

EDN: UFZATO

УДК 546.05, 543.4, 548.3

## Phase Composition and Morphological Characteristics of Biomimetic Composites Carbonate Hydroxyapatite-Hyaluronic Acid

Svetlana A. Gerk\*,  
Olga A. Golovanova and Anastasia I. Krivoshchekova  
*Dostoevsky Omsk State University  
Omsk, Russian Federation*

Received 30.06.2023, received in revised form 25.01.2024, accepted 14.02.2024

**Abstract.** The effects of high-molecular hyaluronic acid on the phase composition, crystal lattice parameters, and the sizes of the regions of coherent dispersion, depending on its content in the synthesis solution, have been studied. All composites are represented by poorly crystallized carbonate hydroxyapatite. With an increase in the viscosity of the medium, the broadening of the parameter  $a$  of the hydroxyapatite crystal lattice decreases and the most crystallized precipitates are formed, the average size of the crystallites is  $\sim 15$  nm, the specific surface area of the samples does not change (105–130 m<sup>2</sup>/g).

**Keywords:** synthetic hydroxyapatite, hyaluronic acid, composites, bone tissue, biocompatibility, crystallinity, specific surface area.

**Acknowledgment.** This work was financially supported by the Russian Science Foundation within the framework of scientific project no. 23–23–00668.

Citation: Gerk S. A., Golovanova O. A., Krivoshchekova A. I. Phase composition and morphological characteristics of biomimetic composites carbonate hydroxyapatite-hyaluronic acid. *J. Sib. Fed. Univ. Chem.*, 2024, 17(1), 48–58. EDN: UFZATO



# Фазовый состав и морфологические характеристики биомиметических композитов карбонатгидроксиапатит-гиалуроновая кислота

С. А. Герк, О. А. Голованова, А. И. Кривошекова  
Омский государственный университет им. Ф. М. Достоевского  
Российская Федерация, Омск

**Аннотация.** Проведен синтез кальций-фосфатных композитов из прототипов синовиальной жидкости при варьировании концентрации высокомолекулярной гиалуроновой кислоты в модельном растворе. Установлено, что все композиты представлены плохо окристаллизованным карбонатгидроксиапатитом и содержат от 35 до 40 масс.% полисахарида. Выявлено, что с увеличением вязкости среды уменьшается параметр  $a$  кристаллической решетки гидроксиапатита и образуются наиболее окристаллизованные осадки, средний размер кристаллитов составляет  $\sim 15$  нм, удельная поверхность образцов не изменяется и составляет  $105\text{--}130$  м<sup>2</sup>/г, чешуйчатые агрегаты приобретают овальную форму. Исследована растворимость композитов в ацетатном буферном растворе и в 0,9 % растворе хлорида натрия. С увеличением содержания гиалуроновой кислоты в модельном растворе уменьшается резорбируемость полученных композитов.

**Ключевые слова:** синтетический гидроксиапатит, гиалуроновая кислота, композиты, костная ткань, биосовместимость, кристалличность, удельная поверхность, резорбируемость.

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта № 23–23–00668.

Цитирование: Герк С. А., Голованова О. А., Кривошекова А. И. Фазовый состав и морфологические характеристики биомиметических композитов карбонатгидроксиапатит-гиалуроновая кислота. Журн. Сиб. федер. ун-та. Химия, 2024, 17(1). С. 48–58. EDN: UFZATO

## Введение

Среди материалов нового поколения для костной пластики перспективными являются биокompозиты на основе гидроксиапатита (ГА) и полимеров природного и синтетического происхождения. Использование подобных биоматериалов имеет ряд преимуществ: неорганическая компонента обеспечивает необходимый уровень биосовместимости, а полимерная матрица выполняет роль каркаса и обеспечивет формируемость и прочность ГА [1]. Микрорельеф поверхности такого биокompозита напрямую зависит от структурной организации полимерной матрицы [2, 3]. Биоактивными природными полимерами считаются те, которые входят в состав внеклеточного матрикса тканей человека: коллаген, гиалуроновая кислота и другие [4]. Основным недостатком таких биополимеров являются их высокие показатели деградации *in vivo* [2]. Функциональным компонентом в составе композитов в плане контролируемой биорезорбции служит гиалуроновая кислота (ГК, гиалуронан ( $C_{14}H_{21}NO_{11}$ )<sub>n</sub>), так как ее растворы обладают

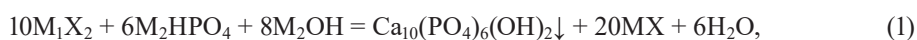
особыми реологическими свойствами [5, 6]. ГК является структурообразующим линейным анионным гликозаминогликаном, молекулы которого за счет карбоксильных, гидроксильных, ацетоамидных групп и водородных связей концентрируют вокруг себя молекулы воды, белки и компоненты межклеточного вещества, связывая их в единую упорядоченную систему [5–8]. В связи с чем детальное исследование процессов кристаллизации ГА в вязко-упругих растворах ГК позволит получить новые остеокондуктивные композиции с желаемой биодеградацией для костной имплантологии.

