

БИОНАНОМАТЕРИАЛЫ

УДК 544. 699

**А.Б. Брик¹, В.А. Дубок², О.В. Франк-Каменецкая³, Л.Ф. Суходуб⁴,
А.М. Калиниченко¹, А.В. Шинкарук²**

¹Институт геохимии, минералогии и рудообразования им. Н.П. Симененко НАН Украины
г. Киев, пр-т Академика Палладина, 34, Украина, 03680

²Институт проблем материаловедения им. Н.И. Францевича НАН Украины
г. Киев, ул. Кржижановского, 3, Украина, 03142

³Санкт-Петербургский государственный университет
г. Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9, Россия, 199034

⁴Институт прикладной физики НАН Украины
г. Сумы, ул. Петропавловская, 58, Украина, 40030

РАДИОСПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ И РЕНТГЕНОФАЗОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СИНТЕТИЧЕСКОГО ГИДРОКСИАПАТИТА С ПРИМЕСЬЮ ТИТАНА

Ключевые слова: гидроксиапатит, имплантаты, примеси титана, электронный парамагнитный резонанс, протонный магнитный резонанс

Методами электронного парамагнитного, протонного магнитного резонанса и рентгенофазового анализа изучены особенности структуры гидроксиапатита, синтезированного в присутствии ионов титана. Исследованы изменения фазового состава полученных образцов при отжиге в диапазоне 500–1000 °С. Показано, что облучение образцов рентгеновскими или γ -лучами генерирует в них парамагнитные центры (Ti^{3+} , O^- , O_2^{3-} и NO_4^{2-}). Установлено, что ионы титана могут замещать ионы кальция с локальным окружением $CaO_6(OH)$ (позиция Ca-2), а также ионы фосфора в тетраэдрах PO_4 . После отжига образцов при ~1000 °С примерно 50% фазы гидроксиапатита переходит (за счет дегидроксидации) в фазу оксиапатита $Ca_{10}(PO_4)_6O$.

Введение

Известно, что разного рода имплантаты, изготовленные на основе гидроксиапатита (ГА), широко используются в ортопедии и травматологии [1–3]. Это применение ГА основано на высокой биосовместимости синтетического апатита, который формирует минеральную компоненту костной ткани. Соответственно имплантаты, изготовленные на основе синтетического гидроксиапатита, как правило, не отторгаются

© А.Б. БРИК, В.А. ДУБОК,
О.В. ФРАНК-КАМЕНЕЦКАЯ,
Л.Ф. СУХОДУБ, А.М. КАЛИНИЧЕНКО,
А.В. ШИНКАРУК, 2011

живым организмом. В зависимости от характера заболеваний костей используют порошки, гранулы либо керамику, полученную путем спекания порошкообразных образцов.

Во многих медицинских случаях, связанных с заболеваниями костей, предъявляются жесткие требования к механическим свойствам материала имплантата. В этих ситуациях внутренние протезы изготавливают на основе металлических сплавов, среди которых важную роль играют сплавы на основе титана. Несмотря на высокую коррозионную стойкость имплантатов, изготовленных на основе таких сплавов, в живом организме имеет место нежелательная диффузия ионов титана в костную ткань. Этот фактор, а также чужеродность металла в живом организме обуславливают необходимость нанесения апатитовых покрытий на металлические имплантаты [4–10].

Исследованию свойств гидроксиапатита с примесными ионами титана посвящено несколько работ [11–13]. Однако вопросы, связанные с местом локализации титана, а также с его влиянием на формирование примесных кристаллических фаз в структуре гидроксиапатита, остаются недостаточно изученными. Вместе с тем именно примесные кристаллические фазы (т. е. фазы, количество которых является заведомо малым) имеют большое значение для функционирования костной ткани [14].

В данной работе впервые описаны результаты радиоспектроскопических исследований ГА с примесями титана, а также приведены рентгенофазовые характеристики исследованных образцов. Проведено обсуждение возможного использования полученных результатов для решения прикладных проблем, связанных с имплантатами, которые применяются для лечения заболеваний костей.

Экспериментальная часть

Основные экспериментальные исследования были выполнены на трех образцах, названных нами *B-1*, *B-2* и *B-3*. Образец *B-1* синтезирован следующим образом. Вначале были приготовлены растворы 5,9 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ в 150 мл деионизированной воды и 1,98 г $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ в таком же количестве воды. Затем при интенсивном пе-

ремешивании первого раствора при комнатной температуре в него добавляли сначала второй раствор по каплям со скоростью около 80 мл/ч, а затем раствор гидроксида аммония, доводя pH смеси до 11. После этого смесь нагревали на водяной бане до температуры 50–60 °С и выдерживали при этой температуре в течение 2 ч. Через сутки осадок фильтровали с помощью вакуумного фильтра и промывали на фильтре 400 мл деионизированной воды. Осадок сушили в сушильном шкафу при температуре 37 °С до достижения постоянного веса. Особенности синтеза образца *B-2* состояли в следующем. В этом случае к первому раствору, содержащему ионы Ca, добавляли 6,45 мл 2-процентного раствора TiCl_3 . При этом масса ионов титана в растворе составляла 4% по отношению к массе ионов Ca. Образец *B-3* был синтезирован подобно образцу *B-2*. Отличие образца *B-3* от образца *B-2* состоит в том, что после синтеза образец *B-3* был отожжен при температуре 1000 °С в течение 1 ч. Некоторые вспомогательные измерения были выполнены на образцах кости теленка и образце гидроксиапатита нестехиометрического состава ($\text{Ca/P} \approx 1,5$). В образце кости, который обозначен нами как *OB-1*, органика была частично удалена с помощью кипячения, а образцы кости *OB-2* и *OB-3* отожжены при температуре 800 и 1000 °С соответственно.

