



**VILNIAUS UNIVERSITETAS
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS
CHEMIJOS INSTITUTAS
NEORGANINĖS CHEMIJOS KATEDRA**

Gabija Augulytė

Magistro studijų programa Farmacinė chemija – 2 kursas
Magistro baigiamasis darbas

**ŽEMATEMPERATŪRĖ ĮVAIRIŲ KALCIO FOSFATŲ GRANULIŲ
SINTEZĖ**

Darbo vadovė
dr. Inga Grigoravičiūtė-Purionienė

(leidimas ginti, data, parašas)

Darbo įteikimo data _____

Registracijos Nr. _____

Vilnius 2021

TURINYS

PAGRINDINĖS SANTRUMPOS.....	3
ĮVADAS	4
1. LITERATŪROS APŽVALGA	5
1.1. Kaulinis audinys	5
1.2. Kalcio deficitinio hidroksiapatitas.....	6
1.3. Magnio vitlokitas.....	7
1.3.1. Magnio vitlokito kristalinė struktūra	8
2.1. Kalcio fosfatų sintezės metodai.....	9
2.1.1. Tirpinimo-nusodinimo sintezės metodas.....	9
2.2.1. Kalcio deficitinio hidroksiapatito sintezės būdai	10
2.3.1. Karbonatinio hidroksiapatito sintezės būdai	12
2.4.1. Magnio vitlokito sintezės būdai	16
3. EKSPERIMENTO METODIKA	18
3.1. Reagentai	18
3.2. Sintežės metodai	18
3.2.1. Karbonatinio hidroksiapatito granulių sintezė.....	18
3.2.2. Kalcio deficitinio hidroksiapatito granulių sintezė.....	19
3.2.3. Magnio vitlokito granulių sintezė.....	20
3.3. Naudota aparatūra.....	20
4. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS.....	21
4.1. Karbonatinio hidroksiapatito granulių sintezė.....	21
4.2. Kalcio deficitinio hidroksiapatito granulių sintezė.....	24
4.3. Magnio vitlokito granulių sintezė.....	26
IŠVADOS.....	30
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	31
SANTRAUKA	33
SUMMARY	34

PAGRINDINĖS SANTRUMPOS

Ca/P – kalcio ir fosforo molinis santykis

CaP – kalcio fosfatai

CDHA – kalcio deficitinis hidroksiapatitas

CO₃Ap – karbonatinis hidroksiapatitas (Ca_{10-a}(PO₄)_{6-b}(CO₃)_c(OH)_{2-d})

DCP – monetitas (CaHPO₄)

DCPD – brušitas (CaHPO₄ · 2H₂O)

FTIR – Furje transformacinė infraraudonųjų spindulių spektroskopija

HAp – kalcio hidroksiapatitas (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂)

MCPM – monokalcio fosfato monohidratas (Ca (HPO₄)₂ · H₂O)

OCP – oktakalcio fosfatas (Ca₈(HPO₄)₂(PO₄)₄ · 5H₂O)

WH – magnio vitlokitas (Ca₁₈Mg₂(HPO₄)₂(PO₄)₁₂)

XRD – rentgeno spindulių difrakcinė analizė

α-TCP – alfa-tikalcio fosfatas (α-Ca₃(PO₄)₂)

β-TCP – beta-tikalcio fosfatas (β-Ca₃(PO₄)₂)

ĮVADAS

Pastaruoju metu vis dažniau susiduriama su žandikaulio kaulinio audinio atrofija arba kaulų defektais, kuriuos sukelia įvairios ligos, traumos ir kitos etiologinės priežastys. Praėjusį šimtmetį didelis mokslininkų dėmesys buvo skiriamas sintetinėms biomedžiagoms, kurias būtų galima sėkmingai panaudoti atstatant ar pakeičiant ligotų bei pažeistų kaulinių audinių funkcijas.

Kalcio fosfatai (CaP) yra svarbiausios biologinių kietųjų audinių sudedamosios dalys. Jie sulaukia nemažo susidomėjimo, ypač tokiose mokslo srityse kaip chemija, biologija ir medicina [1]. Karbonatinėje deficitinio hidroksiapatito ir magnio vitlokito formoje CaP įeina į kaulų, dantų ir sausgyslių sudėtį [2]. Šiuo metu įvairūs dirbtiniai kaulų pakaitalai hidroksiapatito [HAp: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], β -trikalčio fosfato [β -TCP: $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$], dvifazių jų mišinių [BCP; HAp ir β -TCP], kalcio sulfato [$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$] ir biostiklų pavidalu plačiausiai naudojami kaulinio audinio atstatyme. Neseniai ir karbonatinis hidroksiapatitas [CO_3Ap : $\text{Ca}_{10-a}(\text{PO}_4)_{6-b}(\text{CO}_3)_c(\text{OH})_{2-d}$] pradėtas naudoti dirbtiniu kaulo pakaitalu [3]. Sintetiniai kaulų atstatyme naudojami CaP gaminami miltelių, granuliu, karkasų bei dangų ant metalinių protezų pavidalu [4].

Pasirinktas cheminės medžiagos sintezės metodas įtakoja gauto produkto morfologiją, cheminę sudėtį, mechanines, optines ir kitas savybes. Sukurta nemažai aukštatemperatūros sintezės metodų, kurių pagalba paruošiamos įvairios cheminės sudėties CaP medžiagos. Vis dėlto, šiais metodais gaunami sintetiniai CaP, kitaip negu žmonių kaulai, pasižymi aukštu kristališkumu, o įterpti į organizmą, jie ilgą laiką išlieka savo pradinėje formoje. Tuo tarpu žemo kristališkumo junginiai į kaulinį audinį, gijimo proceso metu, įsintegruoja daug lengviau ir greičiau [5, 6]. Akivaizdu, kad norint pagaminti žemo kristališkumo CaP, kurių savybės būtų kuo panašesnės į natūralaus kaulo, reikalingi žematemperatūriai sintezės metodai.

Šio **darbo tikslas** – sukurti nesudėtingus žemo kristališkumo karbonatinio kalcio deficitinio hidroksiapatito, kalcio deficitinio hidroksiapatito bei magnio vitlokito sintezės metodus, panaudojant pirmtako granules. Šiam tikslui įgyvendinti išskelti **uždaviniai**:

1. Naudojant kalcio sulfato hemihidratą ir fosfatinę druską susintetinti pirmtako granules.
2. Tirpinimo-nusodinimo metodu susintetinti žemo kristališkumo karbonatinio hidroksiapatito granules.
3. Tirpinimo-nusodinimo metodu susintetinti žemo kristališkumo kalcio deficitinio hidroksiapatito granules.
4. Tirpinimo-nusodinimo metodu susintetinti žemo kristališkumo magnio vitlokito granules.
5. Rentgeno spindulių difrakcinės analizės, infraraudonosios spektroskopijos ir skenuojančios elektroninės mikroskopijos metodais ištirti gautas granules.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Kaulinis audinys

Kaulas yra nuolat atsinaujinantis, tirpstantis ir vėl ataugantis audinys. Kaulinį audinį sudaro organiniai ir neorganiniai komponentai. Organiniai komponentai (kologeno fibrinai) sudaro ~10-20 % kaulinio audinio masės. Likusią dalį sudaro neorganiniai junginiai, savo sudėtyje turintys 9-20 % vandens molekulių. Kalbant apie neorganinius junginius, žmogaus kaulų mineralinėje fazėje daugiausia (~75 %) yra karbonatinio kalcio deficitinio hidroksiapatito mažų kristalų, kurių storis yra 2–4 nm, plotis ~25 nm ir ilgis ~50 nm [7]. Apatitas yra mineralas, į kurio kristalinę gardelę galima įterpti daugybę elementų: $M_{10}Z_6X_2$, kur M gali būti Ca^{2+} , Cd^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , arba Na^+ ; Z gali būti PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} arba SiO_4^{2-} ; o X gali būti OH^- , F^- , Cl^- [2]. Pagrindinio kaulinį audinį sudarančio neorganinio komponento cheminė formulė gali būti užrašyta kaip $Ca_{10-a}Mg_bNa_cK_d(PO_4)_{6-e}(CO_3)_f(OH)_{2-g}Cl_hF_i$. Šis apatitas savo sudėtyje turi ne tik tam tikrą kiekį karbonato, bet ir nežymų kiekį daugybės kitų cheminių elementų jonų, tokių kaip F^- , HPO_4^{2-} , Cl^- , Na^+ , K^+ , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Mg^{2+} [7, 8]. Kaulai yra nuolat pertvarkomi kaulų formavime ir kaulų rezorbcijoje dalyvaujančiu ląsteliu: osteoblastastu ir osteoklastu, atitinkamai. Osteoblastai yra atsakingi už tarpląstelinės matricos sintezę, nusėdimą ir mineralizaciją. Šios ląstelės sudaro ištisinį sluoksnį ant kaulų paviršiaus. Kaulus pakeičiančio sintetinio implanto biologinis suderinamumas yra glaudžiai susijęs su osteoblastų gebėjimu sukibti su jo paviršiumi. Osteoblastų prisitvirtinimas prie biomedžiagos turi įtakos ląstelių gebėjimui daugintis. Šis procesas yra labai svarbus, kadangi siekiama sukurti mechaniškai stiprų sąryšį tarp implanto paviršiaus ir organizme esamo kaulinio audinio [7]. Osteoklastai yra daugiabranduolinės ląstelės, dalyvaujančios kaulų rezorbcijoje. Pagrindinė šių kaulinių ląstelių funkcija, išsiskiriančios druskos rūgšties poveikyje, vykstantis kaulinio mineralo tirpimas. Dėka šio dinamiško kaulinio audinio rezorbavimosi ir jo formavimosi proceso, kaulas nuolat atsinaujina [6].

Seniai žinoma, kad kaulo ir dentino audiniuose yra pakankamai didelė magnio jonų koncentracija (1 lentelė) [7]. Neseniai nustatyta, kad magnio vitlokitas yra antra labiausiai paplitusi neorganinė kaulo sudedamoji dalis, užimanti net 20–35% neorganinės frakcijos [2]. WH, nors yra vienas iš pagrindinių kietojo audinio neorganinių komponentų žinduolių organizmuose, tačiau jo svarba ir reikšmė nėra iki galo išaiškinta. Šiuo metu yra mažai žinoma apie WH formavimosi mechanizmus, jo įtaką mūsų kūnui. Pagrindinė priežastis šios problemos yra ta, kad WH sunku aptikti žinduolių organizmuose. Manoma, kad magnis vaidina svarbų vaidmenį formuojant dantų ėduonį, kaulų nusėdimo ir mineralizacijos procesus, taip tiesiogiai stimuliuodamas osteoblastų dauginimąsi. Nustatyta, kad magnio ir karbonato jonai, kauliniam audiniui suteikia didesnę tirpumą ir žemesnę kristališkumą [7]. Fiziologinėje aplinkoje WH yra tirpesnis nei HAp ir gali nuolat į ją tiekti Mg^{2+} arba PO_4^{3-} jonus, kurie, savo ruožtu, stimuliuoja kamieninių ląstelių membranose esančius jonų kanalus bei sustiprina osteogeninį ląstelių aktyvumą. HAp paviršiaus krūvis neutralus, o WH įkrautas neigiamai, todėl, dėka elektrostatinės sąveikos, teigiamai įkrauti osteogeniniai baltymai, tokie kaip kaulų morfogenetinis baltymas (BMP), gali adsorbuotis ant WH paviršiaus. Kadangi šios dvi medžiagos turi skirtingas savybes, manoma, kad jos gali turėti ir skirtingus biologinius vaidmenis žmogaus organizme. Būtent dėl šios priežasties buvo iškelta hipotezė, kad šių dviejų medžiagų dvikomponenčiai mišiniai gali turėti sinergetinį poveikį osteogeniniam ląstelių aktyvumui, nes sudėtinės medžiagos dažnai pasižymi geresniu biologiniu suderinamumu ir geresne kaulinių audinių regeneracija nei monofazinės medžiagos [9].

1 lentelė

Kaulo, emalio, dantino ir stechiometrinio HAp cheminė sudėtis. Lentelė adaptuota iš [7].

Elementas/Jonas	Kaulas	Emalis	Dentinas	Stechiometrinis HAp
Kalcis	34,80–36,6%	36,50–37,60%	40,30%	39,60%
Fosforas	15,20–17,10%	17,70–18,30%	18,60%	18,50%
Karbonatas	4,80–7,40%	3,00–3,50%	4,80%	
Natris	0,90–1,00%	0,50–0,70%	0,10%	
Kalis	0,03–0,07%	0,05–0,08%	0,07%	
Magnis	0,60–0,72%	0,20–0,44%	1,10%	
Stroncis	0,00–0,05%	0,03%	0,04%	
Cinkas	0–39 ppm	263 ppm	173 ppm	
Baris		125 ppm	129 ppm	
Geležis		118 ppm	93 ppm	
Aluminis		86 ppm	69 ppm	
Sidabras		0,60 ppm	2 ppm	
Kobaltas	0–0,025 ppm	0,10 ppm	1 ppm	
Manganas	0–0,17 ppm	0,60 ppm	0,60 ppm	
Auksas		0,10 ppm	0,07 ppm	
Stibis		1,00 ppm	0,70 ppm	
Chloridas	0,10–0,13%	0,30–0,40%	0,27%	
Fluoridas	0,03–0,10%	0,01%	0,07%	
Silicis	0–500 ppm			
Chromas	0,00–0,33 ppm	1,00 ppm	2,00 ppm	
Bromidas		34 ppm	114 ppm	
Pirofosfatas	0,07 ppm	0,022 ppm	0,10 ppm	

1.2. Kalcio deficitinis hidroksiapatitas

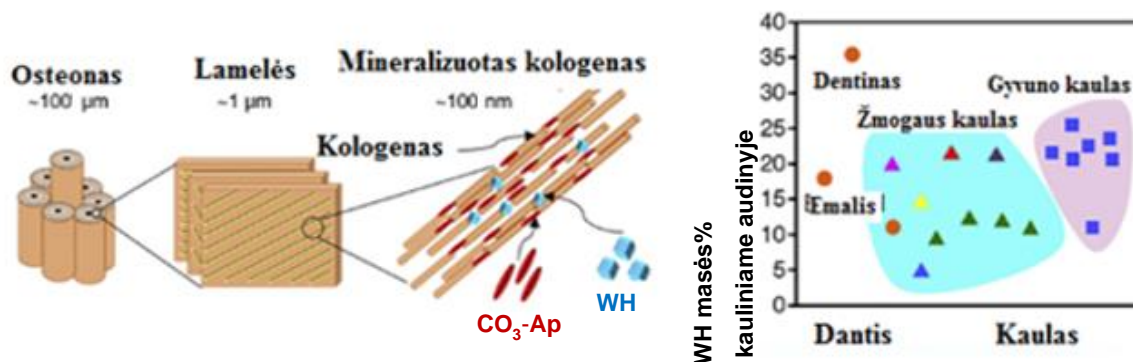
Kalcio deficitinis hidroksiapatitas (CDHA) yra cheminis junginys, kurio cheminė formulė $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ (x reikšmė gali kisti nuo 0 iki 1) arba hidratuota jo forma: $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}\text{H}_2\text{O}$ ($0 < x < 1$). Iš CDHA cheminės formulės akivaizdu, kad kalcio jono deficitas junginyje yra susijęs su hidroksido grupės deficitu bei fosfatinės grupės protonizacija, bei lygiagrečiai kristalinėje struktūroje susidarančiomis joninėmis vakansijomis. Kuo didesnis kalcio jonų deficitas, tuo daugiau struktūrinių deformacijų bei vakansijų susidaro junginyje. Šio apatito struktūroje gali būti ir vandens molekulių, kurios gali užimti kai kurias kristalinėje gardelėje esančias vakansijas. CDHA yra balta, porėta, netoksiška bei trapi medžiaga.

Sintetinis CDHA yra žemo kristališkumo, biorezorbuotis galinti keraminė medžiaga, kuri savo chemine sudėtimi labai panaši į mineralinę kaulo dalį. Ji jau kelis dešimtmečius yra plačiai naudojama kaip kaulus pakeičiantis junginys. CDHA kristalai pasižymi labai dideliu paviršiaus plotu, o būtent 25–100 m²/g (palyginimui sintetinio hidroksiapatito – tik apie 1 m²/g paviršiaus plotu) [10,11]. Ši sintetinė medžiaga susilaukia didesnio mokslininkų susidomėjimo, nei stochiometrinis kalcio hidroksiapatitas, kadangi Ca/P santykis CDHA labiau atitinka minėtųjų elementų santykį kaule (kaulinio audinio mineralinės dalies Ca/P elementų santykis ~1,5, o stochiometriame kalcio hidroksiapatite jis lygus 1,67) [12]. Be to, CDHA lengviau biologiškai skaidosi fiziologinėje aplinkoje lyginant su stochiometrinio analogu [13].

