

МЕТОДИ БІОФІЗИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

УДК 577.32

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ХАРАКТЕРИСТИЧЕСКИХ ИОНОВ В МАСС-СПЕКТРАХ**А.Н. Калинин¹, С.Н. Данильченко¹, Л.Ф. Суходуб^{1,2}**¹*Институт прикладной физики НАН Украины, 40000, Сумы, ул. Петропавловская, 58, Украина
e-mail: kalinkevich@gmail.com*²*Сумский государственный университет, Медицинский институт, 40024, Сумы, ул. Санаторная, 31, Украина*

Поступила в редакцию 13 октября 2011 г.

Принята 2 декабря 2011 г.

Гидроксиапатит является одним из лучших материалов для производства или модификации ортопедических имплантатов; он также может быть частью синтетических композиционных материалов для регенерации костной ткани. Биологическая активность гидроксиапатита обусловлена структурным сходством с неорганической частью костной ткани (которая часто называется нестехиометрическим гидроксиапатитом или биоапатитом). Гидроксиапатит резорбируется окружающей костной тканью и замещается природной костью, что приводит к хорошей связи между имплантатом и тканью. Существует много методов создания гидроксиапатных биоматериалов. Преимущества и недостатки каждого метода следует изучать индивидуально, в каждом конкретном случае нужно учитывать свойства полученного гидроксиапатита, его химическую чистоту, микро- и наноструктуру, макроскопические структурные особенности, прочность связывания с костной тканью, биосовместимость. Нами были проведены масс-спектрометрические исследования синтетического гидроксиапатита с использованием плазменно-десорбционной масс-спектрометрии (²⁵²Cf ПДМС). Был проведен анализ ионов, которые десорбируются с поверхности гидроксиапатита в условиях ПДМС, были выявлены три серии многоатомных ионов, две из которых не описаны ранее в литературе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гидроксиапатит, плазменно-десорбционная масс-спектрометрия, ионообразование, характеристические ионы.

ИДЕНТИФІКАЦІЯ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНИХ БІОМАТЕРІАЛІВ НА ОСНОВІ ХАРАКТЕРИСТИЧНИХ ІОНІВ У МАС-СПЕКТРАХ**О.М. Калінкевич¹, С.М. Данильченко¹, Л.Ф. Суходуб^{1,2}**¹*Институт прикладной физики НАН Украины, 40000, Сумы, вул. Петропавловська 58, Україна*²*Сумський державний університет, Медичний інститут, 40024, Суми, вул. Санаторна, 31, Україна*

Гідроксиапатит є одним з найкращих матеріалів для виробництва або модифікації ортопедичних імплантатів; він також може бути частиною синтетичних композиційних матеріалів для регенерації кісткової тканини. Біологічна активність гідроксиапатиту обумовлена структурною подібністю з неорганічною частиною кісткової тканини (яку часто називають нестехіометричним гідроксиапатитом або біоапатитом). Гідроксиапатит резорбується навколишньою кістковою тканиною й заміщується природною кісткою, що приводить до доброго зв'язку між імплантатом і тканиною. Існує багато методів створення гідроксиапатних біоматеріалів. Переваги й недоліки кожного методу варто вивчати індивідуально, у кожному конкретному випадку треба враховувати властивості отриманого гідроксиапатиту, його хімічну чистоту, мікро- і наноструктуру, макроскопічні структурні особливості, міцність зв'язування з кістковою тканиною, біосумісність. Нами були проведені мас-спектрометричні дослідження синтетичного гідроксиапатиту з використанням плазово-десорбційної мас-спектрометрії (²⁵²Cf ПДМС). Був проведений аналіз іонів, які десорбуються з поверхні гідроксиапатиту в умовах ПДМС, були виявлені три серії багатоатомних іонів, дві з яких не описані раніше в літературі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гідроксиапатит, плазово-десорбційна мас-спектрометрія, іоноутворення, характеристичні іони.

