



УДК 544.723 + 54.057

## Исследование особенностей сорбции альбумина на синтетических наноразмерных кремнийзамещенных гидроксипатитах

Ле Ван Тхуан<sup>1</sup>, Трубицын М.А.<sup>1</sup>, Габрук Н.Г.<sup>1</sup>, Доан Ван Дат<sup>1</sup>,  
Олейникова И.И.<sup>1</sup>, Гудкова Е.А.<sup>1</sup>, Нгуен Фук Као<sup>1</sup>, Фам Тхи Тхуан<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,  
Белгород

<sup>2</sup>Высшая школа имени Хуинь Тхук Ханг, Куанг Гнай, Вьетнам

Поступила в редакцию 4.10.2014 г.

Методом осаждения из водных растворов синтезированы кремнийзамещенные гидроксипатиты (Si-ГАП) в нанометровом размере 12-20 нм и определены их морфология, текстурные характеристики. Исследованы особенности адсорбции/десорбции альбумина на поверхности порошков Si-ГАП. Установлено, что процесс адсорбции в основном определяется электростатическими силами и адекватно описывается уравнением Ленгмюра. Образцы Si-ГАП обладают улучшенной способностью адсорбции к молекулам альбумина по сравнению с немодифицированным ГАП. При повышении степени замещения, т.е. содержания кремния в образцах Si-ГАП, возрастает предельная адсорбция альбумина, которая составляет 119 – 167 мг/г.

**Ключевые слова:** гидроксипатит, кремнийзамещенный гидроксипатит, альбумин, адсорбция.

## Investigation of adsorption of albumin on synthesized nano-sized silicon-substituted hydroxyapatite

Le Van Thuan<sup>1</sup>, Troubitsin M.A.<sup>1</sup>, Gabruk N.G.<sup>1</sup>, Doan Van Dat<sup>1</sup>,  
Oleinikova I. I.<sup>1</sup>, Gudkova E.A.<sup>1</sup>, Nguyen Phuc Cao<sup>1</sup>, Pham Thi Thuan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education «Belgorod National Research University», Belgorod

<sup>2</sup>Huynh Thuc Khang High School, Quang Ngai city, Vietnam

Having similarity to bone tissue in terms of chemical composition, with high bio-compatibility and bio-activity, materials based on synthetic hydroxyapatites, including silicon-substituted hydroxyapatite, have found wide application in medicine practice (dentistry, orthopedics, cosmetics and surgery) as ceramics, cements, composites, etc. Creating the optimal nanotechnology based on nanosized unmodified and modified hydroxyapatites of medicinal and transport forms to solve the problems in the prophylaxis and treatment of bone diseases, osteoporosis and calcium deficiency requires information on the mechanisms and the laws of processes involving hydroxyapatites, taking place in the human body. Therefore, studying the interaction of hydroxyapatite nanoparticles with bio-macromolecules, in particular proteins, has gained a special importance.

The aim of this study was to determine the sorption features of albumin on nanosized synthetic silicon-substituted hydroxyapatites. Single-phase nanosized silicon-substituted hydroxyapatite with an average size of 12-20 nm was synthesized by the method of precipitation from aqueous solution. The texture characteristics and morphology of the Si-HAP samples were determined using the methods of FTIR, XRD,

TEM and BET. It was revealed that crystals of Si-HAP have needle-like shape with a length of 40-120 nm and thickness of 4-8 nm. The introduction of silicate ions in the lattice causes a decrease in the size of the HAP crystals of almost 3.5 times and an increase in the specific surface area of about 4.5 times. With increasing degree of silicon substitution the crystal size increases.

Experiments on sorption features of albumin on the surface of different samples of Si-HAP were conducted, in which the isotherms and adsorption parameters were obtained. The maximum adsorption capacity of albumin on samples of Si-HAP was 119-167 mg/g. By increasing the degree of silicon substitution, the specific surface area of the samples increases, therefore so does the adsorption capacity. The mechanism and kinetics of the adsorption/desorption processes were also investigated. It was found that one of the adsorption features of albumin on synthetic Si-HAP is the participation of electrostatic forces. Based on the results of the study it can be assumed that synthetic Si-HAP is a perspective biomaterial of medical applications and a sorbent for the separation of proteins and other substrates.

**Keywords:** hydroxyapatite, silicon-substituted hydroxyapatite, albumin, adsorption.

## Введение

В настоящее время перспективным направлением исследования является разработка биоматериалов для замены и восстановления поврежденных костных тканей и зубов. В силу сходства химического состава с костной тканью, высокой биосовместимостью и биоактивностью материалы на основе синтетического гидроксиапатита ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , ГАП) находят широчайшее применение в медицинской практике (стоматологии, ортопедии, косметике и хирургии) в виде керамики, цемента, композитов, покрытий и т.д. [1-3]. В последние годы в качестве биосовместимых имплантатов весьма эффективно используется кремнийзамещенный гидроксиапатит, который, как доказано во многих работах [4-6] обладает повышенной биоактивностью, в частности биорезорбируемостью по сравнению с немодифицированным ГАП.

