

УДК 548.5: 543.2

Особенности кристаллизации фосфатов кальция в присутствии аминокислот

А. П. СОЛОНЕНКО, Л. В. БЕЛЬСКАЯ, О. А. ГОЛОВАНОВА

*Омский государственный университет им. Ф. М. Достоевского, проспект Мира, 55А, Омск 644077 (Россия)**E-mail: anna.petrovna@bk.ru*

(Поступила 20.05.09; после доработки 16.10.09)

Аннотация

Проведено термодинамическое и экспериментальное исследование процесса фазообразования в растворе, по минеральному и аминокислотному составу приближенному к ротовой жидкости человека. Установлено, что аминокислоты вносят значительный вклад в ионную силу системы, способствуя увеличению электростатического отталкивания между одноименными ионами и затрудняя процесс осаждения малорастворимых фосфатов кальция. При этом комплексообразование аминокислот с Ca^{2+} не приводит к снижению пересыщения раствора и изменению последовательности осаждения солей. Результаты экспериментального моделирования процесса кристаллизации гидроксилapatита показали, что ингибирующее влияние аминокислот вызвано адсорбционным взаимодействием ионизированных форм с поверхностью твердой фазы.

Ключевые слова: гидроксилapatит, аминокислоты, ингибирование, кристаллизация

ВВЕДЕНИЕ

Гидроксилapatит $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ – важный физиогенный минерал, основной неорганический компонент твердых тканей в организме человека. Кроме того, гидроксилapatит чаще других соединений встречается в составе патогенных органоминеральных агрегатов (ОМА), в том числе зубных и слюнных камней. Процесс биокристаллизации основного фосфата кальция происходит в сложной по составу среде. Важную информацию об образовании малорастворимых фаз в многокомпонентных биологических системах можно получить на основании термодинамических расчетов, в ходе которых определяются условия осаждения соединений. При этом возникает ряд трудностей, связанных, прежде всего, со сложным составом моделируемой системы и многообразием одновременно протекающих процессов. В связи с этим исследование закономерностей протекания процессов фазообразования в биологических жидкостях имеет актуальное значение.

Ранее [1] нами был проведен термодинамический расчет возможности осаждения малорастворимых солей кальция и магния из раствора, приближенного по неорганическому составу к слюне человека. Однако при этом не учитывалось влияние аминокислот, содержащихся в значительных количествах в ротовой жидкости человека.

Роль аминокислот в условиях образования малорастворимых фосфатов кальция до настоящего времени не ясна. В работах [2, 3] высказано предположение, что аминокислоты могут ингибировать осаждение гидроксилapatита. Это может быть обусловлено, во-первых, адсорбционным взаимодействием, приводящим к изменению скорости роста кристаллов; во-вторых, снижением пересыщения системы вследствие образования растворимых комплексов аминокислот с ионами кальция.

Таким образом, установление роли и характера влияния аминокислот на процессы формирования гидроксилapatита имеет важное значение для понимания механизма образования как биогенных, так и патогенных ОМА.

Цель работы – проведение термодинамического расчета возможности фазообразования в растворе, моделирующем минеральный и аминокислотный состав ротовой жидкости; экспериментальное моделирование процесса кристаллизации гидроксилapatита *in vitro* в присутствии ряда аминокислот.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Термодинамический расчет

При проведении термодинамического расчета в качестве прототипа биологической жидкости выбран модельный раствор (табл. 1), который по минеральному составу (содержанию неорганических макрокомпонентов), температуре, ионной силе и реакции среды (рН 4.5–8.0) соответствует ротовой жидкости здорового взрослого человека [4, 5]. Влияние микроэлементов, в частности ионов тяжелых металлов, при этом не учитывалось.

Для расчета выбраны аминокислоты ротовой жидкости с высокими значениями константы устойчивости комплексов с ионами кальция (предполагалось, что образуются соединения только состава 1 : 1) [6]. Также учитывался вклад ионизированных форм аминокислот, присутствующих в растворе при заданном значении рН. Значения термодинамических произведений растворимости (pK_s^0) малорастворимых соединений, которые могут образоваться в исследуемом растворе [$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_8\text{H}(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$, CaCO_3 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,

$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{MgCO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mg}(\text{OH})_2$], соответствуют данным базы констант нестойкости комплексов SC-database (SCQUERY Version 1.37 (1993)).

