

КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ГИДРОКСИЛАПАТИТА В ПРИСУТСТВИИ АЛЬБУМИНА

О.А. Голованова

ФГБОУ ВО «Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского»

644077, Россия, Омск, пр. Мира, 55 а

golovanoa2000@mail.ru

DOI: 10.26456/pcascnn/2022.14.071

Аннотация: Благодаря развитию современных биотехнологий и разработке наноматериалов, в ближайшее время предполагается достижение нового, более качественного уровня в конструировании и улучшении характеристик внутрикостных имплантатов, используемых в ортопедии. Проведен синтез фосфата кальция из модельного раствора синовии в присутствии альбумина. Синтетические твердые фазы исследовали с помощью рентгенофазового анализа, ИК-Фурье спектроскопии, сканирующей электронной микроскопии, энергодисперсионного анализа. Надосадочная жидкость проанализирована на содержание ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} для определения Ca/P соотношения. Получено, что альбумин не оказывает влияния на фазовый состав образцов: осадки однофазны и состоят из карбонат-гидроксилапатита Б-типа. Исследование структуры и морфологии твердой фазы показало, что присутствие белков приводит к формированию композитов с меньшей удельной поверхностью, в сравнении с карбонат-гидроксилапатитом. Наибольший размер кристаллитов получен для образца карбонат-гидроксилапатит/альбумин с концентрацией альбумина 10 г/л. С помощью определения тепловых эффектов термического анализа выделено пять этапов термопреобразования в интервале температур 25-1000°C, для всех образцов основными этапами являются II – III, связанные с термодеструкцией органической добавки. При исследовании биоактивности образцов выяснено, что при активной резорбции наиболее растворимыми являются образцы, синтезированные в присутствии альбумина с концентрацией более 7 г/л, а в случае пассивной резорбции композиты карбонат-гидроксилапатит/альбумин с концентрацией альбумина 5 и 7 г/л.

Ключевые слова: синтез, карбонат-гидроксилапатит, альбумин, рентгенофазовый анализ, ИК-Фурье спектроскопии, биорезорбируемость, термический анализ, удельная поверхность.

1. Введение

Биоматериалы на основе гидроксилапатита (ГА) в настоящее время широко исследуются в различных странах с целью их использования в качестве искусственного аналога кости, имеющего значительные преимущества по сравнению с имплантатами из натуральной кости. При введении ГА в организм в мелкодисперсном нанокристаллическом состоянии он полностью или частично резорбируется и активирует остеогенез (костеобразование). В отличие от биоинертных материалов и стеклокерамики, нанокристаллический ГА обладает биоактивными свойствами, вследствие чего пористые материалы на основе ГА легко прорастают биополимером и хорошо совмещаются с мягкими тканями

организма [1-4].

Благодаря развитию современных биотехнологий и разработке наноматериалов, в ближайшее время предполагается достижение нового, более качественного уровня в конструировании и улучшении характеристик внутрикостных имплантатов, используемых в ортопедии. Ожидается существенный прогресс в области оптимизации биопроцессов взаимодействия имплантата и костной ткани, сокращения сроков их интеграции в костную систему, а также снижение риска инфекционных осложнений и увеличение продолжительности функционирования в человеческом организме [5-11].

Нанодисперсный ГА синтезирован в присутствии альбумина, и образцы показали хорошую биосовместимость с клеточными объектами. Альбумин является одним из важнейших белков, необходимых для функционирования человеческого организма (составляет 40-60% от общего количества белка плазмы). Он обеспечивает транспорт веществ, инициирует минерализацию и регулирует скорость роста кристаллов минеральной фазы, участвует в поддержании онкотического давления, выступает резервом аминокислот для синтеза вновь образованных белков [12-14].

В ходе исследований [15-17] было выявлено, что взаимодействие между альбумином и наногидроксиапатитом представляет собой многоступенчатый физико-химический процесс, при котором сначала образуется монослой белка на поверхности ГА, затем происходит химическая реакция между частицами ГА и альбумина, изменяется конформационное состояние белка и образуется прочный органо-минеральный комплекс. В таких условиях синтеза молекулы белка, скорее всего, являются нуклеационными матрицами. Такая морфологическая модификация наблюдается при синтезе ГА в среде коллагена, а также некоторых других биологических макромолекул.

Образование подобных комплексов между ГА и альбумином в процессе синтеза нанофазы или сорбции белка может служить способом химической модификации ГА. Такие препараты могут стать базовым материалом для ликвидации кальциевого дефицита и создания нового поколения лекарственных наноформ, направленных на лечение остеопороза и костных заболеваний.

Таким образом, целью работы является синтез ГА из модельного раствора синовии в присутствии альбумина.