При имплантации биоматериалов в костную ткань они вступают в сложное взаимодействие с биологическими жидкостями и тканями. Важным процессом является адсорбция белков из плазмы крови и тканевой жидкости. На процессы минерализации значительное влияние оказывают взаимодействия с неколлагеновыми белками, в частности альбумином или фосфопротеином. В среде организма поверхность имплантируемого материала адсорбирует белки плазмы. К адсорбированным белкам затем прикрепляются клетки – остеобласты, синтезирующие коллаген матрикса, который далее подвергается минерализации [7]. Поэтому при создании биоматериалов на основе ГАП для медицинского назначения необходимо изучать механизмы и закономерности процессов, протекающих в организме с гидроксиапатитами.

Целью данной работы было установление сорбционных особенностей альбумина на синтетических наноразмерных кремнийзамещенных гидроксиапатитах. Альбумин является одним из важнейших для функционирования человеческого организма белков (составляет 40-60% от общего количества белка плазмы), обеспечивает транспорт веществ, участвует в поддержании онкотического давления, инициирует минерализацию и регулирует скорость роста кристаллов минеральной фазы, выступает резервом аминокислот для синтеза вновь образованных белков.

## Эксперимент

В данной работе образцы наноразмерного Si-ГАП ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ ,  $x$  – степень замещения и  $0 \leq x \leq 2$ ) были получены по оригинальной методике,

приведенной в патенте [8]. Полученные суспензии фильтровали, промывали дистиллированной водой, высушивали и измельчали до порошкообразного состояния. В качестве сравнения был использован немодифицированный гидроксипатит, синтезированный по способу [9].

Физико-химические характеристики образцов фиксировали методами рентгенофазового анализа (РФА), на дифрактометре Rigaku Ultima IV (Япония) с детектором D/teX Ultra. Размер области когерентного рассеяния (средний размер) кристаллов рассчитывали методом Williamson-Hall на основе данных РФА. Морфология кристаллов была исследована с помощью просвечивающего электронного микроскопа JEM 2100. Удельная поверхность ( $S_{уд}$ ) и пористость порошков по методу БЭТ определяли на автоматизированной сорбционной установке TriStar II 3020. Качественный анализ на наличие функциональных групп и их позициях в кристаллической структуре проведен при помощи ИК-спектроскопии, на спектрометре Nicolet 6700. Измерение электрокинетического потенциала поверхности исследуемых образцов проводили методом электрофореза на анализаторе Zetasizer Nano ZS фирмы Malvern Instruments.

Альбумин, был выделен из белка куриного яйца и растворен в физрастворе [10]. pH растворов поддерживали добавлением 0.01 М HCl или 0.01 М NaOH на уровне 7.4, соответствующему значению pH межтканевой среды

Для изучения кинетики адсорбции белка навески исследуемых образцов наноразмерного Si-ГАП массой по 0.2 г помещали в химические стаканы и заливали 20 мл раствора альбумина с массовой концентрацией 3.5 г/л. Концентрацию белка определяли после центрифугирования растворов при 3000 об/мин в течение 10 мин спектрофотометрическим методом по биуретовой реакции. Адсорбцию белка проводили в течение 1 суток при периодическом перемешивании. При этом навески образцов взяты в интервале от 0.1 до 0.8 г, а концентрации растворов белков - от 0.5 до 20 г/л. Построены изотермы. Величину адсорбции белка  $\Gamma$  (мг/г) вычисляли по формуле:

$$\Gamma = \frac{(C_0 - C) \cdot V}{m}$$

где  $C_0$  и  $C$  – исходная и равновесная концентрации растворов белка, г/л;  $V$  – объем раствора белка, мл;  $m$  – масса адсорбента, г.

Десорбцию белков определяли в статических условиях в течение 10 суток. Навески гидроксипатитов, максимально сорбировавшие белки, массой 0.5 г заливали 30 мл физраствора (pH=7.4). Ежедневно в течение 10 суток определяли количество десорбированных белков. Все эксперименты проведены при комнатной температуре ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

## Обсуждение результатов

Процесс адсорбции белка, в основном, зависит как от физико-химических свойств имплантата (степень кристалличности, удельная поверхность, гидрофобность, пористость), так и от окружающих его белков, электролитов, уровня pH [11]. Поэтому определение морфологии, физико-химических характеристик исследуемых порошков является важной задачей при исследовании адсорбции белков на твердых телах. На рис. 1 представлены микрофотографии наночастиц Si-ГАП при различных степенях замещения кремния.