Sintetinio CDHA savybes galima keisti, modifikuojant jo kristalinės gardelės sudėtį, ko pasekoje kinta medžiagos terminis stabilumas, fizikines bei chemines savybes (pvz. tirpumas) bei biologinis atsakas (skatinama osteointegracija). Pvz., kalcio jonas gali būti keičiamas divalentiniais (pvz., Ba, Mg, Cd, Sr) ar monovalentiniais jonais (pvz., Na⁺ ir K⁺); fosfato anijonas gali būti keičiamas VO₄³⁻ arba CO₃²⁻ jonais, o OH⁻ gali būti pakeisti CO₃²⁻ arba F⁻ [7].

1.3. Magnio Vitlokitas

Kaip jau minėta, žmogaus kaulas susideda iš kolageno fibrinų ir neorganinių mineralų, o būtent CO₃-Ap ir WH nanodalelių (1 pav). WH yra kalcio ortofosfatas, kuriame biologinėmis sąlygomis (fiziologinėje aplinkoje) kalcio jonai yra pakeičiami magnio jonais [9]. Tai antras pagal paplitimą mineralas žmogaus organizme, sudarantis 20–35 % kaulinio audinio bei dantų. Magnis, kaip joninis pakaitas sintetiniuose CaP, yra plačiai tyrimas, nes jis yra vienas labiausiai paplitusių metalų katijonų žmogaus organizme.



1 pav. Du pagrindiniai neorganiniai kaulo komponentai: CO₃-Ap ir WH nanokristalai. a) Kaulų struktūros schema. b) Nurodytas vitlokito kiekis neorganinėje kietųjų audinių dalyje, apskaičiuotas pagal magnio kiekį. Duomenys buvo paimti iš ankstesnių publikacijų, skirtingos spalvos žymi skirtingus šaltinius (oranžinis apskritimas: [14], purpurinis trikapis [15], raudonas trikampis: [16], violetinis trikampis [17], mėlynas trikampis [18], geltonas trikampis. [19], žalias trikampis [20], mėlynas stačiakampis [21]). Paveikslėlis adaptuotas iš [7].

Kaulo audinyje, emalyje ir dentine Mg²⁺ kiekis atitinkamai yra 0,72%, 0,44%, ir 1,10%. Pažymėtina, kad net 2 % magnio galima rasti sanarių kremzlėse ir kaulo audinyje pradinėje osteogenezės stadijoje, tačiau brandžiam amžiuje jo kiekis ima mažėti. Manoma, kad magnis vaidina

svarbų vaidmenį vykstant kaulų mineralizacijai, tiesiogiai stimuliuoja osteoblastų dauginimąsi vykstant osteogenezei. Įrodyta, kad magnio trūkumas yra tiesiogiai susijęs su osteoporoze ir neigiamai veikia visus skeleto metabolizmo etapus, ko pasekoje slopinamas kaulų augimas, sumažėja osteoblastų ir osteoklastų aktyvumas, atsiranda osteopenija ir kaulų trapumas. Mg^{2+} kiekis kauliniame audinyje jo atsinaujinimo fazės pradžioje būna labai didelis, tačiau vykstant kalkėjimo procesui palaipsniui jo koncentracijai organizme mažėja. Tai įrodo, kad Mg^{2+} dalyvavimas kaulų atsinaujinimo procese yra svarbus [7].

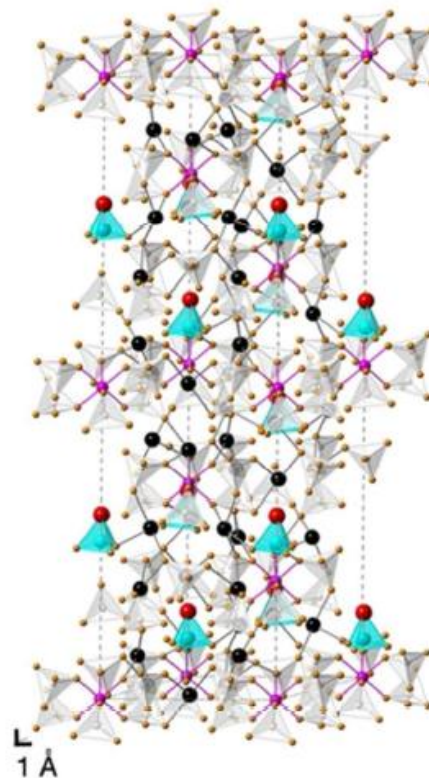
1.3.1. Magnio vitlokito kristalinė struktūra

Gamtoje randamas vitlokitas yra mineralas, pavadintas Herberto Vitloko, amerikiečių mineralogo, garbei. Jo cheminė formulė yra $Ca_{18}Mg_2(HPO_4)_2(PO_4)_{12}$ [22,23]. WH kristaline struktūra yra panašus į β -TCP. Abiejų medžiagų Rentgeno spindulių difraktogramos yra analogiškos, tačiau šių medžiagų negalime laikyti izostrukūrinėmis, kadangi jos priklauso skirtingoms erdvinėms grupėms (žiūrėti 2 Lentelę). Taigi, WH kristalui yra būdinga romboedrinė struktūra ir jis priklauso R3c (161) erdvinei grupei. Skirtumas tarp šių medžiagų atsiranda dėl HPO_4^{2-} grupės egzistavimo WH struktūroje, dalinio Ca^{2+} pakeitimo Mg^{2+} jonais ir laisvų katijoninių vakansijų struktūroje [24]. 2 paveiksle pavaizduotas WH elementarusis narvelis. Iš viso WH struktūroje yra 5 katijoninės padėties (Ca(1)-Ca(5)), kurias galėtų užimti įterpiami jonai. Mg^{2+} jonai WH struktūroje yra linkę užimti Ca(5) kristalografines padėtis, kadangi šios padėties kalcio atomų koordinacinis skaičius yra didžiausias, taigi Ca(5) dydžiu artimiausias mažesniems Mg^{2+} jonams. Suprantama, kad Ca(4) kristalografinės padėties labiau linkusios tapti vakansijomis.

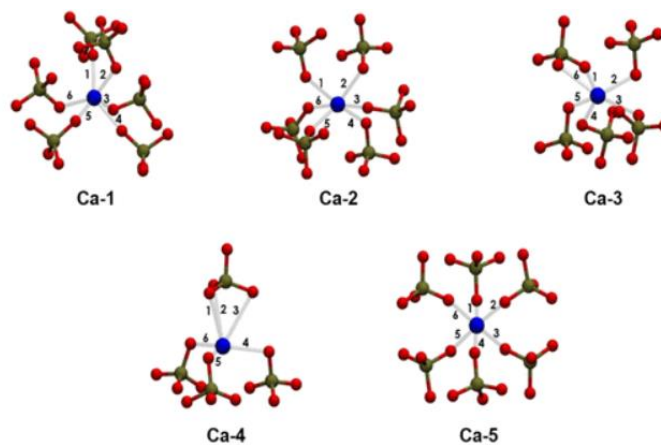
2 lentelė

β -TCP ir vitlokito kristalinių struktūrų palyginimas. Lentelė adaptuota iš [25].

Junginys	Struktūra	Erdvinė grupė	Gardelės parametrai	JCPDS rinkmenos Nr.
β -TCP	Romboedrinė	R-3c (167)	a = 1,0418 nm, c = 3,7346 nm	00-55-0898
WH	Romboedrinė	R3c (161)	a = 1,035 nm, c = 3,7085 nm	04-09-3397



2 pav. WH elementariojo narvelio schematinis atvaizdavimas [26]



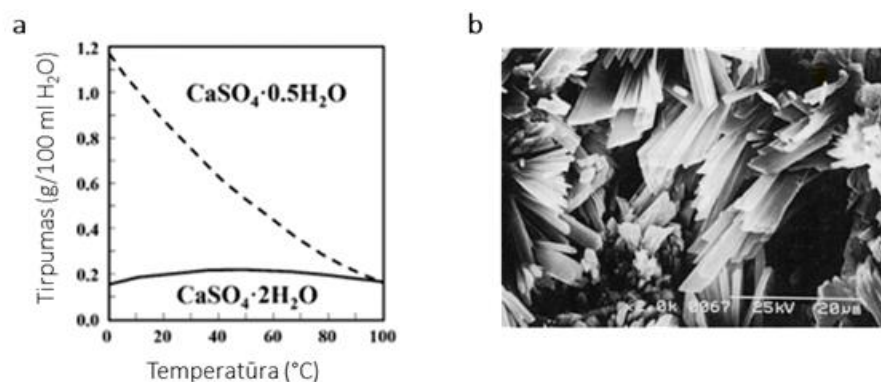
3 pav. Penkios WH kristalografinės padėties, rodančios Ca^{2+} jono koordinaciją. Raudonas apskritimas vaizduoja deguonį; rudas – fosforą; mėlynas – kalcį [25].

2.1. Kalcio fosfatų sintezės metodai

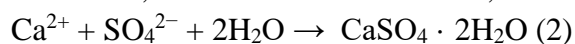
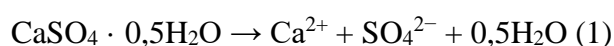
2.1.1. Tirpinimo-nusodinimo sintezės metodas

Yra sukurta nemažai aukštatempertūrių biomedžiagų sintezės metodų. Tačiau šių metodų pagalba gaunamos medžiagos, kitaip negu žmogaus kaulinis audinys, pasižymi aukštu kristališkumo laipsniu. Į paciento organizmą implantavus tokias medžiagas jos ilgą laiką išlieka savo pradinėje formoje. Tuo tarpu žemo kristališkumo laipsnio junginiai į kaulinį audinį gijimo proceso metu integruojasi daug lengviau [27]. Aukštatempertūre biomedžiagų sintezė nėra vienintelis metodas pagaminti biomedžiagų implantologijoje naudojamas medžiagas. Cemento susidarymas nusako

tirpinimo-nusodinimo reakcijomis pagrįsto metodo esmę. Kalcio sulfato hemihidrato [KSHH, $\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$] nusodinimas, susidarant sukietėjusiam kalcio sulfatui dihidratui (KSDH, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), vyksta dėka tirpinimo-nusodinimo reakcijomis pagrįsto proceso. 4 paveiksle pavaizduotas šių medžiagų tirpumo priklausomybė nuo temperatūros: 20 °C temperatūroje jų tirpumas yra maždaug 0,9 ir 0,2 g, atitinkamai. Sumaišius KSHH miltelius su vandeniu, jis dalinai tirpsta, susidarant Ca^{2+} ir SO_4^{2-} jonams. Jų išsiskiria tiek kiek susidarytų ištirpus 0,9 g KSHH 100 ml vandens, kaip parodyta lygtyje (1). Vykstant (1) lygtimi pavaizduotai reakcijai, tirpalas pasidaro persotintas KSDH atžvilgiu, nes šios medžiagos tirpumas yra žymiai mažesnis. Taigi, Ca^{2+} ir SO_4^{2-} jonai nusėda, susidarant KSDH, kaip parodyta lygtyje (2). Nusėdant KSDH sumažėja Ca^{2+} ir SO_4^{2-} jonų koncentracija, tirpalas pasidaro nesotus, KSHH pradeda vėl tirpti. Šios nenutriaukiamai vykstančios tirpimo-nuosodinimo reakcijos lemia KSDH kristalų susidarymą ir augimą, vykstant jo kristalams būdingam tarpusavio jungimuisi (žiūrėti 4 pav. b). Suminė gipso susidarymo reakcija tirpinimo-nusodinimo proceso metu pateikta (3) lygtyje [28].



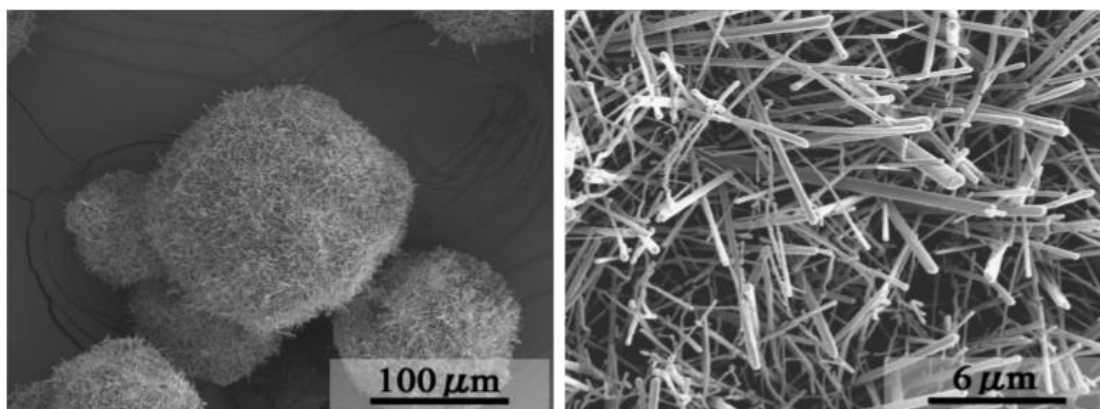
4 pav. KSHH ir KSDH tirpumo priklausomybė nuo temperatūros (a). Tirpinimo-nusodinimo būdu gauto KSDH mikrostruktūra po sustingimo (b). Dėka kristalų susipynimo medžiaga įgauna mechaninį stabilumą. Paveikslas adaptuotas iš [28].



2.1.2. Kalcio deficitinio hidroksiapatito sintezės būdai

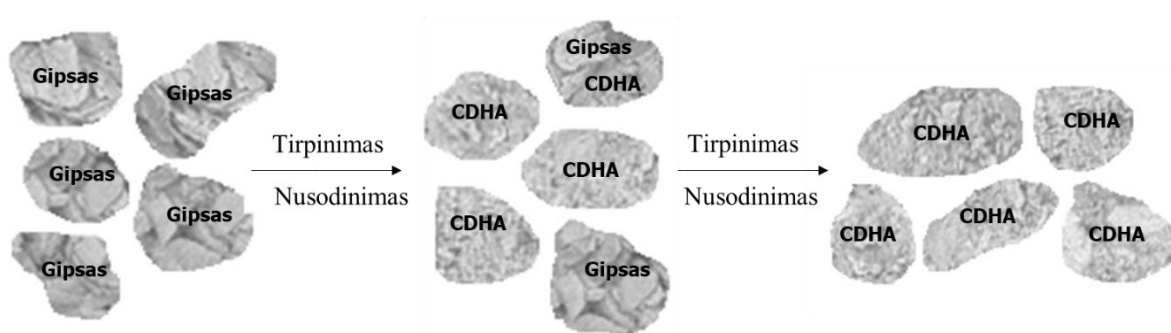
Peržvelgus mokslinę literatūrą galima teigti, kad CDHA milteliai gali būti susintetinti įvairiais būdais, pavyzdžiui, hidroterminiu, nusodinimo, kietafazių reakcijų, biomimetiniu, zolių-gelių, tirpinimo-nusodinimo metodais bei hidrolizuojant kitus kalcio fosfatus. Iš jų plačiausiai naudojamas nusodinimo metodas [29]. Tuo tarpu CDHA granuliu sintezė nėra mokslininkų plačiai aprašyta. 2006 metais buvo publikuotas mokslinis straipsnis, kuriame aprašyta CDHA granuliu sintezė vykdoma hidrolizuojant α -TCP granules [30]. Pradinių granuliu pavyzdžiai buvo veikiami vandens garais temperatūrose nuo 40 °C iki 160 °C, 10 valandų. Tyrimų rezultatai atskleidė, jog po hidroterminio apdoravimo, α -TCP granulės pavirto į CDHA granules, sudarytas iš strypelių pavidalo dalelių. Vėliau šie pavyzdžiai iškaitinti 900 °C temperatūroje 3 valandas oro atmosferoje. Gautų β -TCP granuliu SEM nuotraukos yra pateiktos 5 paveiksle. Mokslininkai padarė išvadą, jog granulėse esančios

mikroporos gali būti užpildomos baltymais, jos gali būti panaudojamos kaulų persodinimui arba kaulo karkasų gaminimui.