Цель работы: синтез композитов на основе карбонатгидроксиапатита и высокомолекулярной гиалуроновой кислоты из модельных растворов суставной синовиальной жидкости человека и изучение их структурно-морфологических и резорбционных свойств.

### Экспериментальная часть

#### *Синтез композитов*

Композитный материал получен путем осаждения из модельной среды [9], близкой по электролитному **составу к** синовиальной жидкости (синовии) здорового взрослого среднестатистического человека. Эксперименты проведены при пятидесятикратном пересыщении по осадкообразующим ионам  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  относительно физиологического значения для синовии. Для синтезов использовали соли марки «ч.д.а.»:  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ; гиалуронат натрия (высокомолекулярный, молекулярная масса  $2,0 \cdot 10^6$  Да, Германия). Раствор высокомолекулярной гиалуроновой кислоты (ВГК) готовили путем растворения ее натриевой соли в дистиллированной воде, температура которой составляла 40–50 °С. Выдерживали раствор ВГК для набухания макромолекул полисахарида в течение 24 часов. В раствор с катионами при постоянном перемешивании со скоростью 5 мл/мин вводили раствор, содержащий анионы и ВГК разной концентрации, масс. %: 0 (образец ГА – 1); 0,05; 1; 1,5; 2 (образцы; ГА – ВГК – 2, 3, 4, 5). Кислотность модельной системы корректировали до физиологического значения  $\text{pH} = 7,4$ . Взаимодействие реагентов происходило по реакции (1):



где  $\text{M}_1 = \text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ;  $\text{M}_2 = \text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ;  $\text{X} = \text{Cl}^-$ .

Время кристаллизации осадков составляло 7 суток. Полученные твердые фазы отделяли от раствора фильтрованием, промывали водой, сушили при 80 °С до постоянной массы для полного удаления химически не связанной воды, затем взвешивали. Осадки и надосадочную жидкость исследовали с помощью группы химических и физико-химических методов.

#### *Методы и методики*

Дифрактограммы порошков получены на приборе *D 8 Advance, Bruker* с детектором Lynxeye при следующих условиях: *Cu-ka* излучение, область и шаг сканирования  $2\theta - 5-80^\circ$  и  $0,05^\circ$ , напряжение и ток накала – 40 кВ и 40 мА, время накопления сигнала – 4 с на точку. Для идентификации фаз использовали базу данных ICDD PDF для порошковой дифракции. Для образцов определены: кристаллохимические параметры для гексагональной сингонии ГА (метод наименьших квадратов – метод ЛеБэйля, *TOPAS 4.2., Bruker*); минимальные размеры кристаллитов (области когерентного рассеяния – *ОКР* или *D*, по рефлексу [002], формула Дебая-Шеррера [9]).

ИК-спектры поглощения образцов в виде таблеток с КВг (1:5) регистрировали на спектрометре *ФСМ-2202 (Инфраспек, Россия)* в диапазоне частот 400–4000 см<sup>-1</sup> с шагом сканирования 1 см<sup>-1</sup>.

Содержание ВГК в составе композитов определяли по разнице начальной и остаточной концентраций полисахарида в модельном растворе спектрофотометрическим методом по реакции карбазола с продуктом окисления D-глюкуроновой кислоты (спектрофотометр *ПЭ-5400УФ*,  $\lambda = 530 \pm 2$  нм; толщина кюветы 10 мм).

Изучение морфологии композитов проведено с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с детектором вторичных электронов при ускоряющем напряжении 10 кВ (*JSM-6610LV, «JEOL», Япония*).

Удельная поверхность образцов ( $S_{уд.}$ , м<sup>2</sup>/г) исследована на анализаторе *Сорбтометр (ООО Катакон, Россия)* по методике одноточечной адсорбции азота при 77,4 К (метод БЭТ). Диапазон измерения удельной поверхности составлял от 0,5 до 999 м<sup>2</sup>/г. Перед адсорбционными измерениями образцы тренировали 120 мин при 80 °С в токе азота.