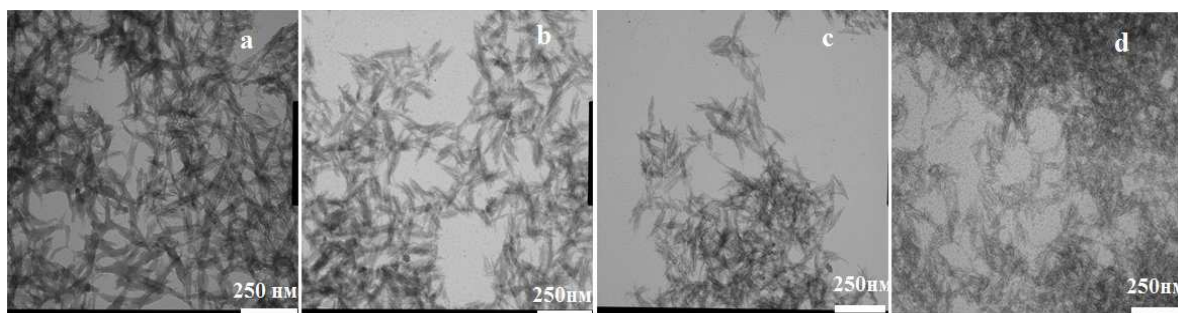


Рис. 1. Микрофотографии наночастиц Si-ГАП при различных степенях замещения: а)  $x=0.5$ ; б)  $x=1.0$ ; в)  $x=1.5$ ; д)  $x=2.0$

Видно, что кристаллы Si-ГАП имеют игольчатую форму с длиной 40-120 нм, толщиной 4-8 нм. По результатам исследования адсорбции бычьего сывороточного альбумина на различных формах ГАП Sanjaya K.S. [12] установлено, что альбумин лучше адсорбируется на игольчатом ГАП, чем на гидроксиапатитах сферической и волокнистой форм. На основе этого предположения можно надеяться на эффективность адсорбции альбумина на поверхности Si-ГАП. Кроме этого, на рис. 1 наблюдается уменьшение размера кристаллов при повышении степени замещения (содержания) кремния.

Результаты РФА показали, что все синтезированные образцы Si-ГАП принадлежат к той же пространственной группе, что и гидроксиапатит (гексагональная система  $R\bar{6}_3/m$ ) и являются однофазными. Из полученных данных были рассчитаны средний размер кристаллов ( $D_{ср.}$ ) и степень кристалличности, значения которых приведены в табл. 1.

Таблица 1. Основные физико-химические характеристики порошков Si-ГАП

$x$	Содержание кремния, %	$D_{ср.}$ , нм	$X_{крист.}$ , %	$S_{уд.}$ , $м^2/г$	$V_{пор.}$ , $см^3/г$	$d_{пор.}$ , нм
-	-	65	91.00	38.1	0.15	17.2
0.5	1.40	19	92.49	59.1	0.28	27.8
1.0	2.85	13	90.25	66.0	0.52	31.7
1.5	4.31	11	85.39	109.0	0.58	21.2
2.0	5.81	11	88.43	122.2	0.74	24.0

Внедрение силикат-ионов в кристаллическую решетку ГАП вызывает существенное уменьшение размера кристаллов ГАП (табл. 1). При повышении степени замещения, средний размер кристаллов Si-ГАП уменьшается, и, следовательно, возрастает удельная поверхность. Это хорошо согласуется с данными РФА (рис. 1). При этом также наблюдается увеличение объема пор ( $V_{пор.}$ ) от 0.15 до 0.74  $см^3/г$ , а средний диаметр пор колеблется в интервале 17-24 нм. Степень кристалличности ( $X_{крист.}$ ) образцов составляет от 85 до 93% и, в общем, снижается с ростом содержания кремния в образцах Si-ГАП.

Данные по кинетике сорбции альбумина получены для наноразмерных ГАП и Si-ГАП при степени замещения кремния  $x=1$  ( $Si_{1.0}$ -ГАП). Установлено, что время достижения стационарного состояния составляет 5-6 ч. (рис. 2). Дальнейшее увеличение времени экспозиции до 3 суток не приводило к существенному изменению равновесной концентрации белка. В дальнейшем сорбцию проводили 24 часа.