2. Экспериментальная часть

При приготовлении исходных рабочих (модельных) растворов были использованы соли марки х.ч. (ч.д.а.) и дистиллированная вода. Соли и их

количество подбирались соответствующе ионной силе и концентрации ионов, наиболее приближенным к заданным условиям (см. Таблицу 1).

Таблица 1. Средние концентрации неорганических ионов C синовиальной жидкости человека при $pH = 7,40 \pm 0,05$.

Компонент-ион	C , ммоль/л
Кальций	2,53
Фосфаты	4,38
Сульфаты	11,40
Натрий	140,00
Магний	1,10
Калий	4,60
Хлориды	103,00
Карбонаты	27,00

Этапы эксперимента:

- 1) приготовление растворов, содержащих анионы и катионы, при совместном присутствии которых в данных условиях не образуются малорастворимые соединения (рабочий раствор 1 и 2 объемами 2 л);
- 2) разделение по 500 мл рабочих растворов 1 и 2 мерными колбами;
- 3) помещение рабочего раствора 1 в делительную воронку на 500 мл, а рабочего раствора 2 в мерный стакан на 1 л;
- 4) прикапывание раствора 1 из делительной воронки к раствору 2.

В полученном общем растворе проводили корректировку pH до требуемых физиологических значений 7,40 растворами 10% гидроксида натрия и раствора соляной кислоты. Готовые модельные системы закрывали пробками и оставляли для кристаллизации при комнатной температуре на 7 суток, [18]. После чего осадок отфильтровывали, высушивали в сушильном шкафу при $t = 80^\circ\text{C}$ и отправляли на анализ (рентгенофазовый анализ, ИК-Фурье спектроскопия, БЭТ – Brunauer-Emmett-Teller method). В надосадочной жидкости определяли химический состав (катионов кальция и фосфат-ионов). При выборе органических добавок руководствовались тем, что костная минерализация протекает с участием межклеточного матрикса костной ткани (ГА, аморфный фосфат кальция, коллаген и др.) и биологических жидкостей (межклеточной и синовиальной). Альбумин (БСА- бычий сывороточный альбумин) составляют 67% от общего содержания органических веществ в синовиальной жидкости, следовательно, модельный эксперимент проводился в присутствии данных добавок.

Рентгенофазовый анализ (РФА). Рентгенофазовый анализ полученных образцов проводится на рентгеновском дифрактометре ДРОН-3М (Россия) методом Дебая-Шеррера на излучении CuK_α . Получение дифрактограмм осуществляется в интервале углов 2θ от 10° до

60° с шагом 0,2°. Качественный и количественный анализ фазового состава образцов осуществляется в программе Match! 3 (Crystal Impact, Германия) на основе открытой кристаллографической базы данных [19]. Предел обнаружения 5%.

ИК-Фурье-спектроскопия. ИК-Фурье-спектроскопия полученных порошков осуществляется на спектрофотометре ФСМ-2202 (Инфраспек, Россия) таблетированием с KBr с применением оригинального программного обеспечения FSPEC. Разрешение получаемых спектров – 4 см⁻¹, область сканирования – от 400 до 4000 см⁻¹. Обработка ИК-спектров производится в программах MS Excel 2019 и OriginPro 2021 с использованием спектральных баз данных SDBS (AIST, Япония) и ICSD (NIST, США) и литературных источников ИК-спектров неорганических соединений. Предел обнаружения составляет 5%.

Оптическая микроскопия. Исследование морфологии поверхности образцов и их элементного состава проводилось при помощи сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) TESCAN LYRA3 (Чехия). Предварительно образцы наклеивались на стандартный держатель с помощью двустороннего электропроводящего углеродного скотча и покрывались тонким слоем углерода (напылительная установка Quorum Technologies Q150TES – Великобритания). Также был проведен энергодисперсионный анализ образцов. Анализ осуществлялся компанией TESCAN GROUP г. Санкт-Петербург.

Исследование надосадочной жидкости. Содержание основных компонентов в фильтрате определяли с помощью химических методов: ионы Ca²⁺ – методом комплексонометрического титрования с отделением фосфатов (РД 52.24.403-2007 [20]); концентрацию PO₄³⁻ – фотометрическим методом по молибденовой сини ($\lambda_{eff} = 690$ нм, кюветы с толщиной слоя 2 см, ГОСТ 18309-72 [21]); Альбумин (БСА) в щелочной среде реагируют с сульфатом меди, образуя комплексные соединений, окрашенные в фиолетовый цвет, интенсивность окраски измеряют на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 500-560 нм (зеленый светофильтр) против холостой пробы, расчет проводят по градуировочному графику [22].

Статистическую обработку полученных данных проводили методом Стьюдента для доверительной вероятности $P = 0,95$, исходя из предположения об их распределении по нормальному закону с использованием программного продукта SPSS Statistics [23].