Экспериментальное моделирование

Процесс кристаллизации минеральной фазы в присутствии аминокислот изучен *in vitro* в среде, по электролитному составу приближенной к слюне человека (см. табл. 1, рН 6.93 ± 0.05). В качестве исходных реагентов использовали соли $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , NaCl квалификации “ч. д. а.” и “х. ч.” и дистиллированную воду. Концентрации ионов Ca^{2+} и PO_4^{3-} в модельных растворах создавали равными 4.78 и 23.7 ммоль/л соответственно, при этом пересыщение в системе относительно гидроксилapatита равно 50. В отдельных опытах в модельные растворы вводили глутаминовую кислоту в концентрации, равной 0.107 (норма), 0.396 (камнеобразование в полости рта) и 1.070 г/л (10-кратная норма), серин ($C = 0.128, 0.215, 1.28$ г/л соответственно), лизин ($C = 0.080, 0.440, 0.880$ г/л соответственно) или пролин ($C = 0.009, 0.046, 0.093$ г/л соответственно). Выбор этих аминокислот в качестве добавок связан с тем, что они присутствуют в биологическом растворе (ротовой жидкости) в свободном состоянии и входят в состав белков, а также преобладают в составе патогенных ОМА (зубных и слюнных камней). Готовые растворы оставляли для кристаллизации при комнатной температуре

ТАБЛИЦА 1

Данные по концентрации компонентов модельной кристаллизационной среды в ионной и молекулярной формах

Компонент	Концентрация, ммоль/л	Компонент	Концентрация, ммоль/л
Ионы кальция	1.5	Фторид ионы	0.00106
Ионы натрия	13.9	Тирозин	0.524
Ионы калия	26.2	Аргинин	0.620
Ионы магния	0.65	Глицин	1.93
Ионы аммония	3.6	Аланин	1.54
Хлорид ионы	12.7	Серин	1.67
Карбонат ионы	7.4	Аспарагиновая кислота	1.28
Фосфат ионы	5.6	Глутаминовая кислота	1.88

в течение 30–120 сут. Осадки анализировали методами РФА (Дрон-3), ИК-спектроскопии (Perkin Elmer) и АЭС-ИСП (ОПТИМА 2000 DV). В жидких фазах методами химического анализа определяли остаточные концентрации ионов кальция, магния, фосфатов и аминокислот.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Термодинамический расчет возможности фазообразования в прототипе ротовой жидкости человека

На первом этапе рассчитаны показатели условных произведений растворимости pK'_s исследуемых малорастворимых соединений с учетом комплексообразования с аминокислотами, ионной силы и реакции среды раствора. Оценку возможности формирования труднорастворимого соединения в растворе проводили по данным об индексе пересыщения SI:

$$\Omega = \left(\frac{\text{IAP}}{K_s^0} \right)^{\frac{1}{p+q}} = \text{SI} = \log \Omega \quad (1)$$

и энергии Гиббса кристаллизации:

$$\Delta G = - \frac{RT}{v} \ln \frac{\text{IAP}}{K_s^0} \quad (2)$$

где Ω – пересыщение, возникающее в растворе для данной соли; IAP – произведение активностей осадкообразующих ионов в степенях стехиометрических коэффициентов; K_s^0 – термодинамическое произведение растворимости малорастворимого соединения; ΔG – энергия Гиббса кристаллизации малорастворимого соединения из раствора, Дж/моль; R – универсальная газовая постоянная, Дж/(моль · К); T – температура, К; v – количество ионов, входящих в состав малорастворимого соединения.

При этом, если $\text{SI} > 0$, а $\Delta G < 0$, то термодинамически вероятно осаждение твердой фазы из раствора.