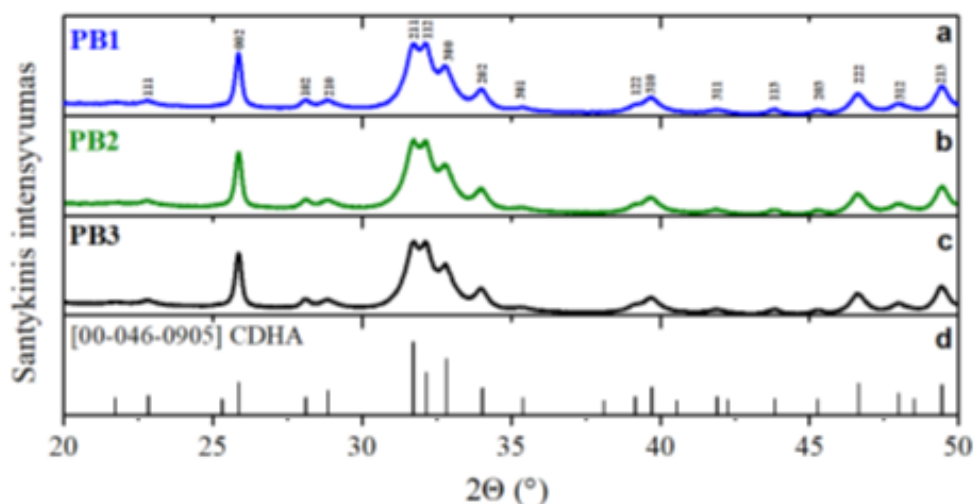


5 pav. 900 °C temperatūroje iškaitintų CDHA granulių skirtingo didinimo SEM nuotraukos [30].

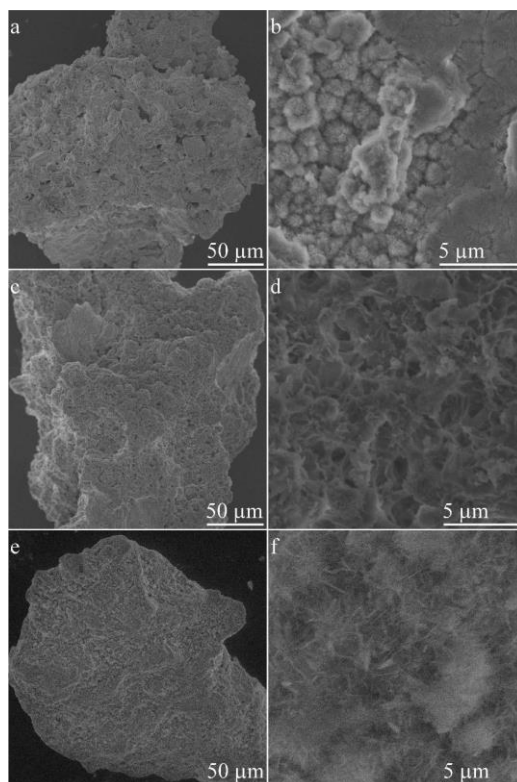
Neseniai CDHA granulės buvo susintetintos tirpinimo-nusodinimo reakcijų metodu, iš trijų skirtingų cheminių sudėčių pirmtako granulių (pav. 6) [31]. 70 °C temperatūroje 1M Na₂HPO₄ vandeniniame tirpale buvo gautos ~300–350 μm žemo kristališkumo produkto granulės (pav. 7). Sintezės produktai buvo tirti TG/DTG, FTIR, XRD bei SEM metodais. XRD tyrimo metu buvo identifikuota tik CDHA fazė, o tai patvirtino, kad nepriklausomai nuo pirmtako granulių sudėties, tirpinimo-nusodinimo sintezės metu granulės pavirto į CDHA. Žemo intensyvumo ir išplatėjusios difrakcijos smailės patvirtino, kad susintetintos granulės yra žemo kristališkumo nanojunginys. FTIR duomenys atskleidė, kad tiriamų medžiagų spektruose matomos hidroksido, hidrofosfato bei fosfato funkcinės grupės būdingos virpesių juostos. SEM nuotraukos atskleidė, kad gautos CDHA granulės yra skirtingos morfologijos (pav. 8).



6 pav. CDHA sintezės tirpinimo-nusodinimo metodu schema. Paveiksle pavaizduotas tik vienos pradinės sudėties granulių virsmas galutiniu produktu.



7 pav. Susintetinto CDHA rentgeno spindulių difraktogramos: (a) PB1 granulių susintetintų iš KSDH, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ir vandens; (b) PB2 granulių susintetintų iš KSHH, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ir vandens; (c) PB3 susintetintų iš KSHH ir vandens. Vertikaliomis linijomis paveikslo (d) dalyje yra pavaizduota standartinė CDHA difraktograma. Paveikslas adaptuotas iš [31].



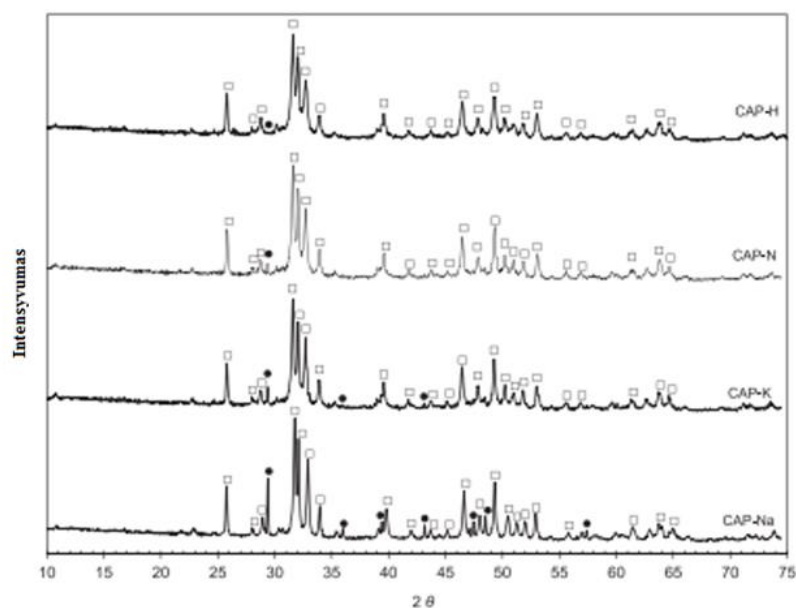
8 pav. CDHA granulių, susintetintų tirpinimo-nusodinimo metodu, SEM nuotraukos: susintetintos iš KSHH, $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ ir vandens – a) ir b); susintetintos iš KSHH, $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ ir vandens – c) ir d); susintetintos iš KSHH ir vandens – e) ir f) [31].

2.1.3. Karbonatinio hidroksiapatito sintezės būdai

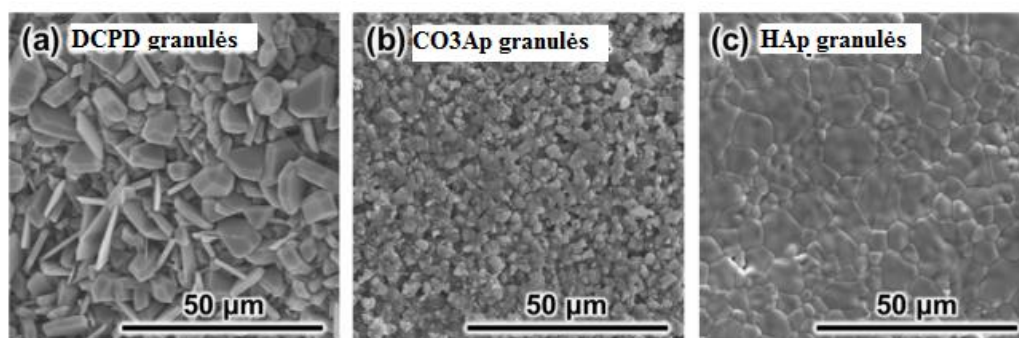
Karbonatinis hidroksiapatitas $[\text{CO}_3\text{Ap}: \text{Ca}_{10-a}(\text{CO}_3)_b(\text{PO}_4)_{6-c}(\text{OH})_{2-d}]$ yra viena iš kaulinio audinio sudedamųjų dalių. Savo chemine sudėtimi jis yra artimesnis natūraliam kaului nei stochiometrinis HAp, nes kaule kaip ir CO_3Ap yra karbonato jono. Karbonato jono kiekis kaulų mineralinėje dalyje svyruoja nuo 3 iki 8 masės%. CO_3Ap - nestochiometrinis, žemo kristališkumo

apatitas [32]. Sintetinis CO_3Ap gali būti idealus kaulų pakaitalas, kuris, fiziologinėje terpėje kaulų atsinaujinimo proceso metu, pamažu virsta natūraliu [33, 34]. CO_3Ap susidarymas vyksta, kai karbonato grupės įsiterpia į apatitinę struktūrą pakeisdamos fosfato ir (arba) hidroksido grupes. Paprastai CO_3Ap yra skirstomas į: A-tipo, kai karbonato grupės pakeičia fosfatų grupes; B-tipo, kai karbonato grupės pakeičia hidroksido grupes; ir A-B tipo CO_3Ap , kai vienu metu karbonato grupės pakeičia fosfatų ir hidroksido grupes. Priklausomai nuo norimo gauti pakeitimo (A- ar B-tipo), CO_3Ap sintezė gali būti vykdoma kietfazės ar sintezės tirpaluose metu [33, 35]. Sintetinis A-tipo CO_3Ap gaunamas kaitinant stechiometrinių HAp, kelias valandas CO_2 sraute, $900\text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje. Porėtos A-tipo CO_3Ap turi didelį paviršiaus plotą ir išskirtinį paviršių, kuris gali būti plačiai panaudojamas adsorbcijos, atskyrimo ir katalizės srityse [36]. Sintetinių B-tipo CO_3Ap galima susintetinti vandeninėje terpėje nusodinimo reakcijos metu. Šiuo metodu pagaminti milteliai gali būti idealus kaulų pakaitalas dėl savo cheminės sudėties ir kristališkumo panašumo į kaulus [37]. A-B-tipo CO_3Ap gali būti gautas kaitinant karbonatinę hidroksiapatitą CO_2 ir vandens garų atmosferoje, o sintezės produktas pasižymi geresnėmis biologinėmis savybėmis, palyginti su stechiometrinium HAp [4]. Mišraus A-B-tipo CO_3Ap keramikoje karbonatų kiekis yra panašus į natūraliame kaule esančiu kiekiu ir pasižymi geresnėmis rezorbcijos savybėmis, susijusiomis su optimalia osteoblastų ir osteoklastų aktyvumo pusiausvyra (t.y. pagrindinėmis ląstelėmis, dalyvaujančiomis kaulų regeneracijoje), tačiau biologiniame apatite daugiausia yra B tipo CO_3Ap [25, 34]. Deja, sintetinis CO_3Ap yra termiškai nestabilus. Jis susikyla (dekarbonizuojasi) esant pakankamai žemai temperatūrai, o tai apsunkina keraminių dalių sutvirtinimą, kuris atliekamas sukepinant gaminį aukštoje temperatūroje. 2018 metais buvo publikuotas mokslinis straipsnis, kuriame aprašyta vienos stadijos CO_3Ap sintezė pirmtakais panaudojant kalcio karbonatą (CaCO_3) ir ortofosforo rūgštį (H_3PO_4) [36]. 9 paveikslėlyje matome pateiktus sintezės produktų XRD, gautus reaguojant kalcitui su keturiais skirtingais ortofosfatais, H_3PO_4 , Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. Nepaisant to, kad CO_3Ap susidarė visais atvejais, tačiau, priklausomai nuo pasirinkto ortofosfato, kalcitas reagavo skirtingai. Jam reaguojant su ortofosforo rūgštimi H_3PO_4 (CAP-H) susidarė galutinis produktas, kuriame kalcito pagrindinės difrakcijos smailės signalas ties $2\theta=29,4^\circ$ buvo labai silpnas. Tuo tarpu kiti ortofosfatai $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (CAP-N), KH_2PO_4 (CAP-K), Na_2HPO_4 (CAP-Na) nepilnai reagavo su kalcitu. Buvo aiškiai stebimos likusio kalcito difrakcijos smailės, o tai rodo, kad kalcito ir ortofosfatų reakcija neįvyko iki pabaigos.

CO_3Ap naudotinas kaulinio audinio atstatyme gali būti pagamintas tirpinimo–nusodinimo reakcijos metu, naudojant kalcitą (CaCO_3), kalcio sulfatą (CaSO_4), α -trikalčio fosfatą (α -TCP) ir kt. 2017 metais publikuoti moksliniai tyrimai parodė, kad CO_3Ap tabletės, pagamintos iš kalcio vandenilio fosfato dihidrato (DCPD: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) pirmtako tablečių, pasižymėjo puikia rezorbcija kauliniame audinyje. Dar daugiau, susintetinto produkto biologinis atsakas buvo lyginamas su sukepinomomis HAp tabletėmis: praėjus 6 mėnesiams po implantacijos jos liko nepakitusios. Iš 10 paveikslėlyje parodytų SEM nuotraukų akivaizdu, kad DCPD tabletės sudarytos iš plokštelių pavidalo dalelių. Tuo tarpu CO_3Ap produktas sudarytas iš nedidelių daugiakampių – ši mikrostruktūra būdinga produktams, gautiems tirpimo-nusodinimo metodo pagalba. Sukepinto HAp tabletės paviršius priminė monolitą, sudarytą iš skirtingo dydžio grūdelių [34]. Darbe buvo nustatytas CO_3Ap tabletės porėtumas (jis maždaug 10 kartų didesnis nei HAp produkto) bei paviršiaus plotas (jis maždaug kelis kartus viršijo iš HAp sudarytos tabletės) [34].

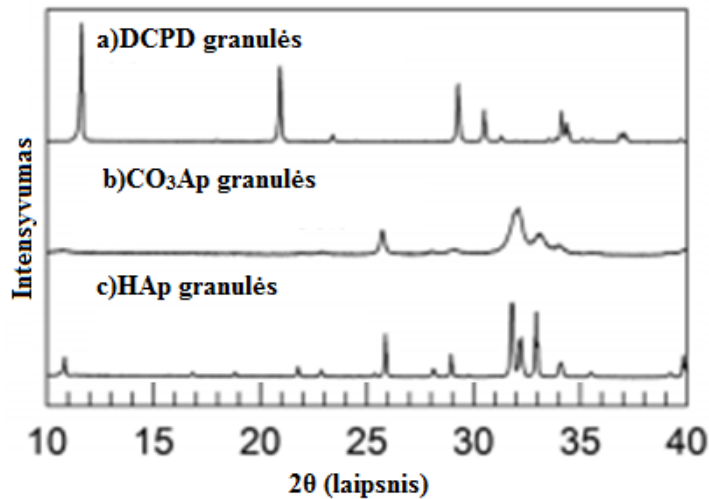


9 pav. Paveikslėlyje pavaizduoti susintetintų produktų XRD (CAP-H, CAP-N, CAP-K, CAP-NA), gautų sintetinant 80 °C temperatūroje uždareme hidroterminiame reaktoriuje, reaguojant kalcitui su skirtingais ortofosfatais. (□) CAP (JCPDS standartas Nr. 01-072-1243); (▲) OCP (JCPDS standartas Nr. 00-026-1056); (●) kalcitas (JCPDS standartas Nr. 00-047-1743). Paveikslas adaptuotas iš [35].



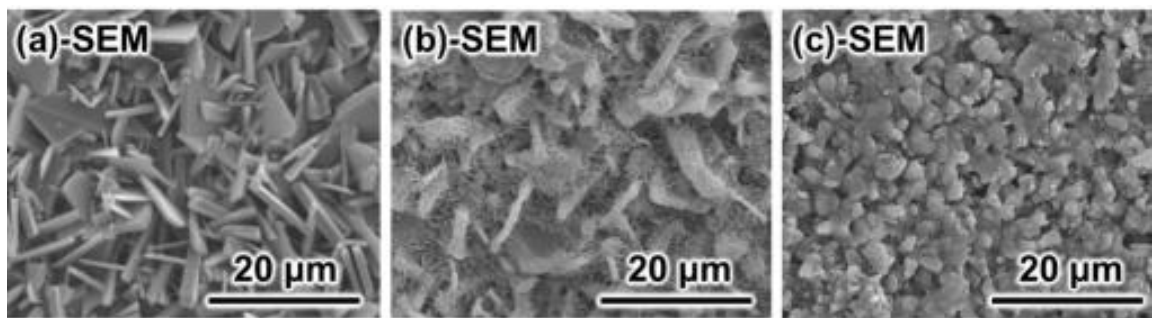
10 pav. SEM mikrogramos: a) DCPD granulės, b) CO₃Ap granulės ir c) HAp granulės [34].