Изучение резорбируемости порошков проведено путем динамического растворения образцов «статическим» методом при постоянном перемешивании в растворе 0,9 %-ного хлорида натрия (рН  $\approx$  7) и ацетатном буфере (рН = 5,5). Соотношение твердая фаза/жидкость составляло 0,1 г/100 мл. С помощью прямой потенциометрии фиксировали значение рСа в растворе.

## Результаты и их обсуждение

### *Фазовый состав композитов*

Рентгеновские исследования показали, что присутствие полисахарида в модельном растворе не влияет на фазовый состав образцов. Все образцы представлены ГА разной степени кристалличности (рис. 1). По сравнению с порошком чистого ГА-1 композиты ГА-ВГК-2–5 менее окристаллизованы. Однако среди порошков, содержащих ВГК, наибольшая степень кристалличности характерна для порошка ГА-ВГК-5, синтезированного из наиболее концентрированного раствора полисахарида. На его рентгенограммах заметно улучшается интенсивность и разрешенность пиков, появляются новые рефлексы (28, 33 и 46 2 $\theta$ ) с индексами отражений от ГА (020), (300) и (222).

Выявлено, что кристаллохимические параметры всех образцов отличаются от параметров стехиометричного ГА (табл. 1). Отмечается увеличение параметра  $a$  элементарной ячейки апатита композитов при незначительном изменении величины  $c$ , как следствие, уменьшение ее объема. Высокие значения параметра  $a$  по сравнению со стехиометричным ГА объясняются присутствием воды в пустотах структуры ГА (решеточная вода). Такие же параметры элементарной ячейки описаны в работе [10] для нестехиометричных водородсодержащих биологических апатитов (табл. 1, образец 7). По мнению авторов [11], в этом случае позиции ОН<sup>-</sup> в кристаллической решетке апатита занимают молекулы воды. Параметр  $a$  увеличивается из-за большей длины связи О-Н в Н<sub>2</sub>О по сравнению с расстоянием между ядрами атомов кислорода и водорода в гидроксид-ионе. С увеличением вязкости среды параметр  $a$  ГА уменьшается, очевидно, из-за того, что вода связывается межмолекулярными силами и водородными связями с полисахаридом. Так, минимальное значение параметра  $a$  имеет наиболее окристаллизованный композит ГА-ВКГ-5. Композит ГА-ВГК-4, полученный из раствора, содержащий

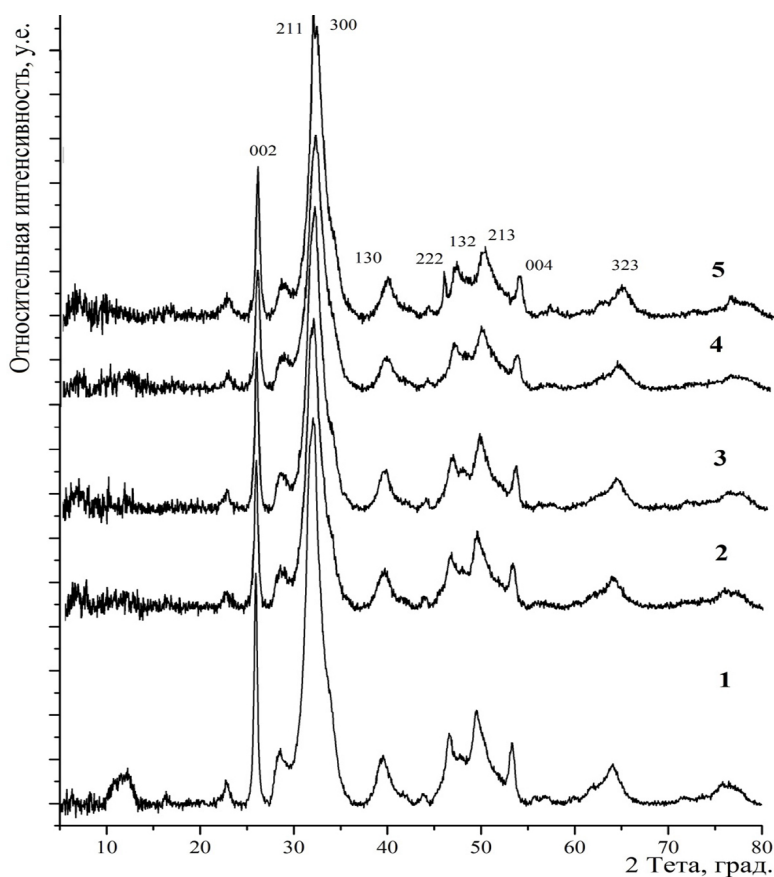


Рис. 1. Дифрактограммы образцов: ГА (1) и композитов, синтезированных в присутствии ВГК, масс. %: 0,05 (2); 0,1 (3); 0,15 (4) и 0,2 (5)

