

## ИЗУЧЕНИЕ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ ГИДРОКСИЛАПАТИТА В ПРИСУТСТВИИ РЯДА АМИНОКИСЛОТ

*А. П. Солоненко, О. А. Голованова, Л. В. Бельская, А. А. Кузьменко*

*Омский государственный университет им. Ф. М. Достоевского, г. Омск,  
anna.petrovna@bk.ru*

Соединения типа  $Me_{10}(XO_4)_6Y_2$  известны для большого числа металлов, среди которых Ca, Sr, Ba, Mg, Pb, Mn и др. Все они относятся к структурному типу апатита. Но наиболее важным в биологическом отношении соединением из данного класса является гидроксилapatит кальция с идеальной формулой  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ . Синтетический гидроксилapatит наиболее близок по составу к неорганической составляющей минерализованных твердых тканей человека (кости, зубы), а также он обнаружен в больших количествах в составе патогенных минеральных образований, в том числе слюнных, зубных и почечных камней. В связи с этим существует большой интерес к изучению путей кристаллизации гидроксилapatита из растворов как с технологической точки зрения для создания биосовместимых материалов на его основе, так и с точки зрения фундаментальной перспективы, нацеленной на понимание некоторых вопросов процесса биоминералобразования.

В последнее время особое внимание уделяется вопросам взаимодействия органической и неорганической составляющих биологических жидкостей, в среде которых зачастую происходит кристаллизация физиогенных и патогенных биоминералов. При этом особое внимание уделяется аминокислотам, поскольку они обнаружены в составе всех патогенных минеральных новообразований, встречающихся в различных органах и тканях человека (почечные, зубные, слюнные камни, кальцификаты сердечных клапанов и др.), а также присутствуют во всех биологических жидкостях. Многими авторами [Koutsopoulos, Dalas, 2000; Fleming et al., 2001 и др.] данные вещества рассматриваются как потенциальные ингибиторы кристаллизации фосфатов кальция в организме человека. Такая точка зрения может быть обусловлена возможностью адсорбционного взаимодействия, приводящего к изменению скорости роста кристаллов минеральной фазы, либо снижению пересыщения раствора в результате образования комплексов аминокислот с ионами кальция.

Стоит отметить, что до настоящего времени не существует единого мнения о роли аминокислот в процессах образования физио- и патогенных биоминералов. Поэтому, установление характера влияния данных органических веществ на процессы формирования гидроксилapatита имеет важное значение для понимания механизма образования как биогенных, так и патогенных органо-минеральных агрегатов.

*Цель работы* – исследование влияния аминокислот на состав и морфологию минеральной фазы, кристаллизующейся из системы  $Ca(NO_3)_2 - (NH_4)_2HPO_4 - (NH_4)_2OH - H_2O$  – аминокислота (АК).

**Описание эксперимента.** Осаждение гидроксилapatита проводили путем сливания растворов нитрата кальция, двузамещенного фосфата аммония, водного раствора аммиака и одной из АК [пролин (Pro), валин (Val), серин (Ser), глицин (Gly), лизин (Lys), аргинин (Arg), лейцин (Leu), треонин (Thr), метионин (Met), фенилаланин (Phe), изолейцин (Ile), аспарагин (Asp) или глутаминовая кислота (Glu)]. Условия осаждения:  $n_{исх} = Ca/HPO_4 = 1.60/1$ ,  $C_{АК} = 0.004$  моль/л, время кристаллизации – 2 суток. После отстаивания раствор фильтровали, высушивали в сушильном шкафу при температуре 100 °С до полного удаления воды. Высушенный осадок растирали в фарфоровой ступке в порошок, взвешивали на аналитических весах и анализировали методами РФА и ИК-спектроскопии.