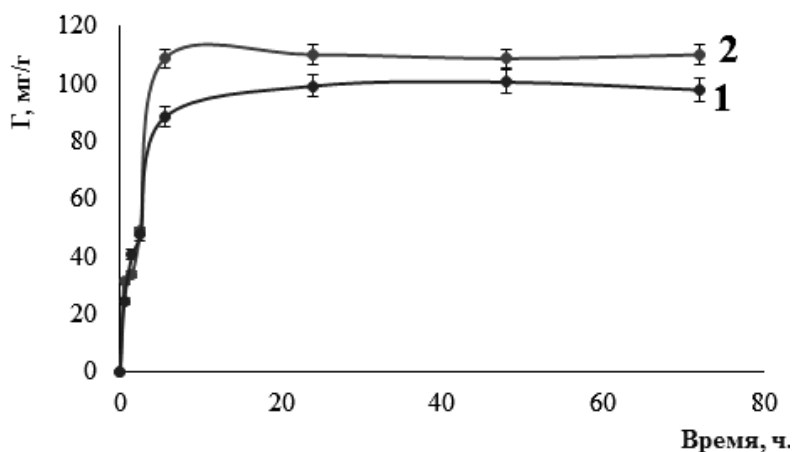


Рис. 2. Кинетика адсорбции альбумина на ГАП (1) и Si<sub>1,0</sub>-ГАП (2)

Одной из особенностей адсорбции макромолекул белков из разбавленных водных растворов на поверхности твердых тел является вклад электростатических сил, оказывающих существенное влияние на характер взаимодействия макромолекул белков с заряженной поверхностью адсорбента [13]. Полученные значения электрокинетического потенциала исследуемых гидроксиапатитов в водной среде при pH=7.4 до и после сорбции альбумина приведены в табл. 2.

Таблица 2. Дзета- потенциал образцов до и после сорбции альбумина

Наименование образца	Дзета-потенциал, мВ		Г, мг/г
	До сорбции альбумина	После сорбции альбумина	
ГАП	+13.4	-5.3	115.4
Si-ГАП (x=1)	+8.3	-13.6	136.2

Из приведенных данных следует, что процесс адсорбции альбумина сопровождается как изменением абсолютной величины  $\zeta$ -потенциала ГАП и Si-ГАП, так и знака заряда - с положительного на отрицательный. Предполагаем, что макромолекула альбумина, которая обладает отрицательным зарядом при pH = 7.4 (изоэлектрическая точка равна 4.8), электростатически закрепляется на поверхности нанокристалла гидроксиапатитов и образует некую оболочку, что приводит к перераспределению электрических зарядов поверхности частиц ГАП и Si-ГАП. Из-за высокого сродства альбумина к частицам Si-ГАП заряд его понижается до -13.6 мВ, в то время как заряд частиц ГАП снижается до -5.3 мВ.

Механизм адсорбции белков на гидроксиапатитах инициирует образование слоя анионов, таких как  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  и  $\text{OH}^-$  на поверхности частиц ГАП, вследствие чего образуется двойной электрический слой вокруг их поверхности [14]. Электростатического взаимодействия на поверхности Si-ГАП обусловлено заряженными группами белков и  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{PO}_4^{3-}/\text{SiO}_4^{4-}$ . Кроме того, может иметь место наличие водородных связей между соседними молекулами белков и полярной поверхностью. В данном случае карбоксильные группы альбумина адсорбируются на положениях  $\text{Ca}^{2+}$  через замещение фосфатных групп. Достигнув поверхности гидроксиапатитов, конформация альбумина может меняться из-за образования водородных связей между  $\text{NH}_2$  и фосфатными/силикатными группами [15]. Это предположение подтверждается ИК-спектрами Si<sub>1,0</sub>-ГАП до и после сорбции альбумина (рис. 3).