Согласно полученным результатам, в исследуемых растворах термодинамически вероятно образование следующих малорастворимых соединений: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и CaCO_3 . Сопоставляя индексы пересыщения, рассчитанные для данных малорастворимых солей

кальция, следует отметить, что в изучаемых условиях (при pH 4.5–8.0) наибольшую степень пересыщения имеют фтор- и гидроксил-апатит. При pH < 7.00 по убыванию значений SI исследуемые фосфаты кальция можно ранжировать следующим образом: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2 > \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} > \text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. При pH > 7.0 последовательность имеет следующий вид: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2 > \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 > \text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O} > \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Известно [5], что октакальция фосфат и брушит являются метастабильными фазами по отношению к гидроксил-апатиту. Данные термодинамического расчета показали, что $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ имеют меньшие по сравнению с гидроксил-апатитом значения SI и ΔG . Это свидетельствует о том, что данные фазы менее устойчивы в исследуемых условиях. Аналогичные закономерности установлены для модельной системы, в состав которой входили только неорганические компоненты [1].

В условиях комплексообразования с аминокислотами концентрация свободных ионов кальция, которые участвуют в процессах фазообразования, снижается. Однако изменение количества ионов Ca^{2+} при средней суммарной физиологической концентрации аминокислот незначительно (исходная концентрация ионов кальция 1.50 ммоль/л, конечная – 1.49(9) ммоль/л) и не влияет на условные произведения растворимости, последовательность и значение pH начала осаждения кристаллических фаз.

Таким образом, присутствие аминокислот в ротовой жидкости не оказывает влияния на термодинамическую стабильность фосфатов кальция различного стехиометрического состава относительно друг друга.

Вместе с тем заряженные формы аминокислот вносят значительный вклад в ионную силу раствора, которая уже при физиологической концентрации возрастает почти в 1.5 раза (от 0.039 до 0.051 моль/л). С ростом ионной силы гипотетического раствора происходит увеличение условных произведений растворимости фосфатов и карбонатов кальция, а значения энергии Гиббса процесса кристаллизации каждого из соединений становятся более положительными. При этом диапазоны значений pH, при которых достигаются ус-

ТАБЛИЦА 2

Данные о значениях рН начала осаждения твердых фаз в модельных растворах с аминокислотами

Соединение	C_{AK}^* , моль/л				
	0	0.0159	0.159	0.318	1.160
Фторапатит	4.8	4.9	5.5	5.9	7.4
Гидроксилапатит	5.6	5.6	6.2	6.5	–
Брушит	6.4	6.5	7.4	–	–
Октакальция фосфат	6.5	6.6	7.5	–	–
Кальцит	7.6	7.7	–	–	–

* C_{AK} – суммарная концентрация семи исследуемых аминокислот в растворе (см. табл. 1).

ловия осаждения малорастворимых соединений, существенно различаются в зависимости от концентрации аминокислот в модельной системе (табл. 2).

При биологической суммарной концентрации аминокислот ($C_{AK} = 0.0159$ моль/л) происходит сдвиг значений рН начала осаждения практически всех соединений. Дальнейшее увеличение количества органических веществ в растворе (до $C_{AK} = 0.159$ моль/л) приводит к тому, что в исследуемом диапазоне кислотности среды кристаллизация кальция становится невозможной, а при $C_{AK} > 0.3$ моль/л оказываются неустойчивыми соединения $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ и $Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O$. Таким образом, увеличение концентрации аминокислот в растворе приводит к росту ионной силы, а значение рН начала осаждения малорастворимых соединений смещается в щелочную область с ростом ионной силы.

Полученные результаты указывают на значительный вклад аминокислот в ионную силу раствора, который выражается в увеличении электростатического отталкивания между одноименными ионами и затруднении фазообразования. При этом, как отмечено ранее, аминокислоты обладают довольно слабой способностью связывать ионы кальция в комплексы, поскольку образование хелатных соединений растворенных аминокислот с Ca^{2+} не приводит к значительному снижению пересыщения раствора, в результате которого наблюдались бы изменения в ходе кристаллизации минеральных фаз. Таким образом, комплексообразование аминокислот с ионами кальция не может служить главной причиной их ингибирующего действия в процессах

осаждения фосфатов кальция. По нашему мнению, замедление роста и уменьшение размеров образующихся кристаллов гидроксил-апатита в присутствии аминокислот в кристаллизационной среде (см. табл. 1) в большей степени обусловлено адсорбционным взаимодействием ионизированных форм органических молекул с заряженными участками поверхности твердой фазы. Результаты экспериментального моделирования подтверждают данное предположение.