3. Результаты и обсуждения

Синтез фосфатов кальция проводили аналогично [18], при этом в модельную среду добавляли бычий сывороточный альбумин с

концентрациями 5, 7, 10 и 12,5 г/л. Установлено, что присутствие альбумина (менее 7 г/л) в модельном растворе не оказывает влияния на фазовый состав полученных осадков.

Основной фазой всех полученных осадков является плохоокристаллизованный и/или высокодисперсный ГА. В составе образцов присутствует рентгеноаморфная компонента в виде аморфного фосфата кальция. Установлено, что наличие альбумина в модельной среде менее 7 г/л не влияет на кристаллохимические параметры полученных агрегатов (см. данные Таблицы 2). Образцы ГА/альбумин, как и образец чистого ГА близки к нестехиометричным карбонатсодержащим кальцийдефицитным гидроксиапатитам, в том числе, составляющим минеральную основу костной ткани человека. Для таких апатитов характерен смешанный АБ-тип замещения структурных анионов карбонатными группировками. При концентрации альбумина 10 г/л в структуре композитов можно отметить небольшое расширение элементарной ячейки вдоль оси a , при этом параметр c , величина c/a и объем самой ячейки не изменяются. Возможно, происходит формирование карбонатгидроксиапатита преимущественно Б-типа.

Таблица 2. Кристаллографические параметры решетки.

Образец	ось a , Å	ось c , Å	c/a	D , нм
ГА б/д	$9,459 \pm 0,002$	$6,874 \pm 0,002$	0,726	22,09
ГА/БСА 5 г/л	$9,461 \pm 0,002$	$6,878 \pm 0,002$	0,727	20,11
ГА/БСА 7 г/л	$9,460 \pm 0,002$	$6,879 \pm 0,002$	0,727	30,50
ГА/БСА 10 г/л	$9,473 \pm 0,002$	$6,877 \pm 0,002$	0,726	38,25

Здесь D – размер кристаллитов.

Полученные данные подтверждены с помощью ИК-спектроскопии. Доказано, что во всех случаях образуется карбонатсодержащий гидроксиапатит (КГА) Б-типа. Анализ остаточных концентраций альбумина в модельных растворах показал, что наиболее близким образцом к стехиометрическому ГА (1,67) является осадок, синтезированный в присутствии альбумина с концентрацией 5 г/л.

В Таблице 3 представлены средние значения кальций-фосфорного коэффициента Ca/P и массы осадков m . Выявлено, что значения данного коэффициента и массы осадков увеличивается с возрастанием содержания альбумина в исходном растворе.

С помощью термического анализа проанализированы превращения порошков в интервале температур 25-1000°C. Выяснено, что при отжиге, порошки, синтезированные в присутствии биополимера в исходном растворе, характеризуются наибольшими потерями массы и их разложение начинается при более низких температурах, что подтверждает низкую кристалличность образцов. Образец, синтезированный при больших концентрациях белка

(10 г/л) отличается наибольшими потерями массы данных компонентов и структурных карбонат-ионов, что косвенно может указывать, как на низкую степень кристалличности композита, так и малую упорядоченность структуры ГА. Полученные данные хорошо согласуются с результатами РФА и ИК-спектроскопии.

Таблица 3. Значения коэффициента Ca/P и массы осадков, полученных твердых фаз в присутствии альбумина и чистого образца.

C БСА, г/л	Ca/P	m , г	C БСА, г/л (в надосадочной жидкости)
0	1,67	2,28	-
5	1,66	2,44	2,70
7	1,71	2,59	3,78
10	1,76	2,71	4,87
12,5	1,82	2,83	6,22

Исследование текстуры и морфологии проведено методами БЭТ, сканирующей электронной и оптической микроскопии. Установлено, что присутствие биополимера в модельной среде приводит к формированию композитов с меньшей удельной поверхностью (см. Таблицу 4).

Таблица 4. Площадь удельной поверхности S_{red} образцов ГА/БСА.

Образец	S_{red} , м ² /г
ГА	130 ± 7
ГА/альбумин 5 г/л	44 ± 2
ГА/ альбумин 7 г/л	48 ± 2
ГА/ альбумин 10 г/л	25 ± 2

При содержании альбумина 10 г/л значение удельной площади образца в 5 раз меньше удельной поверхности образца чистого ГА. Можно предположить, что снижение площади удельной поверхности происходит за счет адсорбционных взаимодействий заряженных участков белка с поверхностью нестехиометричного КГА.

