R., Kashefi M., Shams S.F., Jaafari M.R. Perspective of Fe₃O₄ nanoparticles role in biomedical applications. *Biochem. Res. Int.* 2016. P. 1–32.
98. Sheng-Nan S., Chao W., Zan-Zan Z., Yang-Long H., Venkatraman S.S., Zhi-Chuan X. Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis and surface coating techniques for biomedical applications. *Chin. Phys.* 2014. Vol. 23. 037503.
99. Sun S., Zeng H. Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* 2002. Vol. 124. P. 8204–8205.
100. Wu W., Wu Z., Yu T., Jiang C.Z., Kim W.-S. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Sci. Technol. Adv. Mater.* 2015. Vol. 16. 023501.

101. Martinez G., Malumbres A., Mallada R., Hueso J.L., Irusta S., Bomatí-Miguel O., Santamaría J. Use of a polyol liquid collection medium to obtain ultrasmall magnetic nanoparticles by laser pyrolysis. *Nanotechnology*. 2012. Vol. 23. 425605.
102. Blaney L. Magnetite (Fe₃O₄): properties, synthesis, and applications. *Lehigh Univ. Lehigh Preserv.* 2007. Vol.15 (5).
103. Liu H., Di Valentin C. Band Gap in Magnetite above Verwey Temperature Induced by Symmetry Breaking. *J. Phys. Chem.* 2017. Vol. 121. P. 25736–25742.
104. Rumpf K., Granitzer P., Morales M.D.P., Poelt P., Reissner M. Variable blocking temperature of a porous silicon/Fe₃O₄ composite due to different interactions of the magnetic nanoparticles. *Nanoscale Res. Lett.* 2012. Vol. 7. P. 445.
105. Majewski P., Thierry B. Functionalized magnetite nanoparticles—synthesis, properties, and bio-applications. *Crit. Rev. Solid State Mater. Sci.* 2007. Vol. 32. P. 203–215.
106. Moaca E.-A., Coricovac D.E., Soica C., Pinzaru I.A., Păcurariu C., Dehelean C. Preclinical aspects on magnetic iron oxide nanoparticles and their interventions as anticancer agents: enucleation, apoptosis and other mechanism. *Iron Ores and Iron Oxide Materials*. 2018.
107. Attarad A. et al. Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. *Nanotechnology, Science and Applications*. 2016. Vol. 9. P. 49–67.
108. Thanh N.T.K., MacLean N., Mahiddine S. Mechanisms of nucleation and growth of nanoparticles in solution. *Chem. Rev.* 2014. Vol. 114. P. 7610–7630.
109. Malyutin A.G., Cheng H., Sanchez-Felix O.R., Carlson K., Stein B.D., Konarev P.V., Svergun D.I., Dragnea B. and Bronstein L.M. Coat protein-dependent behavior of poly (ethylene glycol) tails in iron oxide core virus-like nanoparticles. *ACS Appl. Mater. Interf.* 2015. Vol. 7(22). P. 12089-12098.
110. Šutka A., Lagzdina S., Käämbre T., Pärna R., Kisand V., Kleperis J., Maiorov M., Kikas A., Kuusik I. and Jakovlevs D. Study of the structural phase transformation of

- iron oxide nanoparticles from Fe^{2+} ion source by precipitation under various synthesis parameters and temperatures. *Mater. Chem. Phys.* 2015. Vol. 149-150. P. 473-479.
111. Khalil M. I. Co-precipitation in aqueous solution synthesis of magnetite nanoparticles using iron (III) salts as precursors. *Arab. J. Chem.* 2015. Vol. 8(2). P. 279-284.
 112. Rockenberger J., Scher E. C., Alivisatos A. P. A new non-hydrolytic single-precursor approach to surfactant-capped nanocrystals of transition metal oxides. *J. Am. Chem. Soc.* 1999. Vol. 121. P. 11595–11596.
 113. Hyeon T., Lee S. S., Park J., Chung Y., Na H. B. Synthesis of highly crystalline and monodisperse maghemite nanocrystallites without a size-selection process. *J. Am. Chem. Soc.* 2001. Vol. 123. P. 12798–12801.
 114. Sukumaran S., Neelakandan M. S., Shaji N., Prasad P., Yadunath V. K. Magnetic nanoparticles: synthesis and potential biological applications. *JSM Nanotechnol. Nanomed.* 2018. Vol. 6. P. 1068.
 115. Salas G., Casado C., Teran F.J., Miranda R., Serna C.J. and Morales M.P. Controlled synthesis of uniform magnetite nanocrystals with high-quality properties for biomedical applications. *J. Mater. Chem.* 2012. Vol. 22(39). P. 21065-21075.
 116. Grasset F., Duguet E., Mornet S., Vasseur S., Grasset F., Duguet E. Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy. *J. Mater. Chem.* 2004. Vol. 14. P. 2161–2175.
 117. Cormode D.P., Skajaa T., Fayad Z.A., Mulder W.J.M. Nanotechnology in medical imaging: Probe design and applications. *Arter. Thromb. Vasc. Biol.* 2009. Vol. 29. P. 992–1000.
 118. Sun C., Lee J.S.H., Zhang M. Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008. Vol. 60. P. 1252–1265.