Регистрацию спектров электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) проводили с помощью спектрометров ERS-231 (Германия) и PS-100.X (Беларусь), которые работают в трехсантиметровом диапазоне длины волн. Спектры ЭПР регистрировали при комнатной температуре. В качестве эталона использовали порошкообразные образцы природного периклаза с примесью марганца (MgO:Mn^{2+}). Для перевода дефектов кристаллической решетки гидроксиапатита в парамагнитное состояние образцы, исследованные методом ЭПР, были подвергнуты радиационному облучению. Облучение образцов проводили с помощью γ -лучей изотопа ^{60}Co (энергия кванта 1,25 МэВ) либо рентгеновских лучей (напряжение антиматоды 100 кВ, ток 2 мА). Доза облучения была примерно равна 10^4 Гр. Спектры протонного магнитного резонанса (ПМР) были изучены с помощью спектрометра РЯ-2301 (Рос-

сия), который работает в режиме непрерывных колебаний на частоте 16 МГц. Сигналы ПМР регистрировали при комнатной температуре.

Рентгенофазовый анализ полученных осадков проводили с помощью порошкового рентгеновского дифрактометра «Siemens D5000» в Институте ядерной физики (Мюнстер, Германия). Перед исследованием образцы путем тщательного истирания переводили в тонкодисперсное состояние. Дифракционные спектры были измерены с использованием CuK_α -излучения в диапазоне дифракционных углов $2\theta = 5-90^\circ$, шаг $0,02^\circ 2\theta$, время измерения в точке – 1 с. Для подавления

излучения CuK_β был использован никелевый фильтр. Определение фазового состава образцов по полученным рентгенодифракционным спектрам проводили с использованием базы порошковых дифракционных данных JCPDS.

Результаты эксперимента и их обсуждение

Порошковая рентгенография

Дифрактограммы исходных образцов B-1 и B-2 практически одинаковы, и, кроме того, они близки к дифрактограмме неотожженной кости (рис. 1). Из

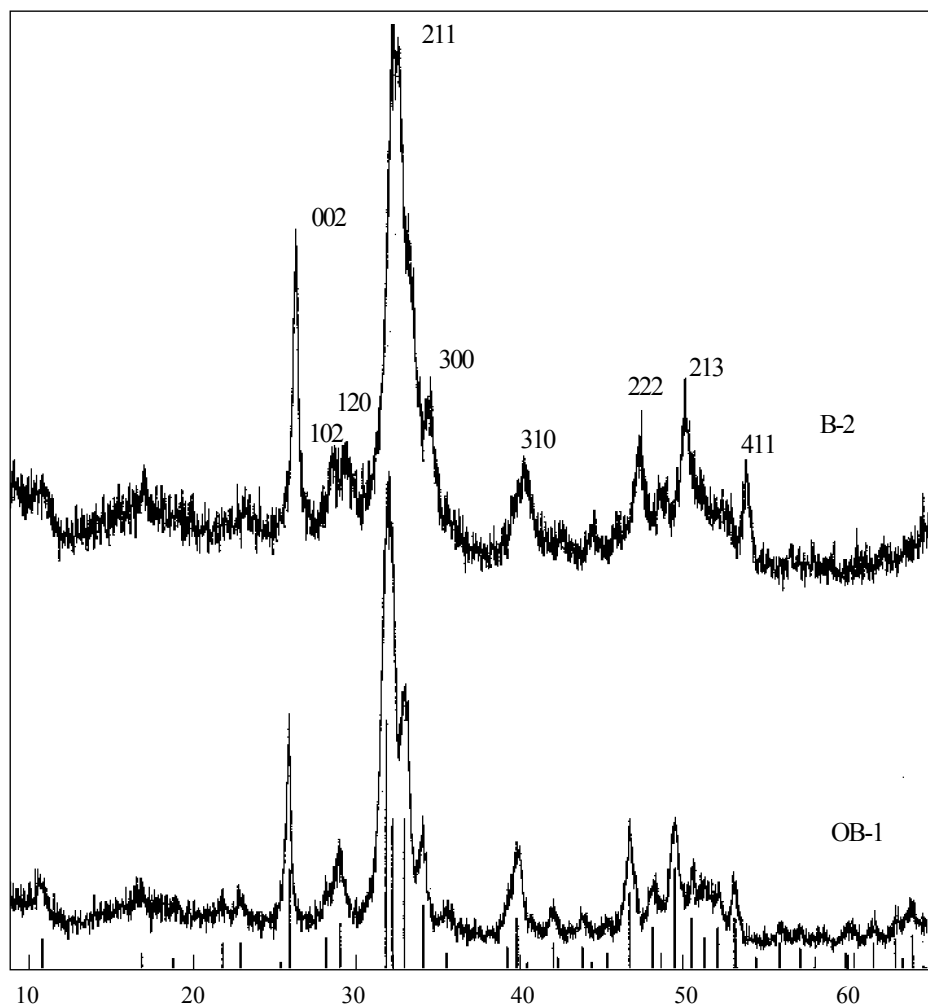


Рис. 1. Дифрактограммы образцов B-2 и OB-1. Внизу вертикальными линиями обозначены рефлексы гидроксиапатита

дифрактограмм, представленных на рис. 1, следует, что в образцах *B-1*, *B-2* и *ОВ-1* экспериментально удается зафиксировать только фазу гидроксиапатита. В образце *B-3*, кроме фазы ГА, наблюдается также небольшое количество фаз α -трикальцийфосфата $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, перовскита CaTiO_3 и β -трикальцийфосфата (витлокита) $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. В образце *B-1* после отжига при 1000°C остается только фаза ГА, а в образце кости *ОВ-3*, помимо фазы ГА, зафиксировано также небольшое количество фазы СаО.

Таким образом, рентгеновская дифракция исходных неотожженных образцов свидетельствует о том, что основной фазой этих образцов является ГА. Дифрактограммы показывают, что в отожженных образцах присутствует также небольшое количество других минеральных фаз. Для изучения влияния титана на кристаллическую решетку минеральных фаз необходимо точное определение параметров кристаллической решетки и установление связи этих параметров с концентрацией ионов титана.

Протонный магнитный резонанс

Сигналы ПМР в исследованных образцах представляют собой суперпозицию узкой и широкой линий. Ширина узкой линии для образцов *B-1*, *B-2*, *B-3* одинакова и равна $(0,11 \pm 0,005)$ мТл. После просушивания образцов в течение 1 ч при $T = 100^\circ\text{C}$ узкая линия, обусловленная протонами адсорбированной воды, во всех трех образцах исчезает, соответственно после просушивания в образцах регистрируется только широкая линия. Ширина сигналов ПМР, которые относятся к широкой линии, для образцов *B-1*, *B-2* и *B-3*, а также эталонного образца приведена в таблице.