На микрофотографиях образцов, полученных с помощью СЭМ, видно, что частицы чистого ГА имеют чешуйчатоподобную форму и образуют агрегаты размером до 100 мкм (см. рис. 1). Использование в качестве добавки альбумина приводит к формированию конгломератов частиц неправильной формы размером 1-350 мкм. Увеличение концентрации альбумина приводит к увеличению размеров до 500 мкм. С увеличением содержания альбумина в модельном растворе частицы приобретают округлую форму, поверхность самих осадков становится более однородной.

Для характеристики биоактивности образцов проведено их растворение в растворителях, подобранных с учетом условий резорбции in

vivo. Установлено, что наличие белка в составе композита улучшает их растворимость в слабокислой среде, а в средах близких к нейтральным скорость растворения замедляется. На стадии «активной» резорбции при растворении в ацетатном буферном растворе (рН=5,5) по сравнению с фазой КГА, с большей скоростью растворяются менее кристаллические композиты, полученные при осаждении из среды, содержащей более 7 г/л альбумина (см. Таблицу 5).

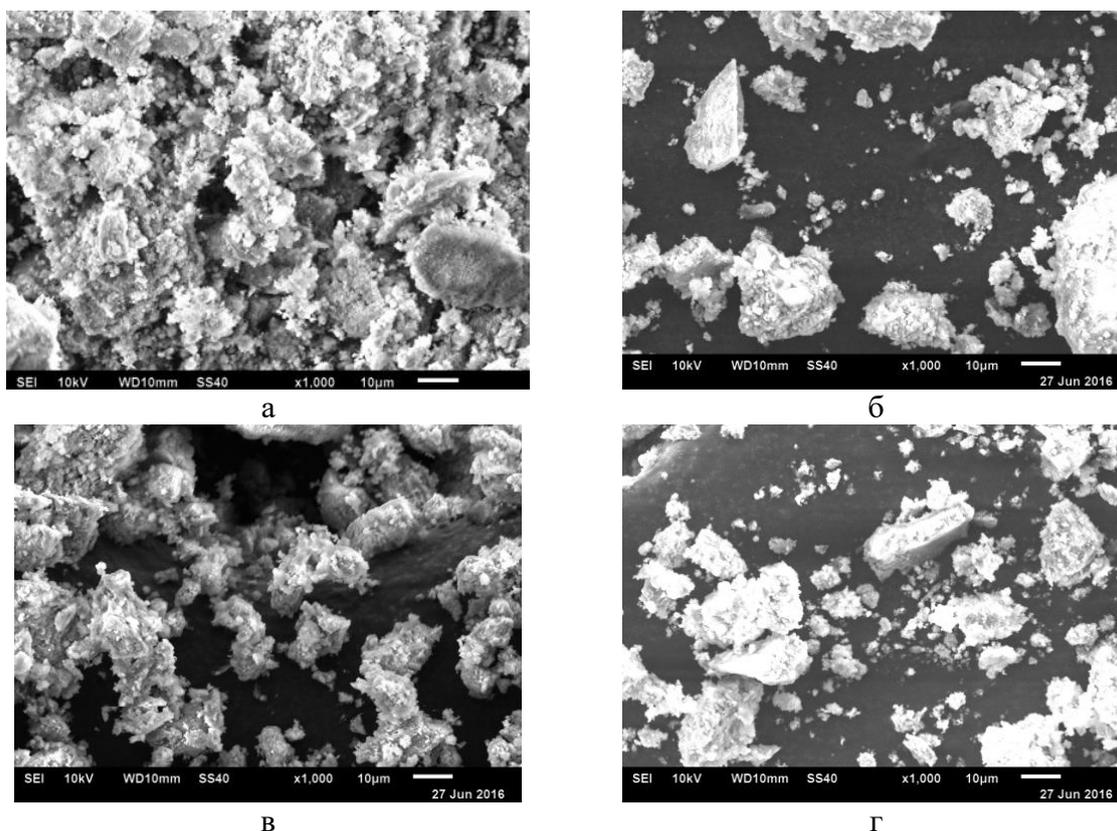


Рис. 1. Микрофотографии полученных образцов чистого ГА (а), в присутствии альбумина: 5 г/л (б), 7 г/л (в) и 10 г/л (г). Увеличение – $\times 1000$.

Таблица 5. Скорости реакции \mathcal{Q} при разных концентрациях добавки альбумина в разных растворителях.

Концентрация альбумина, г/л	$\mathcal{Q} \cdot 10^3$, мин ⁻¹ в 0,9% хлориде натрия	$\mathcal{Q} \cdot 10^3$, мин ⁻¹ в ацетатном буферном растворе
0	4,8	11,5
5,0	5,3	11,9
7,0	5,3	13,1
10,0	7,8	9,8
12,5	12,0	8,0

При растворении в 0,9% хлориде натрия, показано, что альбуминсодержащие образцы с концентрацией 5 и 7 г/л растворяются с одинаковой скоростью, причем содержание белка в составе твердых фаз оказывает влияние на их растворимость при концентрации более 7 г/л.