119. Müller K., Skepper J.N., Posfai M. et al. Effect of ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles (Ferumoxtran-10) on human monocyte-macrophages in vitro. *Biomaterials*. 2007. Vol. 28(9). P. 1629–1642.
120. Na H.B., Song I.C., Hyeon T. Inorganic nanoparticles for MRI contrast agents. *Adv. Mater.* 2009. Vol. 21. P. 2133–2148.
121. Singh N., Jenkins G.J.S., Asadi R., Doak S.H. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). *Nano Rev.* 2010. Vol. 1. P. 5358.
122. Zheng W., Gao F., Gu H. Magnetic polymer nanospheres with high and uniform magnetite content. *J. Magn. Magn. Mater.* 2005. Vol. 288. P. 403–410.
123. Sadeghzadeh H., Dianat-Moghadam H., Del Bakhshayesh A.R. et al. A review on the effect of nanocomposite scaffolds reinforced with magnetic nanoparticles in osteogenesis and healing of bone injuries. *Stem Cell Res Ther.* 2023. Vol. 14. P. 194.
124. Чекман І.С., Дорошенко А.М. Взаємодія наночастинок оксиду заліза з клітиною та компонентами біомембрани. *Український медичний часопис*. 2012. № 1. С. 31-37.
125. Gupta A.K., Wells S. Surface-modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: preparation, characterization, and cytotoxicity studies. *IEEE Trans. Nanobioscience*. 2004. Vol. 3(1). P. 66–73
126. Gupta A.K., Gupta M. Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles. *Biomaterials*. 2005. Vol. 26(13). P. 1565–1573.
127. Shahidi F., Abuzaytoun R. Chitin, chitosan, and co products: chemistry, production, applications, and health effects. *Adv. Food Nutr. Res.* 2005. P. 93–135.
128. Rege P.R., Block L.H. Chitosan processing: influence of process parameters during acidic and alkaline hydrolysis and effect of the processing sequence on the resultant chitosan's properties. *Carbohydr. Res.* 1999. Vol. 321. P. 235–45.

129. Grenha A. Chitosan nanoparticles: a survey of preparation methods. *J Drug Target.* 2012. Vol. 20(4). P. 291-300.
130. Synowiecki J., Al-Khatteb N.A.A. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. *Crit. Rev. Food Sci. Nut.* 2003. Vol. 43. P. 144-171.
131. Hamman J.H. Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems. *Mar. Drugs.* 2010. Vol. 8. P. 1305-1322.
132. Kong M., Chen X.G., Xing K., Park H.J. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International J. Food Microbiology.* 2010. Vol. 144. P. 51–63.
133. Stamford-Arnaud T.M., Barros-Neto B., Diniz F.B. Chitosan effect on dental enamel de-remineralization: An in vitro evaluation. *J. Dent.* 2010. Vol. 38. P. 848-852.
134. Murugan R., Ramakrishna S. Bioresorbable composite bone paste using polysaccharide based nano hydroxyapatite. *Biomater.* 2004. Vol. 25. P. 3829 –3835.
135. Xia W., Liu P., Zhang J., Chen J. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. *Food Hydrocolloids.* 2011. Vol. 25. P. 170-179.
136. Chung Y.C., Su Y.P., Chen C.C., Jia G., Wang H.L., Wu J.C.G., Lin J.G. Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta Pharmacol Sin.* 2004. Vol. 25(7). P. 932-936.
137. Porter J.R., Ruckh T.T., Popat K.C. Bone tissue engineering: A review in bone biomimetics and drug delivery strategies. *Biotechnol. Prog.* 2009. Vol. 25. P. 1539–1560.
138. Murahashi Y., Yano F., Nakamoto H., Maenohara Y., Iba K., Yamashita T., Tanaka S., Ishihara K., Okamura Y., Moro T., et al. Multi-layered PLLA-nanosheets loaded with FGF-2 induce robust bone regeneration with controlled release in critical-sized mouse femoral defects. *Acta Biomater.* 2019. Vol. 85. P. 172–179.
139. Raftery R.M., Mencía-Castaño I., Sperger S., Chen G., Cavanagh B., Feichtinger G.A., Redl H., Hacobian A., O'Brien F.J. Delivery of the improved BMP-2-

- Advanced plasmid DNA within a gene-activated scaffold accelerates mesenchymal stem cell osteogenesis and critical size defect repair. *J. Control. Release.* 2018. Vol. 283. P. 20–31.
140. Chen S., Shi Y., Zhang X., Ma J. Evaluation of BMP-2 and VEGF loaded 3D printed hydroxyapatite composite scaffolds with enhanced osteogenic capacity in vitro and in vivo. *Mater. Sci. Eng. C.* 2020. Vol. 112. P. 110893.
141. Lee D., Wufuer M., Kim I., Choi T.H., Kim B.J., Jung H.G., Jeon B., Lee G., Jeon O.H., Chang H., et al. Sequential dual-drug delivery of BMP-2 and alendronate from hydroxyapatite-collagen scaffolds for enhanced bone regeneration. *Sci. Rep.* 2021. Vol. 11. P. 746.
142. Rittipakorn P., Thuaksuban N., Mai-Ngam K., Charoenla S., Noppakunmongkolchai, W. Bioactivity of a novel polycaprolactone hydroxyapatite scaffold used as a carrier of low dose bmp-2: An in vitro study. *Polymers* 2021. Vol. 13. P. 466.
143. Godoy-Gallardo M., Portolés-Gil N., López-Periago A.M., Domingo C., Hosta-Rigau L. Immobilization of bmp-2 and vegf within multilayered polydopamine-coated scaffolds and the resulting osteogenic and angiogenic synergy of co-cultured human mesenchymal stem cells and human endothelial progenitor cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2020. Vol. 21. P. 6418.
144. Kang F., Yi Q., Gu P., Dong Y., Zhang Z., Zhang L., Bai Y. Controlled growth factor delivery system with osteogenic-angiogenic coupling effect for bone regeneration. *J. Orthop. Transl.* 2021. Vol. 31. P. 110–125.
145. Chen S., Guo R., Xie C., Liang Q., Xiao X. Biomimetic mineralization of nanocrystalline hydroxyapatites on aminated modified polylactic acid microspheres to develop a novel drug delivery system for alendronate. *Mater. Sci. Eng. C.* 2020. Vol. 110. P. 110655.
146. Gyanewali S., Kesharwani P., Sheikh A., Ahmad F.J., Trivedi R., Talegaonkar S. Formulation development and in vitro–in vivo assessment of protransfersomal gel of