На основании данных о ширине рассматриваемых сигналов ПМР можно сделать вывод,

что они обусловлены ОН-группами, которые локализованы в кристаллической решетке исследованных образцов. Поскольку ширина линий в образцах *B-1* и *B-3* примерно равна ширине линии ПМР в эталонном образце, на этом основании можно считать, что в образцах *B-1* и *B-3* рассматриваемые сигналы ПМР обусловлены в основном ОН-группами, локализованными в структуре гидроксиапатита. В образце *B-2* сигнал ПМР намного шире, чем в эталонном образце. Этот факт указывает на то, что, кроме фазы гидроксиапатита, в образце *B-2* присутствуют и другие кристаллические фазы.

В соответствии с формулой $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ интенсивность сигнала ПМР в эталонном образце ГА примем равной двум формульным единицам (ф. е.). Чтобы сравнить интенсивность сигналов ПМР в исследуемых образцах и в эталонном образце, обратимся к таблице.

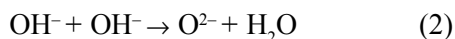
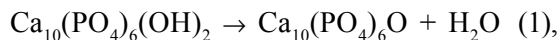
На основании данных о ширине и интенсивности сигналов ПМР (см. таблицу) можно сделать следующие выводы. Состав образца *B-1* примерно соответствует стехиометрическому гидроксиапатиту. Однако образец *B-2* содержит значительное количество гидроксидов, что приводит к увеличению как ширины, так и интенсивности сигнала (по сравнению с соответствующими величинами для эталонного ГА). Наиболее вероятным является предположение, что в структуре образца *B-2* имеется значительное количество гидроксида титана $\text{Ti}(\text{OH})_4$. Из наших оценок следует, что если примерно 2% веса образца обусловлено фазой $\text{Ti}(\text{OH})_4$, то это приведет к увеличению количества ОН-групп в смеси ГА+ $\text{Ti}(\text{OH})_4$ на 1 ф. е. Примерно такое увеличение интенсивности сигнала имеет место для образца *B-2* по сравнению с эталонным (см. таблицу). На основании этих экспериментальных данных, а также данных о количестве титана, введенного в исходную смесь при синтезе, можно сказать, что практически весь этот титан выпадает в осадок в виде фазы гидроксида титана $\text{Ti}(\text{OH})_4$. Мы считаем, что в образце *B-2* наноразмерные области ГА и $\text{Ti}(\text{OH})_4$ формируют взаимно переплетенные участки в одних и тех же наночастицах смеси, полученной при синтезе.

Сигнал ПМР в образце *B-3* примерно в два раза слабее, чем в эталонном образце (см. таблицу).

Таблица. Ширина и интенсивность сигналов ПМР

Образец	Ширина сигнала, мТл	Интенсивность сигнала (ф. е.)
<i>B-1</i>	$0,22 \pm 0,005$	$1,8 \pm 0,1$
<i>B-2</i>	$0,30 \pm 0,005$	$3,0 \pm 0,1$
<i>B-3</i>	$0,20 \pm 0,005$	$0,9 \pm 0,1$
ОВ-1	$0,20 \pm 0,005$	$2,4 \pm 0,1$
ОВ-3	$0,22 \pm 0,005$	$0,8 \pm 0,1$
Эталонный ГА	$0,21 \pm 0,005$	$2,0 \pm 0,1$

На этом основании можно предположить, что отжиг образца *B-3* при 1000 °С ведет к формированию оксиапатита в соответствии со схемами:



Известно, что формирование оксиапатита при высокотемпературном отжиге является достаточно типичным как для синтетического, так и для биогенного гидроксиапатита. Согласно данным таблицы, более 50% образца *B-3* находится в фазе оксиапатита и примерно такое же количество оксиапатита содержится в образце кости *ОВ-3*. Отметим, что ослабление сигнала ПМР может быть связано также с образованием фазы трикальцийфосфата.

Трансформация ГА в оксиапатит при высокотемпературном отжиге является важным фактором, который следует учитывать при изготовлении резорбируемых имплантатов на основе апатита, а также при нанесении гидроксиапатитовых покрытий на металлические имплантаты. Это обусловлено тем, что механизм ассимиляции имплантатов живой костной тканью существенно связан с обобществлением гидроксильных групп, которые входят в состав апатита и карбоксильных групп аминокислот, формирующих коллаген и другие макромолекулы органической матрицы костной ткани [2]. Следует отметить, что из-за близости параметров кристаллической решетки рентнограммы гидроксиапатита и оксиапатита трудноразличимы. Вместе с тем метод ПМР позволяет непосредственно определять количество гидроксильных групп и, соответственно, делать выводы о соотношении фаз ГА и оксиапатита. Это дает возможность использовать ПМР как для оптимизации технологий синтеза, так и для контроля качества материалов, используемых для лечения костей.

Электронный парамагнитный резонанс

В необлученных образцах *B-1*, *B-2* и *B-3* сигналы ЭПР отсутствуют. Однако после облучения γ - или рентгеновскими лучами в этих образцах можно зарегистрировать широкий набор различных парамагнитных центров. Интенсив-

ность сигналов ЭПР в облученных образцах, кроме дозы облучения, зависит также от температуры отжига. При этом влияние отжига на сигналы ЭПР в значительной степени определяется последовательностью процедуры отжига и облучения. Влияние на ЭПР-характеристики образцов отжига, проведенного до или после облучения, совершенно различно.

После облучения исходных образцов *B-1*, *B-2*, *B-3* рентгеновскими или γ -лучами сигнал ЭПР, вызванный ионами Ti^{3+} , появляется только в образце *B-3*. В спектре ЭПР облученного образца *B-3*, помимо указанного, присутствуют также сигналы от других парамагнитных центров (рис. 2). Основные сигналы, представленные на рис. 2, относятся к электронным центрам Ti^{3+} , а также к дырочным центрам O^- и O_2^{3-} . Кроме того, в ЭПР-спектре образца *B-3* присутствует фосфорный центр P_1 [15], связанный с дефектным PO_4 -тетраэдром, локализованным в фазе β -трикальцийфосфата.

