

**Міністерство освіти і науки України**  
**Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна**  
**Фізичний факультет**  
**Кафедра фізики твердого тіла**

«Допущено до захисту»  
Зав. кафедри фізики твердого тіла  
проф. Зиман З.З. \_\_\_\_\_  
“\_\_” червня 2024 р.

Оцінка «\_\_\_\_\_»  
Голова ЕК  
\_\_\_\_\_  
“\_\_” червня 2024 р.

Кулішова Євгенія Олегівна

**Кальцій-фосфатні цементи на основі  $\alpha$ -трикальцій фосфатів**

Кваліфікаційна робота на  
здобуття освітнього ступеня  
«Бакалавр» за спеціальністю  
104 – «фізика та астрономія»  
освітньо-професійна програма  
«фізика»

Науковий керівник – завідувач  
кафедри фізики твердого тіла, доктор  
фіз.-мат. наук,  
З. З. Зиман

Рецензент – завідувач кафедри  
загальної фізики, доктор фіз.-мат.  
наук,  
О. В. Лазоренко

**Харків 2024**

## АНОТАЦІЯ

Кулішова Є.О. Кальцій-фосфатні цементи на основі  $\alpha$ -трикальцій фосфатів — Рукопис.

Дипломна робота на здобуття освітньо-кваліфікаційного рівня “Бакалавр” за спеціальністю 104 — «фізика та астрономія». — Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2024. — 36 с. — рис. 14.

Досліджено зміни кількості рідини та співвідношення кількості рідини / порошок у зразках нанокристалічного кальцій-дефіцитного гідроксиапатиту та кісткового цементу на основі  $\alpha'$ -метастабільного трикальційфосфату залежно від часу витримки при різній температурі. Визначені оптимальні умови застигання кісткового цементу на основі  $\alpha'$ -метастабільного трикальційфосфату.

Ключові слова: кістковий цемент,  $\alpha'$ -метастабільний трикальційфосфат, схоплювання.

**ABSTRACT**

Kulishova Y.O. Calcium-phosphate cements based on  $\alpha$ -tricalcium phosphates — Manuscript.

Thesis for obtaining the educational and qualification level "Bachelor in specialty 104 — "physics and astronomy". — V.N.Karazin Kharkiv National University, 2024. — P. 36. — Fig. 14.

Changes in the amount of liquid and the liquid/powder ratio in samples of nanocrystalline calcium-deficient hydroxyapatite and bone cement based on  $\alpha'$ -metastable tricalcium phosphate were investigated depending on the holding time at different temperatures. The optimal conditions for the setting of bone cement based on  $\alpha'$ -metastable tricalcium phosphate were determined.

Keywords: bone cement,  $\alpha'$ -metastable tricalcium phosphate, setting.

## Зміст

<b>ВСТУП</b> .....	5
<b>1. ХАРАКТЕРИСТИКИ БІОАКТИВНИХ МАТЕРІАЛІВ НА ОСНОВІ ДЕЯКИХ ФОСФАТИ КАЛЬЦІЮ (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)</b> .....	7
<b>1.1 Характеристики деяких фосфати кальцію</b> .....	10
<b>1.1.1 Аморфний фосфат кальцію</b> .....	10
<b>1.1.2 Кальцій-дефіцитний гідроксиапатит</b> .....	11
<b>1.1.3 Трикальційфосфат</b> .....	12
<b>1.2 Біоактивні апатитні кальцій-фосфатні цементи</b> .....	13
<b>1.3 Вплив співвідношення порошок/рідина та вологості на властивості апатитного кісткового цементу</b> .....	15
<b>2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА</b> .....	19
<b>2.1 Синтез порошку</b> .....	19
<b>2.2 Отримані результати</b> .....	20
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	29
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....	30

## ВСТУП

Фосфати кальцію широко використовуються в різних сферах промисловості та науки. Одним з найцікавіших їхнім застосуванням є медичне, а саме як замітника кісткової тканини людини. Перша згадка про використання фосфатів кальцію для регенерації кістки датується 1920 роком [1]. З того часу фосфати кальцію і, зокрема,  $\alpha$ -трикальційфосфат ( $\alpha$ -ТФК), перебувають у центрі уваги численних досліджень. Дуже перспективним застосуванням  $\alpha$ -ТФК є створення кісткових цементів, які мають низку переваг над керамічними імплантатами [2]. Крім того останнім часом  $\alpha$ -ТФК у поєднанні з гідрогелями викликає інтерес при створенні ін'єкційних самозастигаючих чорнил для застосування в малоінвазивній хірургії, а також у сфері 3D-друку для створення персоналізованих кісткових трансплантатів [3, 4]. У всіх цих сферах застосування порошок  $\alpha$ -ТФК контактує з водою, щоб запустити реакцію його гідролізу. Результатом реакції є осадження мережі кристалів гідроксиапатиту з дефіцитом кальцію (КДГА), подібних за складом до мінеральної фази кістки.

Однак реакція схоплювання не є миттєвою. Вона триває, утворюючи початкову пластичну пасту, яка поступово твердне через переплетення кристалів, що осаджуються [5]. Контроль кінетики реакції має вирішальне значення у всіх вищезгаданих застосуваннях. Існують різні стратегії, які можуть бути використані для налаштування схоплювання цементів, і вони, як правило, включають додавання прискорювачів і нуклеаторів у склад цементу або модифікацію властивостей  $\alpha$ -ТФК, таких як розмір частинок, кристалічність і вміст аморфної фази [6, 7].

Незважаючи на велику кількість даних щодо контролю реакційної здатності  $\alpha$ -ТФК, одним з аспектів, про який досі досить мало інформації, є вплив кількості рідини на процес застигання кісткового цементу. Це в свою чергу впливає на кінцеві характеристики зразків.

Зв'язок вологи з кристалічними твердими речовинами може призвести до адсорбції, абсорбції, розшарування та капілярної конденсації води, що

особливо важливо для пористих твердих речовин [8]. Адсорбція, тобто асоціація молекул води з поверхнею матеріалу, може впливати на властивості матеріалів [9]. У випадку водопоглинання, оскільки вода проникає в об'ємну структуру твердого тіла, слід очікувати зміни властивостей матеріалу так само, як і у випадку деліквації (розчинення матеріалу у власній сорбованій воді) та капілярної конденсації (конденсація води всередині пор) для сполук, що реагують з водою. Тому мета роботи, а саме дослідження зміни кількості рідини та співвідношення кількість рідини / порошок у зразках нанокристалічного кальцій-дефіцитного гідроксиапатиту та кісткового цементу на основі  $\alpha'$ -метастабільного трикальційфосфату залежно від часу витримки при різній температурі є актуальною науковою задачею.

# 1. ХАРАКТЕРИСТИКИ БІОАКТИВНИХ МАТЕРІАЛІВ НА ОСНОВІ ДЕЯКИХ ФОСФАТИ КАЛЬЦІЮ (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Фосфати кальцію — це мінерали, що складаються з катіонів кальцію та фосфат-аніонів. Вони відомі як основний неорганічний матеріал людських кісток [10]. Будь-який імплантат має бути біосумісним, тобто в живій системі та тканині не повинно виникнути запалення або реакції на чужорідне тіло. Було виявлено, що фосфати кальцію є біосумісними, тому що вони можуть бути присутні у великих кількостях в організмі людини у твердій формі без виникнення негативної імунної реакції, а також розчиняються в рідинах організму.

Процесами які впливають на біоактивність, є адгезія, проліферація та утворення нової кістки в остеобластах. Для прояву цих біологічно активних властивостей важливим є розкладання та вивільнення іонів у фосфатах кальцію [11]. Ці процеси підвищують локальну концентрацію іонів кальцію та фосфату та стимулюють утворення кісткових мінералів на поверхні фосфатів кальцію. Фосфати кальцію відіграють важливу роль у клітинній адгезії та формуванні тканин, впливаючи на адсорбцію білків позаклітинного матриксу на поверхні [12]. Їх властивості також впливають на регенерацію кісток, впливаючи на новоутворені кісткові мінерали [13].

Іони кальцію впливають на клітини та живі системи кількома способами. Кальцій є одним з іонів, які утворюють кістковий матрикс. Ці іони спричиняють формування та дозрівання кісток через кальцифікацію. Крім того, іони кальцію впливають на регенерацію кісток через клітинну сигналізацію. Кальцій стимулює зрілі клітини кісткової тканини шляхом утворення оксиду азоту та індукує клітини-попередники росту кісткової тканини для регенерації кісткової тканини. Крім того, іони кальцію регулюють утворення та резорбтивні функції остеокластів [14, 15].

Іони фосфору також присутні в організмі людини у великій кількості. Вони беруть участь у синтезі різноманітних речовин, таких як білки, нуклеїнові кислоти та аденозинтрифосфат, і впливають на фізіологічні процеси. Понад 80% іонів фосфору присутні в кістках у формі фосфатів кальцію разом з іонами кальцію. Фосфор в основному існує у формі фосфату ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), який має великий вплив на формування та ріст тканин [16].

Остеоіндуктивні та остеокондуктивні властивості фосфатів кальцію також важливі для регенерації кісткової тканини. Остеоіндукція — це здатність спонукати клітини-попередники диференціюватися в остеобластичні клітини, тоді як остеокондукція — це здатність росту кістки на поверхні матеріалів. Остеоіндукція та остеокондукція підтримують адгезію та проліферацію клітин. На клітинну адгезію сильно впливає здатність адсорбувати білки позаклітинного матриксу. На це впливають характеристики поверхні фосфатів кальцію, такі як шорсткість поверхні, кристалічність, розчинність, вміст фази, пористість і поверхнева енергія [17, 18].

Роль шорсткості поверхні фосфату кальцію визначається розміром зерна та розміром частинок кристалічної структури фосфату кальцію. Шорсткість впливає на адгезію білка та клітин на поверхні фосфату кальцію. Загалом адгезія білків покращується при шорсткості менше 100 нм [19].