IDENTIFICATION OF CALCIUM-PHOSPHATE BIOMATERIALS BASED ON CHARACTERISTIC IONS IN MASS SPECTRA**A.N. Kalinkevich¹, S.N. Danilchenko¹, L.F. Sukhodub^{1,2}**¹*Institute of Applied Physics NAS of Ukraine, 58 Petropavlovskaya Str., Sumy, Ukraine, 40000*

²*Sumy State University, Medical Institute, 31 Sanatornaya Str., Sumy, Ukraine, 40024*

Hydroxyapatite is one of the best materials for the production or modification of orthopaedic implants; it is also can be a part of synthetic composite materials for bone regeneration. Its biological activity is caused by structural similarity to the inorganic part of bone (called often the non-stoichiometric hydroxyapatite or bioapatite). Hydroxyapatite can be resorbed by the surrounding bone tissue and replaced by a natural bone, which results in good bonding between the implant and tissue. There are a lot of technologies to develop hydroxyapatite biomaterials. The advantages and limitations of each technique should be studied individually; in every specific case one should take into account the properties of resulting hydroxyapatite, its chemical purity, micro- and nanostructure, macroscopic structural features, bone connectivity strength, biocompatibility. We have applied desorption mass spectrometry with the ionization of sample by ²⁵²Cf fission fragments (PD MS) for the analysis of synthetic hydroxyapatite. The ion species desorbed from the hydroxyapatite surface under fission fragment impacts were studied, and three series of polyatomic ions have been detected, two of which had not been described in earlier in literature.

KEYWORDS: hydroxyapatite, plasma desorption mass spectrometry, ion formation, characteristic ions.

Основой кристаллической фазы костной ткани, зубов и многих патологических образований (например, почечных камней) является минерал группы апатита, т.н. биогенный апатит [1, 2]. Структура биоапатита способна к широким вариациям ионных замещений, что обеспечивает изменчивость биохимических и физических свойств [1-19]. Кристаллы биоапатита характеризуются уникальной формой, чрезвычайно малыми размерами, неапатитным поверхностным окружением, преимущественной ориентировкой, структурированностью и упорядоченностью пространственного размещения в органическом матриксе, находятся в тесном механическом и физико-химическом взаимодействии с ним. В силу этого кристаллы биоапатита необходимо рассматривать в совокупности с органическим матриксом соответствующих биологических тканей. Межклеточный костный матрикс имеет сложную многоуровневую организацию с неравномерным распределением микро- и макроэлементов в морфологических фрагментах микронного масштаба [1, 10, 17, 18]. Биоматериалы на основе синтетического гидроксиапатита, применяемые для заполнения костных дефектов и в качестве покрытий металлических ортопедических имплантатов, являются химическими и кристаллохимическими аналогами костного минерала [3, 11-13]. Фундаментальным, не решенным до настоящего времени, вопросом остается механизм биосовместимости живой ткани и имплантируемого материала. Несомненно, одним из ключевых моментов в решении этого вопроса может быть сравнительное исследование особенностей минерала кости и имплантата как в исходном состоянии, так и в процессе интеграции. Возросший в последние годы интерес к кальций-фосфатным материалам и, в частности, к апатитам кальция, обусловлен их уникальными свойствами и широким спектром возможных и уже реализованных применений [3-5, 13]. Особое место среди материалов данного класса занимает гидроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, который с некоторыми допущениями можно считать кристаллохимическим аналогом минеральной составляющей тканей скелета животных и людей и который в связи с этим успешно служит базовым компонентом синтетических материалов для ортопедии и стоматологии [13-17]. Гидроксиапатит является одним из лучших материалов для создания или модификации поверхности искусственных ортопедических имплантатов, а также синтеза композитных материалов на его основе. Синтетический гидроксиапатит, который используется в ортопедии, может быть резорбирован окружающей костной тканью и замещен натуральным материалом, что служит причиной хорошей связи между имплантатом и тканью [2, 11].

Особенности кристаллической структуры (например, дефектность) и морфологии, физико-химические и физико-механические свойства таких материалов определяются технологией получения. Преимущества и недостатки каждой методики должны быть

изучены отдельно, в каждом индивидуальном случае учитывая свойства полученного гидроксиапатита, химическую чистоту, микро- и макроструктуру, механические свойства, биосовместимость и т.д.