Полученные результаты по кинетике растворения образцов в разных растворителях можно пояснить, учитывая поведение биополимеров в растворе. Альбумины являются полиамфолитами, т.к. содержат остатки различных аминокислот (глицина, лизина, глутаминовой кислоты и т.д.). Заряд белков завит от pH раствора. Их изоэлектрическая точка, при которой амфолиты обладают минимальной вязкостью находится примерно при pH 4,7. В более кислой среде ($pH < 4,7$) аминогруппы протонируются в аммиачную группировку и, соответственно, молекулы белка приобретают положительный заряд (свойства основания). Подобные электростатические взаимодействия приводит к деформации гибких макромолекул, что сказывается на повышении вязкости среды, что в свою очередь, отрицательно сказывается на растворимости белков. В связи с чем, для достижения изоэлектрической точки биополимеров, следовательно, улучшения их растворимости, необходимо подавлять диссоциацию карбоксильных групп. Это становится возможным при добавлении избытка кислоты ($pH < 7$). Поэтому в слабокислых условиях (ацетатном буферном растворе или активной стадии резорбции) полученные композиты КГА/альбумин будут лучше резорбироваться.

4. Заключение

Синтезирован фосфат кальция из модельного раствора синовии в присутствии альбумина, при варьировании его концентрации. Выявлено, что альбумин не оказывает влияния на фазовый состав твердой фазы: осадки однофазны и состоят из КГА Б-типа. Получено, что наибольший размер кристаллитов наблюдается для образца КГА/альбумин 10 г/л. Исследование структуры и морфологии твердой фазы показало, что присутствие альбумина в растворе для синтеза приводит к формированию композитов с меньшей удельной поверхностью, в сравнении с КГА. С помощью термического анализа изучены термические преобразования твердых образцов и выделено пять этапов термопреобразования в интервале температур 25 – 1000°C, для всех образцов основными этапами являются этапы, связанные с термодеструкцией органических добавок альбумина). Изучение биоактивности образцов показало, что при активной резорбции наиболее растворимыми оказались образцы, синтезированные в присутствии альбумина, (> 7 г/л), а в случае пассивной резорбции образцы КГА/альбумин (5 и 7 г/л).

Библиографический список:

1. James, S.L. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 / S.L. James, D. Abate, K.H. Abate et al. // The Lancet. – 2018. – V. 392. – I. 10159.