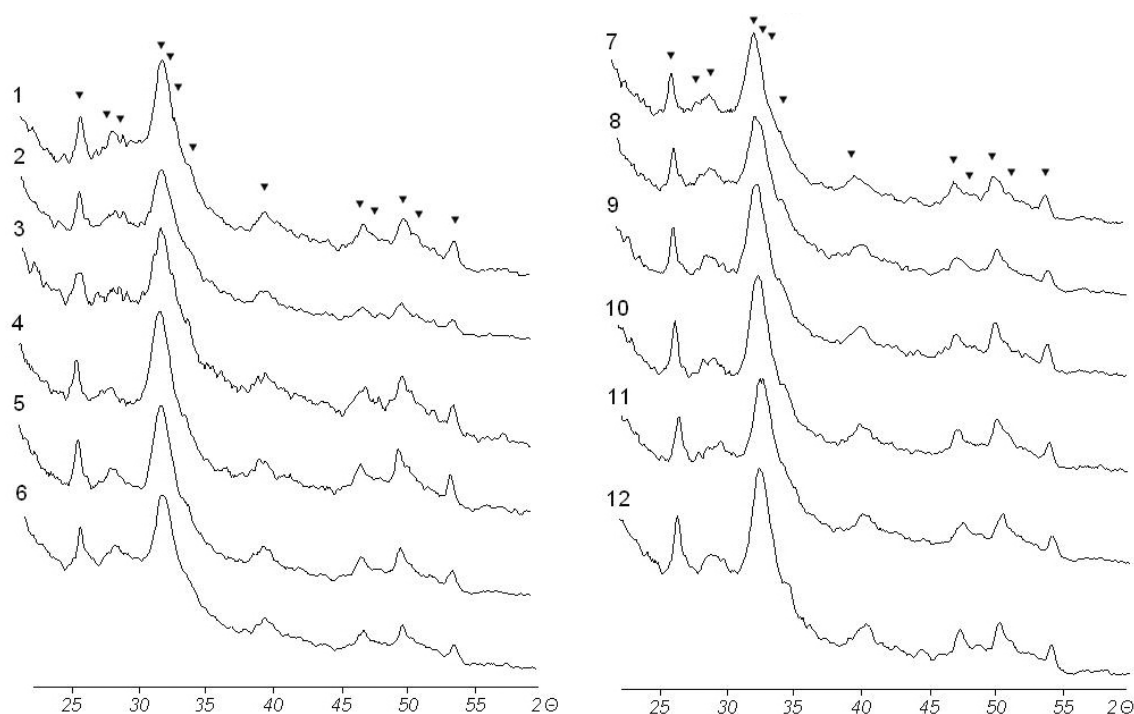


Рис. 1. Дифрактограммы порошков полученных осаждением в присутствии АК: 1 – Thr, 2 – Lys, 3 – Phe, 4 – Asp, 5 – Met, 6 – Leu, 7 – Arg, 8 – Pro, 9 – Ile, 10 – Glu, 11 – Ser, 12 – Val.

**Результаты и обсуждение.** Методом РФА было установлено, что основной минеральной составляющей всех образцов, полученных в результате осаждения из исследуемых систем, является плохо окристаллизованный гидроксилapatит (рис. 1). Повышение фона в области 10–30° углов отражения может свидетельствовать о присутствии в составе всех осадков аморфного фосфата кальция.

Анализ ИК-спектров полученных минеральных фаз показал, что кроме главных колебательных полос групп  $\text{PO}_4^{3-}$  гидроксилapatита (1087, 1040, 962, 601, 571 и 474  $\text{cm}^{-1}$ ) проявляются слабая узкая полоса при 3570  $\text{cm}^{-1}$ , вызванная валентными колебаниями ОН-группы в его составе, и широкая полоса при 3400  $\text{cm}^{-1}$ , соответствующая поглощению адсорбированных молекул воды. Также метод ИК-спектроскопии позволил установить, что помимо минеральной компоненты в состав осадков входят молекулы АК. Их присутствие в образцах обнаруживается по полосам при ~1405 и 1595  $\text{cm}^{-1}$ , соответствующих карбоксильной группе  $\text{COO}^-$  аминокислот, полосам при 1480, 1550, 1630, 3200  $\text{cm}^{-1}$ , вызванных присутствием  $\text{NH}_4^+$ , а также по характерным для С-Н связей полосам при 2180 и 2240  $\text{cm}^{-1}$ . Присутствие АК в составе осадков, вероятно, является результатом их адсорбции поверхностью твердой фазы.