Моделирование фазообразования в прототипе ротовой жидкости человека

Анализ методами РФА и ИК-спектроскопии твердых фаз, полученных осаждением из растворов, моделирующих состав ротовой жидкости здорового человека, показал, что все образцы сложены гидроксил-апатитом (по данным термодинамических расчетов, гидроксил-апатит имеет один из максимальных индексов пересыщения).

Степень кристалличности соединения изменяется в присутствии добавок и зависит от их концентрации. Ухудшение окристаллизованности осадков по сравнению с контрольным образцом наблюдается в присутствии аминокислот. При этом, чем выше содержание глутаминовой кислоты, серина, лизина или пролина в растворе, тем в большей степени сни-

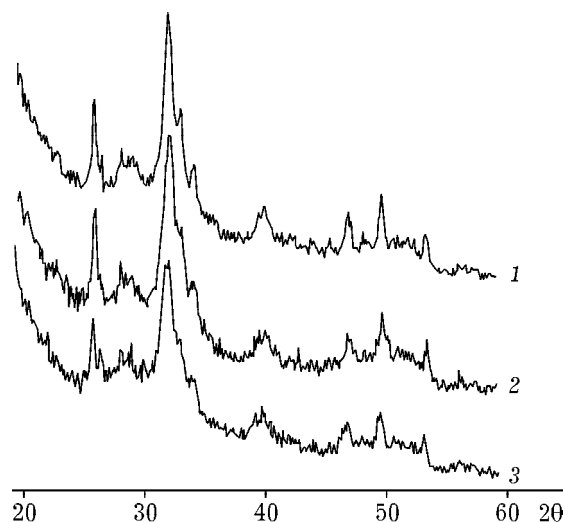


Рис. 1. Дифрактограммы образцов из растворов: 1 – без добавок; 2, 3 – с содержанием серина 0.128 и 1.28 г/л соответственно.

ТАБЛИЦА 3

Характеристики твердых фаз из растворов с аминокислотами

Аминокислота	C_{AK} , г/л	Масса осадка, г	Массовая доля, %		Ca/P	K^*
			Ca	P		
Глутаминовая кислота						
[HOOCCH(NH ₂)CH ₂ CH ₂ COOH]	0.107	0.071	35.83	18.82	1.77	4.75
	0.396	0.080	34.86	18.36	1.80	4.43
	1.073	0.081	33.10	17.27	1.85	4.18
Серин						
[HOCH ₂ CH(NH ₂)COOH]	0.128	0.088	28.56	14.85	1.79	4.67
	0.215	0.092	30.07	16.18	1.83	4.41
	1.282	0.094	30.23	16.36	1.81	4.27
Пролин						
[HNC ₄ H ₇ COOH]	0.009	0.089	40.09	19.66	2.02	4.29
	0.046	0.098	42.27	18.86	1.94	3.77
	0.093	0.101	46.08	22.86	1.96	3.13
Лизин						
[H ₂ N(CH ₂) ₄ CH(NH ₂)COOH]	0.088	0.103	42.85	19.16	1.92	4.18
	0.440	0.117	39.57	19.31	1.91	3.61
	0.880	0.123	37.12	18.47	1.89	3.02
Без добавок	—	0.493	31.94	18.74	1.70	5.35

* K – кристалличность (рассчитана по ИК-спектрам образцов с помощью PeakFit_v 4.11).

жается кристалличность твердых фаз (рис. 1, табл. 3). Очевидно, это может быть вызвано ингибированием процесса осаждения гидроксилapatита за счет адсорбции аминокислот на активных центрах роста кристаллов.

Данное предположение подтверждается результатами ИК-спектроскопии (рис. 2). На спектрах всех образцов наблюдаются полосы

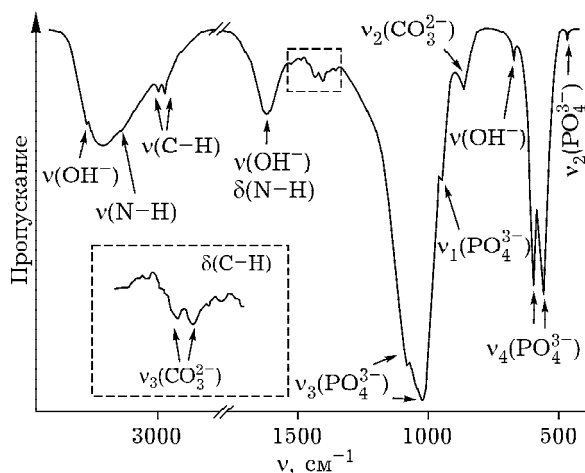


Рис. 2. ИК-спектр гидроксилapatита из раствора с содержанием серина 1.282 г/л.