Пористість імплантатів на основі фосфатів кальцію також впливає на біоактивність. Збільшення пористості покращує контакт із рідинами тіла на поверхні. Таким чином, підвищується швидкість розчинення [11], а наявність пор на поверхні впливає на адсорбцію білка. Було показано, що адсорбція білка посилюється, коли розмір пор фосфату кальцію становить 20–500 мкм [20]. Цей ефект також спостерігався при збільшенні кількості пор. Крім того, розмір пор впливає на вrostання кістки та ангиогенез. При розмірі пор приблизно 50 мкм і більше можливе вrostання кровоносних судин і кісток [21, 22]. Розмір пор понад 100 мкм впливає на механічну міцність і форму фосфату кальцію. Завдяки наявності пор фосфат кальцію демонструє такі механічні властивості, як висока крихкість, низька ударна стійкість і низька напруга на

розтяг. Однак його міцність на стиск краща, ніж у натуральної людської кістки, і він використовується в ненесучих імплантатах, для заповнення дефектів і як покриття.

Гідрофільність є критичним фактором регуляції остеогенезу. Гідрофільні поверхні необхідні для клітинної адсорбції та посилення реакції фібробластичних клітин. Вони посилюють дозрівання та диференціювання кісткових клітин, а також остеоінтеграцію, а також впливають на клітинні реакції. Крім того, гідрофільність поверхні збільшує адгезію та проліферацію остеобластів [23, 24].

На процес розчинення фосфатів кальцію впливають площа поверхні на одиницю об'єму, конвекція рідини, кислотність і температура [11]. Це визначає стабільність і розчинність фосфатів кальцію, і, як правило, розчинність обернено пропорційна співвідношенню іонів Ca/P, чистоті, розміру кристалів і площі поверхні. Стійкі та малорозчинні фосфати кальцію демонструють низький іонний обмін з навколишнім середовищем і повільну швидкість рекристалізації на поверхні, таким чином визначаючи концентрацію та конформацію білка за допомогою електростатичної взаємодії в зарядженому місці. З іншого боку, фосфати кальцію з високою розчинністю легко змінюють локальний рН і концентрацію іонів, що впливає на адгезію білка. Адгезія білків викликає адгезію клітин і визначає ефективність регенерації кісткової тканини [25].

Перевагами біоактивних фосфатів кальцію є їх біологічна сумісність через те, що фосфат кальцію має хорошу сумісність з біологічними тканинами, активно сприяє регенерації кісткової тканини, утворює прямий зв'язок з кістками. Вагомою перевагою є їх універсальність і можливість регулювання, тобто можливість використовувати в різноманітних формах, як порошки, гранули чи цемента, а також пристосувати до конкретних клінічних вимог, змінюючи склад, пористість чи кристалічність. Стосовно розсмоктуваності, то певні типи біоактивних фосфатів кальцію, як кальцій-дефіцитний

гідроксиапатит, може поступово замінюватися природною кісткою, без потреби видалення імпланту.

До недоліків біоактивних фосфатів кальцію можна віднести вартість, бо виробництво та обробка високочистого та добре охарактеризованого біоактивного фосфату кальцію може бути дуже дорогим, що обмежує його широке клінічне використання. Також біоактивні фосфати кальцію, як правило, мають нижчу механічну міцність і міцність на перелом порівняно з природною кісткою, що обмежує їх використання при сильних навантаженнях. Додатковою проблемою є і обробка, яка впливає на вартість, виробництво стабільних і високоякісних біоактивних матеріалів на основі фосфату кальцію є технічно складним і вимагає точного контролю умов синтезу та обробки.

## **1.1 Характеристики деяких фосфати кальцію**

### **1.1.1 Аморфний фосфат кальцію**

Аморфні фосфати кальцію (АСР) являють собою метастабільний аморфний стан інших ортофосфатів кальцію ( $\text{CaPO}_4$ ). Всі вони мають змінний склад, але досить ідентичні склоподібні фізичні властивості. В АСР не існує ні трансляційного, ні орієнтаційного дальніх порядків атомні позиції [26]. У природі АСР біологічного походження зустрічаються в кальцифікованих тканинах ссавців, деяких частинах примітивних організмів. Штучні АСР можуть бути синтезовані різними методами, включаючи «мокрі», в яких вони є першими твердими фазами, що випадають в осад після швидкого змішування водних розчинів, що містять розчинені іони  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{PO}_4^{3-}$  у достатній кількості. Через аморфну природу всі типи синтетичних АСР є термодинамічно нестабільними і, якщо не зберігаються в сухих умовах або до їхнього складу не додаються стабілізаторами, вони мають тенденцію спонтанно перетворюватися на кристалічний  $\text{CaPO}_4$ , головним чином на ті, що мають апатитову структуру. Ця внутрішня метастабільність АСР має велике біологічне значення. Зокрема, завдяки їй відбувається біомінералізації

кісткової тканини. Крім того, синтетичні АСР є дуже перспективними біоматеріалами як для виготовлення штучних кісткових трансплантатів, так і для стоматологічного застосування.

Імовірно, всі відомі  $\text{CaPO}_4$  можуть бути отримані в аморфному стані. Однак, переважна більшість доступних публікацій про синтетичні АСР насправді описує сполуки, що осаджуються у вологому стані, із співвідношенням  $\text{Ca/P}$ , близьким до  $\sim 1,5$ , тобто аморфний ТКФ. У водних розчинах синтетичні АСР є метастабільними і легко перетворюються в кристалічні фази  $\text{CaPO}_4$ , особливо в кальцій-дефіцитному гідроксиапатиту. На високій реакційній здатності АСР базується приготування різних біоактивних біоматеріалів. В даний час АСР використовуються в кількох комерційних замінниках кісткових матеріалів, таких як покриття, нанесені плазмовим напиленням на металеві протези та цементи для ін'єкцій для ортопедичних застосувань [27].

АСР також використовуються в стоматології як наповнювачі в іономерних цементах для лікування карієсу або як колоїдні суспензії в зубних пастах, жувальних гумках або рідинах для полоскання рота для сприяння ремінералізації каріозних уражень та/або для запобігання демінералізації зубів [26].

### 1.1.2 Кальцій-дефіцитний гідроксиапатит

Кальцій-дефіцитний гідроксиапатит (КДГА) — це специфічна форма гідроксиапатиту, яка характеризується нижчим співвідношенням кальцію до фосфату, від 1,5 до 1,67, ніж стехіометричний гідроксиапатит. КДГА із загальною формулою  $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$  (де  $x$  означає ступінь дефіциту кальцію) має значні наслідки як у біологічній, так і в медичній сферах завдяки своїм унікальним властивості [28].

Гідроксиапатит (ГА) є основним неорганічним компонентом кісткової тканини людини [29]. Він має відмінні механічні властивості, хорошу біосумісність і біологічну активність у кістках [30]. На даний момент ГА

широко використовується в галузі біомедицини. Апатит в організмі людини називається кістковим апатитом, а його Ca/P молярне співвідношення близьке до 1,5. З точки зору біоніки, чим подібніший склад і структура матеріалу для відновлення кісткової тканини до людської кісткової тканини, тим краща ефективність його відновлення. Таким чином, у порівнянні з ГА, КДГА можна розглядати як потенційний замітник кістки. Дослідження КДГА *in vivo* показали, що він може сприяти колонізації та адгезії клітин остеобластів, індукуючи відкладення кальцію клітинами [31]. Виходячи з наведених вище умов, матеріали КДГА застосовувалися в носіях для доставки ліків, в малоінвазивній хірургії, в ортопедичних і щелепно-лицьових хірургіях [32-34].

### 1.1.3 Трикальційфосфат

Трикальційфосфат (ТКФ;  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), один із найбільш вивчених фосфатів кальцію разом із гідроксиapatитом. Він є фосфатом кальцію зі співвідношенням Ca/P 1,5. Найбільш відомі  $\alpha$  та  $\beta$ -фази.  $\alpha$ -ТКФ має кристалічну структуру моноклінної просторової групи, а  $\beta$ -ТКФ має кристалічну структуру ромбоєдричної просторової групи [35, 36].  $\alpha$ -ТКФ може утворюватися при 1125 °С і вище з  $\beta$ -ТКФ [37].  $\beta$ -ТКФ має більш стабільну структуру та вищу швидкість біодеградації, ніж  $\alpha$ -ТКФ. Тому  $\beta$ -ТКФ зазвичай використовується для регенерації кісткової тканини. В свою чергу  $\beta$ -ТКФ є менш стабільним, ніж гідроксиapatит, але має вищу швидкість деградації та вищу розчинність. Крім того, він має високу швидкість резорбції і широко використовується для підвищення біосумісності [38].  $\beta$ -ТКФ сприяє проліферації клітин-попередників остеобластів і стромальних клітин кісткового мозку. Характеристики  $\beta$ -ТКФ активно вивчалися для цілей регенерації кісткової тканини.  $\beta$ -ТКФ широко використовувався в кісткових цементах і заміщенні кістки [39].

На основі ТКФ і гідроксиapatиту, були розроблені двофазні матеріали. В двофазні або багатофазних матеріалах фосфати кальцію однорідно змішані

на субмікронному рівні. Двофазні матеріали на основі фосфатів кальцію були вперше отримані в 1986 році у вигляді суміші гідроксиапатиту і  $\beta$ -ТКФ [40]. Ці двофазні матеріали зазвичай поєднують два фосфати кальцію з різними властивостями. Наприклад, більш стабільний гідроксиапатит і більш розчинний ТКФ. Такі матеріали були високо оцінені завдяки високим показникам біоактивності, біорезорбності та остеоіндуктивності [41]. Суміш гідроксиапатиту і  $\beta$ -ТКФ використовується як матеріал для кісткових заміників. При цьому такі імпланти стимулюють остеогенну диференціацію мезенхімальних стовбурових клітин і підвищують клітинну адгезію [42, 43].

## **1.2 Біоактивні апатитні кальцій-фосфатні цементи**

Кальцій-фосфатні цементи (CPC) використовуються для заповнення кісткових дефектів. CPC утворюються комбінацією одного або кількох ортофосфатів кальцію, які після змішування з рідкою фазою, як правило, водним розчином, утворюють пасту, яка здатна схоплюватися та твердіти після імплантації в організм. Цемент схоплюється в результаті процесу розчинення та осадження. Сплутування кристалів, що випали, відповідає за твердіння цементу [10].