11 paveikslėlyje matome, kad susintetinto CO₃Ap difrakcijos smailės yra plačios ir mažo intensyvumo, o tai rodo, kad susidarė žemo kristališkumo produktas. Priešingai, sukepintų HAp granulių difrakcijos smailės yra didelio intensyvumo, kuris būdingas aukšto kristališkumo medžiagoms. Akivaizdu, kad sintezės temperatūra nulėmė granulių kristališkumą: CO₃Ap granulės buvo pagamintos 80 °C temperatūroje, o HAp esant 1300 °C [34].



11 pav. Granulių rentgeno difraktometrijos (XRD) schemas a) DCPD granulės, b) CO₃Ap granulės, c) HAp granulės. Paveikslas adaptuotas iš [34].

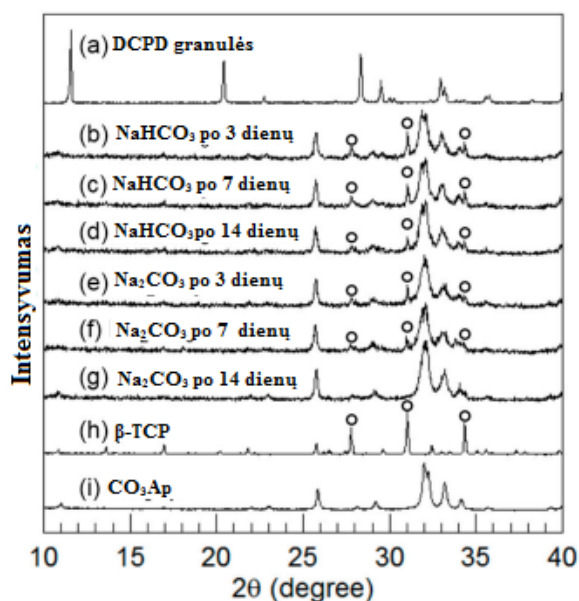
2017 metais publikuotame moksliniame straipsnyje teigiama, kad DCPD gali būti naudojamas pirmtaku gaminant CO₃Ap granules. Darbe DCPD pirmtako granulės buvo susintetintos iš β-TCP ir MCPM. CO₃Ap granulės buvo pagamintos tirpimo-nusodinimo reakcijų metodu pradines granules pamerkiant į NaHCO₃ arba Na₂CO₃ tirpalus, 80 °C temperatūroje. 12 paveikslėlyje matome SEM nuotraukas mėginių pradinių granulių bei granulių, kurios buvo gautos pirmtako granules pamerkus į 2M NaHCO₃ ir 2M Na₂CO₃ tirpalus, 14 dienų. Kristalų morfologija aiškiai skyrėsi prieš ir po pamerkimo į karbonatinius tirpalus. Akivaizdu, kad pirmtako mėginys (12a pav) susideda iš plokščių dalelių, o mėginys (12b pav.) mirkytas 2M NaHCO₃ 14 dienų, sudarytas iš didesnių dalelių, kurių paviršiuje susidarė daug mažų, į adatą panašių kristalų. Mėginys (12c pav.), kuris buvo gautas pirmtako granules pamerkus į 2M Na₂CO₃ 14 dienų, susidarytas iš daugiakampių mažų kristalų [38].



12 pav. Paveikslėlyje pavaizduotos mėginių SEM nuotraukos. a) Mėginiai buvo pagaminti naudojant β-trikalcio fosfato ir monokalcio fosfato monohidrato mišinius ir pamerkti į (b) 2M NaHCO₃ ir (c) 2M Na₂CO₃ tirpalus 14 dienų, 80 °C temperatūroje. Paveikslas adaptuotas iš [38].

13 paveikslėlyje pavaizduoti DCPD granulės XRD prieš ir po panardinimo į 2 M NaHCO₃ arba 2 M Na₂CO₃ tirpalus 80 °C temperatūroje iki 14 dienų. β-TCP smailių aukštis, atitinkantis β-TCP kiekį, sumažėjo priklausomai nuo pamerkimo laiko. Panardinant granules į NaHCO₃ tirpalą, β-TCP smailės išliko net po 14 dienų. Tačiau panardinus į Na₂CO₃ tirpalą, β-TCP smailės aukštis, kuris buvo mažesnis nei panardinant į NaHCO₃, su laiku mažėjo ir išnyko per 14 dienų. Akivaizdu, kad konversija į CO₃Ap buvo greitesnė panardinant granules į Na₂CO₃ nei pamerkiant į NaHCO₃ tirpalą.

Susintetinto CO_3Ap smailės tapo plačios, todėl šiuo metodu buvo gautas žemakristalinis produktas [38].

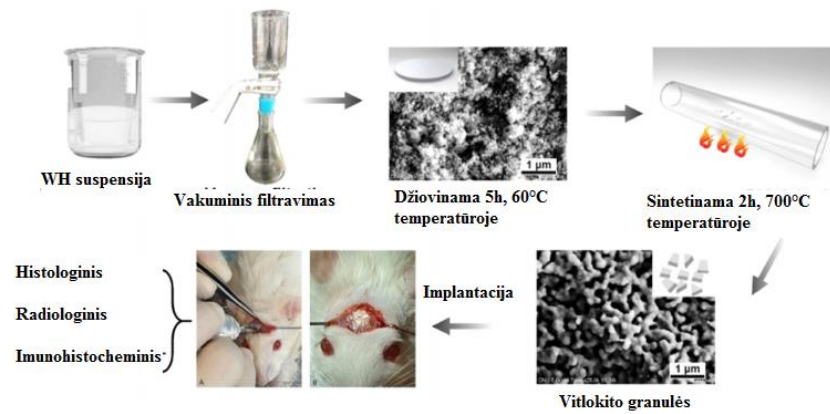


13 pav. Dikalcio fosfato dihidrato granulių (a) rentgeno difraktogramos prieš ir po panardinimo į 2M NaHCO_3 (b - d) ir 2M Na_2CO_3 (e - g) tirpalus 80 °C temperatūroje, 14 dienų. β -TCP (h) ir (i) CO_3Ap XRD standartai. Paveikslas adaptuotas iš [38].

2.1.4. Magnio vitlokito sintezės būdai

Nepaisant to, kad WH yra antras pagal paplitimą mineralas žmogaus organizme, paskelbti tik keli moksliniai straipsniai apie jo panaudojimą kaulinio audinio regeneracijoje. WH gali susiformuoti ne tik iš Ca^{2+} ir Mg^{2+} jonų, bet ir kitų, vietoj magnio pasirinkus Co^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} ar Zn^{2+} . Nustatyta, kad šie jonai stabilizuoja WH struktūrą bei stabdo DCP, OCP ir HAp juginių susidarymą [39]. Būtent tai 2014 metais ir buvo eksperimentiškai patvirtinta gryno WH nanodaleles nusodinus rūgštinėje terpėje (pH ~5,6), kurioje be kalcio ir fosfato jonų, buvo didelis Mg^{2+} jonų perteklius. WH sintezė buvo atliekama vandeninėje terpėje, naudojant $\text{Ca}(\text{OH})_2$, $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ir H_3PO_4 , žemesnėje nei 100 °C temperatūroje. Kaip jau minėta, sintezės metu buvo naudojamas Mg^{2+} perteklius, siekiant sutrukdyti termodinamiškai stabilių CaP susidarymą [40]. WH taip pat gali būti susintetintas naudojant DCPD, pamerkiant jį į 1,5 mM MgCl_2 tirpalą [25].

2020 metais WH granulės buvo susintetintos naudojant solvaterminės sintezės metodu. Pagamintas aglomeruotas, tačiau porėtas WH granules, implantavus į maždaug 5 mm skersmens žiurkės kaukolėje esantį defektą, jo gijimas bei kaulų regeneracijos parametrai buvo stebimi naudojant histologinius, radiologinius ir imunohistocheminius tyrimus (14 paveikslas). Darbe nustatyta, kad nesukepintos WH granulės pasižymi santykinai plačiu porų dydžio pasiskirstymu, kai vidutinis porų diametras siekė apie 24,7 nm. Sukepinus WH granules 700 °C temperatūroje, porų dydis ženkliai padidėjo – iki 162,8 nm. Eksperimentiniai rezultatai parodė, kad porėtos WH granulės yra biologiškai suderinamos, žiurkių kaukolės skliauto defekte skatino natūralaus kaulo formavimąsi [41].



14 pav. WH granulių gamyba ir eksperimentinė procedūra žiurkių kaukolėje siekiant kaulų regeneracijos. Paveikslas adaptuotas iš [41].

Taip pat 2018 metais buvo publikuotas mokslinis straipsnis, kuriame WH buvo auginamas ant β -TCP. Pirmiausia tyrimui iš β -TCP miltelių buvo suformuojama 10 mm skersmens tabletės, o vėliau ant jų paviršiaus hidroterminiu metodu buvo auginamas WH. Sintezė buvo vykdoma nuo 6 val. iki 4 parų, 120 °C temperatūroje. Grynos WH dangos buvo gautos mėginiuose, kurių sintezė vykdyta 2–4 paras [42].

2. EKSPERIMENTO METODIKA

2.1. Reagentai

Atliekant granulių sintezes buvo naudotos šios cheminės medžiagos:

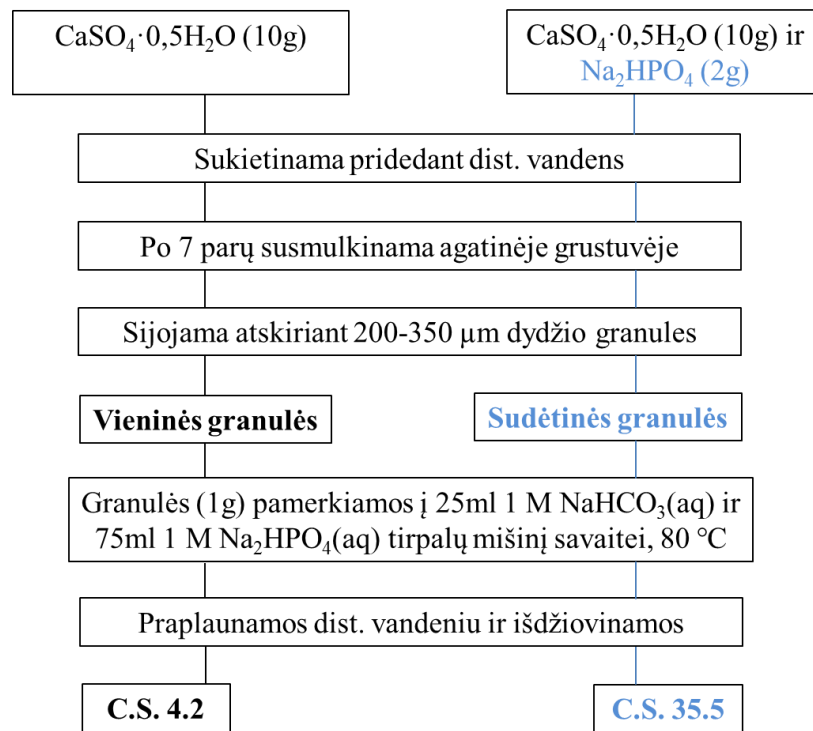
- Kalcio sulfato dihidratas ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 99,0%; Sigma-Aldrich);
- Dinatrio vandenilio fosfatas (Na_2HPO_4 ; 99,0%; Chempur);
- Magnio acetatas tetrahidratas ($\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\geq 99\%$; Roth);
- Natrio vandenilio karbonatas (NaHCO_3 ; 99,0%; Chempur);
- Distiliuotas vanduo.

2.2. Sintezės metodai

2.2.1. Karbonatinio hidroksiapatito granulių sintezė

Pradžioje buvo sintetinės dviejų skirtingų cheminių sudėčių pirmtako granulės. Pirmuoju atveju, siekiant gauti vienines granules, buvo sumaišyti 10,000 g kalcio sulfato hemihidrato ($\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$), gauto iškaitinus kalcio sulfato dihidratą ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 180 °C temperatūroje (24 h), su 8 ml distiliuoto vandens. Antruoju atveju, siekiant gauti sudėtines granules, 10 g $\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$, gauto iškaitinus kalcio sulfato dihidratą 180 °C temperatūroje 24 valandas, buvo homogenizuojami agatinėje grūstuvėje su 2,000 g dinatrio vandenilio fosfato (Na_2HPO_4). Į gautą mišinį, siekiant jį sukietinti, buvo pridėti 8 ml distiliuoto vandens ir gerai išmaišyti. Tuomet bandiniai buvo laikomi kambario temperatūroje 7 paras. Praėjus nurodytam laikui, bandiniai buvo susmulkinami agatinėje grūstuvėje ir sijojami, norint atskirti tam tikro dydžio granules (~200–350 μm).

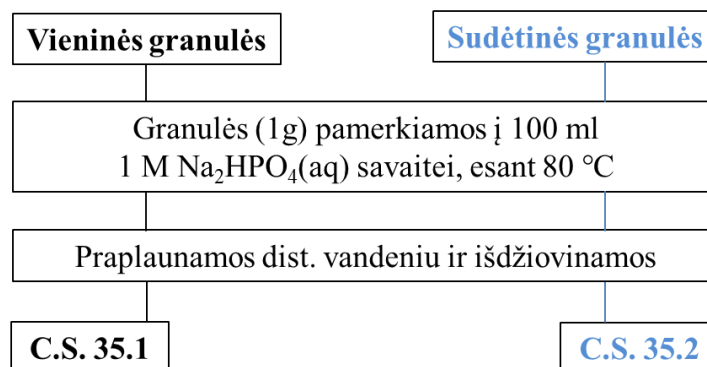
CO_3Ap sintezė buvo atliekama tirpinimo-nusodinimo metodu. Susintetintų vieninių ir sudėtinių granulių bandiniai (po 1,000 g) buvo atskirai pamerkti tirpale, gautame sumaišius 75 ml 1 M Na_2HPO_4 tirpalo su 25 ml 1 M NaHCO_3 tirpalu, 80 °C temperatūroje vieną savaitę. Praėjus savaitei, pagamintos granules buvo nufiltruotos, kelis kartus praplautos distiliuotu vandeniu (200 ml) ir džiovinamos džiovinimo krosnyje 70 °C temperatūroje, 24 valandas. Išdžiovinti mėginiai dar kartą nusijojami sietu, siekiant atskirti reikiamo (~200–350 μm) dydžio granules. Mėginys, gautas pamerkiant vienines granules Na_2HPO_4 ir NaHCO_3 tirpalų mišinyje, šiame darbe pavadintas C.S.4.2, o gautas pamerkiant sudėtines granules šiame darbe pavadintas C.S.35.5. 15 pav. schematiškai vaizduojama CO_3Ap granulių sintezė.



15 pav. CO₃Ap granulių sintezės schema.

2.2.2. Kalcio deficitinio hidroksiapatito granulių sintezė

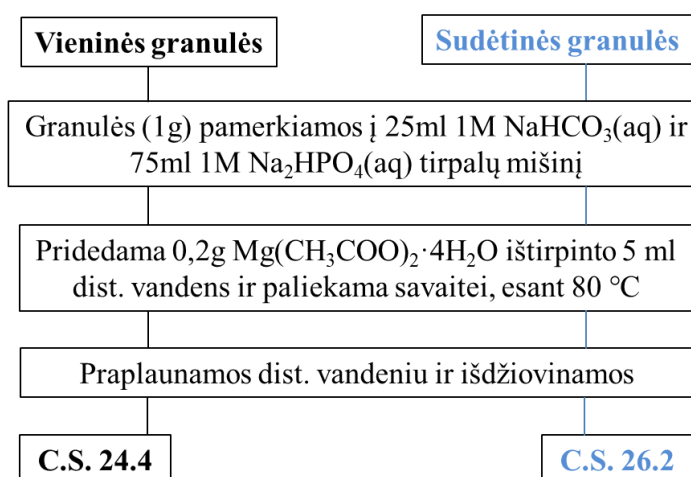
CDHA sintezė buvo atliekama tirpinimo-nusodinimo metodu, panaudojant dviejų skirtingų cheminių sudėčių pirmtako granules. Vieninės ir sudėtinės pirmtako granulės buvo susintetintos tokiu pat metodu kaip ir granulės panaudotos sintetinant CO₃Ap (pirmtako granulių sintezė aprašyta 2.2.1. skyrelyje). Susintetintų pradinių granulių bandiniai (po 1 g) buvo atskirai pamerkti į 100 ml 1 M Na₂HPO₄ tirpalą, 80 °C temperatūroje, vieną savaitę. Mėginys, gautas pamerkiant vienines granules į Na₂HPO₄ tirpalą, šiame darbe pavadintas C.S.35.1, o mėginys, gautas pamerkiant sudėtines granules į Na₂HPO₄ tirpalą, šiame darbe pavadintas C.S.35.2. Praėjus savaitei, C.S.35.1 ir C.S.35.2 granulės kelis kartus buvo praplaunamos distiliuotu vandeniu (200 ml) ir džiovinamos džiovinimo krosnyje 70 °C temperatūroje, 24 valandas. Išdžiovinti mėginiai buvo dar kartą sijojami sietu, siekiant atskirti tinkamo (~200–350 μm) dydžio granules. 16 pav. schematiškai vaizduojama CDHA granulių sintezė.