Fig. 1. Diffractograms of samples: HA (1) and composites synthesized in the presence of high molecular weight hyaluronic acid, wt. %: 0,05 (2); 0,1 (3); 0,15 (4) and 0.2 (5)

0,15 масс.% ВГК, наиболее близок по кристаллохимическим параметрам к нестехиометрическим карбонатсодержащим кальцийдефицитным гидроксипатитам, в том числе составляющих минеральную основу костной ткани человека [10].

Размеры ОКР всех образцов, вычисленные по формуле Дебая–Шеррера по рефлексу (002), сравнимы с величиной кристаллитов апатита костной ткани (табл. 1). Наибольшее ингибирование роста кристаллов отмечается при содержании полисахарида в модельном растворе 0,15 масс.% (ГА-ВГК-4). В более вязком растворе образуются более крупные кристаллы (ГА-ВГК-5), но сравнимые с размерами чистого ГА. Получение композитов с более крупными частицами позволит пролонгировать их резорбцию в организме. Подобное влияние ВГК на кристаллизацию обусловлено реологическими свойствами растворов полисахарида. В организме человека молекулы ВГК, благодаря наличию гидрофобных и гидрофильных участков, имеют пространственную структуру в виде двойных спиралей. В сильно вязких растворах цепи за счет межмолекулярных взаимодействий образуют трехмерную сетку «полужесткую катушку», которая выполняет роль молекулярного «сита». Сети захватывают значительное количество воды, вместе с которой через каналы диффундируют ионы

Таблица 1. Кристаллографические параметры решетки, размеры кристаллитов ГА и площадь удельной поверхности композитов

Table 1. Crystallographic lattice parameters, crystallite sizes HA and specific surface area of composites

№	Образец*	a, Å	c, Å	c/a	V, Å	D, нм	S <sub>уд.</sub> , м <sup>2</sup> /г
1	ГА	9.459±0.002	6.874±0.002	0,726	532,6	22,09	130±7
2	ГА-ВГК-0,05	9.455±0.002	6.870±0.002	0,727	531,9	18,12	125±6
3	ГА-ВГК-0,1	9.475±0.002	6.871±0.002	0,725	534,2	18,12	110±6
4	ГА-ВГК-0,15	9.446±0.002	6.869±0.002	0,727	530,8	13,72	110±6
5	ГА-ВГК-0,2	9.433±0.002	6.861±0.002	0,727	528,7	15,62	116±6
6	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub> , JCPDS № 9–432	9,418	6,884	0,731	530,7	-	-
7	Ca <sub>9</sub> HPO <sub>4</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>5</sub> OH, JCPDS № 46–0905	9,441	6,881	0,729	531,2	-	-
8	ГА костной ткани человека [9]	9,410	6,891	0,732	528,4	5–20	-

\* ГА-ВГК – содержание полисахарида в модельном растворе, масс.%

электролитов и органические вещества [6, 7]. Можно предположить, что при концентрации ВГК в модельном растворе до 0,15 масс.% наличие таких мало вращающихся сетей понижает вязкость раствора и крупные молекулы полисахарида окружают неорганические кристаллы, тем самым замедляют их рост. Дальнейшее увеличение содержания полисахарида, возможно, приводит к тому, что заряженные центры ГК растворяют аморфные кластеры фосфатов кальция и рост кристаллов ГА происходит путем адсорбции неорганических ионов из пересыщенного раствора на сформированном слое ГА-ВГК. Вследствие чего происходит формирование твердой фазы с большей степенью кристалличности, представленной более крупными кристаллитами.