- P. 1789-1858. DOI: 10.1016/s0140-6736(18)32279-7.
2. **Tavafoghi Jahromi, M.** The importance of amino acid interactions in the crystallization of hydroxyapatite / M. Tavafoghi Jahromi, G. Yao, M. Cerruti. // *Journal of The Royal Society Interface*. – 2013. – V. 10. – I. 80. – P. 1-14. DOI: 10.1098/rsif.2012.0906.
 3. **Ahn, S.-J.** Characterization of hydroxyapatite-coated bacterial cellulose scaffold for bone tissue engineering / S.-J. Ahn, Y.M. Shin, S.E. Kim et al. // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. – 2015. – V. 20. – I. 5. – P. 948-955. DOI: 10.1007/s12257-015-0176-z.
 4. **Pigossi, S.C.** Bacterial cellulose-hydroxyapatite composites with osteogenic growth peptide (OGP) or pentapeptide OGP on bone regeneration in critical-size calvarial defect model / S.C. Pigossi, J.P.L. de Oliveira, L.S. Finoti et al. // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2015. – V. 103. – I. 10. – P. 3397-3406. DOI: 10.1002/jbm.a.35472.
 5. **Лесняк, О.М.** Остеопороз в Российской Федерации: эпидемиология, медико-социальные и экономические аспекты проблемы (обзор литературы) / О.М. Лесняк, И.А. Баранова, К.Ю. Белова и др. // *Травматология и ортопедия России*. – 2018. – Т. 24. – № 1. – С. 155-168. DOI: 10.21823/2311-2905-2018-24-1-155-168.
 6. **Guo, X.** Osteogenic effects of magnesium substitution in nano-structured β -tricalcium phosphate produced by microwave synthesis / X. Guo, Y. Long, W. Li, H. Dai // *Journal of Materials Science*. – 2019. – V. 54. – I. 16. – P. 11197-11212. DOI: 10.1007/s10853-019-03674-7.
 7. **Pikis, S.** Potential neurotoxic effects of polymethylmethacrylate during cranioplasty / S. Pikis, J. Goldstein, S. Spektor // *Journal of Clinical Neuroscience*. – 2015. – V. 22. – I. 1. – P. 139-143. DOI: 10.1016/j.jocn.2014.06.006.
 8. **Kalinkevich, O.V.** Formation of nanocrystalline hydroxyapatite in presence of some aminoacids / O.V. Kalinkevich, S.N. Danilchenko, A.N. Kalinkevich et al. // *Journal of Nano- and Electronic Physics*. – 2014. – V. 6. – № 4. – Art. № 04014. – 5 p.
 9. **Zhang, J.** Concentration-dependent osteogenic and angiogenic biological performances of calcium phosphate cement modified with copper ions / J. Zhang, H. Wu, F. He et al. // *Journal Materials Science and Engineering: C*. – 2019. – V. 99. – P. 1199-1212. DOI: 10.1016/j.jmse.2019.02.042.
 10. **Roy, M.** Osteoclastogenesis and osteoclastic resorption of tricalcium phosphate: Effect of strontium and magnesium doping / M. Roy, S. Bose // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2012. – V. 100A. – I. 9. – P. 2450-2461. DOI: 10.1002/jbm.a.34181.
 11. **Ressler, A.** Strontium substituted biomimetic calcium phosphate system derived from cuttlefish bone / A. Ressler, M. Cvetnić, M. Antunović et al. // *Journal of Biomedical Materials Research – Part B Applied Biomaterials*. – 2020. – V. 108. – I. 4. – P. 1697-1709. DOI: 10.1002/jbm.b.34515.
 12. **Wang, J.** Biomimetic collagen/hydroxyapatite composite scaffolds: fabrication and characterizations / J. Wang, C. Liu // *Journal of Bionic Engineering*. – 2014. – V. 11. – I. 4. – P. 600-609. DOI: 10.1016/S1672-6529(14)60071-8.
 13. **Smolko, E.** Studies on crosslinked hydroxyapatite-polyethylene composite as a bone-analogue material / E. Smolko, G. Romero // *Radiation Physics and Chemistry*. – 2007. – V. 76. – I. 8-9. – P. 1414-1418. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2007.02.043.
 14. **Головань, А.П.** Моделирование костной ткани нанокompозитными системами на основе гидроксиапатита – альбумина – желатина и их свойства / А.П. Головань, А.А. Ругаль, В.М. Гунько и др. // *Поверхность*. – 2010. – № 2(17). – С. 244-265.
 15. **Тхуан, Л.В.** Исследование особенностей сорбции альбумина на синтетических наноразмерных кремнийзамещенных гидроксиапатитах / Л.В. Тхуан, М.А. Трубицын, Н.Г. Габрук и др. // *Сорбционные и хроматографические процессы*. – 2015. – Т. 15. – № 1. – С. 100-109. DOI: 10.17308/sorpchrom.2015.15/26.
 16. **Северин, А.В.** Выявление особенностей взаимодействия наногидроксиапатита с альбуминами с помощью радионуклидно-микроскопической диагностики. / А.В. Северин, Г.А. Бадун, М.Г. Чернышева // *Вестник Московского университета. Серия 2: Химия*. – 2011. – Т. 52. – № 6. – С. 449-455.
 17. **Zhou, Y.** Radiation synthesis and characterization of nanosilver/gelatin/carboxymethyl chitosan hydrogel / Y. Zhou, Y. Zhao, L. Wang et al. // *Radiation Physics and Chemistry*. – 2012. – V. 81. – I. 5. – P. 553-560. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2012.01.014.
 18. **Пат. 2526191 Российская Федерация, МПК А61L 27/12, А61L 27/32.** Способ получения карбонатгидроксиапатита из модельного раствора синовиальной жидкости человека / Измайлов Р.Р., Голованова О.А., Герк С.А.; заявитель и патентообладатель Омский государственный университет. – № 2526191(385); заявл. 31.05.2013; опубл. 20.08.2014, Бюл. № 23. – 8 с.
 19. Powder Diffraction File JCPDS-ICDD PDF-2 (Set 1-47). (Release, 2016). – Режим доступа: www.url:https://www.icdd.com/pdf-2. – 15.06.2022.
 20. Массовая концентрация кальция в водах. Методика выполнения измерений титриметрическим

- методом с трилоном Б: РД 52.24.403-2007. – Взамен РД 52.24.403-95; введ. 01.04.2007. – Ростов на Дону: Изд-во Росгидромет, 2007. – 26 с.
21. Вода питьевая. Метод определения содержания полифосфатов: ГОСТ 18309-72. – Введ. 01.01.1974. – М.: Госстандарт СССР, 1972. – 5 с.
22. **Кретович, В.Л.** Методы современной биохимии / под ред. В.Л. Кретовича, К.Ф. Шальца. – М.: Наука, 1975. – 176 с.
23. IBM SPSS Statistics. – Режим доступа: www.url: https://www.ibm.com/ru-ru/products/spss-statistics. – 15.06.2022.