16 pav. CDHA granulių sintezės schema.

2.2.3. Magnio vitlokito granulių sintezė

WH sintezė buvo atliekama tirpinimo-nusodinimo metodu, panaudojant dviejų skirtingų cheminių sudėčių pirmtako granules. Vieninės ir sudėtinės pirmtako granulės buvo susintetintos tokiu pat metodu kaip ir granulės panaudotos sintetinant CO_3Ap (pirmtako granulių sintezė aprašyta 3.2.1. skyrelyje). Susintetintų vieninių ir sudėtinųjų granulių bandiniai (po 1 g) pradžioje buvo atskirai sumaišyti su tirpalu, gautu sumaišius 75 ml 1 M Na_2HPO_4 tirpalo su 25 ml 1 M NaHCO_3 tirpalu. Tada į paruoštą mišinį buvo įpiltas tirpalas, gautas ištirpinus 0,200 g (ir kiti kiekiai kaip aprašyta poskyryje 4.3.) magnio acetato tetrahidrato ($\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 5 ml distiliuoto vandens. WH sintezė buvo vykdoma 80 °C temperatūroje, vieną savaitę. Mėginys, gautas pamerkiant vienines granules, šiame darbe pavadintas C.S.24.4, o mėginys, gautas pamerkiant sudėtinės granules, šiame darbe pavadintas C.S.26.2. Praėjus savaitei, C.S.24.4. ir C.S.26.2. bandiniai kelis buvo nufiltruoti, kartus buvo praplauti distiliuotu vandeniu (200 ml) ir džiovinti džiovintuvu krosnyje 70 °C temperatūroje, 24 valandas. Išdžiovinti mėginiai dar kartą buvo sijojami sietu, siekiant atskirti tinkamo (~200–350 μm) dydžio granules. 17 pav. schematiškai vaizduojama CDHA granulių sintezė.



17 pav. WH granulių sintezės schema.

2.3. Naudota aparatūra

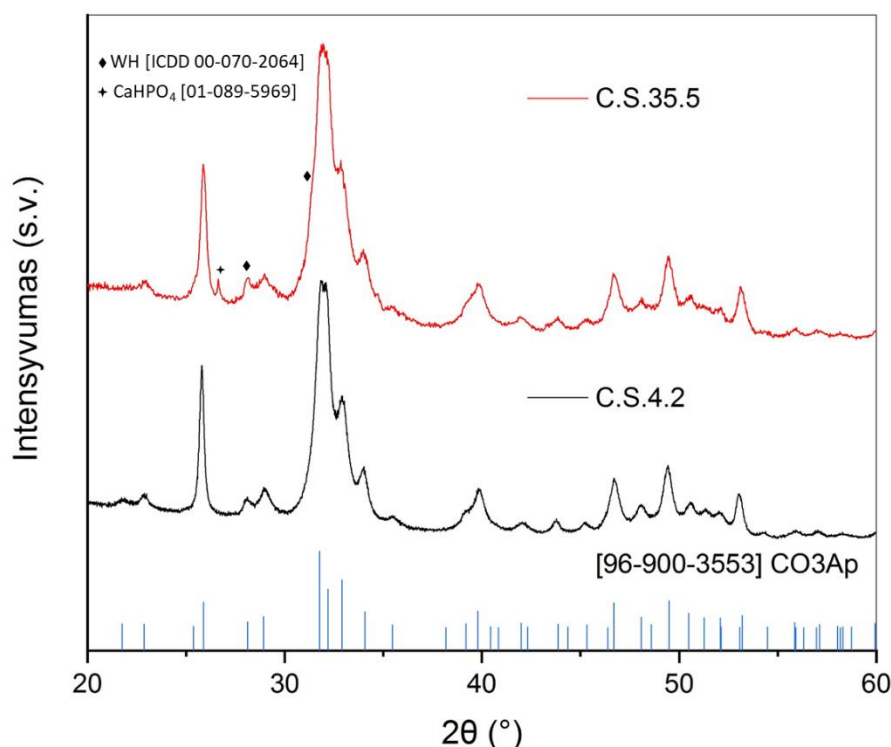
Susintetintų mėginių miltelių fazinė analizė buvo atlikta susmulkinus granules agatinėje grustuveje ir panaudojant rentgeno spindulių difraktometrą (XRD) Rigaku. MiniFlex II, Cu $\text{K}\alpha_1$ spinduliuotėje ($\lambda = 1,5419 \text{ \AA}$). Matavimai buvo atliekami 2θ intervale nuo 20 iki 60°, 2°/min skenavimo greičiu. Susintetintų medžiagų kristalinės fazės buvo identifikuotos tyrimo metu gautas difraktogramas lyginant su jungtinių miltelių difrakcijos standarto kortele, ICDD duomenų bazėje. Susintetintos granulės taip pat buvo tirtos Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopijos (FTIR) metodu, panaudojant Briker ALPHA-FTIR spektrometrą. FTIR spektrai buvo rašomi 4000–400 cm^{-1} intervale, atliekant po 25 skenavimus. Susintetintų jungtinių morfologija buvo tiriama panaudojant skenuojantį elektroninį mikroskopą Hitachi Tablet3000.

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Karbonatinio hidroksiapatito granulių sintezė

Šioje darbo dalyje pateikiami CO_3Ap granulių mėginių, gautų tirpinimo-nusodinimo metodu, sintezės ir apibūdinimo rezultatai. Pagamintos produktų granulės buvo tirtos Rentgeno spindulių difrakcinės analizės (XRD), Furjė transformacinės infraraudonosios spektroskopijos (FTIR) ir skenuojančios elektroninės mikroskopijos (SEM) metodais.

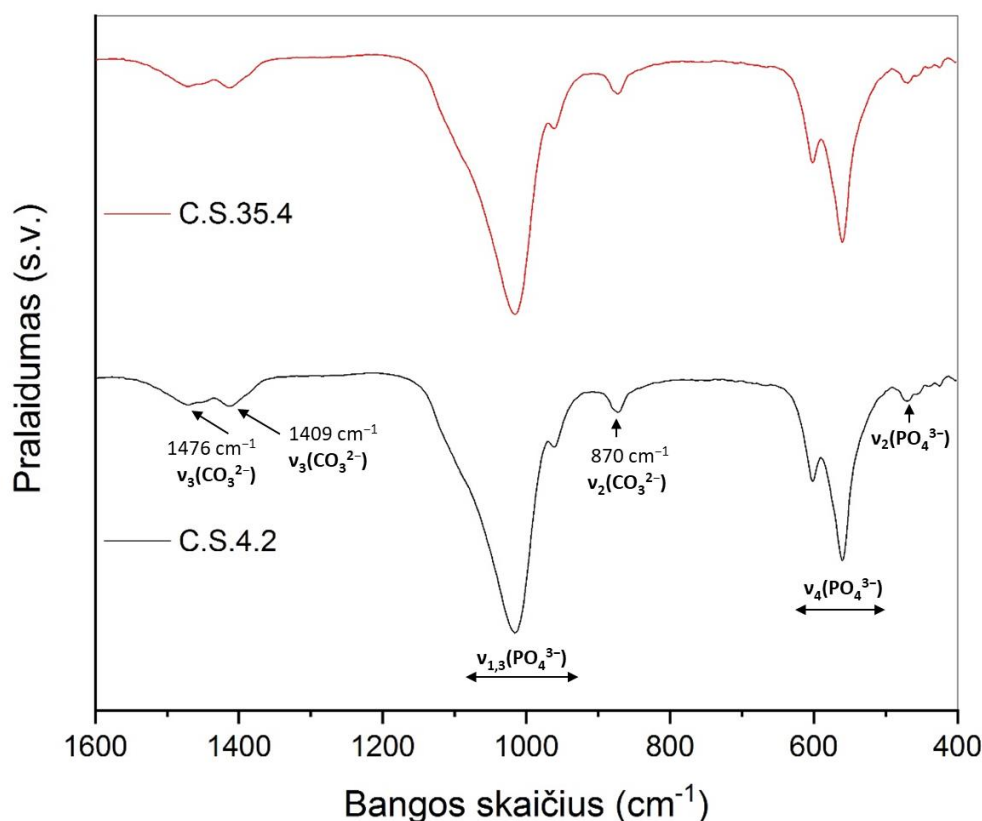
CO_3Ap granulių sintezė buvo atlikta 7 paroms pamerkiant dviejų rūšių pradines granules, o būtent, sudarytas tik iš gipso (vieninės granules; C.S.4.2), bei sudarytas iš gipso ir pridėtinio Na_2HPO_4 (sudėtinės granulės; C.S.35.5), į tirpalą, gautą sumaišius 25 ml 1 M NaHCO_3 su 75 ml 1 M Na_2HPO_4 tirpalu, esant 80 °C temperatūrai. Susintetintų produktų XRD analizės rezultatai pateikiami 18 paveiksle. Difraktogramose užfiksuotas atspindžių padėtis palyginę su standartinė CO_3Ap difraktograma, pateiktą 18 paveikslo apatinėje dalyje, matome, kad C.S.4.2 ir C.S.35.5 pasižymi apatitine struktūra (ICDD rinkmenos numeris 96-900-3553). XRD smailės, esančios ties $2\theta = 31,89^\circ$; $32,18^\circ$; $32,68^\circ$ ir $33,88^\circ$ puikiai atitinka karbonatinio hidroksiapatito *hkl* kristalografines (211), (112), (300) ir (202) plokštumas. Pažymėtina, kad gautų mėginių difraktogramų smailės yra plačios, susiliejusios ir nedidelio intensyvumo. Tai leidžia teigti, jog susintetinti C.S.4.2 ir C.S.35.5 mėginiai sudaryti iš nanodalelių ir yra žemo kristališkumo. Pažymėtina, kad mėginio gauto iš sudėtinių granulių (C.S.35.5) rentgenogramoje, užfiksuotos smailės labiau susiliejusios, ne taip atsiskyrusios



18 pav. Vieninių C.S.4.2 ir sudėtinių C.S.35.5 granulių mėginių, atlikus tirpinimo-nusodinimo sintezę, XRD. ♦ pažymėtos WH smailės (ICDD rinkmenos numeris 00-070-2064). † pažymėta monetito smailė (ICDD rinkmenos numeris 01-089-5969). Vertikaliomis linijomis, paveikslo apačioje, pavaizduota standartinė CO_3Ap difraktograma (ICDD rinkmenos numeris 96-900-3553).

kaip C.S.4.2 mėginio, taigi C.S.35.5 mėginio kristališkumas yra kiek mažesnis. C.S.4.2 granulių rentgenogramoje nėra identifikuota jokių priemaišinių kristalinių fazių, todėl galima teigti, jog pradinės vieninės C.S.4.2 granulės pavirto į CO₃Ap granules. Tačiau mėginyje C.S.35.5 buvo identifikuota papildoma magnio vitlokito (WH) fazė (~20 mėginio masės%), nepaisant to, kad į reakcijos mišinį nebuvo pridėta magnio. C.S.35.5 difraktogramoje matome WH struktūrą atitinkančias smailes ties $2\theta = 26,64^\circ$; $28,12^\circ$ ir $31,53^\circ$ (18 paveiksle WH pažymėtas \blacklozenge ; ICDD rinkmenos numeris 00-070-2064). Manoma, kad magnio jonų buvo pradiniame kalcio sulfato hemihidrate, be to iš literatūros duomenų yra žinoma, kad WH susidaro esant kalcio, fosforo jonams bei magnio pertekliui tirpale [26]. Deja, nėra aišku, kodėl WH struktūros junginys susidarė tik sudėtinėse granulėse, kurių pirmtako granulėse kalcio sulfato dihidrato ir, atitinkamai, magnio turėtų būti net šiek tiek mažiau. C.S.35.5 mėginyje be CO₃Ap ir WH fazių, susidarė ir nedidelis kiekis biosuderinamo monetito (ICDD duomenų bazės rinkmenos numeris 01-089-5969).

Siekiant nustatyti tirpinimo-nusodinimo metodu susintetintose C.S.4.2 ir C.S.35.5 granulėse esančias funkcines grupes, buvo pasinaudota FTIR analize. 19 paveiksle pateikiami susintetintų C.S.4.2 ir C.S.35.5 pavyzdžių FTIR spektrai. Akivaizdu, kad nepaisant XRD tyrimo metu nustatyto mėginių fazinės sudėties skirtumo, abu FTIR spektrai yra beveik identiški. Gautuose spektruose matomos keturios fosfato (PO₄³⁻) jono virpesių juostos: plati ν_3 1085–1010 cm⁻¹ srityje, ν_1 ties 964 cm⁻¹, plati ν_4 611–545 cm⁻¹ srityje ir ν_2 ties 470 cm⁻¹ [43].

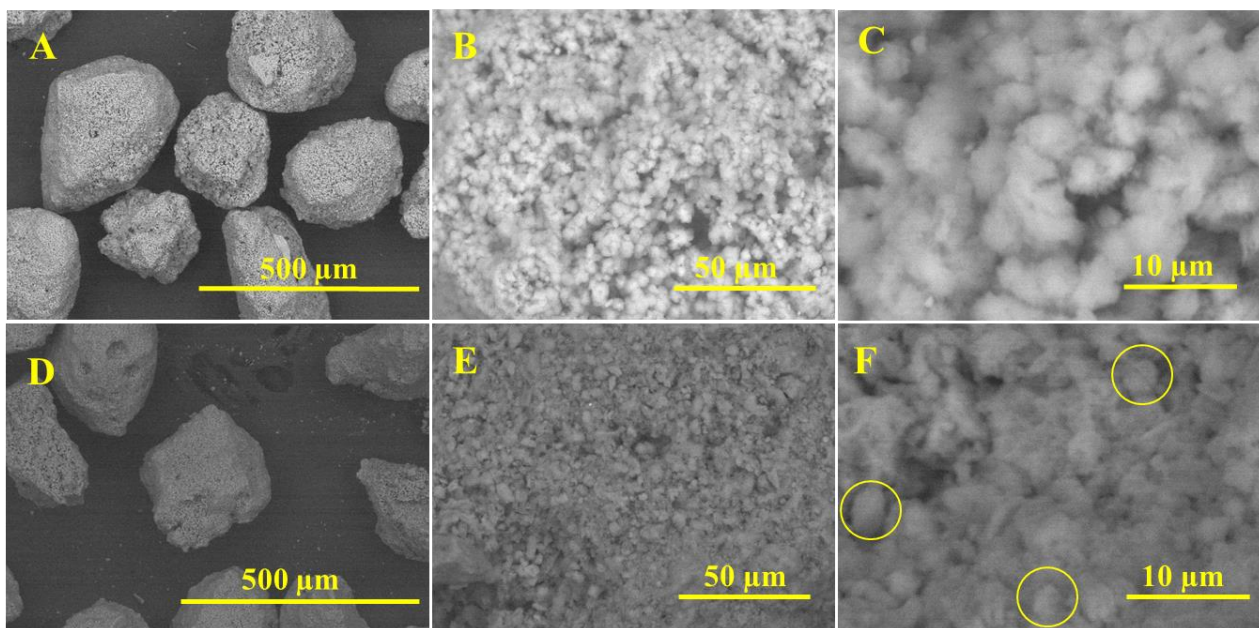


19 pav. Vieninių C.S.4.2 ir sudėtinių C.S.35.5 granulių mėginių, atlikus tirpinimo-nusodinimo sintezę, FTIR spektrai.