поглощения группировок, характерных для молекул аминокислот: широкая полоса в области 3100–3600 cm^{-1} (минимум пропускания при 3200 cm^{-1}) и колебания при 1650 cm^{-1} включают перекрывающиеся полосы поглощения колебаний связей N–H в ионизированных аминогруппах кислот и связей O–H сорбированной апатитом воды, а полосы с минимумами при 2940, 2880 и 1380 cm^{-1} соответствуют колебаниям связей C–H в метиленовых группировках. Наличие указанных типов колебаний свидетельствует об адсорбции аминокислот в форме цвиттер-ионов (ионов, несущих одновременно положительный и отрицательный заряды, пространственно разделенные и локализованные на разных атомах) на гидроксилapatите и опровергает возможные предположения об образовании механических смесей индивидуальных компонентов или встраивании молекул аминокислот в кристаллическую решетку гидроксилapatита. Последнее, кроме того, маловероятно ввиду большого размера молекул исследуемых аминокислот по сравнению с размерами позиций OH^- и PO_4^{3-} в апатите.

Масса минеральной компоненты, кристаллизующейся из модельных растворов, во всех случаях в 5–7 раз меньше массы осадка из модельной системы без добавок. Это также свидетельствует об ингибирующем влиянии аминокислот на кристаллизацию гидроксилapatита.

Исследование состава осадков методом АЭА показало, что для полученных твердых фаз молярное соотношение $Ca/P > 1.67$ (см. табл. 3). В условиях эксперимента отклонения от соотношения атомных количеств $Ca/P = 1.67$ для гидроксилapatита с идеальной формулой $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ могут быть связаны с образованием совместно с гидроксилapatитом аморфного фосфата кальция $Ca_x(PO_4)_y \cdot zH_2O$. Данное предположение подтверждается результатами РФА: в области $10-25^\circ$ по 2θ (CuK_α) наблюдается существенное повышение фона (см. рис. 1), что указывает на присутствие рентгеноаморфной компоненты, для которой отношение Ca/P может изменяться в широких пределах (1.2–2.5 при pH 6.6–11.7 и $[Ca] \cdot [P] = 25 - (5 \cdot 10^5) \text{ мМ}^2$; $pH_{\text{эксп}} = 6.93 \pm 0.05$, $[Ca] \cdot [P]_{\text{исх}} = 113 \text{ мМ}^2$) [7].

Ранее в ходе экспериментов по измерению ζ -потенциала частиц золь гидроксилapatита [8] было установлено, что чем выше отклонение от идеального значения Ca/P , тем большим положительным зарядом характеризуется поверхность твердой фазы в растворе. Это обуславливает возможность адсорбционного взаимодействия гидроксилapatита с аминокислотами [8, 9]. В работе [9] установлено, что для глутаминовой кислоты данный процесс хорошо описывается с помощью модели Лэнгмюра, согласно которой, на поверхности адсорбента образуется мономолекулярный слой. Определенные авторами [9] значения коэффициента K в уравнениях Фрейндлиха указывают на кристалличность выделяемых твердых фаз гидроксилapatита.

Адсорбционное взаимодействие аминокислот с поверхностью $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ носит электростатический характер, и наиболее активны в адсорбции, согласно данным [10], ионизированные карбоксильные и аминогруппы, посредством которых молекулы органических веществ способны сорбироваться как на положительных, так и на отрицательных областях поверхности твердой фазы. Согласно существующим представлениям [11], на началь-

ном этапе взаимодействия происходит пространственное сближение ионизированной карбоксильной группы аминокислоты с участком поверхности, несущим положительный заряд ($Ca^{\delta+}$). Далее возникает связь между координированными участками поверхности твердой фазы и молекулой аминокислоты. В результате становится возможной потеря протона ионизированной аминогруппой и связывание еще одного кальциевого центра. Аминокислоты при этом выступают в качестве полидентатных лигандов, которые способны блокировать одновременно несколько активных центров роста за счет образования прочных хелатных комплексов с кальцием в результате адсорбции.