- anti-resorptive drug in osteoporosis treatment. *Int. J. Pharm.* 2021. Vol. 608. P. 121060.
147. Xu Y., Zhang Z., Wang H., Zhong W., Sun C., Sun W., Wu H. Zoledronic acid-loaded hybrid hyaluronic acid/polyethylene glycol/nano-hydroxyapatite nanoparticle: novel fabrication and safety verification. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2021. Vol. 9. P. 28.
148. Pyo S.W., Kim Y.M., Kim C.S., Lee I.S., Park J.U. Bone formation on biomimetic calcium phosphate-coated and zoledronate-immobilized titanium implants in osteoporotic rat tibiae. *Int. J. Oral Maxillofac. Implant.* 2014. Vol. 29. P. 478–484.
149. Tseng C.-L., Chang K.-C., Yeh M.-C., Yang K.-C., Tang T.-P., Lin, F.-H. Development of a dual-functional Pt–Fe–HAP magnetic nanoparticles application for chemo-hyperthermia treatment of cancer. *Ceramics International.* 2014. Vol. 40(4). P. 5117–5127.
150. Kotak D.J., Devarajan P.V. Bone targeted delivery of salmon calcitonin hydroxyapatite nanoparticles for sublingual osteoporosis therapy (SLOT). *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 2020. Vol. 24. P. 102153.
151. Watanabe H., Ikoma T., Sotome S., Okawa A. Local administration and enhanced release of bone metabolic antibodies from hydroxyapatite/chondroitin sulfate nanocomposite microparticles using zinc cations. *J. Mater. Chem.* 2021. Vol. 9. P. 757–766.
152. Dave J.R., Dewle A.M., Mhaske S.T., Phulpagar P.T., Mathe V.L., More S.E., Khan A.A., Murthy A.V.R., Datar S.S., Jog A.J., et al. Hydroxyapatite nanorods loaded with parathyroid hormone (PTH) synergistically enhance the net formative effect of PTH anabolic therapy. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 2019. Vol. 15. P. 218–230.
153. Pu X.-M., Wei K., Zhang Q.-Q. In situ forming chitosan/hydroxyapatite rods reinforced via genipin crosslinking. *Mater. Lett.* 2013. Vol. 94. P. 169–171.

154. Zhao H., Jin H., Cai J. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/chitosan composite with enhanced compressive strength by urease-catalyzed method. *Mater. Lett.* 2014. Vol. 116. P. 293- 295.
155. Wang W., Zhang B., Li M., Li J., Zhang C., Han Y., Wang L., Wang K., Zhou C., Liu L. et al. 3D printing of PLA/n-HA composite scaffolds with customized mechanical properties and biological functions for bone tissue engineering. *Compos. Part B Eng.* 2021. Vol. 224. P. 109192.
156. Ciocca L., Giorgio L.I., Sara R., Sabrina G., Andrea V., Annapaola P., Alessandro S., Barbara D., Paolo M., Adriano P. et al. Nanostructured surface bioactive composite scaffold for filling of bone defects. *Biointerface Res. Appl. Chem.* 2020, Vol. 10. P. 5038–5047.
157. Song Y., Hu Q., Liu Q. et al. Design and fabrication of drug-loaded alginate/hydroxyapatite/collagen composite scaffolds for repairing infected bone defects. *J Mater Sci.* 2023. Vol. 58. P. 911–926.
158. Chen R., Shi J., Zhu B., Zhang L., Cao S. Mesoporous hollow hydroxyapatite capped with smart polymer for multi-stimuli remotely controlled drug delivery. *Microporous Mesoporous Mater.* 2020. Vol. 306. P. 110447.
159. Kumar P., Saini M., Dehiya B.S., Sindhu A., Kumar V., Kumar R., Lamberti L., Pruncu C.I., Thakur R. Comprehensive Survey on Nanobiomaterials for Bone Tissue Engineering Applications. *Nanomaterials.* 2020. Vol. 10. P. 2019.
160. Zaman S.U., Irfan M., Irfan M., Muhammad N., Zaman M.K.U, Rahim A., UrRehman S. Overview of hydroxyapatite; composition, structure, synthesis methods and its biomedical uses *Biomedical Letters.* 2020. Vol. 6 (1). P. 84-99.
161. He L., Li H., Chen X., Xu T., Sun T., Huang H., Lu M., Yin Y., Ge J., Weng J. et al. Selenium-substituted hydroxyapatite particles with regulated microstructures for osteogenic differentiation and anti-tumor effects. *Ceram. Int.* 2019. Vol. 45. P. 13787–13798.