Існують деякі проблеми кальцієвих фосфатних цементів, такі як різниця між швидкістю регенерації кістки та швидкістю деградації, обмеженням вrostання через розмір пор, недостатньою механічною міцністю та запальною реакцією синтетичних полімерів. Багато зусиль було спрямовано на контроль розміру пор і підвищення механічної міцності, покращення швидкості деградації шляхом регулювання контакту з рідиною організму, додавання матеріалів для покращення механічної міцності та мінімізації реакції сторонніх тіл шляхом використання природного полімери [44]. Також проводяться дослідження для підвищення ефективності цементів шляхом інкапсуляції препаратів і факторів росту [45].

Незважаючи на велику кількість можливих рецептур, СРС, розроблені до теперішнього часу, мають лише два різні кінцеві продукти: осаджений гідроксиапатит (ОГА) та брушит (DCPD). Це передбачувана ситуація, оскільки гідроксиапатит є найстабільнішим фосфатом кальцію при  $pH > 4,2$ , а брушит найбільш стабільним при  $pH < 4,2$  [46].

Апатитові СРС можуть утворювати ОГА або КДГА через реакцію осадження. Процес їх виготовлення дозволяє включати різні іони в його кристалічну решітку в залежності від складу вихідних реагентів. Утворення гідроксиапатиту через цементну реакцію відбувається при температурі тіла та у фізіологічному середовищі, як це відбувається під час розвитку або реконструкції кістки. Це може пояснити той факт, що гідроксиапатит, який утворюється в умовах СРС, набагато більше схожий на біологічні апатити, ніж ті, які отримують при застосуванні процесів високотемпературного спікання.

Брушитові СРС також можуть утворюватися двома реагентами, одним з яких є кислий ортофосфат кальцію, а іншим основний ортофосфат кальцію, які затверджуються після кислотно-основної реакції. Основним компонентом у цьому типі СРС зазвичай є ТТКФ. Найбільш широко досліджуваними комбінаціями є суміші ТТКФ + DCPD і ТТКФ + DCP, які фактично були першими СРС, розробленими Брауном і Чоу [47].

Дослідження *in vitro* дозрівання остеобластів і диференціації мезенхімальних стовбурових клітин показують, що апатитові СРС мають позитивний остеогенний ефект, навіть за відсутності остеогенних добавок, таких як дексаметазон, аскорбінова кислота або  $\beta$ -гліцеролфосфат [48]. Було висунуто гіпотезу, що або рельєф поверхні, або іонні взаємодії з клітинним культуральним середовищем є причиною опосередкованої матеріалом остеогенності [49]. Дослідження, проведені в прямому та непрямому контакті з клітинами, показали, що іонні обміни самі по собі не пояснюють остеогенний ефект, а вказують на ефект рельєфу поверхні, який може сприятися іонним обмінам [50].

### **1.3 Вплив співвідношення порошок/рідина та вологості на властивості апатитного кісткового цементу**

Апатитні цементи привернув велику увагу та викликав великий інтерес в ортопедичній та стоматологічній сферах реконструкції кісток. Це значною мірою завдяки його подвійним перевагам: Апатитний цемент може схоплюватися на місці, а кінцевим продуктом після повного схоплювання є апатит. Завдяки утворенню апатитної структури апатитний цемент демонструє відмінну реакцію тканин і хорошу остеопровідність.

У той же час необхідно підкреслити, що якщо цемент не затвердіє і порошок фосфату кальцію вивільниться в м'якій тканині, це викличе запальну реакцію, яка називається кристалічною запальною реакцією. У пластичній і реконструктивній хірургії, а також в ротовій і щелепно-лицевій хірургії апатитний цемент може піддаватися впливу рідини організму до її реакції застигання. Як наслідок, через невдале застигання апатитного цементу виникало багато клінічних невдач, тому що апатитному цементу, що не застиг, бракувало механічної міцності, щоб протистояти зовнішнім навантаженням. Таким чином, ключовим фактором успіху реконструкції кісткового дефекту за допомогою апатитного цементу є повне застигання цементу [51].

Однак реакція застигання не є миттєвою, і протікає з утворенням початкової пластичної пасти, що придатна для формування, яка поступово твердне шляхом заплутування кристалів, що випадають в осад [52]. Контроль кінетики реакції має вирішальне значення. Існують різні стратегії, які можна використовувати для регулювання часу схоплювання цементів, і вони зазвичай включають додавання прискорювачів і зародків зародків у рецептуру цементу або модифікацію характеристик  $\alpha$ -ТКФ, таких як розмір частинок, кристалічність і вміст аморфної фази [53, 54].

Незважаючи на велику кількість публікацій, що присвячені контролю реакційної здатності  $\alpha$ -ТФК, досить мало інформації про вплив кількості рідини на процес застигання кісткового цементу. При цьому вплив рідини може відбуватися беспесоредь під час реакції гідролізу так і під час зберігання

зразків через вплив вологості. Надмірна вологість потенційно може змінити реакційну здатність порошків шляхом запуску гідролізу ГА. Передчасний гідроліз порошку в присутності вологості може поставити під загрозу подальшу реакційну здатність порошку.

Це питання добре розкрито в роботі M. Espanol et al., яка присвячена дослідженню впливу вологості на реакційну здатність порошку  $\alpha$ -ТФК [55]. Результати показали, що 3-тижнева інкубація при високій відносній вологості (80 %) не впливала на реакційну здатність, але при продовженні інкубації порошок починав гідролізуватись (Рис. 1.1.). Цей результат був пов'язаний з наявністю дефектів на поверхні частинок  $\alpha$ -ТФК та наявністю в порошок аморфної фази, що утворилася під час розмелювання. Дослідження вологості, проведені в статичних/динамічних умовах, дали співставні відсотки адсорбції води. Динамічні дослідження також довели незворотність поглинання води, вказуючи на те, що деякі молекули води реагують з порошком після короткого часу інкубації. У сукупності результати цієї роботи продемонстрували, що, хоча порошок  $\alpha$ -ТСП адсорбує воду з вологи негайно, вплив на реакційну здатність проявляється лише через кілька тижнів зберігання [55].

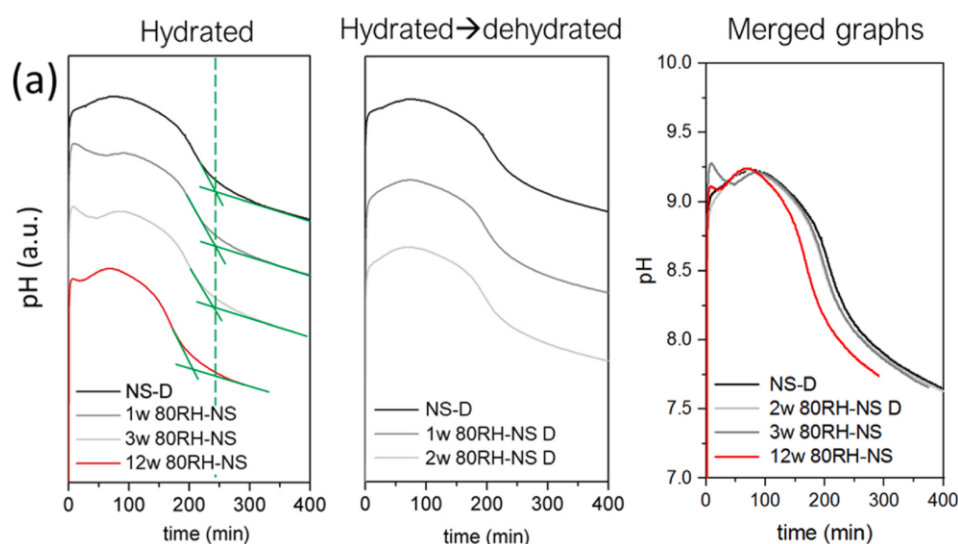


Рис. 1.1. Залежність рН від часу витримки в воді суспензій апатитного цементу.

Вплив типу рідкої фази на основні властивості цементу на основі  $\alpha$ -трикальційфосфату досліджували в роботі М. Oda et. al [51]. Для експерименту використовували три рідкі фази: дистильовану воду, розчин гідрофосфату натрію та розчин бурштинової кислоти. При змішуванні з розчином гідрофосфату натрію або розчином бурштинової кислоти початковий час схоплювання цементу становив  $19,4 \pm 0,55$  та  $11,8 \pm 0,45$  хвилин відповідно. Ці часи схоплювання були значно коротшими, ніж у дистильованій воді —  $88,4 \pm 0,55$  хвилин. Формування голкоподібних кристалів апатиту, відбувалося значно швидше при використанні розчину гідрофосфату натрію, порівняно з дистильованою водою або розчином бурштинової кислоти. Більше того, через 24 години після змішування найбільша кількість апатиту утворилася при використанні розчину гідрофосфату натрію, тоді як використання бурштинової кислоти призвело до найменшої кількості апатиту (Рис. 1.2.). Кінцева механічна міцність цементу, отриманого з використанням нейтрального розчину гідрофосфату натрію, була найвищою. (Рис. 1.3.).