Существует ряд физико-химических методов, позволяющих определить состав и структуру кальцинированных биологических объектов. Наиболее простым является мокрый химический анализ, однако он наиболее неточен. Широкое применение находит метод рентгеновской дифракции, однако его принципиальным ограничением является невозможность исследования аморфных объектов (например, карбонатный апатит). Инфракрасная спектроскопия нативных образцов дает сложные спектры из-за взаимодействия известных биоматериалов с неизвестными веществами. Таким образом, необходимо применять различные взаимодополняющие методики исследования. Одним из таких методов является десорбционная масс-спектрометрия. Для уверенной интерпретации масс-спектрометрических данных сложных образцов биологического происхождения целесообразно изучить процессы ионообразования и характер масс-спектров «чистых» синтетических аналогов биообъектов, в том числе биоапатита. Нами были проведены масс-спектрометрические исследования синтетического гидроксиапатита, который используется для создания биоматериалов, с использованием плазменно-десорбционной масс-спектрометрии (^{252}Cf ПДМС).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гидроксиапатит был получен по стандартной методике [6, стр. 18] из исходных растворов $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Наличие гидроксиапатита было подтверждено кристаллографически, методом рентгеновской дифракции (установка ДРОН-4-07, «Буревестник», Россия). Масс-спектры записывались на установке МСБХ-1 (производство SELMI, Украина), которая представляет собой времяпролетный (ToF) масс-спектрометр с ионизацией пробы осколками деления ядер ^{252}Cf . Образцы гидроксиапатита растирались в агатовой ступке до формирования однородного мелкодисперсного порошка, смешивались с бидистиллированной водой и высушивались непосредственно на позолоченном пробонесущем диске без использования дополнительных матриц или связующих агентов. Масс-спектры были записаны в диапазоне масс (m/z) до 1500 Да, ускоряющее напряжение составляло +10 и -10 кВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно [29-32], масс-спектры неорганических солей, в том числе гидроксиапатита и других фосфатов кальция, должны содержать пики диагностических ионов, массовые числа и соотношения интенсивностей которых позволяют судить о составе исследуемого вещества. Это утверждение справедливо как для классической вторично-ионной, так и для масс-спектрометрии плазменно-десорбционной масс-спектрометрии.

Рассмотрим масс-спектры гидроксиапатита, полученные методом плазменно-десорбционной масс-спектрометрии (^{252}Cf ПДМС). Все масс-спектры, записанные в режиме положительных ионов, содержат интенсивные пики, которые отвечают Ca^+ с m/z 40, Ca^+ с m/z 41, $[\text{CaO}]^+$ с m/z 56, $[\text{CaOH}]^+$ с m/z 57 а также пики, которые отвечают $[\text{CaPO}_2]^+$ с m/z 103, $[\text{Ca}_2\text{PO}_3]^+$ с m/z 159, и $[\text{Ca}_2\text{PO}_4]^+$ с m/z 175 (см. Рис. 1).

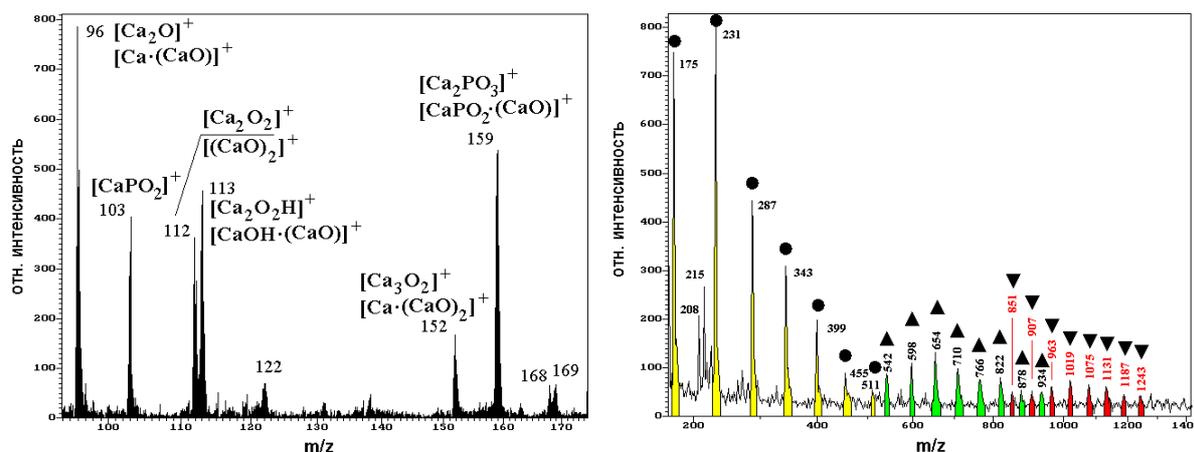


Рис. 1. ПДМС масс-спектры положительных ионов гидроксиапатита, средние массы (слева) и большие массы (справа). Обозначены серии кластерных ионов: ● – серия «А», ▲ – серия «В», ▼ – серия «С» (см. Таблицу 1).