162. Maleki-Ghaleh H., Hossein Siadati M., Fallah A., Zarrabi A., Afghah F., Koc B., Dalir Abdolahinia E., Omid Y., Barar J., Akbari-Fakhrabadi A. et al. Effect of zinc-doped hydroxyapatite/graphene nanocomposite on the physicochemical properties and osteogenesis differentiation of 3D-printed polycaprolactone scaffolds for bone tissue engineering. *Chem. Eng. J.* 2021. Vol. 426. P. 131321.
163. Saravanan S., Nethala S., Pattnaik S., Tripathi A., Moorthi A., Selvamurugan N. Preparation, characterization and antimicrobial activity of a bio-composite scaffold containing chitosan/nano hydroxyapatite/nano-silver for bone tissue engineering. *Int. J. Biol. Macromol.* 2011. Vol. 49 (2). P. 188–193.
164. Kandori K., Kazuhiko K., Yamaguchi Yu. Synthesis and characterization of Mn-doped calcium hydroxyapatite particles. *Phosphorus Research Bulletin.* 2017. Vol. 33. P. 26–34.
165. Kuda O., Pinchuk N., Ivanchenko L., Parkhomey O., Sych O. et al. (2009) Effect of Fe₃O₄, Fe and Cu doping on magnetic properties and behaviour in physiological solution of biological hydroxyapatite/glass composites. *JMPT.* 2009. Vol. 209. P. 1960-1964.
166. Burdus A.-C., Gherasim O., Andronescu E., Grumezesc A.M. and Ficai A. Inorganic nanoparticles in bone healing applications. *Pharmaceutics.* 2022. Vol. 14. P. 770.
167. Anjaneyulua U., Swaroopb V.K. and Vijayalakshmia U. Preparation and characterization of novel Ag doped hydroxyapatite-Fe₃O₄-chitosan hybrid composites and its In vitro biological evaluations for orthopaedic applications. *The Royal Society of Chemistry.* 2013.
168. Pistone A., Iannazzo D., Celesti C., Piperopoulos E., Ashok D., Cembran A., Tricoli A. and Nisbet D. Engineering of chitosan-hydroxyapatite-magnetite hierarchical scaffolds for guided bone growth. *Materials.* 2019. Vol. 12. P. 2321.
169. Chaves A.V., Freire R.M., Feitosa V.P., Silva Ricardo N.M.P., Denardin J.C., Neto D.M.A. and Fachine P.B.A. Hydroxyapatite-based magnetic bionanocomposite as pharmaceuticals carriers in chitosan scaffolds. *J. Compos. Sci.* 2021. Vol. 5. P. 37.

170. Heidari F., Razavi M., Bahrololoom M.E., Bazargan-Lari R., Vashae D., Kotturi H., and Tayebi L. Mechanical properties of natural chitosan/hydroxyapatite/magnetite nanocomposites for tissue engineering applications. *Materials Science and Engineering C*. 2016. Vol 65. P. 338-344.
171. Kramer E., Zilm M., Wei M. A comparative study of the sintering behavior of pure and ironsubstituted hydroxyapatite. *Bioceramics Development and Applications*. 2013. Vol. 3(1).
172. Panseri S., Cunha C., D'Alessandro T., Sandri M., Giavaresi G. Intrinsically superparamagnetic Fe-hydroxyapatite nanoparticles positively influence osteoblast-like cell behaviour. *Journal of Nanobiotechnology*. 2012. Vol. 10(1). P. 32.
173. Panseri S., Cunha C., D'Alessandro T., Sandri M., Russo A., Giavaresi G., Marcacci M., Hung C.T., Tampieri A. Magnetic hydroxyapatite bone substitutes to enhance tissue regeneration: evaluation in vitro using osteoblast like cells and in vivo in a bone defect. *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7(6).
174. Sych O., Pinchuk N., Parkhomey A., Kuda A., Ivanchenko L., Skorokhod V., et al. Morphology and properties of new porous biocomposites based on biogenic hydroxyapatite and synthetic calcium phosphates. *Functional Materials*. 2007. Vol. 14(4). P. 430-435.
175. Сич О.Є. Еволюція структури та властивостей композиційних матеріалів на основі фосфатів кальцію, отриманих рідкофазним спіканням : Автореф. дис. канд. техн. наук : 05.02.01. — Київ, 2010. — 20 с.
176. Sych O., Pinchuk N., Tomila T., Bykov O., Olifan O., Kolesnichenko V., Chodara A., Mukhovskiy R., Opalińska A., Wojnarowicz J. Investigation of structure and properties of chitosan as a promising material for biomedical application. *Advanced Nano-Bio-Materials and Devices*. 2020. Vol. 4 (3). P. 617-622.
177. Патент України на корисну модель 139699, МПК В22F 9/26 (2006.01). Спосіб одержання наноконпозиційного феромагнітного порошку / Т. Є. Бабутина, О. М. Отиченко; заявник(и) та патентовласник(и) Інститут

проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України. – № 11 201907794; заявл. 10.07.2019; опубл. 10.01.2020, Бюл. №1.

178. Кущевська Н.Ф. Фізико-хімічні умови синтезу наноконпозиційних феромагнітних порошків для біомедичного використання: автореф. дис. на здоб. наук. ступеню канд. техн. наук: спец. 05.16.06 – Порошкова металургія та композиційні матеріали. – Київ, 2003. – 56 с.
179. Sharma S. K. X-ray spectroscopy. Croata. InTech. 2011. 280 p.
180. Сміт А. Прикладна ІЧ-спектроскопія: основи, техніка, аналітичне застосування/Пер. з англ. Б. М. Тарасевича, за ред. А. А. Мальцева. - М.: Світ, 1982. - 328 с.
181. Методичні вказівки з курсу „Інструментальні методи аналізу. Фотоколориметричний аналіз”– Тернопіль: ТНТУ, 2017.
182. Хоменко О.І., Хоменко О.В. Використання програмного комплексу АМІС для кількісної металографії. Математичні моделі та обчислювальний експеримент в матеріалознавстві. *Праці Інституту проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України*. 2014. № 16. С. 35–42.
183. Saltikov S.A. The determination of the size distribution of particles in an opaque material from a measurement of the size distribution of their sections. Elias, H. (eds) *Stereology*. Springer, Berlin, Heidelberg. 1967.
184. Nagata T. Principles of the ballistic magnetometer for the measurements of remanence developments in solid. *Earth Geophysics*. 2013. Vol. 3. P. 105-114.
185. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.sigmaaldrich.com/UA/en/technical-documents/protocol/cell-culture-and-cell-culture-analysis/cell-counting-and-health-analysis/cell-proliferation-kit-i-mtt>
186. Kofstad P. Nonstoichiometry, diffusion and electrical conductivity in binary metal oxides. New York: Wiley-Interscience. 1972. 396 p.