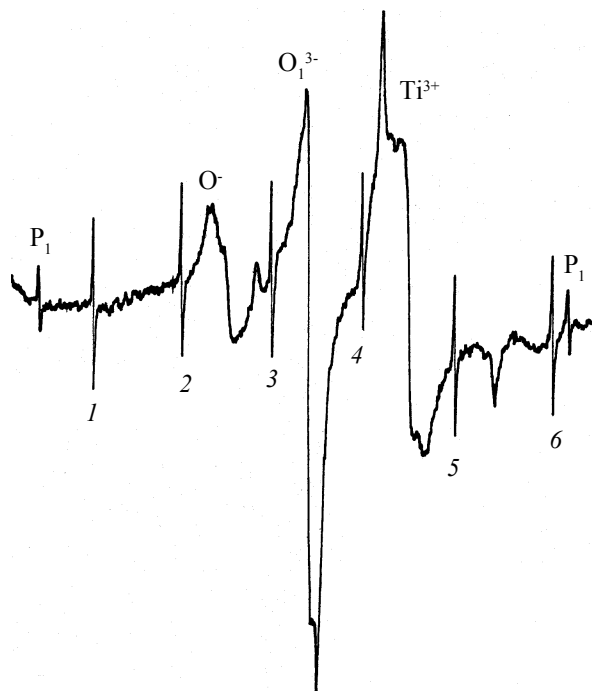


Рис. 2. Вид сигнала ЭПР в облученном образце *B-3*. Цифрами 1–6 обозначены линии ионов Mn^{2+} в эталонном образце MgO . Значения g -фактора для этих линий равны соответственно 2,1426; 2,0874; 2,0336; 2,9812; 1,9302 и 1,8805

Отметим, что ионы Ti^{4+} являются непарамагнитными. Для парамагнитных ионов Ti^{3+} электронная конфигурация соответствует $3d^1$, а электронный спин этих ионов соответственно равен $1/2$. Исходя из формы сигнала ЭПР ионов Ti^{3+} , можно сделать вывод, что тензор спектроскопического расщепления (g -тензор) для рассматриваемого центра является трехосным. Компоненты g -тензора для центров Ti^{3+} оказываются равными: $g_1 = 1,9754 \pm 0,0005$, $g_2 = 1,9621 \pm 0,0005$, $g_3 = 1,9534 \pm 0,0005$. Поскольку сигналы ЭПР от дырочных центров O^- и O_2^{3-} перекрываются сигналами от других центров, точное определение радиоспектроскопических характеристик этих сигналов оказывается затруднительным. Для ЭПР-сигналов от центров O^- и O_2^{3-} эффективные значения g -фактора, соответствующие нулевому значению производной этих сигналов, составляет: $g(O^-) = 2,0733 \pm 0,0005$ и $g(O_2^{3-}) = 2,0123 \pm 0,0005$.

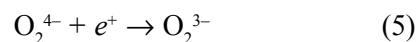
Среди изотопов титана есть два магнитных изотопа ^{47}Ti и ^{49}Ti . Для них распространенность равна 7,75 и 5,51%, а ядерные спины – соответственно 5/2 и 7/2. Несмотря на наличие магнитных изотопов, зарегистрировать обусловленные сверхтонкой структурой сигналы ЭПР от магнитных ядер нам не удалось. Это связано, очевидно, с большой шириной и недостаточной интенсивностью сигналов ЭПР, вызванных ионами Ti^{3+} .

Нами установлено, что отжиг облученных образцов *B-3* ведет ко взаимосвязанному распаду парамагнитных центров Ti^{3+} и O^- (рис. 3). Взаимосвязанность процессов распада сигналов от Ti^{3+} и O^- проиллюстрирована на рис. 4. На основании экспериментальных данных, представленных на рис. 3 и 4, можно сделать вывод, что центры Ti^{3+} и O^- являются пространственно ассоциированными. Механизм формирования и распада центров Ti^{3+} и O^- можно пояснить следующим образом. В гидроксипатите, который является диэлектриком, под действием облучения в свободной зоне генерируются электроны, а в валентной зоне – дырки. Непарамагнитные ионы Ti^{4+} являются ловушками для электронов (e^-), а ионы O^{2-} , локализованные вблизи каких-либо дефектов структуры, – ловушками для дырок (e^+). Соответственно во время облучения происходят реакции (3,

4), в результате которых формируются стабильные парамагнитные центры Ti^{3+} и O^- :



В кристаллической решетке есть также и другие ловушки для электронов и дырок, кроме рассмотренных выше, что может приводить к формированию различных парамагнитных центров. Если в фосфорном PO_4 -тетраэдре имеет место изоморфное замещение $P^{5+} \rightarrow Ti^{4+}$, то такой дефектный тетраэдр является ловушкой для дырок. При этом парамагнитная дырка, как правило, локализуется на тех двух ионах кислорода, у которых длина связи в тетраэдре одинакова. В таком случае процесс формирования парамагнитных центров можно пояснить схемой:



В результате реакции (5) формируются дырочные парамагнитные центры O_2^{3-} , в которых пара-

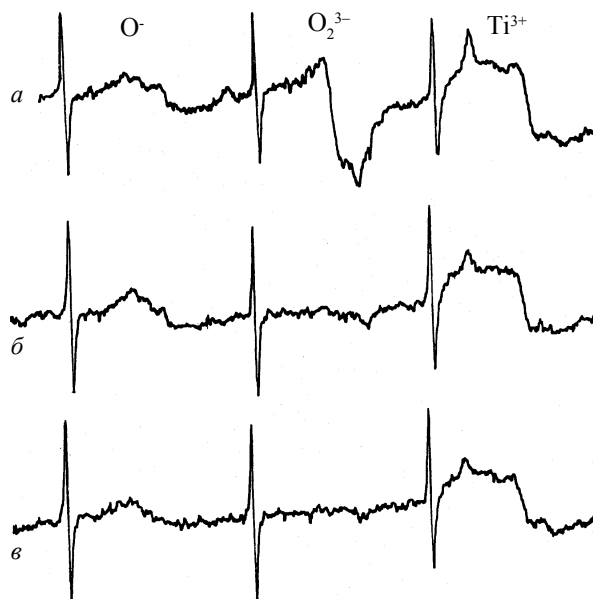


Рис. 3. Изменения спектра ЭПР образца *B-3* после его отжига при разных температурах. Спектры *a*, *б*, *в* соответствуют температурам 25, 150 и 200 °С. Перед отжигом образец был облучен γ -лучами изотопа ^{60}Co