References:

1. James S.L., Abate D., Abate K.H. et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study, *The Lancet*, 2018, vol. 392, issue 10159, pp. 1789-1858. DOI: 10.1016/s0140-6736(18)32279-7.
2. Tavafoghi Jahromi M., Yao G., Cerruti M. The importance of amino acid interactions in the crystallization of hydroxyapatite, *Journal of The Royal Society Interface*, 2013, vol. 10, issue 80, pp. 1-14. DOI: 10.1098/rsif.2012.0906.
3. Ahn S.-J., Shin Y.M., Kim S.E. et al. Characterization of hydroxyapatite-coated bacterial cellulose scaffold for bone tissue engineering, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2015, vol. 20, issue 5, pp. 948-955. DOI: 10.1007/s12257-015-0176-z.
4. Pigossi S.C., de Oliveira J.P.L., Finoti L.S. et al. Bacterial cellulose-hydroxyapatite composites with osteogenic growth peptide (OGP) or pentapeptide OGP on bone regeneration in critical-size calvarial defect model, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2015, vol. 103, issue 10, pp. 3397-3406. DOI: 10.1002/jbm.a.35472.
5. Lesnyak O.M., Baranova I.A., Belova K.Yu. et al. Osteoporoz v Rossijskoj Federatsii: epidemiologiya, mediko-sotsial'nye i ekonomicheskie aspekty problemy (obzor literatury) [Osteoporosis in Russian Federation: epidemiology, socio-medical and economical aspects (review)], *Travmatologiya i ortopediya Rossii [Traumatology and Orthopedics of Russia]*, 2018, vol. 24, no. 1, pp. 155-168. (In Russian). DOI: 10.21823/2311-2905-2018-24-1-155-168.
6. Guo X., Long Y., Li W., Dai H. Osteogenic effects of magnesium substitution in nano-structured β -tricalcium phosphate produced by microwave synthesis, *Journal of Materials Science*, 2019, vol. 54, issue 16, pp. 11197-11212. DOI: 10.1007/s10853-019-03674-7.
7. Píkis S., Goldstein J., Spektor S. Potential neurotoxic effects of polymethylmethacrylate during cranioplasty, *Journal of Clinical Neuroscience*, 2015, vol. 22, issue 1, pp. 139-143. DOI: 10.1016/j.jocn.2014.06.006.
8. Kalinkevich O.V., Danilchenko S.N., Kalinkevich A.N. et al. Formation of nanocrystalline hydroxyapatite in presence of some aminoacids, *Journal of Nano- and Electronic Physics*, 2014, vol. 6, no. 4, art. no. 04014, 5 p.
9. Zhang J., Wu H., He F. et al. Concentration-dependent osteogenic and angiogenic biological performances of calcium phosphate cement modified with copper ions, *Journal Materials Science and Engineering: C*, 2019, vol. 99, pp. 1199-1212. DOI: 10.1016/j.msec.2019.02.042.
10. Roy M., Bose S. Osteoclastogenesis and osteoclastic resorption of tricalcium phosphate: Effect of strontium and magnesium doping, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2012, vol. 100A, issue 9, pp. 2450-2461. DOI: 10.1002/jbm.a.34181.
11. Ressler A., Cvetnić M., Antunović M. et al. Strontium substituted biomimetic calcium phosphate system derived from cuttlefish bone, *Journal of Biomedical Materials Research – Part B Applied Biomaterials*, 2020, vol. 108, issue 4, pp. 1697-1709. DOI: 10.1002/jbm.b.34515.
12. Wang J., Liu C. Biomimetic collagen/hydroxyapatite composite scaffolds: fabrication and characterizations, *Journal of Bionic Engineering*, 2014, vol. 11, issue 4, pp. 600-609. DOI: 10.1016/S1672-6529(14)60071-8.
13. Smolko E., Romero G. Studies on crosslinked hydroxyapatite-polyethylene composite as a bone-analogue material, *Radiation Physics and Chemistry*, 2007, vol. 76, issue 8-9, pp. 1414-1418. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2007.02.043.
14. Golovan A.P., Rugal A.A., Gun'ko V.M. et al. Modelirovanie kostnoj tkani nanokompozitnymi sistemami na osnove gidroksiapatita – al'bumina – zhelatina i ih svoystva [Modeling of bone tissue by nanocomposite systems on the basis of hydroxyapatite – albumin – gelatin and their properties], *Poverhnost' [Surface]*, 2010, no. 2(17), pp. 244-265. (In Russian).
15. Thuan L.V., Troubitsin M.A., Gabruk N.G. et al. Issledovanie osobennostej sorbcii al'bumina na sinteticheskikh nanorazmernyh kremnijzameshchennyh gidroksiapatitah [Investigation of adsorption of albumin on synthesized nano-sized silicon-substituted hydroxyapatite], *Sorbtsionnye i Khromatograficheskie Protssessy*