Масс-спектры, записанные в режиме отрицательных ионов, содержат интенсивные пики, которые соответствуют ионам со стехиометрией: $[\text{HPO}]^-$ с m/z 48, $[\text{H}_2\text{PO}]^-$ с m/z 49, $[\text{H}_3\text{PO}]^-$ с m/z 50, $[\text{PO}_2]^-$ с m/z 63 и $[\text{PO}_3]^-$ с m/z 79. Также в спектрах присутствуют пики $[\text{HPO}_4]^-$ с m/z 96 и $[\text{H}_2\text{PO}_4]^-$ с m/z 97. Надо указать, что все спектры отрицательных ионов имеют настолько же интенсивные и хорошо разделенные пики, как и спектры положительных ионов. Таким образом, были зафиксированы кластерные ионы, которые содержат фосфатные группы и кальций, и которые могут служить диагностическими ионами для кальций-фосфатных материалов.

Таблица 1. Характеристические положительные ионы масс-спектров ПДМС кальций-фосфатных материалов (гидроксиапатит).

Массовое число (m/z)	Предположительная стехиометрия и структура	Примечание
40	Ca^+	
56	$[\text{CaO}]^+$	
57	$[\text{CaOH}]^+$	
96	$[\text{Ca}_2\text{O}]^+$, $[\text{Ca}\cdot(\text{CaO})]^+$	
103	$[\text{CaPO}_2]^+$	
112	$[\text{Ca}_2\text{O}_2]^+$, $[2(\text{CaO})]^+$	
113	$[\text{Ca}_2\text{O}_2\text{H}]^+$, $[\text{CaOH}\cdot(\text{CaO})]^+$	
122		
152	$[\text{Ca}\cdot 2(\text{CaO})]^+$	
159	$[\text{Ca}_2\text{PO}_3]^+$, $[\text{CaPO}_2\cdot(\text{CaO})]^+$	
168	$[3(\text{CaO})]^+$	
169	$[\text{CaOH}\cdot 2(\text{CaO})]^+$	
175	$[\text{Ca}_2\text{PO}_4]^+$, $[\text{CaPO}_3\cdot(\text{CaO})]^+$	НАЧАЛО СЕРИИ, А
208	$[\text{Ca}\cdot 3(\text{CaO})]^+$	
215	$[\text{Ca}_3\text{PO}_4]^+$ (?)	
231	$[\text{A}\cdot(\text{CaO})]^+$	
287	$[\text{A}\cdot(\text{CaO})_2]^+$	
343	$[\text{A}\cdot(\text{CaO})_3]^+$	
399	$[\text{A}\cdot(\text{CaO})_4]^+$	
455	$[\text{A}\cdot(\text{CaO})_5]^+$	
511	$[\text{A}\cdot(\text{CaO})_6]^+$	
542	$[\text{Ca}_8\text{P}_2\text{O}_{10}]^+$, $[2(\text{Ca}_3\text{PO}_4)\cdot 2(\text{CaO})]^+$	НАЧАЛО СЕРИИ, В
598	$[\text{B}\cdot(\text{CaO})]^+$	
654	$[\text{B}\cdot(\text{CaO})_2]^+$	
710	$[\text{B}\cdot(\text{CaO})_3]^+$	
766	$[\text{B}\cdot(\text{CaO})_4]^+$	

822	$[B \cdot (CaO)_5]^+$	
851	$[Ca_{11}P_5O_{16}]^+$, $[3(Ca_3PO_4) \cdot 2(CaPO_2)]^+$	НАЧАЛО СЕРИИ, С
878	$[B \cdot (CaO)_6]^+$	
907	$[C \cdot (CaO)]^+$	
934	$[B \cdot (CaO)_7]^+$	
963	$[C \cdot (CaO)_2]^+$	
1019	$[C \cdot (CaO)_3]^+$	
1075	$[C \cdot (CaO)_4]^+$	
1131	$[C \cdot (CaO)_5]^+$	
1187	$[C \cdot (CaO)_6]^+$	
1243	$[C \cdot (CaO)_7]^+$	