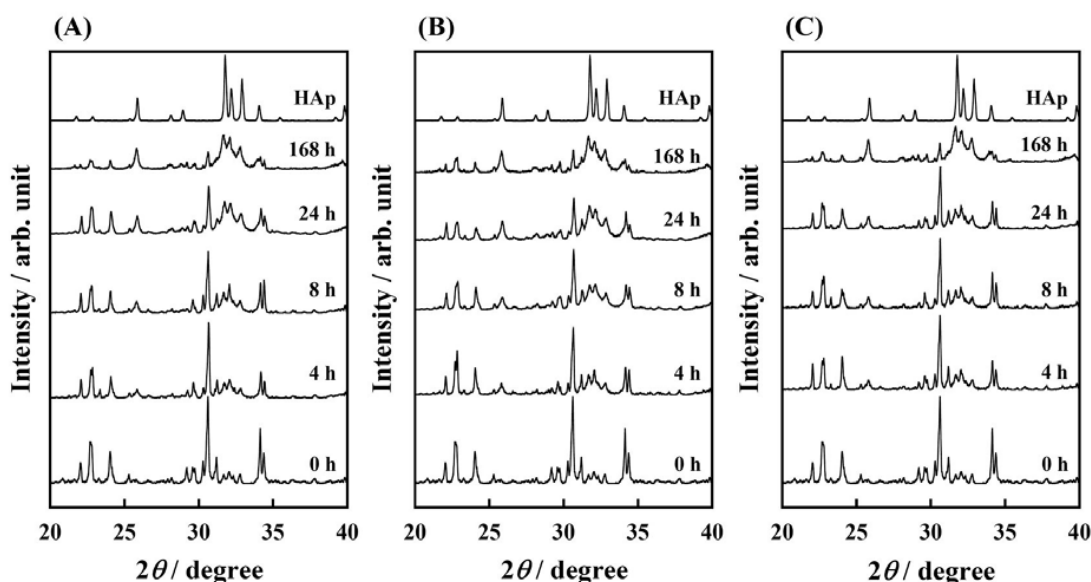


Рис. 1.2. Рентгенограми апатитного цементу, що витримували в інкубаторі при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  і відносній вологості 100 % протягом 4, 8, 24 і 168 годин після змішування з різними рідкими фазами: дистильованою водою (А), розчином гідрофосфату натрію (В) або розчином бурштинової кислоти (С).

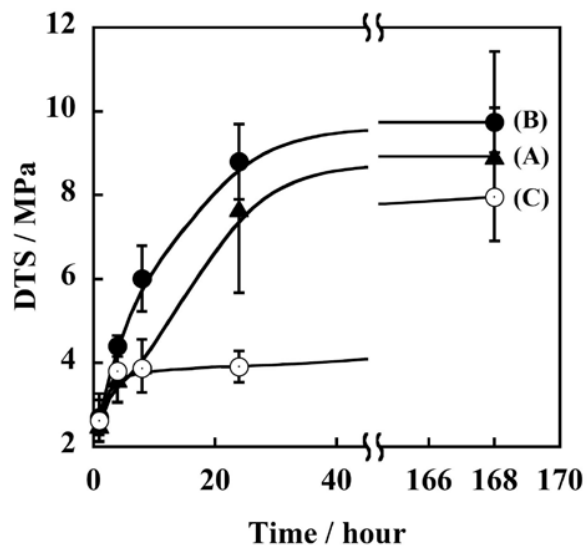


Рис. 1.3. Зміни міцності апатитного цементу, що витримували в інкубаторі при 37°C і відносній вологості 100 % протягом 1, 4, 8, 24 і 168 годин після змішування з різними рідкими фазами: дистильованою водою (А), розчином гідрофосфату натрію (В) або розчином бурштинової кислоти (С).

## 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

### 2.1 Синтез порошку

Для дослідження дегідратації застосовували кістковий цемент на основі  $\alpha'$ -метастабільного трикальційфосфату,  $\alpha'$ -ТКФ, який отримували за оригінальною технологією, що була розроблена на кафедрі фізики твердого тіла Харківського національного університету імені В. Н Каразіна [56]. Для порівняння також використовували порошок нанокристалічного кальцій-дефіцитного гідроксиапатиту, КДГА, зі співвідношенням Ca/P = 1,5.

Порошок КДГА отримували методом осадження з водних розчинів тетрагідрату нітрату кальцію,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , та гідрофосфат амонію,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , за реакцією Хаєка [57].



Величину рН розчинів, підтримували на рівні 10–11 шляхом додавання в них розчину аміаку  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Співвідношення реагентів вибирали таким, щоб в результаті отримати осад з молярним відношенням Ca/P=1,5. Реакцію синтезу проводили при нормальних умовах ( $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ). При цьому розчин  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  додавали до розчину  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  з постійною швидкістю за допомогою автоматичного шприца. Останній розчин постійно перемішували фторопластовою мішалкою, що була приєднана до електродвигуна. Після закінчення змішування отриману емульсію перемішували ще 24 години при тих же умовах. Опісля емульсію розбавляли дистильованою водою та центрифугували 20 хв. зі швидкістю 2900 об/хв. В результаті з емульсії випадав осад, а побочні продукти реакції залишалися в розчині. Розчин декантували, а осад заливали чистою дистильованою водою, ретельно перемішували і повторювали центрифугування. Цей процес повторювали чотири рази. Отриманий осад сушили ( $T \approx 60 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 24 години. Після отриману тверду фракцію подрібнювали і просіювали через сито з коміркою 200 мкм. Характерні дифрактограми порошків  $\alpha'$ -ТКФ і КДГА наведено на рис. 2.1.

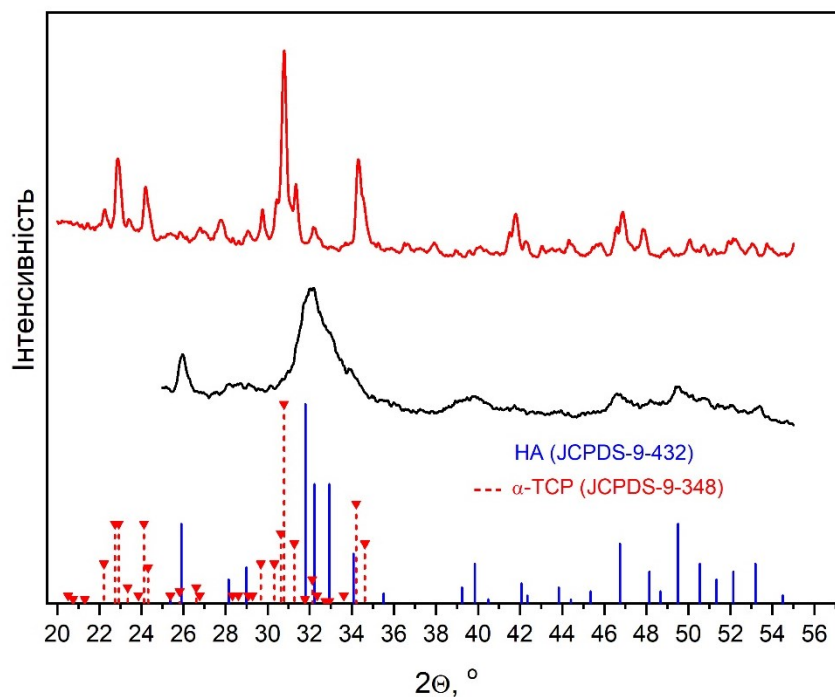


Рис. 2.1. Характерні дифрактограми порошків  $\alpha'$ -ТКФ і КДГА.

## 2.2 Отримані результати

Дослідження процесу дегідратації почали з порошку КДГА. Для цього в порцію ( $m = 0.500$  г) порошку КДГА додавали  $0.750$  г  $2.5\%$  розчину  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Таким чином отримували вихідне співвідношення рідина/порошок (L/P), що дорівнює  $1,5$ . Отриману пасту поміщали в сушильну шафу нагріту до температури  $40$  °С і  $60$  °С. Зразок витягували через кожні  $5$  хв. Зважували за допомогою ювелірних ваг три рази і повертали в сушильну шафу.

На рисунку 2.2 видно, що при температурі  $60$  °С, маса зразка стабілізується через приблизно  $50$  хв. За  $40$  °С цей процес займає понад  $120$  хв. Маса зразків змінюється лінійно. Це вказує на те, що випаровуванню рідини нічого не заважає.

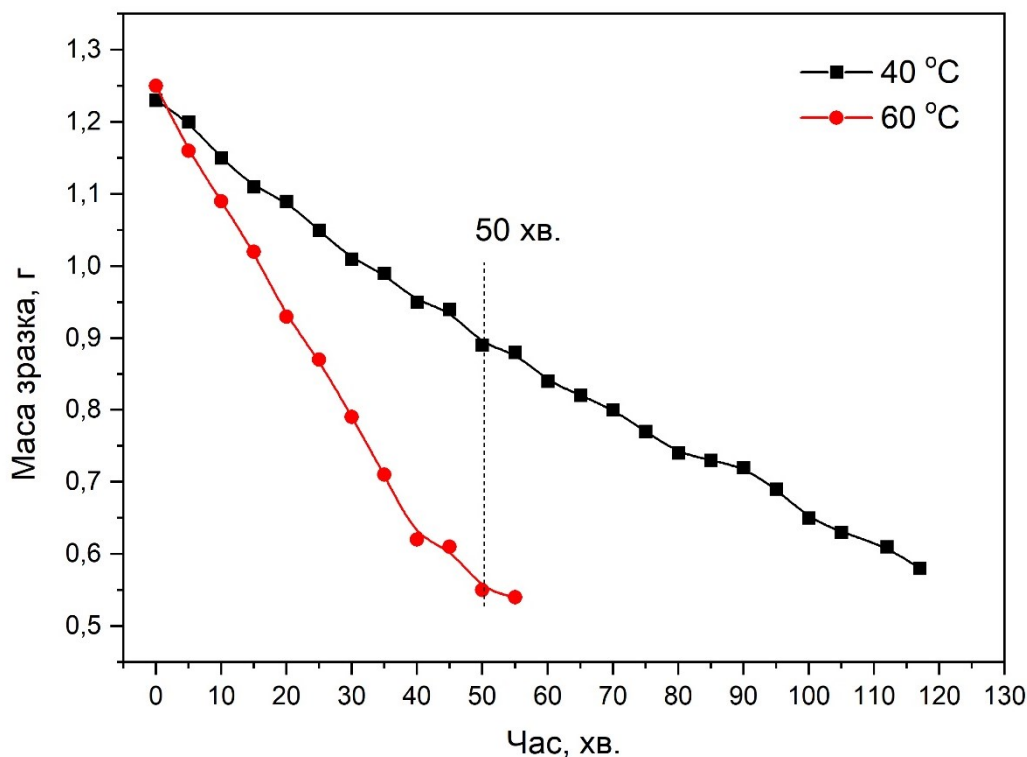


Рис. 2.2. Графік залежності маси зразка КДГА від часу витримки за різної температури.