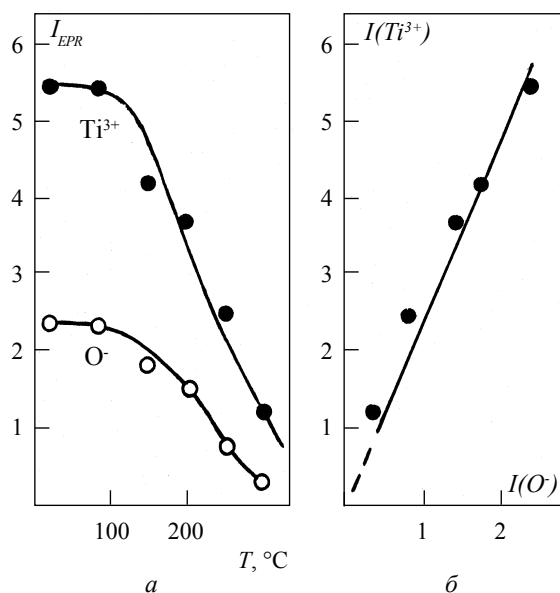


Рис. 4. Зависимость от температуры отжига интенсивности сигналов ЭПР центров Ti^{3+} и O^- в образце В-3 (а) и корреляция изменения интенсивности этих сигналов (б)

магнитная дырка локализована одновременно на двух ионах кислорода дефектного тетраэдра.

При отжиге образцов происходит перезарядка электронно-дырочных ловушек. Если парамагнитные центры Ti^{3+} и O^- являются пространственно ассоциированными, то при отжиге имеет место процесс перехода электрона от иона Ti^{3+} к иону O^- в соответствии со схемами:



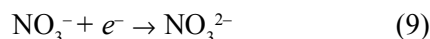
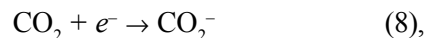
В результате процессов (6) и (7) парамагнитные центры Ti^{3+} и O^- одновременно переходят в непарамагнитное состояние Ti^{4+} и O^{2-} . Экспериментальные данные, представленные на рис. 3 и 4, показывают, что процессы распада парамагнитных центров Ti^{3+} и O^- взаимосвязаны. На основании этих данных следует сказать, что парамагнитные центры Ti^{3+} и O^- являются пространственно ассоциированными.

В соответствии с работой [16] можно считать, что парамагнитные ионы O^- привязаны к

структурным каналам гидроксиапатита. При этом ионы O^{2-} , которые, согласно схеме (4), переходят в парамагнитное состояние O^- , замещают две гидроксильные группы OH^- . Поскольку парамагнитные центры O^- и Ti^{3+} пространственно ассоциированы, можно заключить, что ионы Ti^{4+} замещают ионы Ca в позициях Ca-2 с локальным окружением кальция $\text{CaO}_6(\text{OH})$. Очевидно, вместо двух ионов Ca^{2+} в структуру гидроксиапатита входит один ион Ti^{4+} .

Как было отмечено выше, дырочные центры O_2^{3-} связаны с XO_4 -тетраэдром, в котором катион X имеет более низкое зарядовое состояние, чем катион P^{5+} . Два иона кислорода такого XO_4 -тетраэдра под действием облучения могут захватывать одну дырку и переходить в парамагнитное состояние O_2^{3-} . Важно отметить, что наличие центров O_2^{3-} нехарактерно для гидроксиапатита. На основании перечисленных выше экспериментальных данных можно сделать вывод, что ионы титана способны замещать, кроме ионов кальция, также ионы фосфора в PO_4 -тетраэдрах. Отметим, что описанные выше результаты подтверждают сделанные ранее [12] предположения о замещении ионов кальция ионами титана в структуре гидроксиапатита. Авторы работы [12] впервые применили масс-спектрометрию для анализа образцов гидроксиапатита, синтезированного с добавлением в реакционную систему ионов титана. При этом масс-спектры показали характерные ионы (TiPO_3^+ , TiPO_4^+), которые отвечают атомному окружению ГА, содержащему примеси титана [12].

В неотожженных образцах В-1 и В-2 облучение не приводит к появлению сигналов от ионов Ti^{3+} , однако в этих же образцах, отожженных при $T = 200 ^\circ\text{C}$, можно зарегистрировать азотные центры NO_3^{2-} и карбонатные радикалы CO_2^- (рис. 5). Радиоспектроскопические характеристики радикалов CO_2^- и NO_3^{2-} можно найти в работах [16] и [17] соответственно. Радикалы CO_2^- и NO_3^{2-} формируются в результате облучения в соответствии со схемами:



При этом молекулы CO_2 , которые захватывают электрон, локализованы в основном на поверхности наночастиц, а комплексы NO_3^- входят в состав наноразмерных частиц $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, которые формируются при синтезе гидроксиапатита [16, 17]. Важно отметить, что сигнал ЭПР, обусловленный радикалами CO_2^- , характерен как для синтетических, так и для биогенных апатитов. Радикалы CO_2^- играют важную роль в формировании связи нанокристаллов гидроксиапатита с органической матрицей [2, 18] и способствуют формированию единых минерально-органических наносоцированных систем [19]. Радикалы NO_3^{2-} типичны для синтетического ГА, при получении