187. Waldron R.D. Infrared spectra of ferrites. *Physical Review*. 1955. № 99. P. 1727–1735.
188. Schwertmann U., Cornell R.M. Iron oxides in the laboratory: preparation and characterization. New York: VCH Publishers. 1991. 137 p.
189. Синиця А.О., Яценко А.П., Сич О.Є., Бабутіна Т.Є., Томила Т.В., Биков О.І., Перекос А.О., Бошицька Н.В. Синтез та властивості магнетиту для створення біокомполімерів. *Доповіді Національної академії наук України*. 2021. № 1. С. 49–55.
190. Synytsia A. Magnetic nanoparticles: synthesis, structure, properties and biomedical application. *Advanced Nano-Bio-Materials and Devices*. 2022. № 6(1). P. 674–687.
191. Gotic M., Music S. FT-IR and FE SEM investigation of iron oxides precipitated from FeSO₄ solutions. *Journal of Molecular Structure*. 2007. Vol. 834–836. P. 445–453.
192. Gehring A.U., Hofmeister A.M. The Transformation of lepidocrocite during heating: A magnetic and spectroscopic study. *Clays and Clay Materials*. 1994. Vol. 42(4). P. 409–415.
193. Synytsia A., Sych O., Iatsenko A., Babutina T., Tomila T., Bykov O., Olifan O., Lobunets T., Perekos A., Boshytska N. Effect of type and parameters of synthesis on the properties of magnetite nanoparticles. *Applied Nanoscience*. 2021. Vol. 12. P. 929–937.
194. Özden Ö. Coercive force of single crystals of magnetite at low temperatures. *Geophysical Journal International*. 2000. – Vol. 141(2). P. 351–356.
195. Abramov N.V., Gorbyk P.P. Properties of ensembles of nanoparticles of magnetite, which are part of magnetic fluid designed for use in cancer therapy. *Surface*. 2012. Vol. 4(19). P. 246–265.
196. Dinçer A.C., Erdek A.M., Karakeçili A., Yıldız N. Preparation of chitosan and glycol chitosan coated magnetic nanoparticles loaded with carboplatin as anticancer drug. *Journal of Polytechnic*. 2019. V. 22(4). P. 1017–1022.

197. Wulandari I.O., Sulistyarti H., Safitri A., Santjojo D.J.D.H., Sabarudin A. Development of synthesis method of magnetic nanoparticles modified by oleic acid and chitosan as a candidate for drug delivery agent. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2019. Vol. 9(7). P. 1–11.
198. El Ghandoor H.M.H, Zidan H.M., Khalil M., Ismail M.I.M. Synthesis and some physical properties of magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles. *International Journal of Electrochemical Science*. 2012. Vol. 7. P. 5734–5745.
199. Zeinali S., Nasirimoghaddam S., Sabbaghi S. Investigation of the synthesis of chitosan coated iron oxide nanoparticles under different experimental conditions. *International Journal of NanoScience and Nanotechnology*. 2016. V. 12(3). P. 183–190.
200. Mohammadzadeh A., Sadri M., Salman S., et al. In vitro biocompatibility of low and medium molecular weight chitosan-coated Fe_3O_4 nanoparticles. *Nanomedicine Research Journal*. 2017. Vol. 2(4). P. 250–259.
201. Daoush W.M. Co-precipitation and magnetic properties of magnetite nanoparticles for potential biomedical applications. *Journal of Nanomedicine Research*. 2017. Vol. 5(3). P. 38-45.
202. Gingasu D.I., Minduru L., Patron A., et al. Investigation of magnetite formation in the presence of hydrazine dihydrochloride. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2011. Vol. 6. P. 1065–1072.
203. Synytsia A., Zenkov V., Sych O., Iatsenko A., Khomenko O. Investigation of adsorption – desorption kinetic of water vapors on magnetite nanopowder prepared by chemical precipitation method in the presence of hydrazine. *Advanced Nano-Bio-Materials and Devices*. 2022. № 6(4). P. 688-693.
204. Arcos D., Vallet-Regi M. Substituted hydroxyapatite coatings of bone implants. *J. Mater. Chem. B*. 2020. №. 8. P. 1781-1800.

205. Ressler A., Žužić A., Ivanišević I., Kamboj N., Ivanković H. Ionic substituted hydroxyapatite for bone regeneration applications: A review. *Open Ceramics*. 2021. Vol. 6.
206. Семко Л.С., Горбик П.П., Сторожук Л.П., Дзюбенко Л.С., Дубровін І.В., Оранська О.І., Рево С.Л. Структурні перетворення в нанокристалічному магнетиті. *Укр. Хим. Журн.* 2007. Т. 73(10). С. 84-89.
207. Senra M.R., de Lima R.B., et al. Thermal characterization of hydroxyapatite or carbonated hydroxyapatite hybrid composites with distinguished collagens for bone graft. *J Mater Res Technol.* 2020. Vol. 9(4). P. 7190–7200.
208. Sneha M., Sundaram N.M. Preparation and characterization of an iron oxide-hydroxyapatite nanocomposite for potential bone cancer therapy. *International Journal of Nanomedicine*. 2015. Vol. 10. P. 99-106.
209. Pecqueux F., Tancret F., Payraudeau N., Bouler J.M. Influence of microporosity and macroporosity on the mechanical properties of biphasic calcium phosphate bioceramics: Modelling and experiment. *J. Eur. Ceram. Soc.* 2010. Vol. 30. P. 819–829.
210. Suchanek W.L., Yoshimura M. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. *J. Mater. Res.* 1998. Vol. 13. P. 94–117.
211. Burstein A., Reilly D. and Martens, M. Aging of bone tissue mechanical properties. *J. Bone Joint Surg.* 1976. Vol. 58. P. 82-86.
212. Goldstein S.A. The mechanical properties of trabecular bone: dependence on anatomic location and function. *J. Biomech.* 1987. Vol. 20. P. 1055–1061.
213. Lindahl O. Mechanical properties of dried defatted spongy bone. *Acta Orthop Scand.* 1976. 47(1). P. 9-11.
214. Yoo D., Lee J.H., Shin T.H., Cheon J. Theranostic magnetic nanoparticles. *Acc Chem Res.* 2011. Vol. 44(10). P. 863–874.