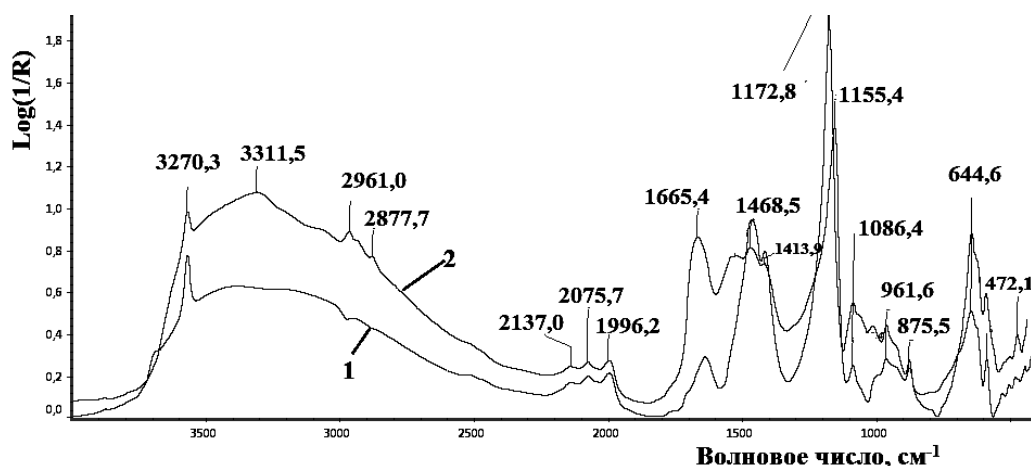


Рис. 3. ИК-спектры Si<sub>1.0</sub>-ГАП до (1) и после (2) сорбции

Анализируя полученные спектры установили, что в ИК-спектре поглощения Si-ГАП после сорбции белка присутствуют все полосы, характерные для Si-ГАП, и дополнительные полосы, обусловленные наличием альбумина в составе сорбционного порошка. Структуру неорганической фракции Si-ГАП определяют характерная полоса  $\nu_{(\text{OH}^-)}$  при  $3570 \text{ см}^{-1}$  и полосы интенсивных валентных колебаний групп  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $1199, 1086, 1010, 962, 649, 619, 588 \text{ см}^{-1}$ ) и  $\text{SiO}_4^{4-}$  ( $875$  и  $497 \text{ см}^{-1}$ ), которые наблюдаются в обоих спектрах. В области валентных колебаний группы  $\text{NH}_2$  индицируется широкая полоса поглощения  $\nu_{(\text{N-H})}$  с максимумом при  $3307 \text{ см}^{-1}$ . Колебания  $\nu_{(\text{C-H})}$  фиксируются в области  $2876 - 2980 \text{ см}^{-1}$ , а типичная полоса валентных колебаний карбоксильной группы  $\nu_{(\text{COO}^-)}$  обнаружена при частоте  $1532 \text{ см}^{-1}$  [12]. Кроме того, отмечается сдвиг пика, характерного для группы  $\text{PO}_4^{3-}$  из частоты  $1190$  в  $1161 \text{ см}^{-1}$ , что свидетельствует о образовании химической связи между макромолекулой альбумина и  $\text{PO}_4^{3-}$  на поверхности гидроксиапатитов (рис. 3).

На рис. 4 приведены изотермы адсорбции альбумина на поверхности ГАП и Si-ГАП в диапазоне равновесных концентраций раствора от  $0.5$  до  $13.5 \text{ г/л}$ .

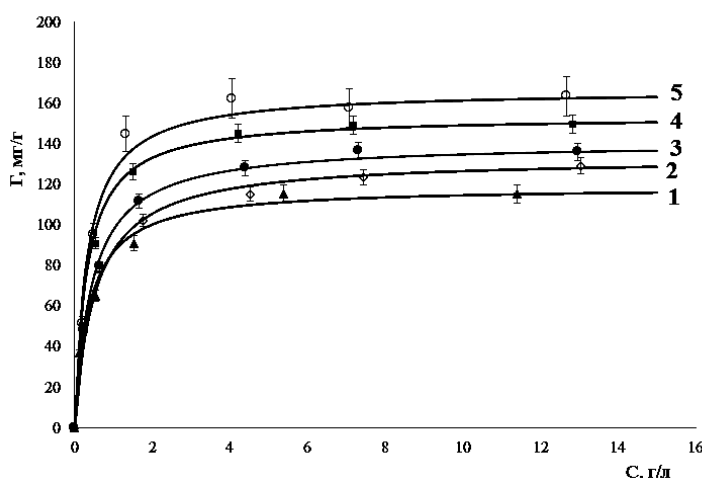


Рис. 4. Изотермы адсорбции альбумина на исследуемых образцах (1-ГАП, 2-Si<sub>0.5</sub>-ГАП, 3- Si<sub>1.0</sub>-ГАП, 4- Si<sub>1.5</sub>-ГАП, 5- Si<sub>2.0</sub>-ГАП)

На рис. 4 видно, что величины предельной адсорбции альбумина из водных растворов на образцах гидроксиапатитов в области равновесных концентраций от  $4.5$  до  $13.5 \text{ г/л}$  практически не изменяются, т.е. не зависят от равновесной

концентрации, что свидетельствует о насыщении доступной поверхности исследуемых порошков.

Таблица 3. Параметры адсорбции альбумина на гидроксиапатитах по модели Ленгмюра

Наименование образцов	$\Gamma_{\max}$ , мг/г	K, л/г	$R^2$
ГАП	119.1	2.71	0.9994
Si-ГАП (x=0.5)	133.3	1.92	0.9995
Si-ГАП (x=1.0)	140.8	2.29	0.9997
Si-ГАП (x=1.5)	153.9	3.25	0.9998
Si-ГАП (x=2.0)	166.7	3.16	0.9994

В табл. 3. представлены значения предельной адсорбции  $\Gamma_{\max}$  и константы адсорбционного равновесия K получили из линеаризованного уравнения, описывающего зависимости C/Г от C. Коэффициенты корреляции ( $R^2$ ) при преобразовании изотерм сорбции в линейную форму составляют от 0.9994 до 0.9998, что указывает на хорошую линейную зависимость C/Г от C. Следовательно, адсорбция альбумина на ГАП и Si-ГАП хорошо описывается уравнением Ленгмюра. Другими словами в рассмотренном интервале концентраций образуется монослой макромолекул альбумина на поверхности гидроксиапатитов. Белковый слой, образующийся на поверхности имплантата, играет исключительную роль в процессах, связанных с адгезией клеток. В частности, это касается тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитов, остеобластов или остеокластов и микроорганизмов, от которых, зависит качество работы имплантируемого устройства [7].