Далее для детального исследования особенностей структуры синтезированных образцов гидроксилapatита был проведен полуколичественный анализ спектров образцов гидроксилapatита с помощью программного пакета «PeakFit» по методике [Shi et al., 2005]. Как показал расчет, все образцы, полученные из растворов с аминокислотами, характеризуются более низкой кристаллическостью по сравнению с минеральной фазой, осаждение которой происходило в их отсутствие (табл.). Это вероятно связано с тем, что адсорбция АК происходит в начальный момент кристаллизации на поверхности образующихся в среде зародышей, тем самым замедляя рост кристаллитов, которые имеют состав, отличный от стехиометрического гидроксилapatита.

Из данных, представленных в таблице, видно, что массы осадков, полученных в присутствии АК, значительно меньше массы контрольного образца, полученного в тех же условиях в отсутствие добавок органических веществ. Это также может свидетельствовать об адсорбционном ингибировании стадии роста кристаллических зародышей.

Характеристики осажденных минеральных фаз

№ п/п	Образец	$K_{cp}$	m, г	№ п/п	Образец	$K_{cp}$	m, г
1	ГА+Thr	2.83	1.8008	8	ГА+Pro	2.16	2.2944
2	ГА+Lys	2.27	2.2230	9	ГА+Ile	2.02	2.1936
3	ГА+Phe	2.63	2.2418	10	ГА+Glu	2.54	2.1464
4	ГА+Asp	2.27	2.2576	11	ГА+Ser	2.74	2.1074
5	ГА+Met	2.35	2.1783	12	ГА+Val	2.34	2.2506
6	ГА+Leu	2.14	2.2208	13	ГА	4.07	3.5521
7	ГА+Arg	2.88	1.8477				

Изучение морфологии полученных твердых фаз с применением метода оптической микроскопии (микроскоп МБР-1, 56–1350x) позволило установить, что все образцы состоят из мутновато-белых преимущественно пластинчатой морфологии частиц, разных по форме и размерам (рис. 3). Во всех осадках встречаются как отдельные кристаллические образования (рис. 3 а), так и агрегаты из сросшихся гранями частиц (рис. 3 б, в). Все они различимы уже при 120-ти кратном увеличении микроскопа. Согласно литературным данным [Martins, 2007; Данильченко, 2007], кристаллиты гидроксилapatита имеют размеры порядка 20 нм. Данный факт в совокупности с наблюдаемой морфологией осажденных в ходе эксперимента частиц гидроксилapatита может указывать на то, что все полученные образцы основного фосфата кальция являются поликристаллическими. Следовательно, можно предположить, что образование минеральной фазы происходит не за счет роста первичных зародышей, а путем их объединения в более крупные образования, то есть путем агрегирования.

**Заключение.** В ходе проведенного исследования установлено, что в изучаемых системах в присутствии АК образуются твердые фазы, представленные плохо окристаллизованным гидроксилapatитом, что вызвано ингибирующим влиянием АК в процессе кристаллизации минеральной фазы. Поликристаллический характер осажденных частиц основного фосфата кальция указывает на механизм образования частиц гидроксилapatита, в котором стадия агрегации первичных кристаллитов является предпочтительнее, чем рост отдельных кристаллов.

