

(19)



(10) **LT 2014 502 A**

(12) **PARAIŠKOS APRAŠYMAS**

(21) Paraiškos numeris: **2014 502** (51) Int. Cl. (2015.01): **C01B 25/00**

(22) Paraiškos padavimo data: **2014 03 06**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2015 09 25**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —

(30) Prioritetas: —

(71) Pareiškėjas:

Vilniaus universitetas, Universiteto g. 3, LT-01513 Vilnius, LT
UAB „Mokslinių tyrimų plėtros laboratorija“, Donelaičio g. 6A, 03102 Vilnius, LT

(72) Išradėjas:

Justė TRINKŪNAITĖ-FELSEN, LT
Aleksandra PRICHODKO, LT
Aivaras KAREIVA, LT

(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:

Virgina Adolfina DRAUGELIENĖ, UAB TARPINĖ, A.P.Kavoliuko g. 24-152, LT-04328 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Kalcio hidroksiapatito sintetinimo būdas

(57) Referatas:

Išradimas priklauso biomedicinos medžiagoms, naudojamoms biotechnologijoje ir medicinoje, kurios gaunamos kalcio hidroksiapatito sintetinimo būdu, naudojant natūralias gausiai kalcio turinčias žaliavas. Kalcio hidroksiapatito sintetinimo būdas, apimantis natūralios pradinės žaliavos paruošimą, kurio metu ją mechaniškai nuvalo, plauna, džiovina ir susmulkina iki miltelių pavidalo bei sintetina vandeniniu zolių-gelių būdu. Kaip natūrali pradinė žaliava yra naudojamos jūros kriauklės, kur minėti jūros kriauklių milteliai tirpinami vandeniniame tirpale, kurį sudaro: azoto rūgštis 2M HNO₃ nuo maždaug 62,0 iki maždaug 63,0 masės%, etilendiamintetraacto rūgštis (EDTA) nuo maždaug 5,0 iki maždaug 10,0 masės%, ir diamonio vandenilio tetraoksofosfatas (NH₄)₂HPO₄ nuo maždaug 2,5 iki maždaug 5,0 masės%, gautą sumaišytų medžiagų tirpalą šildo iki maždaug 70 °C ir sumaišo su šlapalo CO(NH₂)₂ vandeniniu tirpalu, gaunant tirpalą, kurio pH yra ribose nuo maždaug 7 iki maždaug 10, po to esant maždaug 90 °C temperatūrai vykdo tirpalo koncentraciją jį maišant, kol tirpalas virsta skaidriu klampiu geliu. Gautą gelį džiovina, smulkina bei kaitina, gaunant hidroksiapatito miltelius.

Kalcio hidroksiapatito sintetinimo būdas

Išradimas priklauso biomedicinos medžiagoms, gaunamoms kalcio hidroksiapatito sintetinimo būdu, naudojant natūralias gausiai kalcio turinčias žaliavas, bei naudojamoms biotechnologijoje ir medicinoje, pavyzdžiui ortopedijoje bei odontologijoje kaulų pakaitalams gaminti,

Yra žinomi kalcio hidroksiapatito (CHAp) sintezės būdai zolių-gelių metodu, kuriuose pradinėmis medžiagomis naudojami kalcio alkoholiatai ir fosforo organiniai junginiai, ir daug zolių-gelių metodo variantų vandeniniuose tirpaluose. Kalcio hidroksiapatito zolių-gelių sintezės nevandenėje terpėje būdas, fosforo pradinėmis medžiagomis naudojant įvairius dialkilfosfitus. Ca-P-O geliai hidroksiapatitui sintetinti buvo gauti lėtai hidrolizuojant kalcio butanoato arba kalcio acetilacetono ir dialkilfosfito mišinius. Vienfaziai $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ pavyzdžiai buvo gauti kaitinant pradinius Ca-P-O gelius 15 valandų 1000 °C temperatūroje. Minėti būdai aprašyti A. Beganskienė, I. Bogdanovičienė, A. Kareiva. *Chemija*. 2-3 (2006) 16. ir M. L. Montero, A. Saenz, V. M. Castano. *J. Mater. Sci.* 39 (2004) 339.