В области более тяжелых ионов в спектре гидроксиапатита присутствуют три выраженные серии кластерных ионов, которые отличаются один от другого на 56 массовых единиц, которые можно приписать фрагменту со стехиометрией CaO. Первая серия таких пиков (обозначенная как серия А) известна из литературных источников [21], две последние описаны нами впервые. Каждая серия «сводится» к простейшему кластеру – для серий А, В и С это соответственно:

- А - **m/z 175** $[Ca_2PO_4]^+$, $[CaPO_3 \cdot (CaO)]^+$
- В - **m/z 542** $[Ca_8P_2O_{10}]^+$, $[2(Ca_3PO_4) \cdot 2(CaO)]^+$
- С - **m/z 851** $[Ca_{11}P_5O_{16}]^+$, $[3(Ca_3PO_4) \cdot 2(CaPO_2)]^+$

Относительная интенсивность пиков в первой серии монотонно падает с ростом массы, во второй и третьей серии максимальную интенсивность имеют пики ионов, несущих (предположительно) 2 и 3 CaO. Согласно литературным данным [23, 25, 27], для кластеров типа $(CaO)_n$ «магические числа» соответствуют $n = 4, 6, 9, 12$, хотя разница в энергиях связи сравнительно невелика, что не соответствует нашим данным. Вероятно, ключевую роль играет взаимодействие CaO с «ядром» кластера или структура иона как целого, что требует дальнейшего расчетного подтверждения.

Эти кластеры могут представлять интерес как наиболее стабильные кальций-фосфатные структуры, которые возникают – или сохраняются – при взаимодействии высокоэнергетического первичного иона с поверхностью образца гидроксиапатита.

В последние годы появились интересные попытки использовать вторично-ионную масс-спектрометрию (ВИМС) при анализе кальций-фосфатных биоматериалов и биологических кальцификатов не только как метод определения распределения элементов по поверхности (или срезу) образца, но также и для определения (пока качественно) фазового состава и распределения фаз, опираясь на различную интенсивность характеристических ионов. Так, в работах [29-30] исследовались распределения различных фаз по поверхности, а в работе [22] была сделана попытка определить фазовый состав почечных камней различной природы на основании соотношения интенсивностей ионов в спектрах ВИМС с бомбардировкой ионами галлия (Рис. 2).

На Рис. 2 показаны масс-спектры монетита ($CaHPO_4$) и гидроксиапатита, полученные при бомбардировке образца ионами Ga^+ с энергией 14 кэВ. По мнению авторов, для качественного различия кальций-фосфатных фаз достаточно определить отношения интенсивностей пиков ионов $[Ca_2O]^+$ и $[CaPO_2]^+$. К сожалению, количественная оценка соотношения $[CaPO_2]^+ / [Ca_2O]^+$ в работе [22] не приводится (дается лишь оценка больше или меньше единицы это соотношение для различных кристаллических модификаций фосфатов кальция). Однако, из сравнения приведенных масс-спектров ВИМС со спектрами ПДМС видно, что соотношение интенсивней этих ионов для гидроксиапатита в масс-спектрах ПДМС тоже меньше единицы, несмотря на

разницу энергии первичной частицы в несколько порядков (14 кэВ против ~100 МэВ). Однако более детальный анализ области больших масс в масс-спектрах вторичных ионов кальций-фосфатных материалов и биологических образцов не проводился. В более ранней статье [21] была сделана попытка анализа заряженных кластеров с относительно большими массами, возникающими при бомбардировке образца фторсодержащих апатитов осколками деления ядер ^{252}Cf , однако недостаточная чувствительность установки не позволила авторам записать достаточно качественные масс-спектры.