Предельная адсорбция образцов составила от 119 до 167 мг/г. Причём, у кремнийзамещенных гидроксиапатитов эта величина выше, чем у немодифицированного ГАП. С ростом степени замещения кремния повышается адсорбционная способность порошков Si-ГАП по отношению к альбумину. Полученные данные хорошо коррелируют с величиной удельной поверхности, степенью кристалличности и пористостью образцов. Чем выше значение удельной поверхности и объема пор, тем лучше адсорбционные свойства данных образцов. Чем ниже степень кристалличности гидроксиапатитов, тем выше их скорости растворения, что приводит к значительному увеличению ионной силы раствора. Наши результаты хорошо согласуются с сообщением [16], где указывается, что более высокая ионная сила вызывает конформационные изменения в макромолекулах белков. Это, в свою очередь, увеличивает полярность их поверхности, что приводит к повышению скорости адсорбции белков на поверхности материалов.

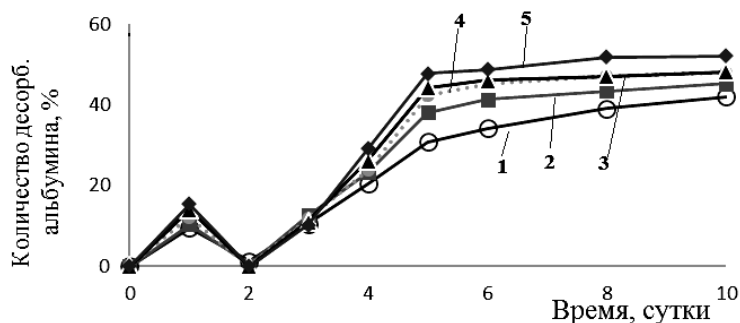


Рис. 5. Кинетика десорбции альбумина с поверхности образцов (1-ГАП, 2-Si<sub>0.5</sub>-ГАП, 3- Si<sub>1.0</sub>-ГАП, 4- Si<sub>1.5</sub>-ГАП, 5- Si<sub>2.0</sub> –ГАП)

На рис. 5 показан процесс десорбции альбумина с поверхности образцов ГАП и Si-ГАП в физрастворе (рН = 7.4). Отмечено, что в первые 24 ч инкубации 8 - 15 % альбумина десорбировалось с порошков гидроксиапатитов. Но на вторые сутки наблюдали обратную сорбцию альбумина. В последующие сутки десорбция альбумина увеличилась и достигла стабильности на пятые сутки. После 10 суток наблюдали 35 – 50% десорбированного из инкубационных образцов альбумина. На образцах Si-ГАП скорость десорбции альбумина выше чем, на образцах ГАП. Скорость десорбции альбумина может быть прямо пропорциональна скорости резорбции образцов гидроксиапатитов, которая зависит от значения удельной поверхности.

## Заключение

Методом осаждения из водных растворов синтезирован однофазный наноразмерный кремнийзамещенный гидроксиапатит со средним размером 12-20 нм. С помощью современных физико-химических методов определены текстурные характеристики и морфология образцов Si-ГАП. Установлено, что внедрение силикат-ионов в кристаллическую решетку ГАП вызывает уменьшение размера кристаллов ГАП почти в 3.5 раз и увеличение удельной поверхности в ~ 4.5 раз. Получены изотермы и рассчитаны адсорбционные параметры: предельная адсорбция, константа адсорбционного равновесия. Выявлено влияние степени замещения кремния на сорбционную способность кремнийзамещенных гидроксиапатитов. Показано, что при повышении степени замещения кремния в образцах Si-ГАП, возрастает предельная адсорбция альбумина. Предельная адсорбция на образцах Si-ГАП составляет 119-167 мг/г. Изучены механизм и кинетика адсорбции/десорбции альбумина на поверхности гидроксиапатитов. На основе полученных результатов можно предположить, что синтезированный Si-ГАП является перспективным биоматериалом для медицинских приложений и сорбентом для разделения белков и других субстратов.