215. Govindan B., Latha B. S., Nagamony P., et al. Designed synthesis of nanostructured magnetic hydroxyapatite based drug nanocarrier for anti-cancer drug delivery toward the treatment of human epidermoid carcinoma. *Nanomaterials*. 2017. Vol. 7. P. 138.
216. Monda S., Manivasagan P., et al. Magnetic hydroxyapatite: a promising multifunctional platform for nanomedicine application. *International Journal of Nanomedicine*. 2017. Vol. 12. P. 8389–8410.
217. Lin K., Chen L., Liu P., et al. Hollow magnetic hydroxyapatite microspheres with hierarchically mesoporous microstructure for pH responsive drug delivery. *CrystEngComm*. 2013. Vol. 15(15). P. 2999–3008.
218. Tseng C.-L., Chang K.-C., Yeh M.-C., Yang K.-C., Tang T.-P., Lin, F.-H. Development of a dual-functional Pt–Fe-HAP magnetic nanoparticles application for chemo-hyperthermia treatment of cancer. *Ceramics International*. 2014. Vol. 40(4). P. 5117–5127.
219. Synytsia A., Zaremba P., Zahorodnia S., Sych O., Babutina T., Kondratenko I. Biogenic hydroxyapatite-based composites modified by magnetite and chitosan: bioresorption in physiological solution and cytotoxicity. *Functional materials*. 2022. Vol. 29(4). P. 506-513.
220. Iatsenko A., Sych O., Synytsia A., Zaremba P., Zahorodnia S., Nikolenko A., Tomila T., Bykov O. Structure and properties of biogenic hydroxyapatite bioceramics modified by graphene-like structures. *Applied Nanoscience*. 2023. P. 1-7.
221. Synytsia A.O., Zenkov V.S., Sych O.E., Khomenko O.I., and Babutina T.E. Adsorption of water vapors on magnetite powders prepared by chemical precipitation and thermolysis methods. *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*. Vol. 62(3-4). P. 133-141.

ДОДАТКИ

Додаток А



ЗАТВЕРДЖУЮ
Заступник директора
Інституту мікробіології і вірусології
ім. Д.К. Заболотного НАН України
у науковій роботі, д.б.н.
Лариса САФРОНОВА

АКТ

випробування зразків композиційних матеріалів
біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан

Інститутом проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України розроблено композиційні матеріали на основі гідроксиапатиту біологічного походження (біогенний гідроксиапатит) модифікованого магнетитом та хітозаном та запропоновано їх в якості біосумісних матеріалів для заповнення дефектів кісток.

Дослідження цитотоксичного впливу біогенного гідроксиапатиту та розроблених композиційних матеріалів біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан, одержаних при різних технологічних параметрах на культури клітин проводили в відділі репродукції вірусів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України з застосуванням МТТ-тесту, що базується на активності дегідрогеназ у мітохондріях, які здатні перетворювати 3,(4,5-диметилтріазол-2-іл)-2,5дифенілтетрозоліум бромід (МТТ) у формазан. Перетворення МТТ у формазан зменшується при загибелі клітин під впливом токсичних речовин. Субстрат МТТ ("Sigma", США) розчиняли в стерильному фосфатному буфері (рН 7,2) при кімнатній температурі до концентрації 5 мг/мл. Розведені в живильному середовищі композити вносили (200 мкл на лунку) в 96-лункові планшети з клітинним моношаром (використовували MDBK – клітини нирок бика Madin-Darby та MDCK – клітини нирок собаки Madin-Darby) та інкубували протягом 48 год при 370С та 5% CO₂. Після цього в лунки вносили по 20 мкл розчину МТТ та інкубували при 370С протягом 2,5-4 годин. Потім видаляли живильне середовище і додавали 150мкл 96% етанолу для розчинення кристалів формазану. Оптичну густину розчинів визначали на спектрофотометрі Multiscan FC (Thermo Fisher Scientific, США) при довжині хвилі 538 нм. Відсоток життєздатності клітин визначали за кількість формазану, що синтезувався в дослідних зразках, та порівнювали з контрольними:

Життєздатність клітин [%]=A/B·100

де А – середнє значення оптичної густини дослідних зразків,

В – середнє значення оптичної густини для контрольних зразків.

Отримані результати свідчать, що цитотоксичної дії не виявлено для всіх композиційних матеріалів.

Зав. відділу репродукції вірусів
Інституту мікробіології і вірусології
ім. Д.К. Заболотного НАН України
к.б.н., старший дослідник

Світлана ЗАГОРОДНЯ

Молодший науковий співробітник
від. № 31
Інституту проблем матеріалознавства
ім. І.М. Францевича НАНУ

Анна СИНИЦЯ

Додаток Б

ТОВ "ІМЕДСЕРВІС
МЧ ТАЙМ+
ЄДРПОУ 3108802
м. Київ вул. І.Кур'я 27
492-62-60

ЗАТВЕРДЖУЮ
головний лікар
Клініки неврології та нейроортопедії
«Time+»
Пелепейченко Олексій Юрійович
«15» серпня 2023 р.

АКТ

огляду зразків композиційних матеріалів
біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан

Інститутом проблем матеріалознавства ім. І.М Францевича НАН України розроблено композиційні матеріали на основі гідроксиапатиту біологічного походження (біогенний гідроксиапатит) модифікованого магнетитом та хітозаном та запропоновано їх в якості біосумісних матеріалів для заповнення дефектів кісткової тканини з метою пришвидшення відновлення пошкоджених кісток та полегшення післяопераційної реабілітації.