Интересным фактом является то, что как в ПДМС, так и в ВИМС самыми легкими диагностическими ионами можно считать ионы $[\text{Ca}_2\text{O}]^+$ и $[\text{CaPO}_2]^+$, которые включают в себя атомы как кальция, так и фосфора, источником которых, очевидно, являются фосфатные группы исследуемого материала. Наши предварительные расчеты [26], показывают, что атомы кислорода в тетраэдрах фосфатных групп в фосфатах кальция не являются «равноправными», и некоторые из них связаны сильнее с кальцием (Ca–O), чем с фосфором. Это подтверждается данными и других авторов, исследовавших связывание фосфорорганических соединений с оксидами кальция [27] и показавших, что эти соединения прочно связываются (хемисорбируются) с кластерами CaO через P=O группу, при этом связь между фосфором и кислородом в такой группе частично теряет характер двойной.

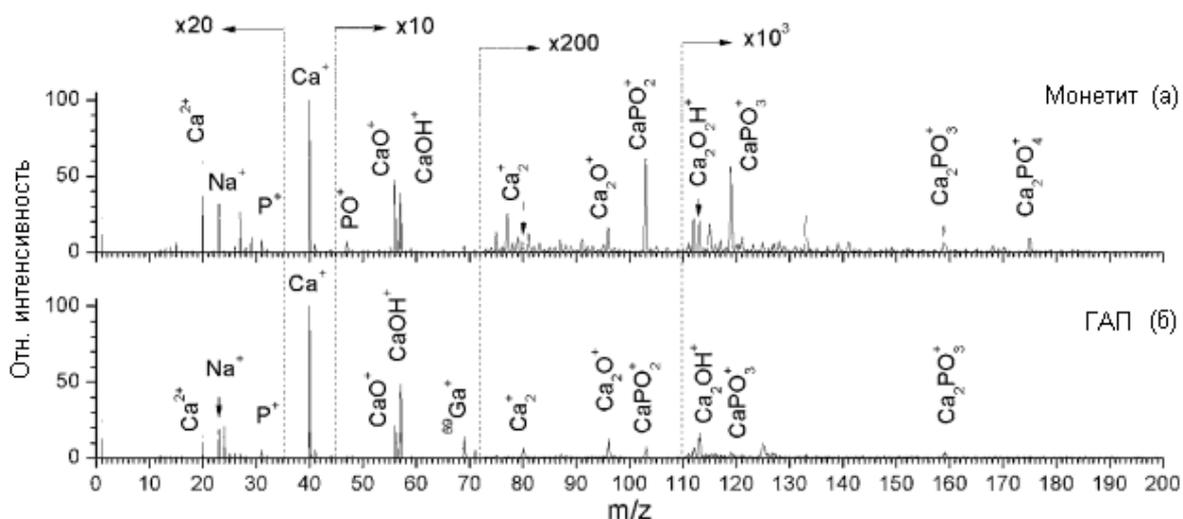


Рис. 2. ВИМС масс-спектры положительных ионов монетита (CaHPO_4) (а) и гидроксиапатита (б) по данным работы [22].

При изучении кластеров солей металлов, в том числе кальция, в вакууме методом масс-спектрометрии внимание исследователей, в основном, было обращено к процессам, протекающим в масс-спектрометрическом эксперименте [24, 31, 32]. Однако систематическое наблюдение и анализ ионов, представляющих собой наиболее стабильные атомные кластеры (комплексы), может быть полезно и с точки зрения такой фундаментальной проблемы, как биологическая кальцификация – нормальная или патологическая. Хотя провести непосредственную связь между ионами, наблюдаемыми в масс-спектрометрическом эксперименте и зародышами минеральных фаз организма *in vivo* нельзя, в масс-спектрометрическом эксперименте возможно подтверждение наиболее энергетически выгодных конфигураций, полученных расчетными методами.