## Список литературы

1. Salarian M., Solati-Hashjin M., Shafiei S.S. Template-directed hydrothermal synthesis of dandelion-like hydroxyapatite in the presence of cetyltrimethylammoniumbromide and polyethylene glycol // *J. Ceram. Int.* 2009. V. 35. pp. 2563-2569.
2. Chung R.J., Hsieh M.F., Panda R.N. et al. Hydroxyapatite layers deposited from aqueous solutions on hydrophilic silicon substrate // *J. Surf. Coatings Technol.* 2003. V. 165. pp. 194-200.
3. Lee J.H., Lee K.S., Chang J.S. et al. Biocompatibility of Si-substituted hydroxyapatite // *J. Key Eng. Mater.* 2004. V. 254. pp. 135-138.
4. Pietak A.M., Reid J.W., Stott M.J. et al. Silicon substitution in the calcium phosphate bioceramics // *J. Biomater.* 2007. V. 28. pp. 4023-4032.
5. Best S.M., Zou S., Brooks R. et al. The osteogenic behaviour of silicon substituted hydroxyapatite // *J. Key Eng. Mater.* 2008. V. 361. pp. 985-998.
6. Трубицын М.А., Габрук Н.Г., Надеждин С.В. и др. Исследование резорбируемости и биосовместимости модифицированных наногидроксиапатитов // Научно-практический рецензируемый журнал Нанотехнологии и Охрана Здоровья. Т. 5. № 3 (16). 2013. С. 44-48.
7. Hing K.A., Best S.M., Tanner K.A. et al. Quantification of bone ingrowth within bone derived porous hydroxyapatite implants of varying density // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 1999. V. 10, No 10/11. pp. 663-670.



8. Патент 2500840 RU. Способ получения нанокристаллического кремнийзамещенного гидроксиапатита // Трубицын М.А. и др.- дата приоритета 16.06.2012, опублик. 10-12-2013.

9. Патент 2342319 RU. Способ получения наноразмерного гидроксилапатита // Колобов Ю.Р. и др.- дата приоритета 06.07.07, опублик. 27.12.08.

10. Петров К. Методы биохимии растительных продуктов. Изд. «Вища школа». Киев. 1978. 244 с.

11. Wang K., Zhou Ch. A review of protein adsorption on bioceramics // Interface Focus. 2012. V. 2. pp. 259-277.

12. Sanjaya K. S., Debasish S. Study of BSA protein adsorption/release on hydroxyapatite nanoparticles // Applied Surface Science. 2013. V. 286. pp. 99-103.

13. Kawasaki K., Kambara M., Matsumura H. et al. A comparison of the adsorption of saliva proteins and some typical proteins onto the surface of hydroxyapatite // Colloids Surf. B. Biointerfaces. 2003. V. 32. pp. 321.

14. Dasgupta S., Bandyopadhyay A., Bose S. Reverse micelle-mediated synthesis of calcium phosphate nanocarriers for controlled release of bovine serum albumin // Acta Biomater. 2009. V. 5. pp. 3112-3121.

15. Brandes N., Welzel P.B., Werner C. et al. Adsorption-induced conformational changes of proteins onto ceramic particles: differential scanning calorimetry and FTIR analysis // J. Colloid Interface Sci. 2006. V. 299. pp. 56-69.

16. Chen Y.L., Zhang X.F., Gong Y.D. et al. Conformational changes of fibrinogen adsorption onto hydroxyapatite and titanium oxide nanoparticles // J. Colloid Interface Sci. 1999. V. 214. pp. 38-45.

## References

1. Salarian M., Solati-Hashjin M., Shafiei S.S. Template-directed hydrothermal synthesis of dandelion-like hydroxyapatite in the presence of cetyltrimethylammoniumbromide and polyethyleneglycol, J. Ceram. Int, 2009, V. 35, pp. 2563-2569.

2. Chung R.J., Hsieh M.F., Panda R.N. et al. Hydroxyapatite layers deposited from aqueous solutions on hydrophilic silicon substrate, J. Surf. Coatings Technol, 2003, V. 165, pp. 194-200.

3. Lee J.H., Lee K.S., Chang J.S. et al. Biocompatibility of Si-substituted hydroxyapatite, J. Key Eng. Mater, 2004, V. 254, pp. 135-138.

4. Pietak A.M., Reid J.W., Stott M.J. et al. Silicon substitution in the calcium phosphate bioceramics, J. Biomater, 2007, V 28. pp. 4023-4032.

5. Best S.M., Zou S., Brooks R. et al. The osteogenic behaviour of silicon substituted hydroxyapatite, J. Key Eng. Mater, 2008, V 361, pp. 985-998.

6. Trubitsyn M.A., Gabruk N.G., Nadezhdin S.V. et al. Issledovanie rezorbiruemosti i biosovmestivosti modifitsirovannykh nanogidroksiapatitov [Study of biocompatibility and resorption of modified hydroxyapatites], Nauchno-prakticheskii retsenziruemyi zhurnal

Nanotekhnologii i Okhrana Zdorov'ya, 2013, V. 5, No 3 (16), pp. 44-48.