Yra žinoma, kad CHAp sintetinti pradinėmis medžiagomis taip pat yra naudojamos gamtinės natūralios medžiagos: koralai, kaulai ar kiaušinių lukštai. Šie būdai aprašyti U. Ripamonti, J. Crooks, L. Khoali, L. Roden. *Biomater.* 30 (2009) 1428; K. P. Sanosh, M. C. Chu, A. Balakrishnan. *Mater. Lett.* 63 (2009) 2100. S. Joschek, B. Nies, R. Krotz, A. Goepferich. *Biomater.* 21 (2000) 1645.

Išradimo aprašyme pagal Korėjos patentinę paraišką KR20090119303 (A) aprašytas kalcio hidroksiapatito (CHAp) sintezės būdas naudojant kalcio turinčią natūralią pradinę žaliavą, tokią kaip gyvulių kaulai, apimantis organinių medžiagų sintetinimą iš stuburinių gyvūnų ir žuvų kaulų 2-3 val esant 600-800 °C.; prisotinto tirpalo gamybą, tirpinant susintetintus kaulus neorganinės rūgšties tirpale; prisotinto tirpalo filtravimą, pašalinant sunkiuosius metalus, pirmojo sumaišyto tirpalo ir antrojo sumaišyto tirpalo gamybą; kristalinio hidroksiapatito gamybą kaitinant sumaišytus tirpalus 12-48 val; plovimą ir džiovinimą.

Žinomo būdo trūkumas yra tai, kad vykdomas kaulų deginimas, kuris reikalauja aukštos temperatūros bei skledžia nuodingas, blogo kvapo išmetamąsias medžiagas, dėl ko reikalinga speciali neutralizavimo įranga todėl brangsta kalcio hidroksiapatito (CHAp) sintezės įranga.

Išradimo aprašyme pagal Kinijos patentą CN102070131 (A) aprašytas aukšto grynumo hidroksiapatito (HA) gamyba iš kiaušinio lukštų esant hidroterminėms sąlygoms; susintetinto HA savybės yra panašios į natūralų HA skeletą. Vienetinės HA dalelės yra nano dydžio, bei HA nano dalelės susijungia į mikrono dydžio granules. Žinomame būde naudojamos gausiai kalcio turintys panaudotų kiaušinių lukštai ir HA sintetinimui naudojamas tinkamas būdas.

Žinomo būdo trūkumas yra tai, kad kiaušinių lukštų utilizavimui reikalinga brangi kiaušinių utilizavimo technika. Be to HA sintetinimui naudojamos hidroterminės sąlygos, t. y. reikalingas aukštas slėgis ir atitinkama brangi, pavojinga aparatūra.

Išradimu siekiama sukurti paprastesnį, švaresnį, netoksišką, aplinkai draugišką darniosios chemijos vandeninėje terpėje kalcio hidroksiapatito CHAp sintetinimo būdą, bei supaprastinti ir atpiginti pasiūlyto būdo realizavimo įrangą.

Pagal pasiūlytą išradimą kalcio hidroksiapatito sintetinimo būde, naudojant kalcio turinčią natūralią pradinę žaliavą, apimančiame šiuos etapus:

- minėtą natūralią pradinę žaliavą paruošia ją mechaniškai nuvalant, plaunant ir džiovinant,
- paruoštą pradinę žaliavą susmulkina iki miltelių pavidalo,
- pradinės žaliavos gautus miltelius sintetina vandeniniu zolių-gelių būdu maišant gautus miltelius su diamoniovandenilio tetroksofosfato $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ vandeniniu tirpalu, gaunant sumaišytų medžiagų suspensiją,
- gautą suspensiją koncentruoja, išgarinant iš jos vandenį, kol tirpalas virsta skaidriu klampiu geliu, po to gautą gelį džiovina, smulkina bei kaitina, gaunant hidroksiapatito miltelius, kur

minėta natūrali pradinė žaliava yra jūros kriauklės,

minėtame sintetinimo etape papildomai naudoja etilendiamintetraacto rūgštį (EDTA), kur sintetinimo metu minėti jūros kriauklių milteliai tirpinami vandeniniame tirpale, kurį sudaro:

azoto rūgštis 2M HNO_3 nuo maždaug 62,0 iki maždaug 63,0 masės%,

etilendiamintetraacto rūgštis (EDTA) nuo maždaug 5,0 iki maždaug 10,0 masės%, ir

diamoniovandenilio tetroksofosfatas $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ nuo maždaug 2,5 iki maždaug 5,0 masės% ,

gautą sumaišytų medžiagų tirpalą šildo iki maždaug 70°C ir sumaišo su šlapalo $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ vandeniniu tirpalu, gaunant tirpalą, kurio pH gali būti nuo maždaug 7 iki maždaug 10, po

to esant maždaug 90° C temperatūrai vykdo tirpalo koncentraciją jį maišant, kol tirpalas virsta skaidriu klampiu geliu, o po to gautą gelį džiovina, smulkina bei kaitina, gaunant hidroksiapatito miltelius.

Jūros kriauklės yra *Macoma balthica* surinktos Baltijos jūros Lietuvos pakrantėje.

Gautą gelį džiovina krosnyje esant maždaug 100 °C, susmulkina iki 1-3µm ir kaitina aplinkos ore 10 h keliant temperatūrą greičiu 2 °C/min iki maždaug 1000 °C temperatūros.

Sintetinant CHAp pasiūlytu naujuoju darniosios (žaliosios) chemijos sintezės būdu naudojant biogeninę medžiagą – Baltijos jūros kriaukles galima susintetinti nanostruktūrintą CHAp (kristalitų dydis nuo 100 nm iki 500 nm). Pasiūlytu būdu leidžia gauti nanostruktūrintą kalcio hidroksiapatitą ir efektyviai jį panaudoti biotechnologijoje ir medicinoje.

Fig.1 Pavaizduotos susintetinto $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ iš Baltijos jūros kriauklių rentgeno spindulių (XRD) difraktogramos.

Fig.2 Pavaizduota susintetinto $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, naudojant Baltijos jūros kriaukles skenuojančios elektroninės mikroskopijos (SEM) nuotrauka.

Naudojamos Baltijos jūros *Macoma balthica* (L.) kriauklės buvo surinktos Lietuvoje, Palangos pajūryje. Jūros kriauklės buvo valomos mechaniškai, plaunamos verdančiu vandeniu ir džiovinamos 24 val. kambario temperatūroje. Po to, kriauklių ėminys trinamas agatinėje grūstuvėje iki miltelių pavidalo. CHAp sintetinas vandeniniu zolių-gelių metodu, tirpinant jūros kriaukles (1,055 g) azoto rūgštyje 2M (HNO_3) su EDTA (8,767 g) ir $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (2,376 g), ištirpintus distiliuotame vandenyje. Gautas skaidrus bespalvis tirpalas pašildomas iki 70 °C ir sumaišomas su šlapalo $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ vandeniniu tirpalu gaunant tirpalą, kurio pH yra nuo maždaug 7 iki maždaug 10. Po to gautas tirpalas koncentruojamas atviroje stiklinėje, esant 90 °C temperatūrai bei maišomas. Maišymas baigiamas tuomet, kai tirpalas virsta skaidriu, klampiu geliu. Gautas gelis džiovinamas krosnyje esant apie 100°C po to sumalamas agatinėje grūstuvėje ir kaitinamas aplinkos ore 10 h 1000 °C temperatūroje (temperatūros kėlimo greitis 2 °C/min).

Pavyzdys

CHAp sintetinti vandeniniu zolių-gelių metodu Ca ir P šaltiniais pasirinkti jūros kriauklės ir diamoniovandenilio tetroksofosfatas $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Jūros kriauklės (1,055 g) ištirpinamos