Возможность взаимодействия исследуемых аминокислот с гидроксилapatитом подтверждена результатами расчета молярных долей каждой формы аминокислоты, присутствующей в модельной системе в условиях эксперимента (табл. 4). Установлено, что в водном растворе ($pH_{\text{эксп}} 6.93 \pm 0.05$) выбранные органические вещества присутствуют в основном в виде цвиттер-ионов, которые и адсорбируются на поверхности гидроксилapatита. При этом следует отметить, что из всех аминокислот в изучаемых условиях отрицательный заряд несут только молекулы глутаминовой кислоты (в растворе находятся в виде $^-OOC(CH_2)_2CH(^+NH_3)COO^-$), положительным зарядом обладают молекулы лизина ($^+NH_3(CH_2)_4CH(^+NH_3)COO^-$), суммарный нулевой заряд возникает у пролина ($H_3N^+(CH_2)_3CH_2COO^-$) и серина ($HOCH_2(^+NH_3)COO^-$). Вероятно, заряженные частицы на начальном этапе кристаллизации сорбируются на активных центрах полярной поверхности зародышей кристаллов гидроксилapatита, препятствуя их дальнейшему росту. При этом формируются частицы нано- и микро размеров, и, как следствие, масса выделяющегося из системы осадка оказывается значительно меньше массы образца из системы без добавок.

В условиях эксперимента на поверхности гидроксилapatита преобладают положительно заряженные области (из-за избытка кальция), поэтому взаимодействие аминокислот с активными центрами возрастает с уменьшением положительного заряда формы amino-

ТАБЛИЦА 4

Константы кислотности и молярные доли различных форм аминокислот, присутствующих в растворе (рН 7)

Аминокислота	pK _a α-COOH	pK _a α- NH ₃ ⁺	pK _a -RH	α (H ₃ A)	α (H ₂ A)	α (HA)	α (A)
Глутаминовая	2.19	9.67	4.25	2.74 · 10 ⁻⁸	1.77 · 10 ⁻³	9.96 · 10 ⁻¹	2.13 · 10 ⁻³
Серин	2.21	9.15	–	–	1.61 · 10 ⁻⁵	9.93 · 10 ⁻¹	7.03 · 10 ⁻³
Пролин	2.00	10.60	–	–	1.00 · 10 ⁻⁵	1.00	2.51 · 10 ⁻⁴
Лизин	2.18	8.95	10.53	1.50 · 10 ⁻⁵	9.89 · 10 ⁻¹	1.11 · 10 ⁻²	3.27 · 10 ⁻⁶

кислоты, доминирующей в системе. Согласно заряду основной формы, исследуемые аминокислоты по усилению взаимодействия с поверхностью апатита можно ранжировать следующим образом: лизин < пролин < серин < глутаминовая кислота. Следовательно, в изучаемых условиях глутаминовая кислота обладает наиболее сильным ингибирующим действием в процессе кристаллизации минеральной фазы, а лизин – самым слабым, что подтверждается данными по массе осадков, полученных в их присутствии (см. табл. 3).

Важно, что сродство аминокислоты к фосфату кальция возрастает с увеличением количества активных в процессе адсорбции функциональных групп, входящих в структуру молекулы (COO⁻, NH₃⁺, OH⁻) [2, 3, 10]. В процессе адсорбции глутаминовой кислоты участвуют две карбоксильные и одна аминогруппа, что определяет значительно большее сродство глутаминовой кислоты к гидроксил-апатиту ($K_{aff} = 30.21 \cdot 10^2$ л/моль [2]) по сравнению с остальными исследуемыми аминокислотами. Как следствие, уже при малых концентрациях в растворе глутаминовая кислота оказывается более сильным ингибитором кристаллизации и роста.

Серин в своей структуре имеет три функциональные группы (NH₃⁺, COO⁻, OH⁻), активные при адсорбции, а также сравнительно небольшие размеры и частичный отрицательный суммарный заряд цвиттер-ионов. В связи с этим в условиях эксперимента он проявляет достаточно высокую ингибирующую активность.