- [*Sorption and Chromatographic Processes*], 2015, vol.15, no. 1, pp. 100-109. DOI: 10.17308/sorpchrom.2015.15/26. (In Russian).
16. Severin A.V., Badun G.A., Chernysheva M.G. Studying the nature of interaction between nanohydroxyapatite and albumins by radionuclide-microscopy diagnostics, *Moscow University Chemistry Bulletin*, 2011, vol. 66, issue 6, pp. 371-376. DOI: 10.3103/S0027131411060083.
17. Zhou Y., Zhao Y., Wang L. et al. Radiation synthesis and characterization of nanosilver/gelatin/carboxymethyl chitosan hydrogel, *Radiation Physics and Chemistry*, 2012, vol. 81, issue 5, pp. 553-560. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2012.01.014.
18. Izmailov R.R., Golovanova O.A., Gerk S.A. Sposob polucheniya karbonatgidroksilapatita iz model'nogo rastvora sinovial'noj zhidkosti cheloveka [Method for obtaining carbonate hydroxylapatite from a model solution of human synovial fluid]. Patent RF, no. 2526191, 2014. (In Russian).
19. Powder Diffraction File JCPDS-ICDD PDF-2 (Set 1-47). (Release, 2016). Available at: www.url:https://www.icdd.com/pdf-2 (accessed 15.06.2022).
20. Massovaya kontsentratsiya kal'tsiya v vodakh. Metodika vypolneniya izmerenij titrimetricheskim metodom s trilonom B: RD 52.24.403-2007 [Mass concentration of calcium in waters. Technique for performing titrimetric measurements with trilon B: Guidance Documents 52.24.403-2007]. Rostov na Donu: Rosgidromet Publ., 2007. 26 p. (In Russian).
21. Voda pit'evaya. Metod opredeleniya sodержaniya polifosfatov: GOST 18309-72 [Drinking water. Method for determination of polyphosphate content: State Standard 18309-72]. Moscow, Gosstandart SSSR Publ., 1972. 5 p. (in Russian).
22. Kretovich V.L. *Metody sovremennoj biohimii* [Methods of modern biochemistry], ed. by V.L. Kretovich, K.F. Shal'c. Moscow, Nauka Publ., 1975, 176 p. (In Russian).
23. IBM SPSS Statistics. Available at: www.url:https://www.ibm.com/ru-ru/products/spss-statistics (accessed 15.06.2022).

Original paper

CRYSTALLIZATION OF NANOCRYSTALLINE HYDROXYLAPATITE IN THE PRESENCE OF ALBUMIN

O.A. Golovanova

Omsk State University F.M. Dostoevsky, Omsk, Russia

DOI: 10.26456/pcascnn/2022.14.071

Abstract: Due to the development of modern biotechnologies and nanomaterials, in the near future it is expected to achieve a new, higher quality level in the design and improvement of the characteristics of intraosseous implants used in orthopedics. Calcium phosphate was synthesized from a model solution of synovia in the presence of albumin. Synthetic solid phases were studied using X-ray phase analysis, IR-Fourier spectroscopy, scanning electron microscopy, and energy dispersive analysis. The supernatant was examined for the presence of ions and to calculate the ratio. It was found that albumin does not affect the phase composition of the samples: the sediments are single-phase and consist of B-type hydroxylapatite carbonate. The study of the structure and morphology of the solid phase showed that the presence of proteins leads to formation of composites with a lower specific surface area compared to hydroxylapatite carbonate. The largest crystallite size is observed for the hydroxylapatite carbonate /albumin sample with the albumin concentration of 12 g/l. With the help of the thermal analysis of the fixation of thermal effects five stages of the thermal transformation were identified in the temperature range of 25-1000 °C; for all samples, the main stages are II–III, associated with the thermal destruction of organic additives. The study of the bioactivity of the samples showed that in the case of active resorption, the most soluble were the samples synthesized in the presence of albumin (>7 g/l), and in the case of passive resorption, the hydroxylapatite carbonate/albumin samples (5 and 7 g/l).

Keywords: crystallization, hydroxylapatite, albumin, adsorption, bioresorbability.

Голованова Ольга Александровна – д.г.-м.н., профессор, заведующий кафедрой неорганической химии ФГБОУ ВО «Омский Государственный Университет имени Ф.М. Достоевского»

Olga A. Golovanova – Dr. Sc., Professor, Head of the Department of Inorganic Chemistry, Omsk State University named after F.M. Dostoevsky

Поступила в редакцию/received: 10.08.2022; после рецензирования/revised: 07.09.2022; принята/accepted 12.09.2022.