Віднімання маси сухого порошку КДГА і нормування показує, що через 50 хв. у зразку при температурі 60 °C залишається тільки 6 % вихідної рідини, решта рідини випарувалася. При температурі 40 °C за той самий період випарувалося тільки 45 % (рис. 2.3.). Раніше отримані результати показали, що захоплення кісткового цементів на основі  $\alpha'$ -ТКФ зазвичай займає не більше 30 хв. Якщо подивитися на отримані криві, то можна побачити, що за цей час при температурі 40 °C випаровувалося тільки 30% рідини, в той час як при температурі 60 °C встигало випаруватися майже 60% від вихідної кількості рідини.

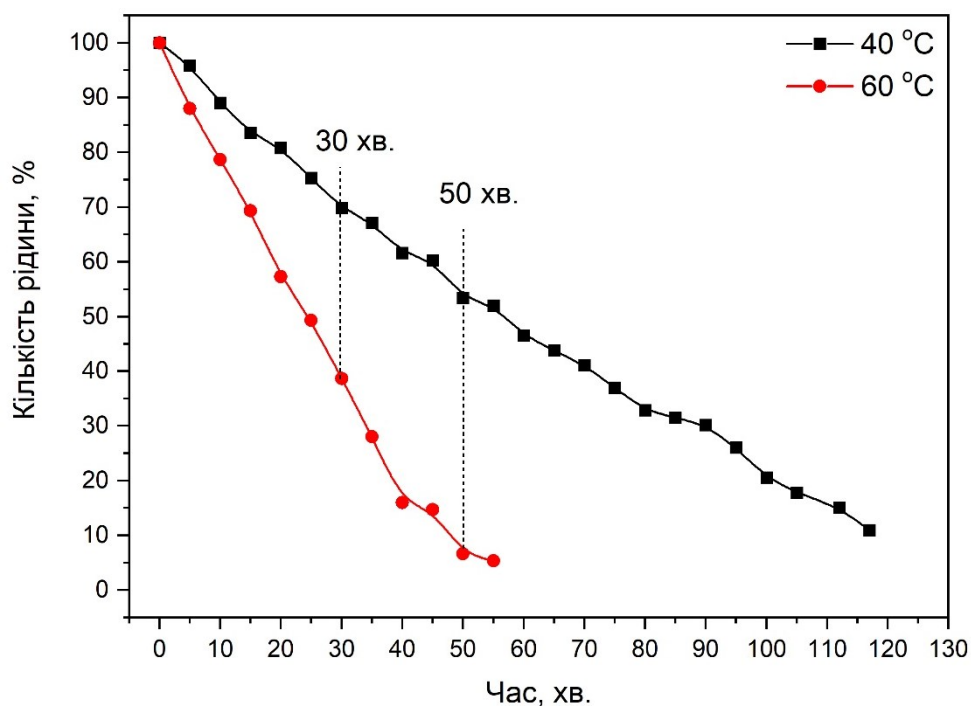


Рис. 2.3. Графік залежності кількості рідини у зразку КДГА від часу витримки за різної температури.

Розділивши масу сухого порошку КДГА на масу рідини в кожен момент часу, отримали залежність співвідношення L/P від часу (Рис. 2.4.). Початкове співвідношення L/P = 1,5. Через 30 хв воно становить 1,25 за температури 40 °C і 0,95 за температури 60 °C. Через 50 хв за температури 40 °C співвідношення L/P падає до 0,11, а за температури 60 °C до 0,66.

Як показали попередні дослідження співвідношення L/P суттєво впливає на процес конвертації  $\alpha'$ -ТКФ в апатит під час застигання апатитового кісткового цементу [56]. Так при низьких співвідношеннях (L/P = 0,75; L/P = 1) кількість апатиту в цементі не перевищує 20 %. При збільшенні кількості рідини (L/P = 1,25) кількість  $\alpha'$ -ТКФ суттєво зменшується. При співвідношенні L/P = 1.5 весь  $\alpha'$ -ТКФ перетворюється в нанокристалічний апатит (Рис. 2.4.). Це значить, що якщо під час застигання кісткового цементу співвідношенні L/P знижується нижче 1,25, це призводить до неповної конвертації  $\alpha'$ -ТКФ. Наслідком цього будуть низькі механічні характеристики такого зразку.

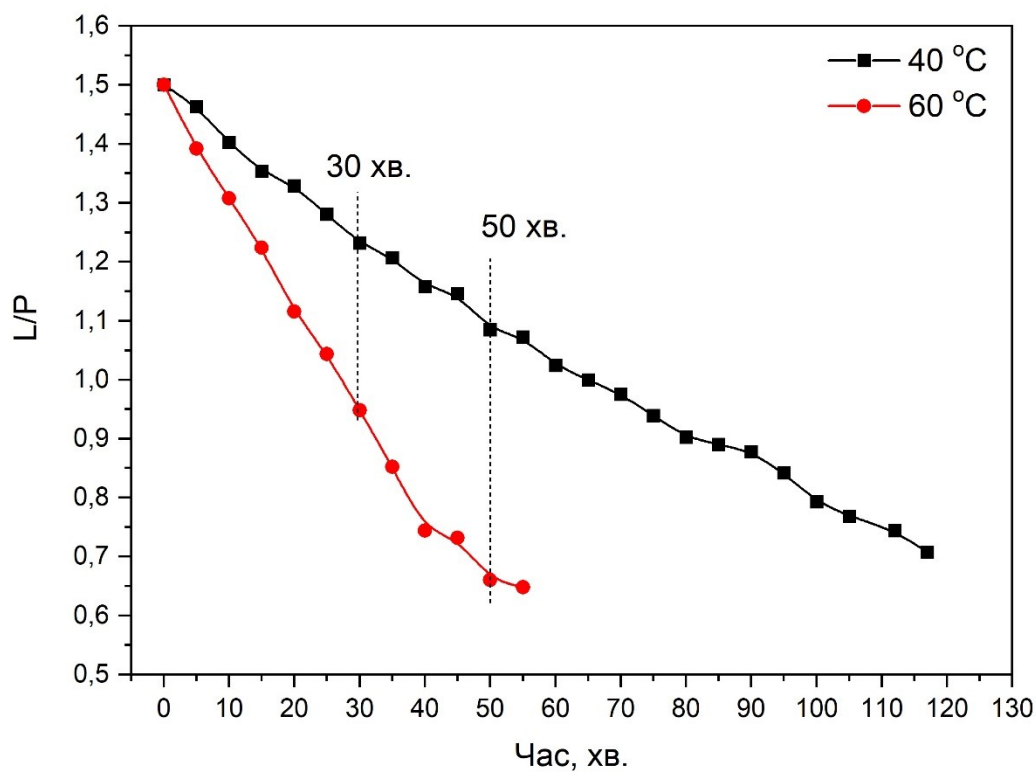


Рис. 2.4. Графік залежності співвідношення L/P у зразку КДГА від часу витримки за різної температури.

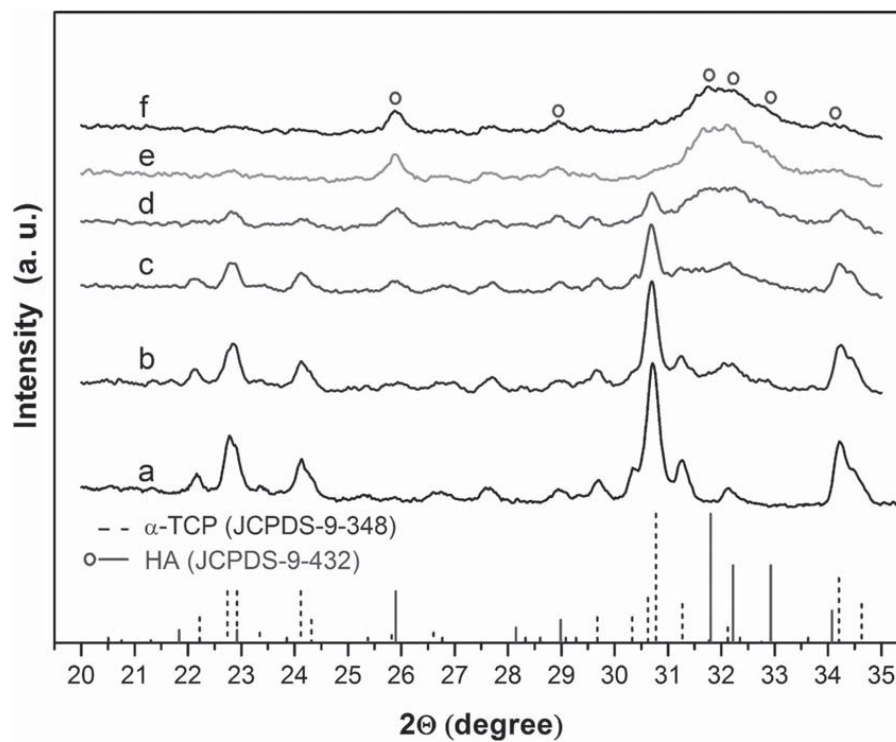


Рис. 2.5. Дифрактограми цементу на основі  $\alpha'$ -ТКФ з різним співвідношенням L/P [1].

Дослідження процесу дегідратації продовжили на зразках цементу на основі  $\alpha'$ -ТКФ. Процедура експерименту була ідентична експерименту з порошком КДГА. Вихідне співвідношення L/P також дорівнювало 1,5. Аналіз отриманих результатів виявив деякі відмінності.

Так криві зміни маси зразків цементу при витримці за різної температури помітні сходинки, коли маса зразків не змінюється 10-15 хв. Найявніша перша сходинка при 20-25 хв. витримки при температурі 40 °C збігається з часом схоплювання цементу при цій температурі, виміряному методом Віка [56]. Сповільнення випаровування рідини очевидно пов'язано з утворенням затверділого шару на поверхні цементу, що перешкоджає вільному випаровуванню (Рис. 2.6.). На структурні зміни поверхні вказує також різний кут нахилу кривої дегідратації до та після схоплення. Після 20 хвилин випаровування йде більш повільно.