Молекулы лизина обладают суммарным положительным зарядом, поэтому можно предположить, что ввиду одноименного заряда сорбата и сорбента между ними возникает электростатическое отталкивание. Это приводит к тому, что адсорбция происходит только на отрицательно заряженных участ-

ках поверхности гидроксил-апатита (фосфатные группы) и мала в условиях эксперимента.

Малая величина константы сродства пролина к гидроксил-апатиту ($\sim 7.5 \cdot 10^2$ л/моль [2]) характеризует низкую интенсивность адсорбции. Однако аминокислота способна блокировать большое количество активных центров за счет того, что пирролидиновое кольцо может ориентироваться параллельно поверхности твердой фазы и затруднять рост кристаллов гидроксил-апатита.

Описанные факторы взаимодействия приводят к тому, что наиболее сильными ингибиторами кристаллизации гидроксил-апатита в условиях эксперимента оказываются глутаминовая кислота и серин, поэтому в их присутствии масса осадка минимальна, содержание ионов кальция ниже, а кристалличность полученных фаз выше.

Таким образом, в ходе проведенного экспериментального моделирования процесса фазообразования в гипотетическом растворе, по составу приближенному к ротовой жидкости человека, установлено, что ингибирование кристаллизации гидроксил-апатита вызвано адсорбционным взаимодействием ионизированных форм аминокислот с заряженными участками поверхности твердой фазы. При этом по уменьшению силы ингибирующего действия исследованные аминокислоты можно расположить в следующий ряд: глутаминовая кислота > серин > пролин, лизин. Способность аминокислот препятствовать процессу кристаллизации гидроксил-апатита зависит от концентрации вещества в системе, геометрии молекулы, а также от формы существования в растворе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ca₁₀(PO₄)₆F₂ и Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ имеют наибольшую степень пересыщения и являются

наиболее устойчивыми фосфатами кальция, кристаллизация которых возможна из прототипа ротовой жидкости человека. $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ проявляют себя как метастабильные фазы в изучаемых условиях. Устойчивость солей друг относительно друга не изменяется в присутствии аминокислот в моделируемом растворе, тогда как повышение ионной силы среды (с учетом вклада ионизированных форм аминокислот) способствует смещению значений рН начала осаждения малорастворимых солей кальция в более щелочную область. По результатам экспериментального моделирования кристаллизации гидроксилapatита *in vitro* в присутствии четырех аминокислот, входящих в состав биологической жидкости, установлено, что аминокислоты препятствуют формированию стехиометрического гидроксилapatита за счет адсорбции на поверхности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Бельская Л. В., Голованова О. А. // Вестн. Омск. ун-та. 2008. № 4. С. 49–53.
- 2 Koutsopoulos S., Dalas E. // J. Cryst. Growth. 2000. Vol. 216. P. 443–449.
- 3 Koutsopoulos S., Dalas E. // J. Cryst. Growth. 2000. Vol. 217. P. 410–415.
- 4 Забросаева Л.И., Козлов Н.Б. Биохимия слюны. Омск: изд. ОмГМА, 1992. 44 с.
- 5 Бельская Л.В. Зубные и слюнные камни – химический состав, генетические особенности: Дис. ... канд. хим. наук. Москва, 2009. С.77–80.
- 6 Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М.: Мир, 1991. 544 с.
- 7 Вересов А. Г., Путляев В. И., Третьяков Ю. Д. // Рос. хим. журн. 2004. Т. 48, № 4. С. 52–64.
- 8 Россеева Е. В., Голованова О. А., Франк-Каменецкая О. В. // Физика и химия стекла. 2007. Т. 33. С. 283–286.
- 9 Голованова О. А., Пономарева Е. Ю., Франк-Каменецкая О. В. // Хим. уст. разв. 2008. Т. 16, № 2. С. 215–224.
- 10 Shen J.-W., Tao Wu, Qi Wang, Hai-Hua Pan. // Biomat. 2008. No. 29. P. 513–532.
- 11 Fleming D. E., Bronswijk W., Ryall R. L. // Clin. Sci. 2001. Vol. 101. P. 159–168.