7. Hing K.A., Best S.M., Tanner K.A. et al. Quantification of bone ingrowth within bone derived porous hydroxyapatite implants of varying density, J. Mater. Sci. Mater. Med, 1999, V. 10, No 10/11, pp. 663-670.

8. Патент 2500840 RU. Способ получения нанокристаллического кремнийзамещенного гидроксиапатита [Method for producing nanocrystalline silicon-substituted hydroxyapatite], Трубицын М.А. и др., дата приоритета 16.06.2012, опублик. 10-12-2013.

9. Патент 2342319 RU. Способ получения наноразмерного гидроксилапатита [Method for producing nano-sized hydroxyapatite], Колобов Ю.Р. и др., дата приоритета 06.07.07, опублик. 27.12.08.

10. Петров К. Методы биохимии растительных продуктов [Methods in Plant Biochemistry], Изд. «Вища школа», Киев, 1978, 244 с.

11. Wang K., Zhou Ch. A review of protein adsorption on bioceramics, Interface Focus, 2012, V. 2, pp. 259-277.

12. Sanjaya K.S., Debasish S. Study of BSA protein adsorption/release on hydroxyapatite nanoparticles, Applied Surface Science, 2013, V. 286, pp. 99-103.

13. Kawasaki K., Kambara M., Matsumura H. et al. A comparison of the adsorption of saliva

proteins and some typical proteins onto the surface of hydroxyapatite, *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, 2003, V. 32, pp. 321.

14. Dasgupta S., Bandyopadhyay A., Bose S. Reverse micelle-mediated synthesis of calcium phosphate nanocarriers for controlled release of bovine serum albumin, *Acta Biomater.*, 2009, V. 5, pp. 3112-3121.

15. Brandes N., Welzel P. B., Werner C. et al. Adsorption-induced conformational changes

of proteins onto ceramic particles: differential scanning calorimetry and FTIR analysis, *J. Colloid Interface Sci.*, 2006, V. 299, pp. 56-69.

16. Chen Y.L., Zhang X.F., Gong Y.D. et al. Conformational changes of fibrinogen adsorption onto hydroxyapatite and titanium oxide nanoparticles, *J. Colloid Interface Sci.*, 1999, V. 214, pp. 38-45.

**Ле Ван Тхуан** – аспирант биолого-химического факультета, Белгородский государственный национальный исследовательский университет НИУ «БелГУ», Белгород

**Трубицын Михаил Александрович** – к.т.н., доцент кафедры общей химии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет НИУ «БелГУ», Белгород

**Габрук Наталья Георгиевна** – к.б.н., доцент кафедры общей химии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет НИУ «БелГУ», Белгород

**Доан Ван Дат** – аспирант биолого-химического факультета, Белгородский государственный национальный исследовательский университет НИУ «БелГУ», Белгород

**Олейникова Ирина Ивановна** – к.б.н., доцент кафедры общей химии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет НИУ «БелГУ», Белгород

**Гудкова Елена Анатольевна** – к.х.н., старший преподаватель кафедры общей химии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет НИУ «БелГУ», Белгород

**Нгуен Фук Као** – студент биолого-химического факультета, Белгородский государственный национальный исследовательский университет НИУ «БелГУ», Белгород

**Фам Тхи Тхуан** – учитель по химии, Высшая школа имени Хуинь Тхук Ханг, Куанг Гнай, Вьетнам

**Le Van Thuan** – the postgraduate student of biology-chemical faculty, Belgorod National Research University, Belgorod, email: [thuansphoa27@mail.ru](mailto:thuansphoa27@mail.ru)

**Troubitsin Mixail A.** - Cand. Sci., (Technology), associate professor, Department of General Chemistry, Belgorod National Research University, Belgorod

**Gabruk Natalia G.** - Cand. Sci., (biology), associate professor, Department of General Chemistry, Belgorod National Research University, Belgorod

**Doan Van Dat** – the postgraduate student of biology-chemical faculty, Belgorod National Research University, Belgorod, e-mail: [datbelgo@mail.ru](mailto:datbelgo@mail.ru)

**Oleinikova Irina I.** - Cand. Sci., (biology), associate professor, Department of General Chemistry, Belgorod National Research University, Belgorod

**Gudkova Elena A.** - Cand. Sci., (Chemistry), senior lecturer, Department of General Chemistry, Belgorod National Research University, Belgorod

**Nguyen Phuc Cao** – the student of biology-chemical faculty, Belgorod National Research University, Belgorod

**Pham Thi Thuan** - Teacher of Chemistry, Huynh Thuc Khang High School, Quang Ngai, Vietnam