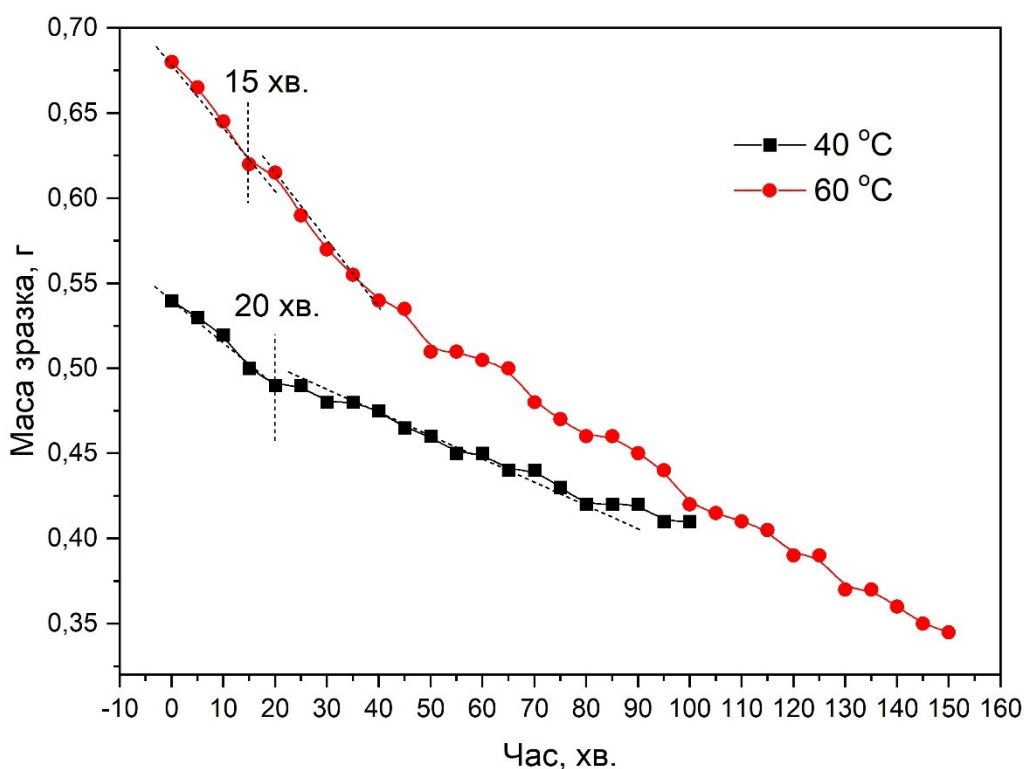


Рис. 2.6. Графік залежності маси зразка цементу на основі  $\alpha'$ -ТКФ від часу витримки за різної температури.

На кривій зразка, що витримували при температурі 60 °С, перша сходинка помітна через 15 хв. витримки і має значно меншу тривалість. Це пов'язано з пришвидшенням гідролізу при вищій температурі. Перерахунок графіків в залежності кількості рідини та співвідношення L/P від часу витримки за різної температури, показав що при 15–20 хвилинах витримки кількість рідини складає приблизно 90 % від початкової, що відповідає співвідношення L/P 1.35 (Рис. 2.7, 2.8). При 40 °С такі умови зберігаються в інтервалі 15–25 хвилин. Цього часу достатньо, щоб утворився щільний шар, що перешкоджає випаровуванню та сприяє нормальному застиганню цементу при оптимальних співвідношеннях L/P. У випадку ж витримки при температурі 60 °С оптимальні умови спостерігаються лише в інтервалі 15–20 хвилин, а далі співвідношення L/P стрімко падає. Тобто фактично поверхневий шар зразку не встигає схопитися, через те, що співвідношення L/P занизьке для повного перетворення  $\alpha'$ -ТКФ в апатит. Фактично дегідратація проходить так само як в порошок КДГА.

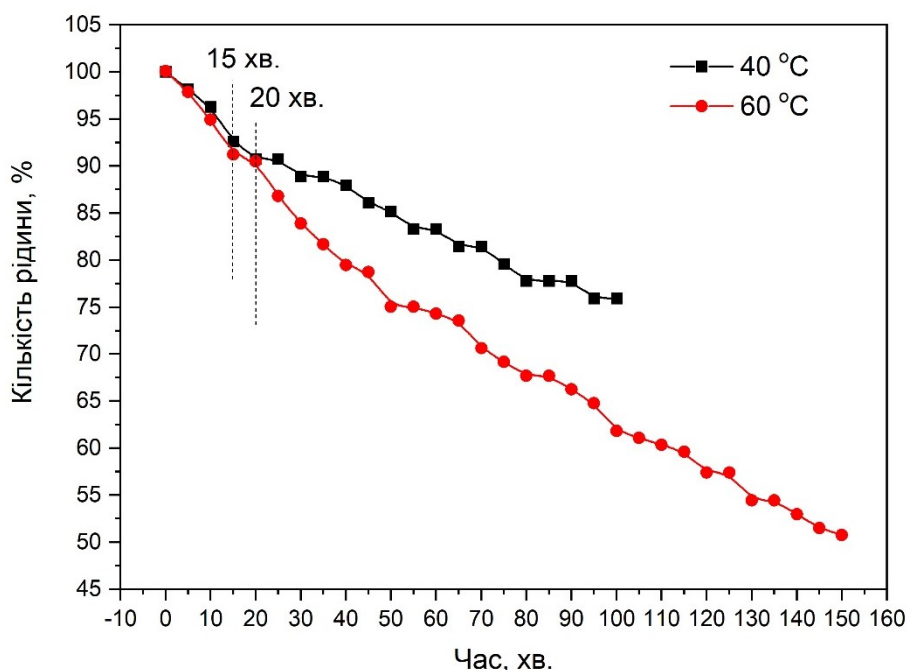


Рис. 2.7. Графік залежності кількості рідини у зразку цементу на основі  $\alpha'$ -ТКФ від часу витримки за різної температури.

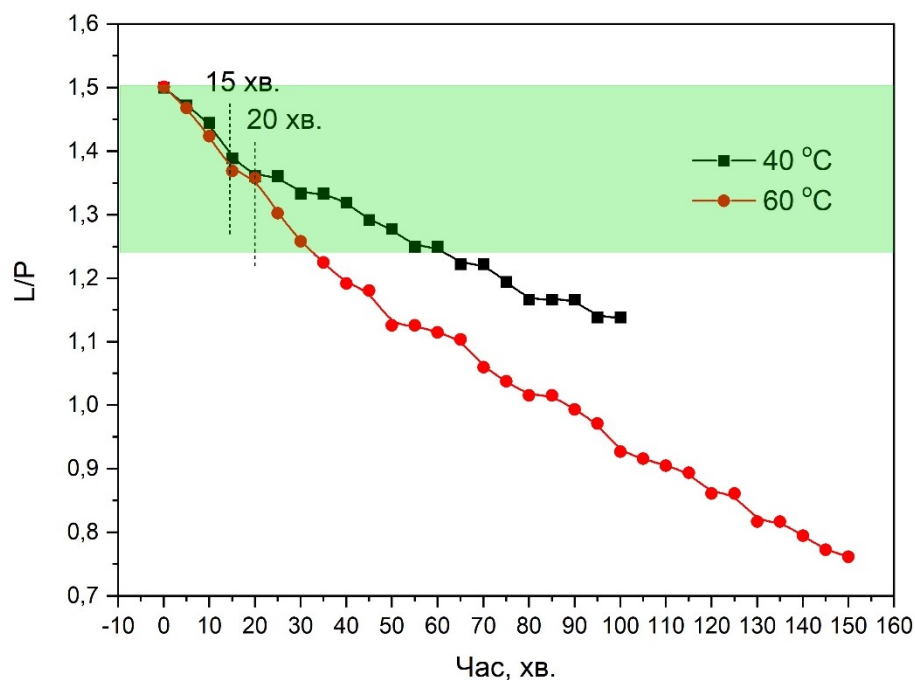


Рис. 2.8. Графік залежності співвідношення L/P у зразку цементу на основі  $\alpha'$ -ТКФ від часу витримки за різної температури.

Для визначення кількості і локалізації рідини, що залишилась і дослідження домішкового складу провели термогравіметричні дослідження зразків. Крива зміни маси зразку КДГА, що витримували при 40 °C має вигляд, характерний для нанокристалічного апатиту отриманого методом осадження з водних розчинів. Загальна втрата маси зразка становила 29,33 % в діапазоні температур від 20 до 750 °C (Рис. 2.9.). Похідна кривої ТГ, ДТГ, показала три температурні діапазони втрати маси: а) 20–170 °C, б) 220–300 °C і в) 600-750 °C. Беручи до уваги отримані в попередніх роботах дані, можна зробити висновок, що в інтервалі 20–170 °C відбувається виділення адсорбованої води (близько 10,5 % втрати маси). Діапазон 220–300 °C пов'язаний з виділенням структурної (захопленої) води, а також з розкладанням побічного продукту  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (разом близько 4,5 % втрати маси). Третя втрата маси між 600 і 750 °C, ймовірно, пов'язана з розкладанням залишків  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (близько 6,3 % втрати маси), що не прореагував [58].