ВЫВОДЫ

В результате масс-спектрометрического исследования синтетического гидроксиапатита с использованием плазменно-десорбционной масс-спектрометрии (^{252}Cf ПДМС) были выявлены три выраженные серии многоатомных ионов, две из которых не описаны ранее в литературе, посвященной масс-спектрометрии кальций-фосфатных биоматериалов. Данные серии могут быть использованы (в дополнение к описанному методу сравнения интенсивностей $[\text{Ca}_2\text{O}]^+$ и $[\text{CaPO}_2]^+$) как диагностические «отпечатки пальцев» в масс-спектрометрическом исследовании биоапатитов для различения фазового состава небольших количеств образца. Кроме того, комплексные ионы больших масс могут представлять интерес с точки зрения исследования зародышеобразования – «нулевой» стадии биологической кальцификации. В частности, ионам с m/z 542 и 851, открывающим серии *B* и *C* комплексных ионов, могут быть приписаны стехиометрии $[2(\text{Ca}_3\text{PO}_4)\cdot 2(\text{CaO})]^+$ и $[3(\text{Ca}_3\text{PO}_4)\cdot 2(\text{CaPO}_2)]^+$, которые соответствуют комплексам структур типа Ca_3PO_4 , и «диагностических» частиц CaO и CaPO_2 , характерных для масс-спектров фосфатов кальция в методиках ВИМС и ПДМС. Последняя серия (*C*) приближается к так называемому кластеру Познера $\{3(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)\}$ [28], являющемуся структурным ядром аморфных фосфатов кальция. Комплексы-«зародыши» подобной стехиометрии наблюдаются и при исследовании начала образования кальций-фосфатной фазы на специфических Gla-белках, регулирующих кальцификацию *in vivo*. Все это должно стать предметом дальнейших исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Glimcher M.J. Bone: Nature of the Calcium Phosphate Crystals and Cellular, Structural, and Physical Chemical Mechanisms in Their Formation / M.J. Glimcher // *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* – Mineralogical Society of America. – 2006. – V.64. – P. 223–282.
- Dorozhkin S.V. Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine / S.V. Dorozhkin // *Materials*. – 2009. – V. 2. – P. 399–498.
- Dorozhkin S.V. Nanodimensional and Nanocrystalline Apatites and Other Calcium Orthophosphates in Biomedical Engineering, Biology and Medicine / S.V. Dorozhkin // *Materials*. – 2009. – V. 2. – P. 1975–2045.
- Dorozhkin S.V. Calcium orthophosphates / S.V. Dorozhkin // *J. Mater. Sci.* – 2007. – V.42. – P. 1061–1095.
- Dorozhkin S.V. Biocomposites and hybrid biomaterials based on calcium orthophosphates / S.V. Dorozhkin // *Biomater*. – 2011. – V. 1:1. – P. 3–56.
- Каназава Т. Неорганические фосфатные материалы / Т. Каназава [пер. с англ. под ред. акад. А.П. Шпака и В.Л. Карбовского]. – К.: Наукова думка, 1998. – 297 с.
- Cazalbou S. Adaptative physico-chemistry of bio-related calcium phosphates / S. Cazalbou, C. Combes, D. Eichert, C. Rey // *J. Mater. Chem.* – 2004. – V. 14. – P. 2148–2153.
- Chakraborty S. Structural and microstructural characterization of bioapatites and synthetic hydroxyapatite using X-ray powder diffraction and Fourier transform infrared techniques / S. Chakraborty, S. Bag, S. Pal // *J. Appl. Cryst.* – 2006. – V. 39. – P. 385–390.
- Диагностика апатитоподобных структур на основе щелочноземельных металлов / А.П.Шпак, В.Л. Карбовский, В.В. Трачевский [и др.] // *Металлофиз. новейшие технол.* – 2003. – Т.25. – №10. – С. 1279–1301.
- Elliott J.C. Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates / J.C. Elliott Amsterdam: Elsevier, 1994. – 389 p. – (Studies in Inorganic Chemistry; No. 18).
- Suchanek W. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants / W. Suchanek, M. Yoshimura // *J. Mater. Res.* – 1998. – V. 13., № 1. – P. 94–117.
- Preparation and properties of inhomogeneous hydroxyapatite ceramics / Z. Zyman, I. Ivanov, V. Glushko [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1999. – V. 46. – P. 135–140.
- Gross K.A. Biomedical Application of Apatites / K.A. Gross, C.C. Berndt // *Phosphates: geochemical, geobiological and materials importance. Series: Reviews in mineralogy and geochemistry, Vol. 48.* [editors