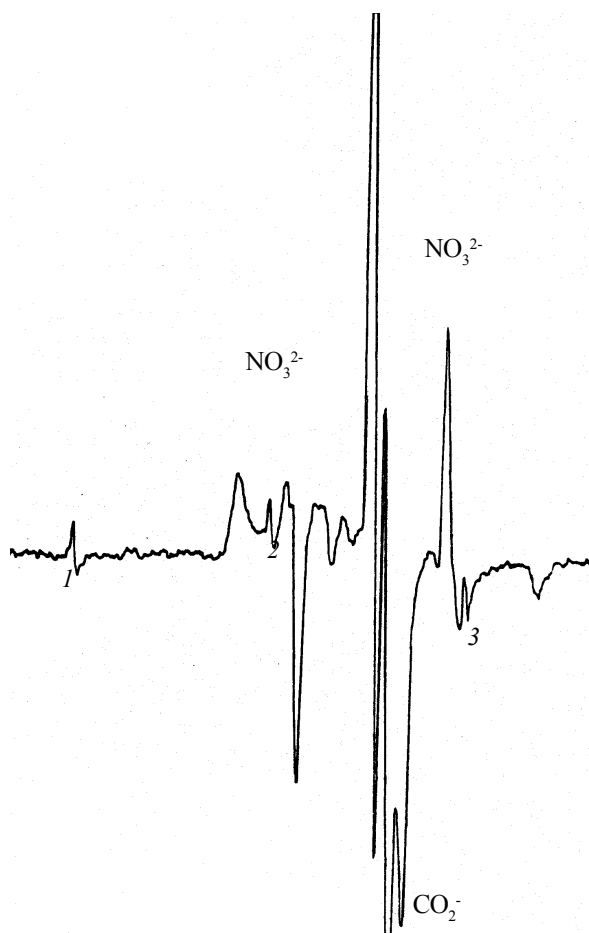


Рис. 5. Вид спектра ЭПР в образце *B-2*, отожженном при 200 °С. Цифрами 1–3 обозначены соответствующие линии эталонного образца

которого используют соединения азота, однако эти радикалы отсутствуют в биогенном апатите. Наличие радикалов NO_3^{2-} в материале имплантата является нежелательным (токсичным) фактором. Нами установлено, что отжиг образцов синтетического ГА в интервале температур 500–600 °С ведет к распаду фазы $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ и, соответственно, к исчезновению сигнала ЭПР от радикалов NO_3^{2-} . Однако при этом отжиге образец, к сожалению, теряет также молекулы CO_2 . Именно такая ситуация имеет место для образцов *B-1* и *B-2*. Таким образом, указанный отжиг, с одной стороны, улучшает, а с другой – ухудшает качество материала имплантата. Следует, однако, отметить: если синтез организовать таким образом, чтобы молекулы CO_2 вошли в позиции гидроксильных групп апатита, то негативного фактора, связанного с отжигом образцов, можно избежать, поскольку молекулы CO_2 в позиции гидроксильных групп обладают высокой термостабильностью [16].

Если образец *B-2* отжечь при $T > 500$ °С, а затем облучить, то в нем появляются сигналы ЭПР, обусловленные ионами Ti^{3+} и O^- , а также другие сигналы. При увеличении температуры отжига (вплоть до 1000 °С) интенсивность сигналов ЭПР, обусловленных ионами Ti^{3+} и O^- , возрастает, а ширина сигнала, вызванного ионами Ti^{3+} , уменьшается. Спектр ЭПР образца *B-2*, отожженного в интервале температур 600–900 °С, является достаточно сложным, что проиллюстрировано на рис. 6. В образце *B-2*, отожженном при 800 °С, кроме рассмотренных выше парамагнитных центров, можно зарегистрировать фосфорные центры (P_2 , P_3), описанные в работе [15], азотные центры NO_4^{2-} [17], а также F-центр в фазе CaO (вакансия кислорода, захватившая электрон) [16].

Парамагнитные карбонатные радикалы, как и другие парамагнитные центры в ГА, формируются за счет облучения, которое переводит дефекты (предцентры) в парамагнитное состояние, характеризующееся неспаренным электроном. Важно отметить, что такие состояния являются химически активными и способствуют взаимодействию минеральной материи имплантата с органической матрицей живой костной ткани. Для увеличения скорости биологизации минеральной материи гидроксиапатита, введенного в живую

костную ткань, необходимо активировать материал имплантата облучением. Кроме того, при синтезе в материале имплантата следует создавать дефекты, которые под действием облучения переходят в активное состояние. Количество и тип активных центров в имплантате можно регулировать особенностями технологий синтеза, а также облучением и отжигом материала имплантата.

Отсутствие сигналов ЭПР от ионов Ti^{3+} в образцах *B-2*, отожженных при $T < 500$ °С, можно объяснить следующим образом. При низких температурах отжига ($T < 500$ °С) титан в основном находится в фазе гидроксида титана $Ti(OH)_4$ или в аморфизованной кристаллической решетке гидроксиапатита, что препятствует регистрации сигналов ЭПР. Этот вывод подтверждается также тем экспериментальным фактом, что при увеличении температуры отжига ширина сигналов ЭПР, обусловленных ионами Ti^{3+} , сужается.

Перечисленные выше парамагнитные центры несут в себе значительную информацию об изменениях структуры гидроксиапатита под влиянием отжига. Кроме того, это позволяет делать выводы о качестве материалов, из которых изготавливают соответствующие имплантаты. Фосфорные центры, как известно [15], связаны с различными искажениями тетраэдров PO_4 в фазе трикальцийфосфата. Концентрация фосфорных центров нарастает по мере увеличения нестехиометричности гидроксиапатита [15]. Наличие достаточно интенсивных сигналов ЭПР от фосфорных центров в образце *B-2* указывает, что присутствие при синтезе ионов титана ведет к нестехиометричности состава образца *B-2*.

Азотсодержащий центр NO_4^{2-} , очевидно, не следует рассматривать как фактор токсичности, поскольку такие центры присутствуют и в здоровой костной ткани [18]. Более того, уменьшение количества парамагнитных центров NO_4^{2-} является признаком заболевания костной ткани [18]. Отметим, что в образцах стехиометрического ГА, как и в образце *B-1*, они отсутствуют. Наличие сигналов ЭПР от центров NO_4^{2-} в образце *B-2* является еще одним признаком нестехиометричности этого образца. В кости, как и в синтетических образцах, азотный центр NO_4^{2-} появляется только после отжига образцов при $T > 700$ °С. Отжиг образцов при

более высокой температуре ($T > 900$ °С) приводит к исчезновению сигналов от этого центра как в синтетическом, так и в биогенном апатите. Исчезновение сигнала ЭПР в образцах, отожженных при высокой температуре, связано, очевидно, с локальным фазовым переходом вблизи тетраэдра, в котором фосфор замещен азотом.