CO₃Ap susidarymas vyksta, kai karbonato (CO₃²⁻) grupė įsiterpia į apatitinę struktūrą pakeisdamos fosfato ir (arba) hidroksido grupes. Vyraujančio pakeitimo pagrindu CO₃Ap yra

skirstomas į: A-tipo, kai karbonato grupė pakeičia fosfato grupę; B-tipo, kai karbonato grupė pakeičia hidroksido grupes; ir A-B tipo CO_3Ap , kai vienu metu karbonato grupės pakeičia fosfato ir hidroksido grupes [43, 44]. C.S.4.2 ir C.S.35.5 granulių mėginių, atlikus tirpinimo-nusodinimo sintezę, FTIR spektruose aiškiai matomos karbonato (CO_3^{2-}) jonui, esančiam apatito struktūroje, virpesių juostos: ν_3 ties 1476 cm^{-1} ir 1409 cm^{-1} ir ν_2 ties 870 cm^{-1} [43]. Spektre užfiksuoti $\nu_3(\text{CO}_3^{2-})$ virpesiai leidžia teigti, kad susidarė B-tipo pakeistas CO_3Ap , analogiškas biologiškai susiformavusiam apatitui, esančiam žinduolių kauliniame audinyje [45]. FTIR tyrimo metu, magnio vitlokite esanti hidrofosfato (HPO_4^{2-}) grupė, kurios absorbcija įprastai stebima ties 860 cm^{-1} , spektre nebuvo užfiksuota [26].

C.S.4.2 ir C.S.35.5 granulių, atlikus tirpinimo-nusodinimo sintezę, paviršiaus morfologija buvo iširta skenuojamąja elektronine mikroskopija. Gautos nuotraukos pateiktos 20 paveiksle. Akivaizdu, nepaisant to, kad sintezės metu naudojant skirtingos sudėties C.S.4.2 ir C.S.35.5 pirmtako granules, bei XRD tyrimo metu nustatyto sintezės produktų fazinės sudėties skirtumo (žiūrėti 18 paveikslą), abiejų mėginių morfologija panaši. Sprendžiant iš 20 pav. A ir D dalyse pateiktų nuotraukų, susintetintos 300–350 μm abiejų produktų granulės. Pažymėtina, kad C.S.35.5 granulės (20 pav. E ir F dalys) sudarytos iš tankiau susijungusių dalelių, nei dalėlės, sintezės metu susidariusios vieniniame C.S.4.2 pirmtako mėginyje, kuris pasižymi mikroporėta struktūra (20 pav. B ir C dalys). Dėl dalelių aglomeracijos, bei nepakankamo didinimo sunku nustatyti tikrąjį jų dydį. 20 pav. D dalyje galima pastebėti heksagoninės formos $\sim 3\ \mu\text{m}$ daleles, kurios nuotraukoje apibrėžtos geltonu apskritimu. Jos buvo priskirtos WH fazei, kurį jau anksčiau buvo identifikuota C.S.35.5 bandinio difraktogramoje (žiūrėti 18 paveikslą).

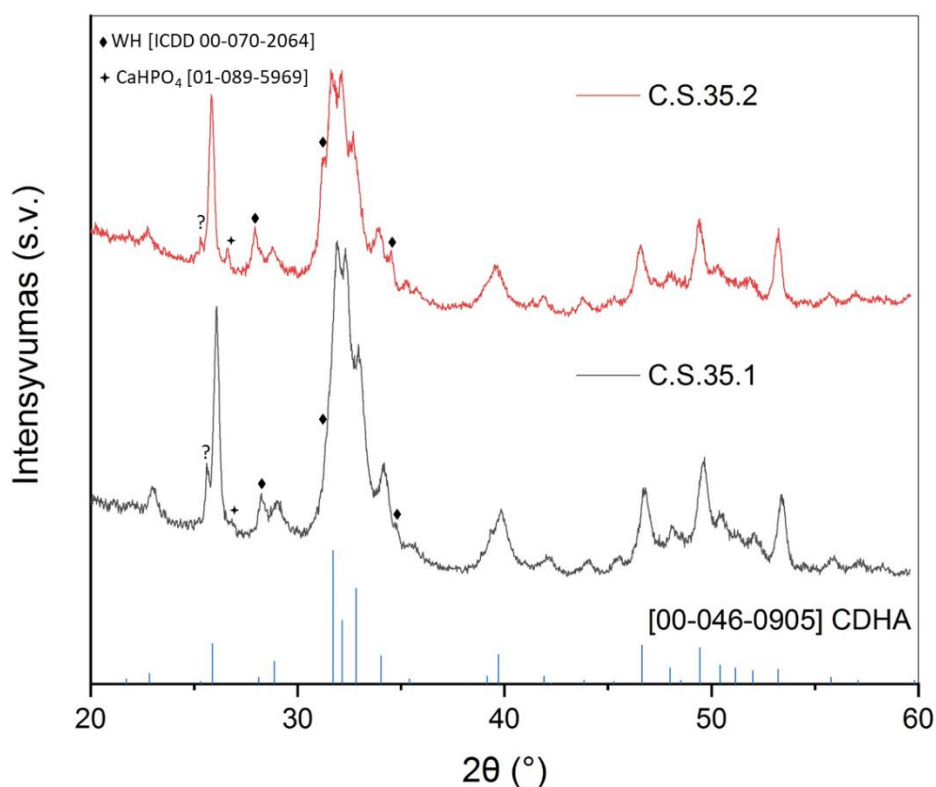


20 pav. Karbonatinio hidroksiapatito granulių, susintetintų tirpinimo-nusodinimo metodu, naudojant skirtingus pirmtakus C.S.4.2 (vieninės pirmtako granules; A – C) ir C.S.35.5 (sudėtinės pirmtako granules D – F), skirtingo didinimo SEM nuotraukos. Geltonai apibrėžtos WH heksagoninės dalelės.

3.2. Kalcio deficitinio hidroksiapatito granulių sintezė

Šioje darbo dalyje pateikiami CDHA granulių mėginių, gautų tirpinimo-nusodinimo metodu, sintezės ir apibūdinimo rezultatai. Pagamintos produktų granulės buvo tirtos XRD, FTIR ir SEM metodais.

CDHA granulių sintezė buvo atlikta 7 paroms pamerkiant dviejų rūšių pradines granules, o būtent, sudarytas tik iš gipso (vieninės granules; C.S.35.1) bei sudarytas iš gipso ir pridėtinio Na_2HPO_4 (sudėtinės granulės; C.S.35.2), į Na_2HPO_4 vandeninį tirpalą, esant $80\text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrai. Susintetintų produktų XRD analizės rezultatai apibendrinti 21 paveiksle. Difraktogramose užfiksuotas atspindžių padėtis palyginę su standartine CDHA difraktograma, pateiktą 21 paveikslo apatinėje dalyje, matome, kad C.S.35.1 ir C.S.35.2 pasižymi apatitine struktūra (ICDD rinkmenos numeris 00-046-0905). XRD smailės, esančios ties $2\theta = 31,79^\circ$; $32,11^\circ$; $32,78^\circ$ ir $33,95^\circ$, puikiai atitinka CDHA *hkl* kristalografines (211), (112), (300) ir (202) plokštumas. Pažymėtina, kad susintetintų mėginių difraktogramų smailės yra plačios, susiliejusios ir nedidelio intensyvumo. Tai leidžia teigti, jog C.S.35.1 ir C.S.35.2 mėginiai sudaryti iš nanodalelių ir yra žemo kristališkumo. Pažymėtina, kad junginio, gauto pamerkiant sudėtinės granulės, C.S.35.2, kristališkumas yra žemesnis nei susidariusio pamerkiant vienines C.S.35.1 pirmtako granules.

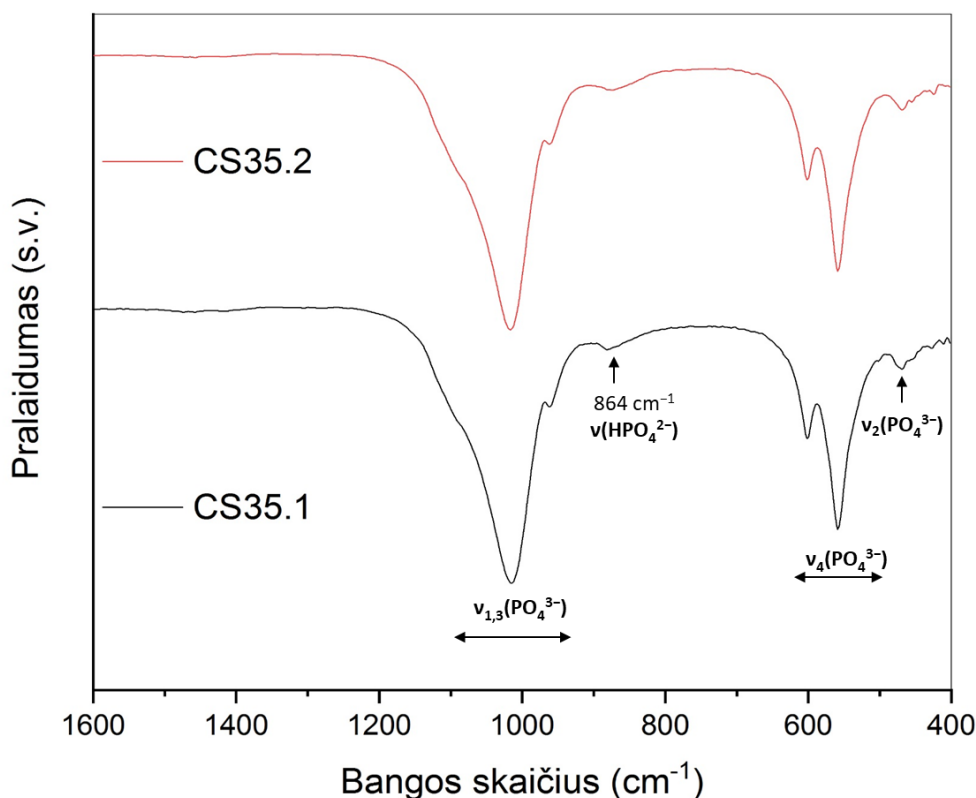


21 pav. Vieninių C.S.35.1 ir sudėtinių C.S.35.2 granulių mėginių, atlikus tirpinimo-nusodinimo sintezę, XRD. ♦ pažymėtos WH smailės (ICDD rinkmenos numeris 00-070-2064). (?) pažymėta neidentifikuota smailė. Vertikaliomis linijomis, paveikslo apatinėje dalyje, pavaizduota standartinė CDHA difraktograma (ICDD rinkmenos numeris 00-046-0905).

Kaip matyti 21 paveiksle be pagrindinės CDHA fazės abiejų pradinių sudėčių granulėse tirpinimo-nusodinimo metodo metu, nepaisant to, kad į reakcijos mišinį nebuvo pridėta magnio jonų šaltinio, susidarė WH fazė. 21 paveiksle pavaizduotose difraktogramose matome WH struktūrą atitinkančius atspindžius ties $2\theta = 26,6^\circ$; $28,10^\circ$; $31,54^\circ$ ir $34,51^\circ$ (21 paveiksle WH pažymėtas ♦;

ICDD rinkmenos numeris 00-070-2064). Apytiksliai 25 ir 37 tiriamo mėginio masės% WH struktūros junginio sudarė tirpinimo-nusodinimo metode, naudojant skirtingus granuliu pirmtakus, o būtent, C.S.35.1 ir C.S.35.2, atitinkamai. Manoma, kad magnio jonų buvo pradiniame kalcio sulfato hemihidrate, be to eksperimentiškai yra nustatyta, kad WH struktūros junginys susidaro esant kalcio, fosforo jonams bei magnio pertekliui tirpale [46]. C.S.35.1 ir C.S.35.2 mėginiuose be CDHA ir WH fazių, susidarė ir nedidelis kiekis monetito (ICDD duomenų bazės rinkmenos numeris 01-089-5969) bei XRD rentgenogramoje aptikta viena smailė ties $2\theta = 25,61^\circ$, tačiau ji nebuvo identifikuota (21 paveiksle pažymėta ?).

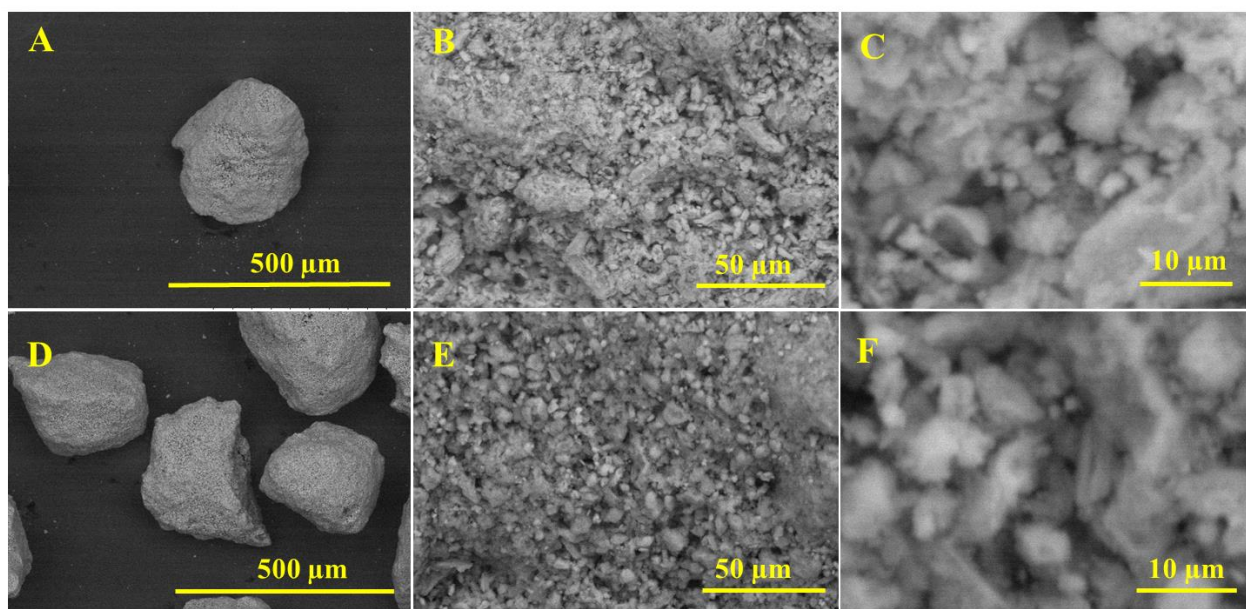
Siekiant nustatyti susintetintose mėginiuose esančias funkcines grupes, buvo pasinaudota FTIR analizės metodu. 22 paveiksle pateikiami tirpinimo-nusodinimo metodu susintetintų pavyzdžių, gautų į 1 M Na_2HPO_4 tirpalą pamerkus C.S.35.1 ir C.S.35.2 pirmtakų granules, FTIR spektrai. Nepaisant to, kad XRD buvo identifikuotos kelios kristalinės fazės ir jų kiekiai mišinyje buvo skirtingi, abu FTIR spektrai beveik identiški. Gautose spektruose matomos keturios charakteringosios PO_4^{3-} jonų virpesių juostos: plati ν_3 1020 – 1090 cm^{-1} srityje, ν_1 ties 963 cm^{-1} , ir plati ν_4 560 – 600 cm^{-1} srityje ir ν_2 ties 470 cm^{-1} . FTIR spektruose matomos mažo intensyvumo, tačiau gan plati juosta ties 864 cm^{-1} priskiriama P–O(H) ryšių virpesiams hidrofosfato (HPO_4^{2-}) grupėje, esančioje CDHA ir WH.



22 pav. Tirpinimo-nusodinimo sintezės metu pagamintų vieninių C.S.35.1 ir sudėtinių C.S.35.2 granuliu FTIR spektrai.

C.S.35.1 ir C.S.35.2 granuliu, atlikus tirpinimo-nusodinimo sintezę, paviršiaus morfologija buvo ištirta SEM. Gautas nuotraukas pateiktos 23 paveiksle. Akivaizdu, nepaisant to, kad sintezės metu naudojant skirtingos sudėties pirmtako granules bei XRD tyrimo metu nustatyto sintezės produktų kiekybinio fazinės sudėties skirtumo (žiūrėti 21 paveikslą), abiejų mėginių morfologija labai panaši. Sprendžiant iš 23 pav. A ir D dalyse pateiktų nuotraukų, susintetintos 300 – 350 μm

abiejų produktų granulės. SEM nuotraukose, vaizduojamose 23 pav. B, C, E, F dalyse, matome, kad gautos granulės yra sudarytos iš netaisyklingos formos dalelių aglomeruotų sankaujų. Pažymėtina, kad atliktos sintezės metu panaudojus vienines C.S.35.1 granules (23 pav. B ir C dalys) produktas sudarytas iš tankiau susijungusių dalelių, nei dalėlės sintezės metu susidariusios sudėtiname C.S. 35.2 pirmtako mėginyje, kuris pasižymi mikroporėta struktūra (23 pav. E ir F dalys).