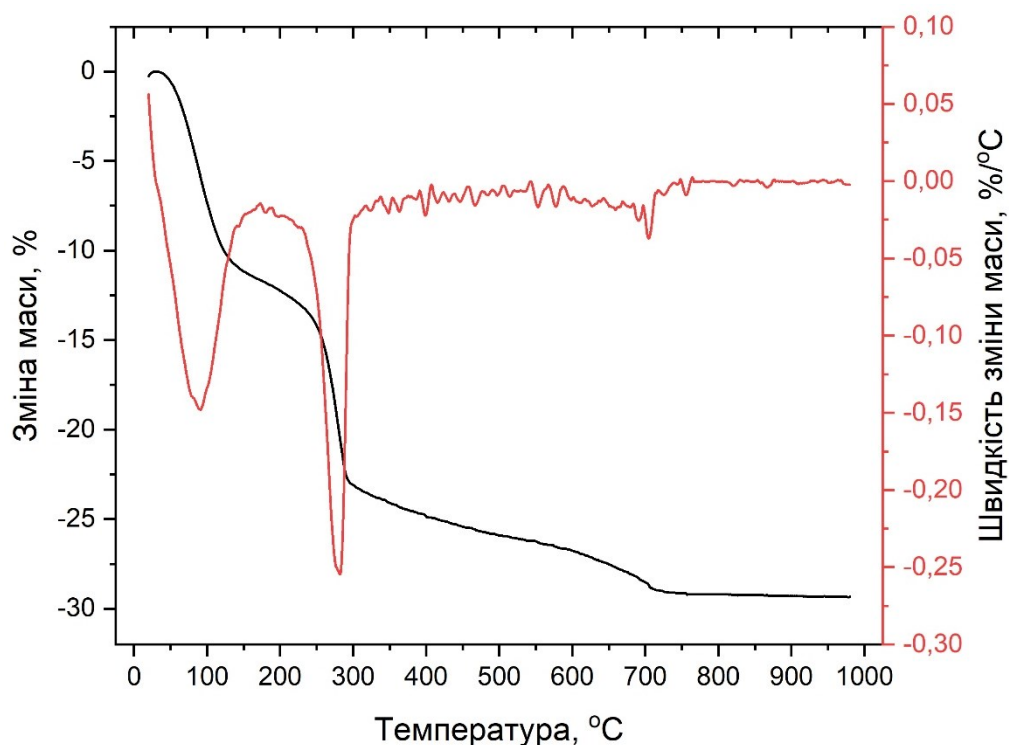


Рис. 2.9. Криві зміни маси та швидкості втрати маси зразка КДФА.

Крива зміни маси цементу на основі  $\alpha'$ -ТКФ, що витримували при 40 °С суттєво відрізняється від зразка КДФА (Рис. 2.10.). Загальна втрату маси зразка склала лише 5,31 % в діапазоні температур від 30 до 930 °С (рис. 2.10). На кривій ДТГ був помічений лише один пік в температурному діапазоні втрати маси 30–200 °С. Відсутність особливостей, що пов'язані з наявністю домішок, пояснюється методом отримання вихідного порошку для виготовлення цементу. Оскільки порошок  $\alpha'$ -ТКФ отримували шляхом відпалу аморфного фосфату кальцію за температури 700 °С упродовж 1 год. з подальшим гартуванням на повітрі, то усі домішки термічно розклалися під час нагрівання зразка. Менша кількість поверхневої води також пояснюється термічною обробкою порошку  $\alpha'$ -ТКФ. Швидкість нагріву під час відпалу була приблизно 5 °С/хв. Це значить, що до 700 °С зразок нагрівали 2 години 20 хвилин. За цей час розмір частинок  $\alpha'$ -ТКФ збільшується до 60-80 нм, що в два рази більше ніж у нанокристалічного КДФА. Менша площа питомої поверхні абсорбує меншу кількість рідини.

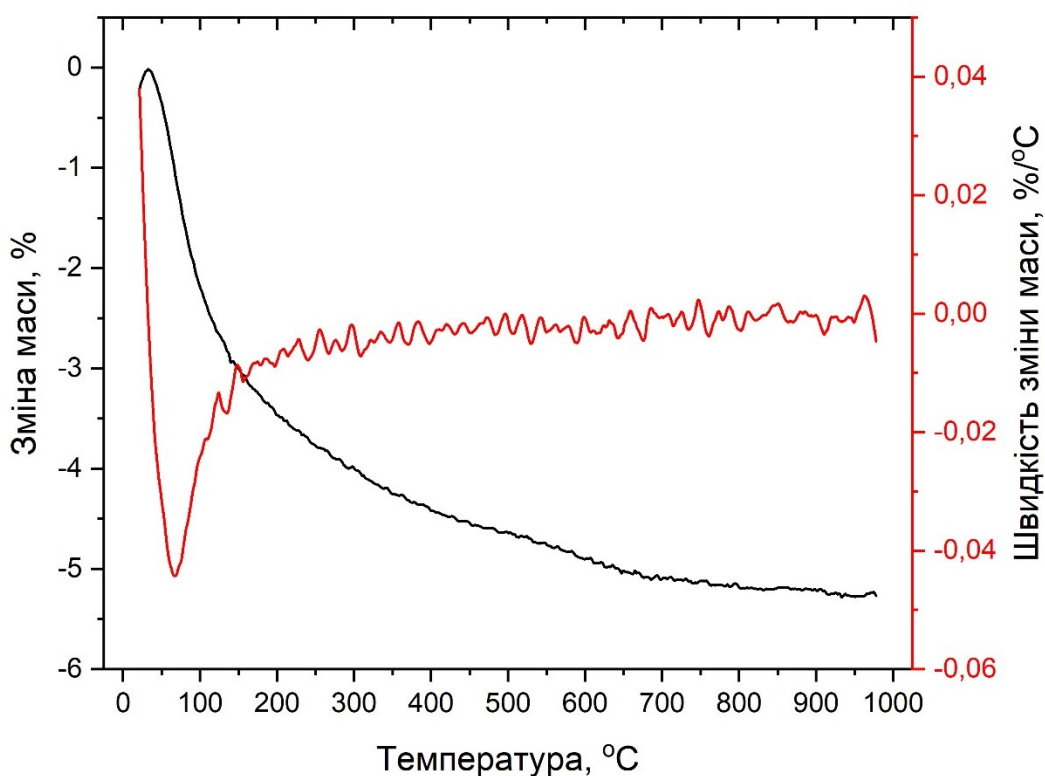


Рис. 2.10. Криві зміни маси та швидкості втрати маси зразка цементу на основі  $\alpha'$ -ТКФ.

Порівняння кривих зміни маси зразків цементу на основі  $\alpha'$ -ТКФ, що витримували при 40 °C і 60 °C, не показало якісних відмінностей (Рис. 2.11.). У зразка цементу, що витримували при 60 °C зафіксували дещо меншу загальну втрату маси (4,789 %). Це було очікувано, оскільки при вищій температурі випаровування поверхневої води проходить більш інтенсивніше.

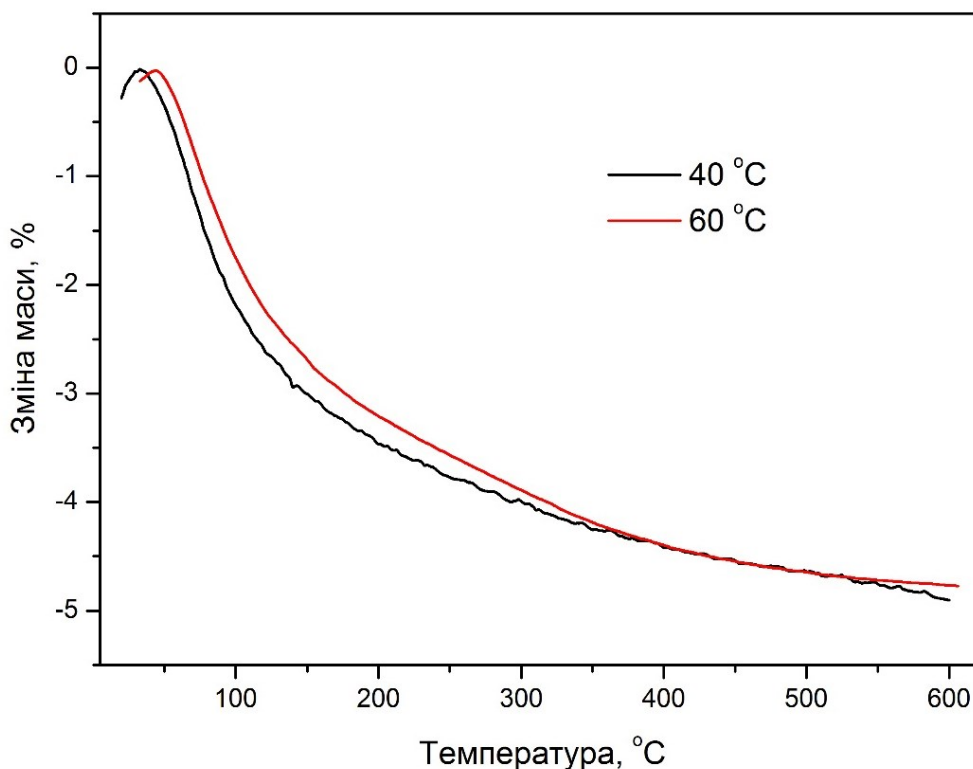


Рис. 2.11. Криві зміни маси зразків цементу на основі  $\alpha'$ -ТКФ, що дегідрували за різної температури.