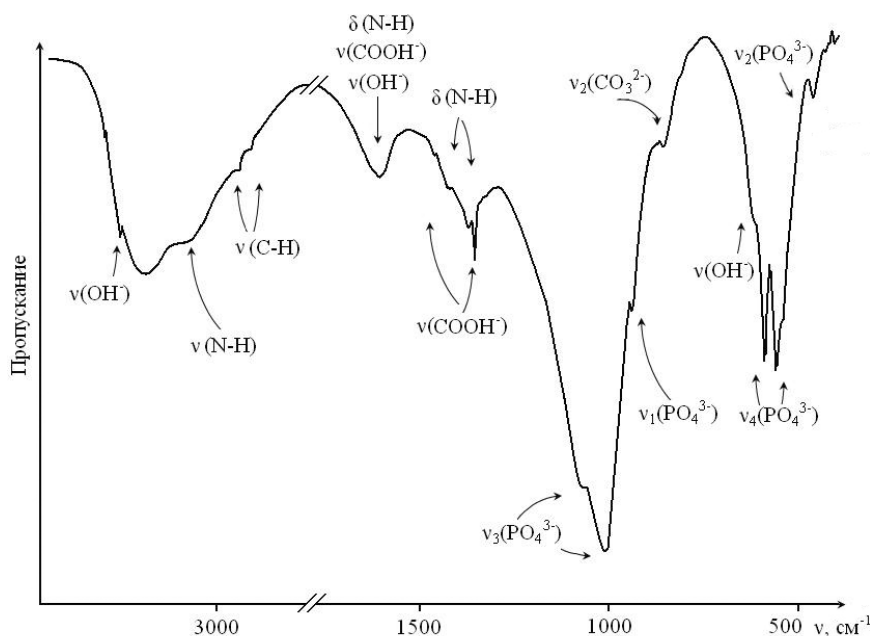


Рис. 2. Типичный ИК-спектр осажденной минеральной фазы (образец с Asp).

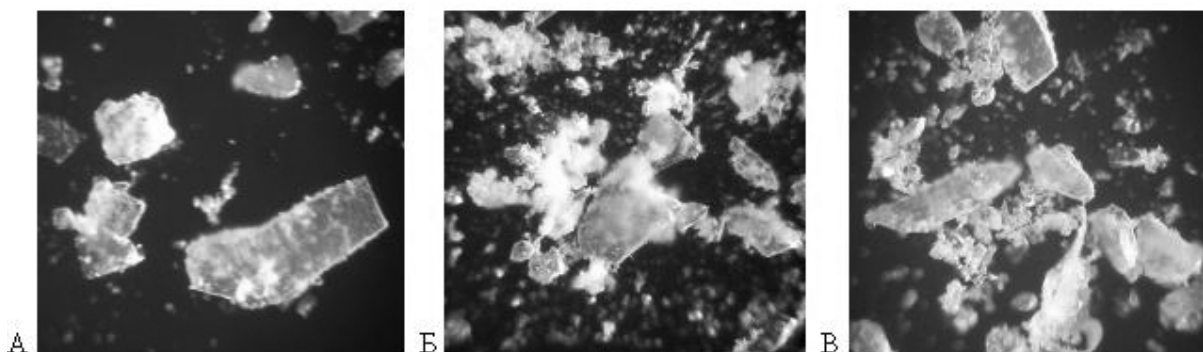


Рис. 3. Фотографии частиц, осажденных из раствора с серином.

### Литература

*Данильченко С. Н.* Структура и свойства апатитов кальция с точки зрения биоминералогии и биоматериаловедения (обзор) // Вестник СумДУ. Серия Физика, математика, механика. 2007. № 2. С. 33–59.

*Fleming D. E., Bronswijk W., Ryall R. L.* A comparative study of the adsorption of amino acid on to calcium minerals found in renal calculi // *Clinical science*. 2001. V. 101. P. 159–168.

*Koutsopoulos S., Dalas E.* Hydroxyapatite crystallization in the presence of serine, tyrosine and hydroxyproline amino acids with polar side groups // *Journal of Crystal Growth*. 2000. V. 216. P. 443–449.

*Koutsopoulos S., Dalas E.* The effect of acidic amino acids on hydroxyapatite crystallization // *Journal of Crystal Growth*. 2000. V. 217. P. 410–415.

*Martins M. A., Santos C., Almeida M. M., Costa M. E. V.* Hydroxyapatite micro- and nanoparticles: nucleation and growth mechanisms in the presence of citrate species // *Journal of colloid and interface science*. 2008. V. 318. P. 210–216.

*Shi J., Klocke A., Zhang M., Bismayer U.* Thermally-induced structural modification of dental enamel apatite: Decomposition and transformation of carbonate groups // *Eur. J. Mineral*. 2005. V. 17. P. 769–775.