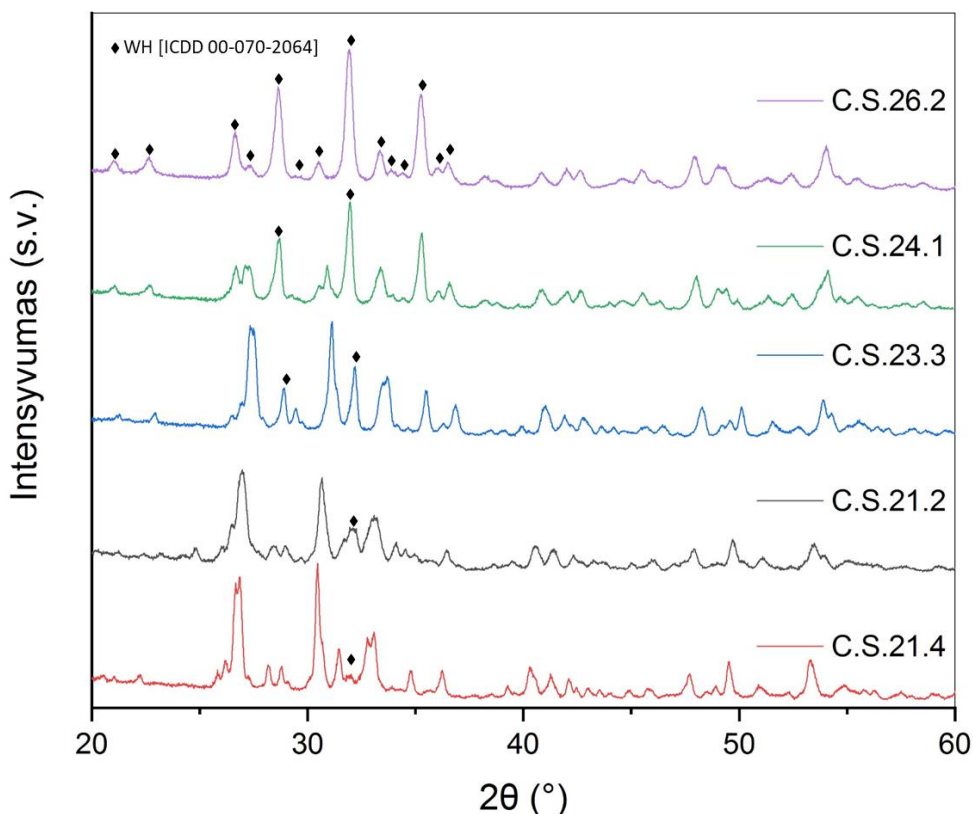


23 pav. Vieninių C.S.35.1 (A–C) ir sudėtinių C.S.35.2 (D–F) granulių, susintetintų tirpinimo-nusodinimo metodu, naudojant skirtingus pirmtakus, skirtingo didinimo SEM nuotraukos.

3.3. Magnio vitlokito granulių sintezė

Šioje darbo dalyje pateikiami WH granulių mėginių, gautų tirpinimo-nusodinimo metodu, sintezės ir apibūdinimo rezultatai. Pagamintos granulės buvo tirtos XRD, FTIR ir SEM metodais. Kaip aprašyta šio magistrinio darbo eksperimentinės dalies 3.1 ir 3.2 poskyriuose, sintetinant CO_3Ap ir CDHA granulių mėginius, ir į reakcijos mišinį nepridėjus magnio jonų šaltinio, kai kuriais atvejais buvo gauti minėtų fazių mišiniai su magnio vitlokitu. Tai paskatino eksperimentiškai pabandyti nustatyti kiek reikėtų į reakcijos mišinį pridėti magnio jonų šaltinio, kad susiformuotų gryna WH fazė. Šis tyrimas buvo atliktas tik su sudėtinėmis pirmtako granulėmis, jas 7 paroms pamerkiant į tirpalą gauta sumaišius 25ml 1M NaHCO_3 su 75ml 1M Na_2HPO_4 tirpalu ir papildomai įpylus tirpalą gautą distiliuotame vandenyje ištirpinus 0,040 g (C.S.21.4), 0,060 g (C.S.21.2), 0,100 g (C.S.23.3), 0,150 g (C.S.24.1) ir 0,200 g (C.S.26.2) magnio acetato tetrahidrato, esant 80 °C temperatūrai. Susintetintų produktų XRD analizės rezultatai apibendrinti 24 paveiksle. Kaip matoma, C.S.21.4 po 7 sintezės parų buvo sudarytos iš monetito ir labai nedidelio kiekio WH. Žinant, kad CaHPO_4 yra stabilus rūgštinėje terpėje, bet nestabilus neutraliuose vandeniniuose tirpaluose, kuriuose virsta į apatitinės struktūros kalcio fosfatą, jo susidarymas reakcijos mišinyje, kuriame $\text{pH} \sim 9$, buvo netikėtas. Manoma, kad padidėjus magnio jonų koncentracijai reakcijos mišinyje, buvo išvengta termodinamiškai stabiliaesnės hidroksiapatito fazės susidarymo, kuris vyko sintetinant CO_3Ap ir CDHA granules. Tirpinimo-nusodinimo reakcijos mišinyje toliau didinant magnio koncentraciją, tai yra, vykdant C.S. 21.2, C.S. 21.2, C.S. 24.1, C.S.26.2 sintezes, tyriamajame mėginyje monotoniškai didėja WH fazės kiekis. Akivaizdu, kad C.S.26.2 pirmtako granulės tirpinimo-nusodinimo procese

pavirto į WH granules, o gautame mėginyje neidentifikuota jokių priemaišinių kristalinių fazių. C.S.26.2 sintezės produkto XRD atspindžiai esantys ties $2\theta = 10,98^\circ; 13,73^\circ; 17,14^\circ; 28,02^\circ; 31,28^\circ$ ir $34,66^\circ$ puikiai atitinka WH *hkl* kristalografines (0 1 2), (1 0 4), (1 1 0), (0 2 10) ir (2 2 0) plokštumas.

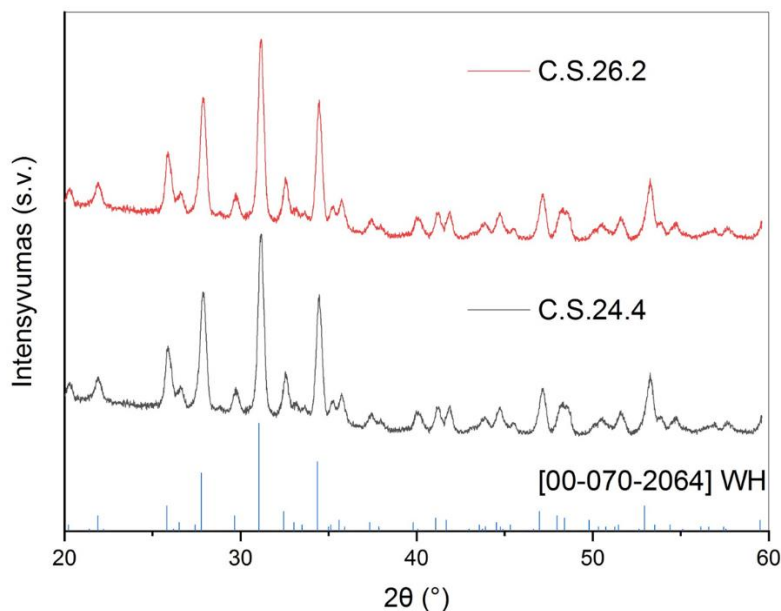


24 pav. WH susintetinto naudojant sudėtines pradines granules, į reakcijos mišinį pridėjus skirtingą magnio acetato tetrahidrato kiekiui: C.S.21.4 – 0,04 g; C.S.21.2 – 0,06 g; C.S.23.3 – 0,10 g; C.S.24.1 – 0,15 g; C.S.26.2 – 0,20 g. ♦ pažymėta WH intensyviausia atspindžio smailė.

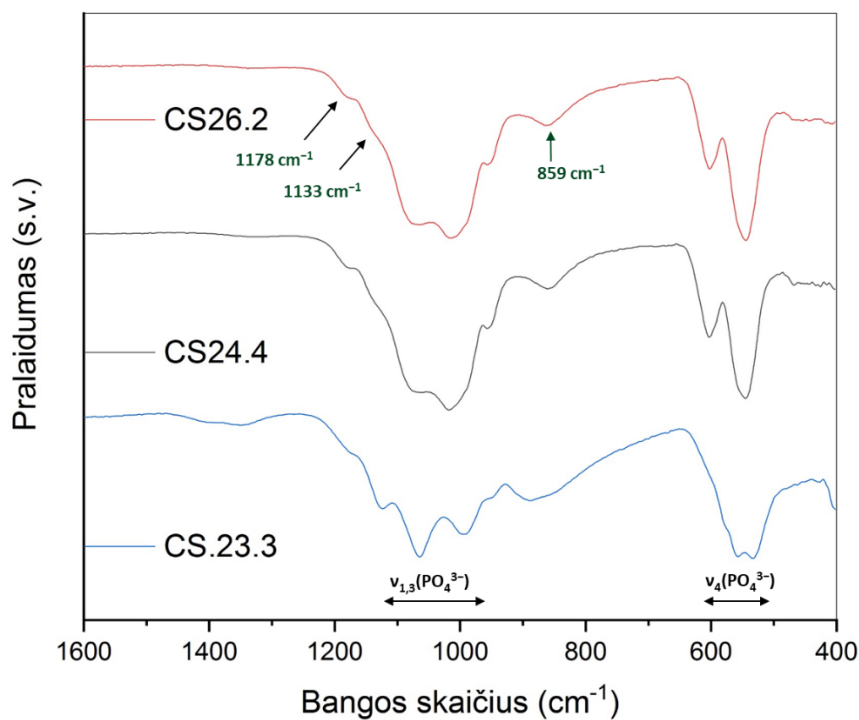
Sintetinant magnio vitlokita, pamerkiant vienininį pirmtaką – sudarytą tik iš gipso, į tirpalą gauta sumaišius 25ml 1M NaHCO₃ su 75ml 1M Na₂HPO₄ tirpalu, papildomai buvo įpiltas tirpalas gautas distiliuotame vandenyje ištirpinus 0,20 g (C.S.24.4) magnio acetato tetrahidrato. Susintetinto produkto XRD analizės rezultatai pateikti 25 paveiksle kartu su rezultatais gautais sintetinant sudėtinį C.S.26.2 mėginį. Abiejose difraktogramose užfiksuotas atspindžių padėtis palyginę su standartine WH difraktograma, pateiktą 25 paveikslo apatinėje dalyje, matome, kad C.S.24.4 ir C.S.26.2 pasižymi vitlokitiui būdinga kristaline struktūra (ICDD rinkmenos numeris 00-070-2064). Gautuose mėginiuose neidentifikuota jokių priemaišinių kristalinių fazių, todėl galima teigti, jog bandiniai C.S.24.4 ir C.S.26.2 sudaryti iš WH fazės.

Siekiant nustatyti WH granulių mėginiuose esančias funkcines grupes, buvo pasinaudota FTIR analizės metodu. 26 paveiksle be susintetintų vienfazių C.S.24,4, C.S.26.2 pavyzdžių, pateiktas ir C.S.23.3 dvifazio mėginio FTIR spektras. Matyti, kad C.S.24,4 ir C.S.26.2 FTIR spektrai yra identiški, o tai reiškia, kad naudojant skirtingus sudėčių pirmtakus tirpinimo-nusodinimo sintezės procese susiformavo tos pačios kristalinės struktūros junginiai. Gautuose FTIR spektruose matomos PO₄³⁻ jonų virpesių juostos: $\nu_{1,3}$ 1090 – 930 cm⁻¹ ir ν_4 640 – 500 cm⁻¹ srityse. Paminėtina, kad mėginių spektruose be PO₄³⁻ jonui priklausančių absorbcijos juostų matomi HPO₄²⁻ grupės esančios WH struktūroje signalai: smailė ties 859 cm⁻¹ priskirta P–O–H ryšio virpesiams, o prie didesnių

bangos skaičių esančios juostos (1133 cm^{-1} ir 1178 cm^{-1}) priskirtos hidrofosfatinės grupės rezonansiniams virpesiams [49]. Skirtingai nei C.S.24.4 ir C.S.26.2, C.S.23.3 FTIR spektre, be WH priskiriamų absorbcijos juostų, matomi monetito būdingi virpesiai ties 1402 cm^{-1} , 1350 cm^{-1} , 889 cm^{-1} , 558 cm^{-1} , kas puikiai koreliuoja su XRD rezultatais, pateiktame 24 paveiksle.

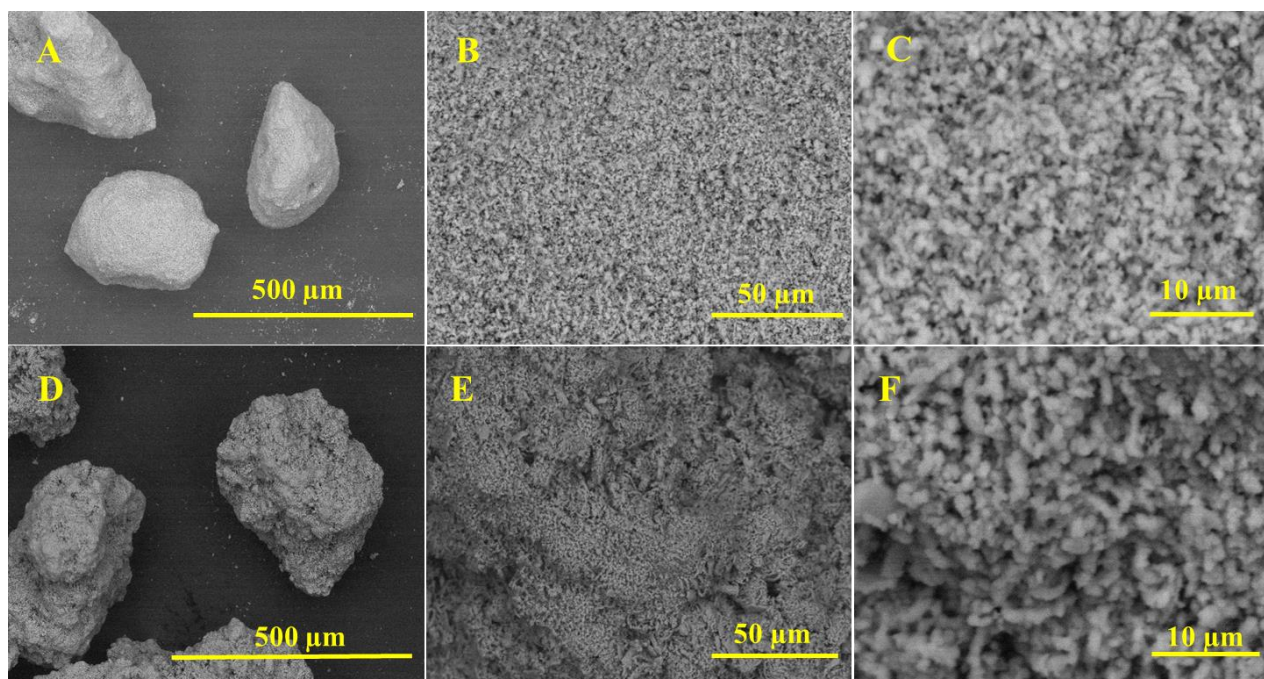


25 pav. C.S.24.4 ir C.S.26.2 granulių mėginių, atlikus tirpinimo-nusodinimo sintezę, XRD. Vertikaliomis linijomis paveikslo apatinėje dalyje pavaizduota standartinė WH difraktograma (ICDD rinkmenos numeris 00-70-2064).



26 pav. Susintetintų susėtinių C.S.23.3 ir C.S.24.4 bei vieninių C.S.26.2 granulių FTIR spektrai.