## ВИСНОВКИ

- 1 Досліджено зміну кількості рідини та співвідношення кількість рідини / порошок у зразках нанокристалічного кальцій-дефіцитного гідроксиапатиту та кісткового цементу на основі  $\alpha'$ -метастабільного трикальційфосфату залежно від часу витримки при 40 °C і 60 °C.
- 2 Визначені оптимальні умови застигання кісткового цементу на основі  $\alpha'$ -метастабільного трикальційфосфату.
- 3 Запропоновано пояснення зміни властивостей кісткового цементу на основі  $\alpha'$ -метастабільного трикальційфосфату при захопленні за різної температури.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. H.F. Albee, F.H. Morrison, Studies in bone growth: triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis, *Ann. Surg.* 70 (1920) 32–39.
2. F.C.M. Driessens, M.G. Boltong, O. Bermudez, J.A. Planell, M.P. Ginebra, E. Fernandez, Effective formulations for the preparation of calcium phosphate bone cements, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 5 (1994) 164–170.
3. Y. Maazouz, E.B. Montufar, J. Guillem-Marti, I. Fleps, C. O'hman, C. Persson, M. P. Ginebra, Robocasting of biomimetic hydroxyapatite scaffolds using self-setting inks, *J. Mater. Chem. B.* 2 (2014) 5378.
4. A. Barba, A. Diez-Escudero, Y. Maazouz, K. Rappe, M. Espanol, E.B. Montufar, M. Bonany, J.M. Sadowska, J. Guillem-Marti, C. O'hman-Ma'gi, C. Persson, M.- C. Manzanares, J. Franch, M.-P. Ginebra, Osteoinduction by foamed and 3D- printed calcium phosphate scaffolds: effect of nanostructure and pore architecture, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9 (2017) 41722–41736.
5. M.P. Ginebra, E. Fernandez, E.A. De Maeyer, R.M. Verbeeck, M.G. Boltong, J. Ginebra, F.C. Driessens, J.A. Planell, Setting reaction and hardening of an apatitic calcium phosphate cement, *J. Biomater. Appl.* 76 (1997) 905–912.
6. M. Bohner, Reactivity of calcium phosphate cements, *J. Mater. Chem.* 17 (2007) 3980.
7. C. Liu, W. Shen, Effect of crystal seeding on the hydration of calcium phosphate cement, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 8 (1997) 803–807.
8. . Ahlneck, G. Zografi, The molecular basis of moisture effects on the physical and chemical stability of drugs in the solid state, *Int. J. Pharm.* 62 (1990) 87–95.
9. I. Opalin'ski, M. Chutkowski, A. Hassanpour, Rheology of moist food powders as affected by moisture content, *Powder Technol.* 294 (2016) 315–322.
10. Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration / J. Jeong et al. *Biomaterials Research.* 2019. Vol. 23, Article ID: s40824-018-0149-3.

11. Ben-Nissan B. *Advances in calcium phosphate biomaterials*; Springer. 2014.
12. Fujii E, et al. Selective protein adsorption property and characterization of nano-crystalline zinc-containing hydroxyapatite. *Acta Biomater.* 2006; 2:69–74.
13. Dorozhkin SV. Calcium orthophosphates. *JMatS.* 2007;42:1061–95.
14. Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:S23–30.
15. Kuroda Y, et al. Osteoblasts induce Ca<sup>2+</sup> oscillation-independent NFATc1 activation during osteoclastogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:8643–8.
16. Khoshniat S, et al. The emergence of phosphate as a specific signaling molecule in bone and other cell types in mammals. *Cell Mol Life Sci.* 2011; 68:205–18.
17. Samavedi S, Whittington AR, Goldstein AS. Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: a review of properties and their influence on cell behavior. *Acta Biomater.* 2013;9:8037–45.
18. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J.* 2001;10:S96–S101.
19. Deligianni DD, et al. Effect of surface roughness of hydroxyapatite on human bone marrow cell adhesion, proliferation, differentiation and detachment strength. *Biomaterials.* 2000;22:87–96.
20. Zhu X, et al. Effect of phase composition and microstructure of calcium phosphate ceramic particles on protein adsorption. *Acta Biomater.* 2010;6:1536–41.
21. Mygind T, et al. Mesenchymal stem cell ingrowth and differentiation on coralline hydroxyapatite scaffolds. *Biomaterials.* 2007;28:1036–47.
22. Dorozhkin SV, Epple M. Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angew Chem Int Ed.* 2002;41:3130–46.

23. Eriksson C, Nygren H, Ohlson K. Implantation of hydrophilic and hydrophobic titanium discs in rat tibia: cellular reactions on the surfaces during the first 3 weeks in bone. *Biomaterials*. 2004;25:4759–66.
24. Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials*. 2000;21:667–81.
25. Hu Q, et al. Effect of crystallinity of calcium phosphate nanoparticles on adhesion, proliferation, and differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. *JMCh*. 2007;17:4690–8.
26. Dorozhkin S. V. Synthetic amorphous calcium phosphates (ACPs): preparation, structure, properties, and biomedical applications. *Biomaterials Science*. 2021. Vol. 9, no. 23. P. 7748–7798.
27. C. Combes and C. Rey, Amorphous calcium phosphates: synthesis, properties and uses in biomaterials, *Acta Biomater.*, 2010, 6, 3362–3378.
28. Vallet-Regí M, Rodríguez-Lorenzo LM and Salinas AJ. Synthesis and characterisation of calcium deficient apatite. *Solid State Ionics* 1997; 101: 1279–1285.
29. Dutta SR, Passi D, Singh P, et al. Ceramic and non-ceramic hydroxyapatite as a bone graft material: a brief review. *Irish J Med Sci (1971 -)* 2015; 184(1): 101–106.
30. Doremus RH. Bioceramics. *J Mater Sci* 1992; 27(2): 285–297.
31. Gustavsson J, Ginebra MP, Planell J, et al. Osteoblast-like cellular response to dynamic changes in the ionic extracellular environment produced by calcium-deficient hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med* 2012; 23(10): 2509–2520.
32. Faucheux C, Verron E, Soueidan A, et al. Controlled release of bisphosphonate from a calcium phosphate biomaterial inhibits osteoclastic resorption in vitro. *J Biomed Mater Res A* 2009; 89A(1): 46–56.
33. Wu F, Ngothai Y, Wei J, et al. Premixed, injectable PLA- modified calcium deficient apatite biocement (cd-AB) with washout resistance. *Colloids Surf B: Biointerfaces* 2012; 92: 113–120.

34. Heini PF and Berlemann U. Bone substitutes in vertebroplasty. *Eur Spine Journal : Official Publication Eur Spine Soc Eur Spinal Deformity Soc Eur Section Cervical Spine Res Soc* 2001; 10 Suppl 2(2): S205–S213.
35. Dickens B, Schroeder L, Brown W. Crystallographic studies of the role of mg as a stabilizing impurity in  $\beta$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. The crystal structure of pure  $\beta$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. *J Solid State Chem.* 1974;10:232–48.
36. Mathew M, et al. The crystal structure of  $\alpha$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. *Acta Crystallogr B Struct Crystallogr Cryst Chem.* 1977;33:1325–33.
37. Yubao L, Xingdong Z, De Groot K. Hydrolysis and phase transition of alpha- tricalcium phosphate. *Biomaterials.* 1997;18:737–41.
38. Kamitakahara M, Ohtsuki C, Miyazaki T. Behavior of ceramic biomaterials derived from tricalcium phosphate in physiological condition. *J Biomater Appl.* 2008;23:197–212.
39. Bi L, et al. Reconstruction of goat tibial defects using an injectable tricalcium phosphate/chitosan in combination with autologous platelet-rich plasma. *Biomaterials.* 2010;31:3201–11.
40. Dorozhkin SV. Biphasic, triphasic and multiphasic calcium orthophosphates. *Acta Biomater.* 2012;8:963–77.
41. Daculsi G. Biphasic calcium phosphate concept applied to artificial bone, implant coating and injectable bone substitute. *Biomaterials.* 1998;19:1473–8.
42. Lobo SE, Livingston Arinzeh T. Biphasic calcium phosphate ceramics for bone regeneration and tissue engineering applications. *Materials.* 2010; 3:815–26.
43. Daculsi G, Baroth S, LeGeros R. 20 years of biphasic calcium phosphate bioceramics development and applications. In: *Advances in Bioceramics and Porous Ceramics II*; 2010. p. 45–58.
44. Geffers M, et al. Dual-setting brushite–silica gel cements. *Acta Biomater.* 2015;11:467–76.

45. Verron E, et al. Calcium phosphate biomaterials as bone drug delivery systems: a review. *Drug Discov Today*. 2010;15:547–52.
46. Dorozhkin S. Self-Setting Calcium Orthophosphate Formulations. *Journal of Functional Biomaterials*. 2013. Vol. 4, no. 4. P. 209–311.
47. Brown, W.E.; Chow, L.C. Dental Restorative Cement Pastes. U.S. Patent No. 4518430, 21 May 1985
48. Fernández, E.; Vlad, M.D.; Hamcerencu, M.; Darie, A.; Torres, R.; Lopez, J. Effect of iron on the setting properties of  $\alpha$ -TCP bone cements. *J. Mater. Sci.* 2005, 40, 3677–3682.
49. Lilley, K.J.; Gbureck, U.; Wright, A.J.; Farrar, D.F.; Barralet, J.E. Cement from nanocrystalline hydroxyapatite: Effect of calcium phosphate ratio. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2005, 16, 1185–1190.
50. Alge, D.L.; Goebel, W.S.; Chu, T.M.G. In vitro degradation and cytocompatibility of dicalcium phosphate dihydrate cements prepared using the monocalcium phosphate monohydrate/hydroxyapatite system reveals rapid conversion to HA as a key mechanism. *J. Biomed. Mater. Res. Part B Appl. Biomater.* 2012, 100, 595–602.
51. Effects of liquid phase on basic properties of .ALPHA.-tricalcium phosphate-based apatite cement / M. ODA et al. *Dental Materials Journal*. 2008. Vol. 27, no. 5. P. 672–677.
52. M.P. Ginebra, E. Fernandez, E.A. De Maeyer, R.M. Verbeeck, M.G. Boltong, J. Ginebra, F.C. Driessens, J.A. Planell, Setting reaction and hardening of an apatitic calcium phosphate cement, *J. Biomater. Appl.* 76 (1997) 905–912.
53. M. Bohner, Reactivity of calcium phosphate cements, *J. Mater. Chem.* 17 (2007) 3980.
54. C. Liu, W. Shen, Effect of crystal seeding on the hydration of calcium phosphate cement, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 8 (1997) 803–807.
55. Effect of moisture on the reactivity of alpha-tricalcium phosphate / M. Espanol et al. *Ceramics International*. 2023.

56. Z Zyman, M Epple, A Goncharenko, O Onyshchenko, D Rokhmistrov, O Prymak and K Loza, Favorable features of a calcium phosphate cement based on a metastable  $\bar{\alpha}$ -tricalcium phosphate and reinforced by hydroxyapatite whiskers, *Phys. Scr.* 98 (2023) 125905

57. Зиман З. З. Кальцій-фосфатні біоматеріали: навчальний посібник. Харків : ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2018. 288 с.

58. Zyman, Z., Epple, M., Rokhmistrov, D., Glushko, On impurities and the internal structure in precipitates occurring during the precipitation of Nanocrystalline calcium phosphate. *V. Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*, 2009, 40(4), 297–301