Ми, що нижче підписалися:

- Головний лікар Клініки неврології та нейроортопедії «Time+» Пелепейченко Олексій Юрійович;
- Лікар ортопед-травматолог Опанасенко Володимир Вікторович,

заслухали презентацію молодшого наукового співробітника ІПМ ім. Францевича НАНУ Синиці Анни Олександрівни "Структура та властивості композиційних матеріалів біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан медичного призначення". Для огляду були представлені компактні та порошкові зразки композиційних матеріалів біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан різного рецептурного складу. Візуально оцінювалися такі характеристики як структура, пористість, крихкість.

Результат огляду свідчить про перспективність розробки для подальшого використання матеріалів біогенний гідроксиапатит/магнетит/хітозан у відновній хірургії.


Від
Клініки неврології та
нейроортопедії «Time+»



Олексій Пелепейченко

Володимир Опанасенко

Від
ІПМ НАН України



Анна Синиця

Додаток В

АКТ
впровадження результатів наукових досліджень в освітній процес
кафедри фізичної терапії та ерготерапії
Національного університету фізичного виховання і спорту України

“ 4 ” *Вересня* 2023 р.

м. Київ

Ми, ті що підписалися нижче: представники Національного університету фізичного виховання і спорту України: проректор з науково-педагогічної роботи, д. фіз. вих., професор Литвиненко Ю.В., завідувач кафедри фізичної терапії та ерготерапії, д. фіз. вих., професор Лазарева О. Б. склали цей акт про те, що за результатами роботи, виконаної відповідно до плану НДР НУФВСУ на 2021–2025 рр. за темою “Відновлення функціональних можливостей, діяльності та участі осіб різних нозологічних, професійних та вікових груп засобами фізичної терапії” (номер державної реєстрації 0121U107926).

Виконавець: Синиця А.О. внесла такі рекомендації та пропозиції:

Назва пропозиції, форма впровадження, коротка характеристика	Наукова новизна та її значення, рекомендації з подальшого використання	Ефект від впровадження
<p>Практичні рекомендації щодо удосконалення теоретичного матеріалу з дисципліни “Травматологія та ортопедія” для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти за спеціальністю 227 “Фізична терапія, ерготерапія / Терапія та реабілітація”, а саме: впроваджена нова тема “Кальційфосфатні матеріали для відновлення кісткової тканини”. У новому матеріалі описано створення та впровадження в клінічну медицину кальційфосфатних біоматеріалів, а також розробка новітніх перспективних композитів на основі біогенного гідроксиапатиту та їх використання в ортопедії в якості заміника ненавантажених частин кісток людини.</p>	<p>Отримані результати дослідження розширили теоретичні матеріали з питань найновіших тенденцій та підходів до відновної хірургії і протезування в Україні й світі. Розроблено та представлено перспективи використання нового біокомпозиту на основі гідроксиапатиту, модифікованого магнетитом різного типу та хітозаном. Отримані дані можуть бути використані закладами вищої освіти у підготовці фахівців за спеціальністю 227 “Фізична терапія, ерготерапія / Терапія та реабілітація”.</p>	<p>Доповнення теоретичного матеріалу з дисципліни “Травматологія та ортопедія” сприятимуть:</p> <ul style="list-style-type: none"> - розширенню та поглибленню теоретичної підготовки для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти за спеціальністю 227 “Фізична терапія, ерготерапія / Терапія та реабілітація” щодо новітніх матеріалів, які використовуються в травматології та ортопедії; - формуванню та підвищенню рівня знань майбутніх фахівців щодо подальшої роботи з пацієнтами, які проходять лікування або відновлювальну терапію після протезування.

Автор і розробник впровадження:
 мол. наук. співробітник ШПМ НАНУ

А. О. Синиця

Представник ЗВО:
 Проректор з науково-педагогічної роботи,
 д. фіз. вих., професор

Ю. В. Литвиненко

Представник установи,
де виконувалось впровадження:
 Завідувач кафедри фізичної терапії та ерготерапії,
 д. фіз. вих., професор

О. Б. Лазарева

Додаток Г

Опубліковані статті за темою дисертації

1. **А. О. Синиця**, А. П. Яценко, О. Є. Сич, Т. Є. Бабутіна, Т. В. Томила, О. І. Биков, А. О. Перекос, Н. В. Бошицька, Синтез та властивості магнетиту для створення біокомпозитів / Доповіді Національної академії наук України. - 2021. - № 1. - с. 49-55. DOI: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2021.01.049> (Категорія “Б”)

Особистий внесок здобувачки: синтез магнетиту, участь у дослідженнях ІЧ-спектрів матеріалів, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку.

2. **A. Synytsia**, O. Sych, A. Iatsenko, T. Babutina, T. Tomila, O. Vykov, O. Olifan, T. Lobunets, A. Perekos, N. Boshytska, Effect of type and parameters of synthesis on the properties of magnetite nanoparticles / Applied Nanoscience. - 2021. - № 12. – pp. 929-937. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13204-021-01797-5> (Q2)

Особистий внесок здобувачки: синтез порошків магнетиту, участь у дослідженнях ІЧ-спектру матеріалів, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку.

3. **A. Synytsia**, Magnetic nanoparticles: synthesis, structure, properties and biomedical application / Advanced Nano-Bio-Materials and Devices. - 2022. - № 6(1). - pp. 674-687. (міжнародний журнал)

Особистий внесок здобувачки: аналіз та узагальнення літератури, підготовка статті до друку.

4. **A.Synytsia**, O. Sych, T. Babutina, T. Tomila, O. Vykov, Biogenic hydroxyapatite-based composites modified by magnetite and chitosan: synthesis, phase composition and structure / Functional materials. – 2022. - 29, № 2. - pp. 299-304. DOI: <https://doi.org/10.15407/fm29.02.299> (Q4)

Особистий внесок здобувачки: синтез композиційних матеріалів, участь у дослідженнях ІЧ-спектру матеріалів, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку.