Кроме описанного выше, различие сигналов ЭПР в образцах *B-1* и *B-2* состоит в следующем. Интенсивность сигнала центров O^- в образце *B-2* в несколько раз выше, чем в образце *B-1*, а сигнал от центров O_2^{3-} присутствует только в образце *B-2*. Перечисленные факторы дополнительно указывают на связь центров O^- и O_2^{3-} с примесями титана в структуре гидроксиапатита.

Из данных, представленных на рис. 2 и рис. 6, видно, что отжиг при 1000 °С приводит к существен-

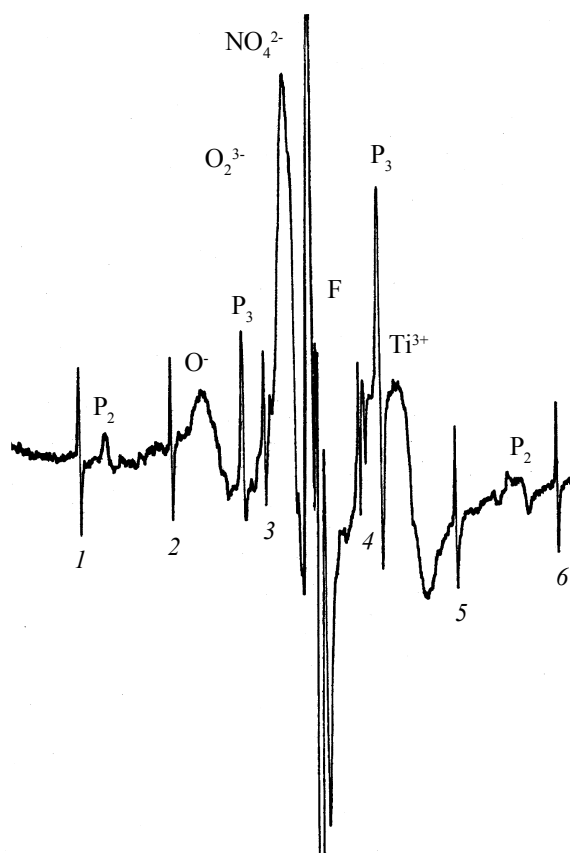


Рис. 6. Вид спектра ЭПР в образце *B-2*, отожженном при 800 °С. Цифрами 1–6 обозначены соответствующие линии эталонного образца

ному упрощению спектров ЭПР. Это говорит о значительном изменении структуры образца при таком высокотемпературном отжиге. В образце, отожженном при 1000 °С, отсутствуют сигналы ЭПР, обусловленные центрами NO_4^{2-} , P_2 и P_3 , а сигналы от радикалов O_2^{3-} существенно уменьшаются по интенсивности. На основании данных ЭПР можно сделать вывод, что высокотемпературный отжиг ведет к локальным фазовым переходам вблизи дефектов кристаллической структуры. При этом вблизи вакансий Са формируются фазы трикальцийфосфата $\text{Ca}_2(\text{PO}_4)_3$, а вблизи тетраэдров TiO_4 и вакансий кальция – фаза перовскита CaTiO_3 .

Описанный выше методический подход позволяет изучать влияние титана на закономерности изменения структуры гидроксиапатита под влиянием отжига, а также сравнивать эти закономерности в синтетическом и биогенном апатите. Кроме того, на основе полученных данных можно анализировать возможности использования описанных выше результатов для улучшения качества изготовленных на основе гидроксиапатита покрытий, которые наносят на титановые имплантаты, и для усиления связи поверхности имплантата с живой костной тканью. Мы считаем, что для повышения биосовместимости имплантата и сродства поверхности имплантата к костной ткани покрытие должно быть двухслойным. Внутренний слой должен быть представлен хорошо раскристаллизованным стехиометрическим гидроксиапатитом, который призван препятствовать диффузии ионов металла и слабо взаимодействовать с органической матрицей костной ткани. Наличие карбонатного вещества во внутреннем слое предусматривается минимальным. Наоборот, наружный слой, представленный карбонатгидроксиапатитом, будет эффективно взаимодействовать с органической матрицей костной ткани. Скорость резорбции внешнего слоя определяется медицинской проблемой, которую требуется решить с помощью конкретного имплантата. Для увеличения эффективности процессов ассимиляции минеральной материи имплантата живой костью имплантат облучают γ -лучами с целью создания активных центров, взаимодействующих с органической матрицей костной ткани.

Выводы

Приведенные в данной статье результаты продемонстрировали, что ионы титана могут входить в структуру гидроксиапатита. В случае если титан замещает кальций в позиции Са-2 с локальным окружением $\text{CaO}_6(\text{OH})$, ЭПР непосредственно регистрирует ионы титана. Кроме того, с помощью метода ЭПР можно фиксировать влияние титана на другие парамагнитные центры, формирование которых существенно зависит от наличия титана в структуре гидроксиапатита. К таким центрам следует отнести центры O^- , локализованные в позициях гидроксильных групп вблизи ионов титана, центры O_2^{3-} , связанные с TiO_4 -тетраэдрами, а также центры NO_4^{2-} , возникающие при вхождении азота в позиции фосфорных тетраэдров.

Следует отметить, что комплементарное применение методов радиоспектроскопии и рентгеноструктурного анализа эффективно для изучения примесных кристаллических фаз, имеющих как в синтетическом, так и в биогенном гидроксиапатите, а также для изучения локальных фазовых переходов, которые происходят в структуре гидроксиапатита.

Приведенная в данной статье информация является методической основой для изучения процессов диффузии ионов титана в костной ткани, в которую вмонтированы металлические имплантаты, а также для разработки новых технологий, что способствовало бы ускорению процессов ассимиляции живой костной тканью имплантатов, покрытых гидроксиапатитом.

Работа выполнена при поддержке Фонда фундаментальных исследований Украины (проект Ф 40.7/041) и Фонда фундаментальных исследований России (проект 11-05-90425-Укр_ф_а).