С помощью ИК-спектроскопии исследован групповой состав минеральной и органической составляющих композитов (рис. 2). На ИК-спектрах присутствуют следующие полосы поглощения колебаний связей неорганических групп ГА, см<sup>-1</sup> [9]: PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> – 470–475 и 564–610 – деформационные δ(O–P–O); 630–632 – валентные ν(OH); 1032–1037 – асимметричные валентные ν<sub>3</sub><sup>as</sup>(P–O); CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> – 870–873 – деформационные δ(O–C–O) Б-типа; 1420–1460 – асимметричные валентные ν<sub>3</sub><sup>as</sup>(C–O) Б-типа; 1545 – асимметричные валентные ν<sup>as</sup>(C–O) А-типа; 3570–3575 – деформационные δ(OH). Моды колебаний 1622–1650 см<sup>-1</sup> принадлежат деформационным колебаниям связей δ(H–O–H) в адсорбированной H<sub>2</sub>O, а 3420–3500 – валентным колебаниям ν(OH) структурно связанных молекул воды. На присутствие в составе молекул ГК указывают полосы колебаний органических группировок, см<sup>-1</sup>: 1032–1037 – валентные ν(C–O) пиранового цикла; 1422–1440 – симметричные валентные ν<sup>s</sup>(COO<sup>-</sup>); 1460 – деформационные метильных δ(CH) и метиленовых групп δ(CH<sub>2</sub>); 1507–1543 – деформационные δ(NH) и δ(COO<sup>-</sup>), валентные ν(C–N) амид II; 1615–1675 – асимметричные валентные ν<sup>as</sup>(C=O) амид I; 1715–1798 – асимметричные валентные ν<sup>as</sup>(C=O) сложноэфирных групп; 2800–3600 – валентные ν(C–H).

Установлено, что образец ГА-1, полученный из среды, не содержащей полисахарид, представлен карбонатапатитом АБ-типа. Анализ максимумов поглощения группировок композитов ГА-ВГК в широком диапазоне частот 900–4000 см<sup>-1</sup> затруднен из-за наложения полос поглощения связей минеральных и органических составляющих. Однако на ИК-спектрах

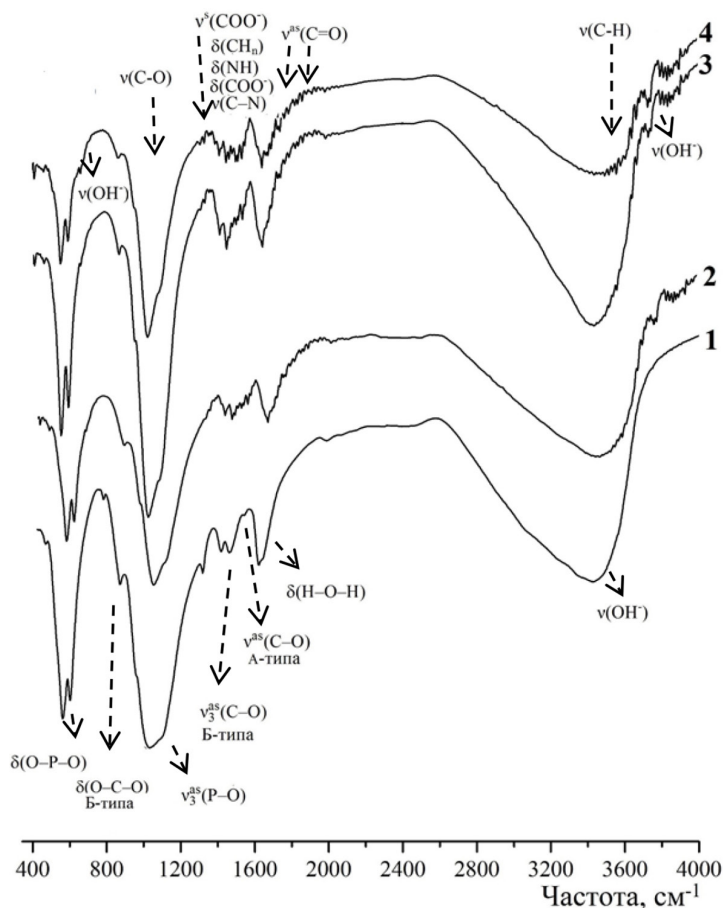


Рис. 2. ИК-спектры образцов: ГА (1) и композитов, синтезированных в присутствии ВГК, масс. %: 0,05 (2); 0,15 (3) и 0,2 (4); (внизу на спектре – колебания связей неорганических групп; вверху – органических групп)

Fig. 2. IR-spectra of samples: HA (1) and composites synthesized in the presence of high molecular weight hyaluronic acid, wt. %: 0,05 (2); 0,15 (3) and 0,2 (4); (at the bottom of the spectrum – fluctuations in the bonds of inorganic groups; at the top – organic groups)