5. **A. Synytsia**, P. Zaremba, S. Zahorodnia, O. Sych, T. Babutina, I. Kondratenko, Biogenic hydroxyapatite-based composites modified by magnetite and chitosan: bioresorption in physiological solution and cytotoxicity / Functional materials. – 2022. – 29, No 4. – pp. 506-513. DOI: <https://doi.org/10.15407/fm29.04.506> (Q4)

Особистий внесок здобувачки: синтез композиційних матеріалів, дослідження розподілу частинок та фактору форми за допомогою програмного забезпечення, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку.

6. **A. Synytsia**, V. Zenkov, O. Sych, A. Iatsenko, O. Khomenko, Investigation of adsorption – desorption kinetic of water vapors on magnetite nanopowder prepared by chemical precipitation method in the presence of hydrazine / Advanced Nano-Bio-Materials and Devices. – 2022. – № 6(4). – pp. 688-693. (міжнародний журнал)

Особистий внесок здобувачки: синтез композиційних матеріалів, дослідження та обробка результатів резорбції біоматеріалів, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку

7. **A.O. Synytsia**, V.S. Zenkov, O.E. Sych, O.I. Khomenko, and T.E. Babutina Adsorption of water vapors on magnetite powders prepared by chemical precipitation and thermolysis methods / Powder Metallurgy and Metal Ceramics. - 62, No. 3-4. - pp. 133-141 DOI: <https://doi.org/10.1007/s11106-023-00376-3> (Q3)

Особистий внесок здобувачки: синтез порошків магнетиту методом хімічного осадження, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку

Додаток Д
Апробація результатів дисертації

1. **A. Synytsia**, O. Kuda, O. Sych, N. Boshytska, Synthesis of composite material based on biogenic hydroxyapatite modified by magnetite and chitosan for medical application / 6th International conference HighMathTech 2019, October 28-30, 2019 Kyiv, Ukraine. *(очна участь, усна доповідь)*

2. **A. Synytsia**, O. Sych, A. Iatsenko, T. Babutina, T. Tomila, O. Bykov, O. Olifan, T. Lobunets, A. Perekos, N. Boshytska, Effect of type and parameters of synthesis on the properties of magnetite nanoparticles for medical application / International research and practice conference “Nanotechnology and Nanomaterials” (NANO-2020), 26-29 August 2020, Lviv, Ukraine. *(очна участь, усна доповідь)*

3. **A. Synytsia**, O. Sych, A. Iatsenko, T. Babutina, O. Bykov, T. Tomila, O. Olifan, N. Boshytska, Hydroxyapatite-based composite modified by magnetite and chitosan for medical application / International research and practice conference “Nanotechnology and Nanomaterials” (NANO-2021), 25-27 August 2021, Lviv, Ukraine. *(заочна участь)*

4. **A.O. Synytsia**, T.E. Babutina, V.S. Zenkov, O.E. Sych, O.I. Khomenko, Comparative investigation of adsorption kinetic of water vapors on magnetite nanopowders prepared by chemical precipitation and thermal decomposition / VIII International Samsonov conference “Materials science of refractory compounds”, 24 - 27 May 2022, Kyiv, Ukraine. *(заочна участь)*

5. O. Sych, **A. Synytsia**, T. Babutina, Investigation of the rate of resorption hydroxyapatite-based composites modified by magnetite and chitosan for medical application / International research and practice conference “Nanotechnology and Nanomaterials” (NANO-2022), 25-27 August, 2022, Lviv, Ukraine. *(заочна участь)*

6. **A.O. Synytsia**, V.S. Zenkov, O.E. Sych, A.P. Iatsenko, O.I. Khomenko, Investigation of adsorption – desorption kinetic of water vapors on magnetite

nanopowder prepared by chemical precipitation method in the presence of hydrazine / International Conference on Engineering, Materials, Technologies, Transport, 19-20 October, 2022, Kyiv, Ukraine. *(заочна участь)*

7. **A. Synytsia**, P. Zaremba, S. Zahorodnia, O. Sych, T. Babutina, I. Kondratenko, Cytotoxicity of magnetite and biogenic hydroxyapatite-based composites modified by magnetite and chitosan / International Conference on Engineering, Materials, Technologies, Transport, 19-20 October, 2022, Kyiv, Ukraine. *(заочна участь)*

8. **A. Synytsia**, O. Sych, Ya. Yevich, D. Vedel, T. Babutina, I. Kondratenko, Mechanical properties of hydroxyapatite-based biocomposites modified by magnetite and chitosan / International Conference on Engineering, Materials, Technologies, Transport (MTE – 2023), 16-18 May, 2023, Lutsk, Ukraine. *(заочна участь)*

9. **A. Synytsia**, O. Sych, T. Babutina, O. Olifan Effect of physiological solution for different time on morphology of biogenic hydroxyapatite/magnetite/chitosan biocomposites / International research and practice conference “Nanotechnology and Nanomaterials” (NANO-2023), 16-19 August, 2023, Bukovel, Ukraine. *(заочна участь)*

10. **Anna Synytsia**, Olena Sych, Anatolii Perekos, Tatiana Babutina, Iryna Kondratenko Hydroxyapatite-based composites modified by magnetite and chitosan as a magnetic material for medical application / 8th International Materials Science Conference HighMathTech-2023, October 2-6, 2023 Kyiv, Ukraine. *(заочна участь)*

11. **A. Synytsia**, V. Zenkov, O. Sych, T. Babutina, I. Kondratenko, O. Khomenko Adsorption – desorption kinetic of water vapours on hydroxyapatite/magnetite/chitosan biocomposites / Ukrainian Conference with International Participation “CHEMISTRY, PHYSICS AND TECHNOLOGY OF SURFACE“, 11-12 October, 2023, Kyiv, Ukraine. *(заочна участь)*