- Kohn M.J., Rakovan J., Hughes J.M.] – Mineralogical Society of America, Washington, DC. – 2002. – P. 631–672.
14. White T.J. Structural derivation and crystal chemistry of apatites / T.J. White, D. ZhiLi // *Acta Crystallographica*. – 2003. – V.59. – P. 1–16.
 15. Vallet-Regí M. Ceramics for medical applications / M. Vallet-Regí // *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* – 2001. – P. 97–108.
 16. The effect of organic ligands on the crystallinity of calcium phosphate / J.A.M. van der Houwen, G. Cressey, B.A. Cressey, E. Valsami-Jones // *J. Crystal Growth*. – 2003. – V. 249. – P. 572–583.
 17. Crystal structure of calcium-deficient carbonated hydroxyapatite. Thermal decomposition. / T.I. Ivanova, O.V. Frank-Kamenetskaya, A.B. Kol'tsov, V.L. Ugolkov // *J. Solid State Chem.* – 2001. – V. 160. – P. 340–349.
 18. Leventouri Th. Synthetic and biological hydroxyapatites: Crystal structure questions / Th. Leventouri // *Biomaterials*. – 2006. – V. 27. – P. 3339–3342.
 19. Wopenka B. A mineralogical perspective on the apatite in bone / B. Wopenka, J.D. Pasteris // *Material Sci. Eng.* – 2005. – V. C25. – P. 131–143.
 20. Calcium phosphate phase identification using XPS and time-of-flight cluster SIMS / C.C. Chusuei, D.W. Goodman, M.J. Van Stipdonk, [et al.] // *Anal. Chem.* – 1999. – V. 71. – P. 149–153.
 21. Application of ^{252}Cf plasma desorption mass spectrometry in dental research / H.-W. Fritsch, L. Schmidt, P. Köhl, [et al.] // *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.* – 1993. – V. 126. – P. 191–196.
 22. Identification of human calculi with time-of-flight secondary ion mass spectrometry / C.A.A. Ghuman, O.M.T. Carreira, A.M.C. Moutinho, [et al.] // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2010. – V. 24. – P. 185–190.
 23. Wang C. Ab initio interionic potentials for CaO by multiple lattice inversion / C. Wang, S. Zhang, N.-X. Chen // *J. Alloys Compounds*. – 2005. – V. 388. – P. 195–207.
 24. Liu H. Characterization of phosphate-containing metabolites by calcium adduction and electron capture dissociation / H. Liu, H. Ju Yoo, K. Håkansson // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* – 2008. – V. 19. – P. 799–808.
 25. Carl D.R. Binding energies for the inner hydration shells of Ca^{2+} : An experimental and theoretical investigation of $\text{Ca}^{2+}(\text{H}_2\text{O})_x$ complexes ($x = 5-9$) / D.R. Carl, R.M. Moision, P.B. Armentrout // *Int. J. Mass Spectrom.* – 2007. – V. 265. – P. 308–325.
 26. Ab initio modelling of calcium phosphate clusters and their vibrational spectra / I.E. Boldeskul, L.F. Sukhodub, A.N. Kalinkevich, V.D. Khavryutchenko // *Cond. Matter Physics*. – 2006. – V. 9, No. 4(48). – P. 669–679.
 27. Theoretical study of adsorption of tabun on calcium oxide clusters / A. Michalkova, Y. Pauku, D. Majumdar, J. Leszczynski // *Chem. Phys. Lett.* – 2007. – V. 438. – P. 72–77.
 28. Calcium phosphate clusters / N. Kanzaki, G. Treboux, K. Onuma, [et al.] // *Biomaterials*. – 2001. – V. 22. – P. 2921–2929.
 29. TOF-SIMS analysis of the interface between bone and titanium implants – Effect of porosity and magnesium coating / H. Nygren, C. Eriksson, K. Hederstierna, P. Malmberg // *Appl. Surf. Sci.* – 2008. – V. 255. – P. 1092–1095.
 30. ToF-SIMS images and spectra of biomimetic calcium silicate-based cements after storage in solutions simulating the effects of human biological fluids / A. Torrisi, V. Torrisi, N. Tuccitto, [et al.] // *Int. J. Mass Spectrom.* – 2010. – V. 289. – P. 150–161.
 31. Electrospray ionization tandem mass spectrometric study of salt cluster ions. Part 1 - Investigations of alkali metal chloride and sodium salt cluster ions / C. Hao, R.E. March, T.R. Croley, [et al.] // *J. Mass Spectrom.* – 2001. – V. 36. – P. 79–96.
 32. Hao C. Electrospray ionization tandem mass spectrometric study of salt cluster ions: Part 2 - Salts of polyatomic acid groups and of multivalent metals / C. Hao, R.E. March // *J. Mass Spectrom.* – 2001. – V. 36. – P. 509–521.