Методами електронного парамагнітного, протонного магнітного резонансу та рентгенофазового аналізу вивчено особливості структури синтетичного гідроксиапатиту, синтезованого в присутності іонів титану. Досліджено зміни фазового складу одержаних зразків при відпалюванні в діапазоні 500–1000 °С. Показано, що опромінення зразків рентгеновськими або γ -променями генерує в них парамагнітні центри (Ti^{3+} , O^- , O_2^{3-} і NO_4^{2-}). Установлено, що іони титану можуть замінювати іони кальцію з локальним оточенням

$\text{CaO}_6(\text{OH})$ (позиція Ca-2), а також іони фосфору в тетраедрах PO_4 . Після відпалювання зразків при $\sim 1000^\circ\text{C}$ приблизно 50% фази гідроксіапатиту переходить (за рахунок дегідроксилації) у фазу оксіапатиту $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$.

Ключові слова: гідроксіапатит, імпланти, домішки титану, електронний парамагнітний резонанс, протонний магнітний резонанс

Electron paramagnetic resonance, proton magnetic resonance and X-ray phase analyse are used for study of hydroxyapatite structure with titanium impurities. The phase composition of studied samples and change the composition under heating in the range $500\text{--}1000^\circ\text{C}$ has been studied. It is shown that irradiation of the samples by X-ray or gamma ray generates paramagnetic centers (Ti^{3+} , O^- , O_2^{3-} and NO_4^{2-}). It is established that titanium ions can substitute the calcium ions (surrounding $\text{CaO}_6(\text{OH})$, position Ca-2) and phosphorous ions in position of PO_4 tetrahedrons. It is shown that after heating at $T \sim 1000^\circ\text{C}$ approximately 50% of hydroxyapatite phase transforms (due to hydroxylation) in oxyapatite phase $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$.

Key words: hydroxyapatite, implants, titanium impurities, electron paramagnetic resonance, proton magnetic resonance

1. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism* / Editor M.J. Favus. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 1999. – 502 p.
2. *New approaches to study of interaction mechanisms of an organic and mineral matter in resorbed implants* / Rozenfeld L.G., Brik A.B., Kenner G.H. et al. // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2002. – № 1. – С. 9–16.
3. *Ozawa S., Kasugai S.* Evaluation of implant materials (hydroxyapatite, glass-ceramics, titanium) in rat bone marrow stromal cell culture // *Biomaterials*. – 1996. – **17**. – P. 23–29.
4. *Structural analysis of hydroxyapatite coatings on titanium* / P. Ducheyne, W. Van Raemdonck, J.C. Heughebaert, M. Heughebaert // *Biomaterials*. – 1986. – **7**. – P. 97–103.
5. *Calcium phosphate ceramic coatings on porous titanium: effect of structure and composition on electrophoretic deposition, vacuum sintering and in vitro dissolution* / P. Ducheyne, S. Radin, M. Heughebaert, J.C. Heughebaert // *Biomaterials*. – 1990. – **11**. – P. 244–254.
6. *Lee J., Aoki H.* Hydroxyapatite coating on Ti plate by a dipping method // *Bio-Medical Materials and Engineering*. – 1995. – **5**, N 2. – P. 49–58.
7. *Park E., Condrate Sr. R.A.* Graded coating of hydroxyapatite and titanium by atmospheric plasma spraying // *Materials Letters*. – 1999. – **40**. – P. 228–234.
8. *Preparation of calcium phosphate coatings on titanium implant materials by simple chemistry* / H.B. Wen, J.R. de Wijn, F.Z. Cui, K. de Groot // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1998. – **41**. – P. 227–236.
9. *Zheng X., Huang M., Ding C.* Bond strength of plasma-sprayed hydroxyapatite/Ti composite coatings // *Biomaterials*. – 2000. – **21**. – P. 841–849.
10. *Properties of Hydroxylapatite Coating for Biological Implants Deduced from Complementary Instrumental Methods* / Sukhodub L.F., Moseke C., Brik A.B. et al. // *Mineralogical Journal*. – 2001. – **23**, N 5–6. – P. 65–74.
11. *Layani J.D., Mayer I., Cuisinier F.J.G.* Carbonated hydroxyapatites presipitated in the presence of Ti // *Journal of Inorganic Biochemistry*. – 2000. – **81**. – P. 57–63.
12. *Characterization and identification of hydroxyapatites obtained from aqueous solutions in presence of titanium ions by time-of-flight PDMS* / Sukhodub L.F., Pilipenko V.V., Moseke C. et al. // *Доповіді НАН України*. – 2002. – № 4. – С. 126–128.
13. *Hydroxyapatites presipitated in the presence of titanium and cobalt: XRD investigations* / Pilipenko V.V., Sukhodub L.B., Moseke C. et al. // *Mineralogical Journal*. – 2003. – **25**, N 1. – P. 85–90.
14. *EPR of impurity crystal phases in biominerals and their synthetic analogues* // Brik A.B., Kenner G.H., Kalinichenko A.M. et al. // *Mineralogical Journal*. – 2001. – **23**, N 1. – P. 23–37.
15. *Characteristics of phosphate paramagnetic centers in natural apatites, biominerals and their synthetic analogues* / Brik A.B., Bagmut N.N., Kalinichenko A.M. et al. // *Mineralogical Journal*. – 2000. – **22**, N 4. – P. 8–18.
16. *ЭПР наноразмерных частиц в биогенных и синтетических карбонатсодержащих апатитах* / Брик А.Б., Шпак А.П., Карбовский В.А. и др. // *Мінералогічний журнал*. – 2005. – **27**, № 1. – С. 5–26.
17. *ЭПР азотсодержащих ион-радикалов в биогенных и синтетических фосфатах кальция* / Брик А.Б., Шпак А.П., Клименко А.П. и др. // *Мінералогіческий журнал*. – 2006. – **28**, № 1. – С. 20–31.
18. *Bone demineralization mechanisms at level of free radicals and nanoscale subsystems of bone tissue* / Brik A.B., Oganov V.S., Rozenfeld L.G. et al. // *Journal of Gravitational Physiology*. – 2004. – **11**. – P. 155–156.
19. *Brik A.B., Brik V.B.* Mechanisms of diffusion in biominerals and bone demineralization during space flights // *Mineralogical Journal*. – 1998. – **20**. – P. 46–61.