C.S.24.4 ir C.S.26.2 granulių, susintetintų atlikus tirpinimo-nusodinimo sintezę, paviršiaus morfologija buvo ištirta SEM. Gautas nuotraukos pateiktos 27 paveiksle. Sprendžiant iš 27 pav. A ir D dalyse pateiktų nuotraukų, susintetintos 300–350 μm produktų granulės. Akivaizdu, nepaisant to, kad sintezės metu naudojant skirtingos sudėties pirmtako granules abiejų mėginių morfologija labai panaši. SEM nuotraukose, vaizduojamose 27 pav. B, C, E, F dalyse, matome, kad gautos granulės yra sudarytos iš neapibrėžtos formos dalelių aglomeruotų sancaupų. Pažymėtina, kad atliktos sintezės metu panaudojus vienines C.S.24.4 granules (23 pav. B ir C dalys) produktas sudarytos iš tankiau susijungusių bei mažesnių dalelių, nei dalėlės sintezės metu susidariusios sudėtiname C.S.26.2 pirmtako mėginyje, kuris pasižymi mikroporėta struktūra (23 pav. E ir F dalys).



27 pav. Magnio vitlokito C.S.24.4 (vieninės pirmtako granules; A – C) ir C.S.26.2 (sudėtinės pirmtako granules; D – F) granulių, susintetintų tirpinimo-nusodinimo metodu, skirtingo didinimo SEM nuotraukos.

IŠVADOS

1. Naudojant kalcio sulfato hemihidratą ir fosfatinę druską susintetintos dviejų cheminių sudėčių, pirmtako granulės.
2. Tirpinimo-nusodinimo metodu, panaudojus pirmtakų granules, susintetintos 200 – 350 μm žemo kristališkumo CO_3Ap granulės. Nustatyta, kad gautų produktų kristališkumas tik nežymiai priklauso nuo pirmtako granulių sudėties: vieninių, sudarytų tik iš gipso, granulių kristališkumas nežymiai didesnis nei sudėtinių, sudarytų iš gipso ir fosfatinės druskos. XRD rezultatai patvirtino, jog vienfazis produktas susidarė tik iš vieninių pradinių granulių. FTIR spektre užfiksuoti virpesiai leido patikslinta, kad susintetintas B tipo pakeistas CO_3Ap . SEM tyrimu pastebėta, jog pirmtako granulių, bei produkto cheminė sudėtis tik nežymiai įtakoja produkto mikrostruktūrą.
3. Tirpinimo-nusodinimo metodu, panaudojus pirmtakų granules, susintetintos 200 – 350 μm produktų granulės, sudarytos iš CDHA, WH bei nedidelio kiekio monetito. XRD ir FTIR analizės rezultatai leido nustatyti produktų fazinę sudėtį. SEM tyrimu pastebėta, jog pirmtako granulių bei produkto cheminė sudėtis tik nežymiai įtakoja susintetinto produkto mikrostruktūrą.
4. Tirpinimo-nusodinimo metodu, panaudojus dviejų cheminių sudėčių pirmtakus, susintetintos 200 – 350 μm žemo kristališkumo WH granulės. Nustatytas reikalingas pridedamo $\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ kiekis, dėl kurio susidaro vienfaziai WH mėginiai. SEM tyrimu pastebėta, jog produktas gautas iš vieninių pirmtako granulių sudarytas iš tankesnės mikrostruktūros bei mažesnių dalelių, nei dalelės sintezės metu susidariusios sudėtiniame pirmtako mėginyje, kuris pasižymi mikroporėta struktūra.

LITERATŪROS ŠARŠAS

1. D. Stošić ir kt., Glycerol dehydration over calcium phosphate catalysts: Effect of acidic-basic features on catalytic performance, *Applied Catalysis A: General*, 447–448(2012)124–134, doi: 10.1016/j.apcata.2012.09.029
2. K. Ishikawa, *Handbook of intelligent scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine*, Pan Stanford Pub, Singapore 141160 (2017), <http://doi.org/10.2109/jcersj2.19042>
3. M. Bohner, Resorbable biomaterials as bone graft substitutes, *1–2* (2010) 24–30, [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(10\)70014-6](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(10)70014-6).
4. F.C.M. Driessens, R.M.H. Verbeeck, *Biomaterials*, CRC Press, Boca Raton, 1990.
5. S. V. Dorozhkin, Les orthophosphates de calcium (CaPO₄): occurrence et propriétés, *Morphologie*, Elsevier Masson SAS, 101, 334 (2017) 125–142, doi: 10.1016/j.morpho.2017.03.007.
6. T. Lise de Jonge, Sander C. G. Leeuwenburgh, Joop G. C. Wolke & John A. Jansen, Organic–Inorganic Surface Modifications for Titanium Implant Surfaces, *Pharmaceutical Research*, 25 (2008) 2357–2369,
7. H. Cheng, R. Chabok, X. Guan, A. Khademhosseini, H. L. Jang, Synergistic interplay between the two major bone minerals, hydroxyapatite and whitlockite nanoparticles, for osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells, *Acta Biomaterialia* 69 (2018) 342–351.
8. J. C. Elliott, *Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates*. Oxford, Elsevier Science & Technology, 1994.
Magnesium Whitlockite, a Calcium Phosphate Crystal of Special Interest in Pathology, *Pathology - Research and Practice* 199(5) (2003) 329–35, DOI:10.1078/0344-0338-00425.
9. Biomet Deutschland GmbH, „Bone Substitute Materials.“ Overview, p. 1–16.
10. S. v Dorozhkin, “Multiphasic calcium orthophosphate (CaPO₄) bioceramics and their biomedical applications,” *Ceramics International*, 6(2016) 6529–6554, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.01.062>.
11. D.-M. Liu, T. Troczynski, W. J. Tseng, “Water-based sol–gel synthesis of hydroxyapatite: process development,” *Biomaterials*, 22 13 (2001) 1721–1730, doi: [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(00\)00332-X](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(00)00332-X).
12. J. Lee, G.H. Kim, Calcium-Deficient Hydroxyapatite/Collagen/Platelet-Rich Plasma Scaffold with Controlled Release Function for Hard Tissue Regeneration, *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 4 1 (2018) 278–289.
13. F.C.M. Driessens, R.M.H. Verbeeck, *Biomaterials*, CRC Press, Boca Raton, 1990.
14. S.Gabriel, Chemische Untersuchungen über die Mineralstoffe der Knochen und Zähne, *Hoppe-Seyler’s Z. Physiol. Chem.* 18 (1894) 257–303.
15. D.Carlstrom, X-ray crystallographic studies on apatites and calcified structures, *Acta. Radiol. Supplementum* 121 (1955) 1.
16. S. Breibart, J.S. Lee, A. McCoord, G.B. Forbes, Relation of age to radiomagnesium e change in bone, *Exp. Biol. Med.* 105 (1960) 361–363.
17. H.Q. Woodard, The elementary composition of human cortical bone, *Health Phys.* 8 (1962) 513–517.
18. J. Duckworth, R. Hill, The storage of elements in the skeleton, *Nutr. Abstr. Rev.* 23 (1953) 1–17.
19. Zipkin, The inorganic composition of bones and teeth, *Biological Calcification: Cellular and Molecular Aspects*, Springer, Boston, (1970)69–103.
20. M. Long, H. Rack, Titanium alloys in total joint replacement – a materials science perspective, *Biomaterials* 19 (1998) 1621–1639.
21. Internetinė sveitainė: <https://en.wikipedia.org/wiki/Whitlockite>
22. Gopal, C. Calvo, Structural Relationship of Whitlockite and β-Ca₃(PO₄)₂. *Nature Physical Science*,. 237(71) (1972) 30–32, DOI: <https://doi.org/10.1038/physci237030a0>.
23. T. Debrouse, E. Colombo, G. Belletti, J. Vekeman, Y. Su, R. Papoular, N. S. Hwang, D. Bazin, M. Daudon, P. Quaino, F. Tielens, One Step Further in the Elucidation of the Crystallographic Structure of Whitlockite. *Crystal Growth & Design*, 20(4) (2020) 2553–2561, DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.9b01679>
24. Tas, A. C. Transformation of brushite (CaHPO₄·2H₂O) to whitlockite (Ca₉Mg(HPO₄)(PO₄)₆) or other CaPs in physiologically relevant solutions, *Journal of the American Ceramic Society* 99 (2016) 1200–1206.
25. H. L. Jang, H. K. Lee, K. Jin, H.-Y. Ahn, H.-E. Lee, K. T. Nam, Phase transformation from hydroxyapatite to the secondary bone mineral, whitlockite. *Journal of Materials Chemistry B*, 3(7) (2015) 1342–1349, DOI: <https://doi.org/10.1039/C4TB01793E>.
26. H. Nagai, M. Kobayashi-Fujioka, K. Fujisawa, G. Ohe, N. Takamaru, K. Hara, D. Uchida, T. Tamatani, K. Ishikawa, Y. Miyamoto. Effects of low crystalline carbonate apatite on proliferation and osteoblastic differentiation of human bone marrow cells. *J. Mater. Sci.-Mater. Med.* 26:99 (2016).
27. K. Ishikawa, Bone Substitute Fabrication Based on Dissolution-Precipitation Reactions, *Materials* 3(2) (2010)1138–1155, <https://doi.org/10.3390/ma3021138>.

28. I. Grigoraviciute-Puroniene, K. Tsuru, E. Garskaite, Z. Stankeviciute, A. Beganskiene, K. Ishikawa, A. Kareiva, A novel wet polymeric precipitation synthesis method for monophasic β -TCP, *Advanced Powder Technology* 28 (2017) 2325-2331.
29. K. Ioku et al., "Porous granules of β -tricalcium phosphate composed of rod-shaped particles," in *Key Engineering Materials*, (2006)1059–1062, doi: 10.4028/www.scientific.net/kem.309-311.1059.
30. I. Grigoraviciute-Puroniene, Y. Tanaka, V. Vegelyte, Y. Nishimoto, K. Ishikawa, A. Kareiva, A novel synthetic approach to low-crystallinity calcium deficient hydroxyapatite, *Ceramics International* 45 (2019) 15620-15623.
31. A.B.H.Yoruç, A.Aydinoğlu, The precursors effects on biomimetic hydroxyapatite ceramic powders, *Materials Science and Engineering*,75 (2017) 934–94, <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.02.049>
32. C. Ortali., I. Julien, M. Vandenhende , C. Drouet E. Champion, Consolidation of bone-like apatite bioceramics by spark plasma sintering of amorphous carbonated calcium phosphate at very low temperature, (2018) *Journal of the European Ceramic Society*, 38(4)(2017)2098-2109, <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2017.11.051>.
33. M. Kanazawa, K. Tsuru, N. Fukuda, Y. Sakemi, Y. Nakashima, K. Ishikawa, Evaluation of carbonate apatite blocks fabricated from dicalcium phosphate dihydrate blocks for reconstruction of rabbit femoral and tibial defects, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*,85 (2017).
34. D.P.Minh, A.Nzihou, P. Sharrock, Carbonated hydroxyapatite starting from calcite and different orthophosphates under moderate hydrothermal conditions: Synthesis and surface reactivity in simulated body fluid, *Materials Research Bulletin*, Elsevier, 60(2014) 292-299. [ff10.1016/j.materresbull.2014.08.052ff](https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2014.08.052).
35. Q.J. He, Z.L.Huang, X. K. Cheng, J.Yu, Thermal stability of porous A-type carbonated hydroxyapatite sphere, *Materials Letters* 62 (2008) 539–542, doi:10.1016/j.matlet.2007.06.001.
36. K. ISHIKAWA, S.MATSUYA, X. LIN, Z.LEI, T. YUASA and Y. MIYAMOTO, Fabrication of low crystalline B-type carbonate apatite block from low crystalline calcite block, *Journal of the Ceramic Society of Japan* 118 [5] (2010) 341-344.
37. K.Tsuru, A.Yoshimoto, M.Kanazawa, Y.Sugiura, Y.Nakashima and K. Ishikawa, Fabrication of Carbonate Apatite Block through a Dissolution–Precipitation Reaction Using Calcium Hydrogen Phosphate Dihydrate Block as a Precursor, *Materials* 10 (2017) 374; doi:10.3390/ma10040374.
38. H. L. Jang, H. K. Lee, K. Jin, H.-Y. Ahn, H.-E. Lee, K. T. Nam, Phase transformation from hydroxyapatite to the secondary bone mineral, whitlockite. *Journal of Materials Chemistry B*, 3(7) (2015) 1342-1349, DOI: <https://doi.org/10.1039/C4TB01793E>.
39. Jang, H. L.; Jin, K.; Lee, J.; Kim, Y.; Nahm, S. H.; Hong, K. S.; Nam, K. T., Revisiting Whitlockite, the Second Most Abundant Biomineral in Bone: Nanocrystal Synthesis in Physiologically Relevant Conditions and Biocompatibility Evaluation. *ACS Nano* 8 (1) (2014) 634-641.
40. Won-Bum Lee, Caifeng Wang, Jung-Han Lee, Ki-Jae Jeong, Yoon-Seo Jang, Jin-Young Park, Mi Heon Ryu, U.K Kim, J. Lee and D.S.Hwang, Whitlockite Granules on Bone Regeneration in Defect of Rat Calvaria, *ACS Appl. Bio Mater*,3(2020),7762–7768, <https://dx.doi.org/10.1021/acsabm.0c00960>.
41. X. Guo, X. Liu, H. Gao, X. Shi, N. Zhao, Y. Wang, Hydrothermal growth of whitlockite coating on β -tricalcium phosphate surfaces for enhancing bone repair potential. *Journal of Materials Science & Technology*,34(6) (2018) 1054-1059, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2017.07.009>.
42. H. E. Feki, J.M. Savariault, A. B. Salah, M. Jemal, Sodium and carbonate distribution in substituted calcium hydroxyapatite, 2 (2000) 577-586, [https://doi.org/10.1016/S1293-2558\(00\)01059-1](https://doi.org/10.1016/S1293-2558(00)01059-1).

SANTRAUKA
VILNIAUS UNIVERSITETAS
CHEMIJOS IR GEOMOKSLŲ FAKULTETAS

GABIJA AUGULYTĖ

Žematemperatūrė įvairių kalcio fosfatų granulių sintezė

Kalcio fosfatai (CaP) yra svarbiausios biologinių kietųjų audinių sudedamosios dalys. Karbonatinėje deficitinio hidroksiapatito ir magnio vitlokito formoje kalcio fosfatai įeina į kaulų, dantų ir sausgyslių sudėtį. Šio darbo tikslas – sukurti nesudėtingą žemo kristališkumo karbonatinio kalcio deficitinio hidroksiapatito bei magnio vitlokito sintezės metodą, panaudojant pirmtako granules. Šiam tikslui įgyvendinti buvo panaudotas tirpinimo-nusodinimo reakcijų metodas. Pradinė medžiaga produkto sintezei pasirinktas kalcio sulfato hemihidratas. Pradžioje buvo sintetamos dviejų skirtingų cheminių sudėčių pirmtako granulės. Sintezės metu 80 °C temperatūroje gautos ~200–350 μm granulės, priklausomai nuo pradinių granulių sudėties ir tirpalo kuriame buvo mirkomos granulės susidarė žemo kristališkumo kalcio deficitinis hidroksiapatitas (CDHA), karbonatinis hidroksiapatitas (CO₃Ap) ir magnio vitlokitas (WH). Sintezės produktai tirti terminės analizės infraraudonosios spektroskopijos (FTIR), rentgeno spindulių difrakcinės analizės (XRD) bei skenuojančios elektroninės mikroskopijos (SEM) metodais.

SUMMARY
VILNIUS UNIVERSITY
FACULTY OF CHEMISTRY AND GEOSCIENCES

GABIJA AUGULYTĖ

Low Temperature Synthesis of Various Calcium Phosphate Granules

Calcium phosphates (CaP) are the most important components of biological solid tissues. In the carbonate form of deficient hydroxyapatite and magnesium whitlockite, calcium phosphates are incorporated into the bones, teeth, and tendons. The aim of this work was to develop a simple method for the synthesis of low crystallinity carbonate calcium deficient hydroxyapatite and magnesium vitlocite using precursor granules. A dissolution-precipitation reaction method was used for this purpose. Calcium sulfate hemihydrate was selected for the synthesis of the starting material product. Initially, two main granules of the chemical precursor were synthesized. During the synthesis, 200–350 μm granules were obtained at 80 ° C, depending on the composition of the initial granules and the solution in which the granules were soaked, low-crystalline calcium deficient hydroxyapatite (CDHA), carbonate hydroxyapatite (CO_3Ap) and magnesium whitlockite (WH) were formed. The synthesis products were studied by thermal analysis infrared spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction analysis (XRD) and scanning electron microscopy (SEM).