100 ml 2M HNO_3 , tirpale, kuris praskiedžiamas iki 500 ml ir maišant pridedama kaip kompleksuojančio reagento etilendiamintetraacto EDTA (8,767 g) bei 100 ml $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (2,376 g) vandens tirpalo. Gautas skaidrus bespalvis tirpalas, sušildomas iki 70°C ir maišomas 10 min su šlapalo $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ vandeniniu tirpalu, gaunant tirpalą, kurio pH yra intervale tarp 7 ir 10. Mišinys įgauna balkšvą spalvą. Po 1 valandos intensyvaus maišymo toje pačioje temperatūroje uždengtoje stiklinėje, tirpalas koncentruojamas atviroje stiklinėje, esant tai pačiai 70°C temperatūrai. Maišymas baigiamas tuomet, kai tirpalas virsta baltu, klampiu geliu. Gauti Ca-P-O geliai džiovinami 24 h krosnyje (100°C), sumalti agato grūstuvėje ir kaitinami aplinkos ore 5 h 1000°C temperatūroje (temperatūros kėlimo greitis 2°C/min). Papildomai milteliai grūdami agatinėje grūstuvėje ir vėl kaitinami aplinkos ore 5 h 1000°C temperatūroje. Susidaro vienfazis $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Lentelėje parodytos CHAp sintezės sąlygos.

Pavyzdys	Kriauklių masė (g)	CHAp kiekis (%)
A	1,05	100
B	1,1	99,5
C	1,15	99,25
D	1,2	99,25

Pasiūlyto išradimo CHAp sintezės būde naudojant Baltijos jūros kriaukles *Macoma balthica* (L.), surinktas Lietuvoje, galima efektyviai susintetinti vienfazį CHAp (1 paveikslas). Parodyta, kad keičiant pradinių medžiagų kiekius, galima keisti $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ fazinę sudėtį (1 lentelė). Parodyta, kad šis sintezės metodas leidžia susintetinti nanostruktūrintą kalcio hidroksiapatitą (2 paveikslas).

IŠRADIMO APBRĖŽTIS

1. Kalcio hidroksiapatito sintetinio būdas, naudojant kalcio turinčią natūralią pradinę žaliavą, apimantis šiuos etapus:

- minėtą natūralią pradinę žaliavą paruošia ją mechaniškai nuvalant, plaunant ir džiovinant,
- paruoštą pradinę žaliavą susmulkina iki miltelių pavidalo,
- pradinės žaliavos gautus miltelius sintetina vandeniniu zolių-gelių būdu, maišant gautus miltelius ir diamoniovandenilio tetroksofosfato $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ vandeniniame tirpale, gaunant sumaišytų medžiagų suspensiją,
- gautą suspensiją koncentruoja, išgarinant iš jos vandenį, kol tirpalas virsta skaidriu klampiu geliu, po to gautą gelį džiovina, smulkina bei kaitina, gaunant hidroksiapatito miltelius

besiskiriantis tuo, kad

minėta natūrali pradinė žaliava yra jūros kriauklės,

minėtame sintetinio etape papildomai naudoja etilendiamintetraacto rūgštį (EDTA), kur sintetinio metu minėti jūros kriauklių milteliai tirpinami vandeniniame tirpale, kurį sudaro: azoto rūgštis 2M HNO_3 nuo maždaug 62,0 iki maždaug 63,0 masės%, etilendiamintetraacto rūgštis (EDTA) nuo maždaug 5,0 iki maždaug 10,0 masės%, ir diamoniovandenilio tetroksofosfatas $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ nuo maždaug 2,5 iki maždaug 5,0 masės%,

gautą sumaišytų medžiagų tirpalą šildo iki maždaug 70°C ir sumaišo su šlapalo $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ vandeniniu tirpalu, gaunant tirpalą, kurio pH yra ribose nuo maždaug 7 iki maždaug 10, po to esant maždaug 90°C temperatūrai vykdo tirpalo koncentraciją jį maišant, kol tirpalas virsta skaidriu klampiu geliu, o po to gautą gelį džiovina, smulkina bei kaitina, gaunant hidroksiapatito miltelius.

2. Būdas pagal 1 punktą, besiskiriantis tuo, kad jūros kriauklės yra *Macoma balthica* surinktos Baltijos jūros Lietuvos pakrantėje.

3. Būdas pagal 1 arba 2 punktą, besiskiriantis tuo, kad gautą gelį džiovina krosnyje esant maždaug 100°C , susmulkina iki $1\text{--}3\mu\text{m}$ ir kaitina aplinkos ore 10 h keliant temperatūrą greičiu $2^\circ\text{C}/\text{min}$ iki maždaug 1000°C temperatūros.