образцов, содержащих ВГК, в интервале частот 400–900  $\text{см}^{-1}$ , где отсутствует такое наложение мод, можно отметить уменьшение интенсивности дублета полосы поглощения связей  $\delta(\text{O-P-O})$  в  $\text{PO}_4^{3-}$ –564–610  $\text{см}^{-1}$ , косвенно характеризующего наличие фосфат-ионов в составе твердой фазы. Присутствие карбонат-ионов в составе порошков ГА-ВГК подтверждается наличием моды колебаний связей  $\text{O-C-O}$  870–873  $\text{см}^{-1}$ . На ИК-спектрах композитов КГА-ВГК присутствуют полосы поглощения связей органических групп (в частности, в интервале 3400–4000  $\text{см}^{-1}$ ), что свидетельствует о содержании полисахарида в составе твердой фазы. Анализ остаточных концентраций полисахарида в растворе синтеза показал, что в составе композитов ГА-ВГК присутствует 35–40 масс. % полимера. Кроме того, на спектрах композитов появляется мода колебаний  $\text{OH}$ – групп (630–632 и 3570–3575  $\text{см}^{-1}$ ), что доказывает их наличие в структуре ГА и подтверждает формирование наиболее окристаллизованных композитов (образец № 5).



*Морфология и поверхность*

Исследование морфологии образцов проведено методами БЭТ и сканирующей электронной микроскопии. Композиты на основе ВГК в целом обладают развитой поверхностью. Присутствие полисахарида в модельной среде приводит к формированию образцов, площади удельной поверхности которых меньше на 5–14 м<sup>2</sup>/г величины для чистого ГА (табл. 1). Несмотря на снижение скорости диффузионных процессов в вязкой среде, на отрицательной поверхности полисахарида активно концентрируются из раствора катионы Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup> и Ca<sup>2+</sup>. На микрофотографиях образцов видно, что частицы чистого ГА имеют чешуйкоподобную форму и образуют агрегаты размером до 200 мкм (рис. 3а). С увеличением содержания ВГК в модельном растворе частицы приобретают округлую форму (рис. 3б, в). Образцы, синтезированные в среде ВГК (<0,15 масс.%), находятся в аморфном состоянии. Образование аморфных частиц в составе композитов на основе гиалуроновой кислоты подробно описаны в работах [12]. Показано, что аморфная часть твердых фаз представляет собой округлые частицы в виде кальций-фосфатных кластеров (промежуточная стадия образования ГА). Агрегаты композитов, полученных в среде ВГК (≥ 0,15 масс.%), имеют также овальную форму, но на их поверхности видны оформленные кристаллы в виде тонких пластинок.

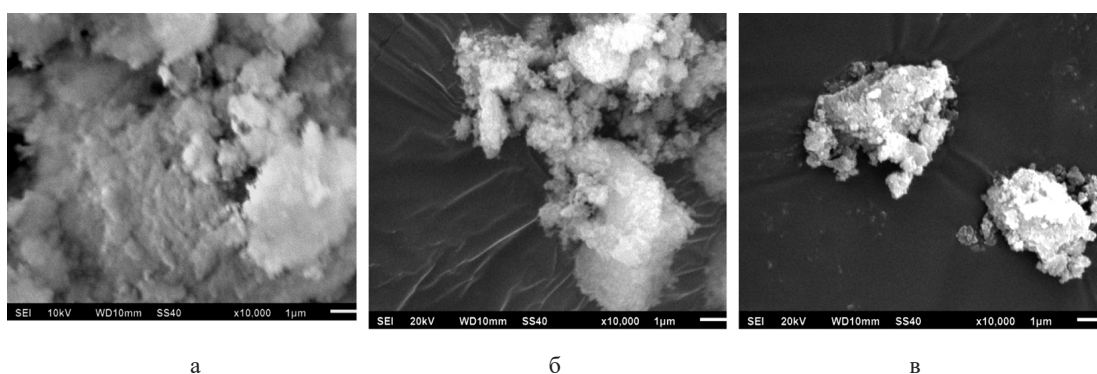


Рис. 3. СЭМ-изображения ГА, полученного без ВГК (а) и в ее присутствии, масс. %: 1,5 (б), 2 (в)

Fig. 3. SEM of samples: HA (a) and composites synthesized in the presence of high molecular weight hyaluronic acid, wt. %: 0,15 (б) and 0,2 (в)

Таким образом, в процессе синтеза композитов происходит адсорбция молекул полисахарида на поверхности, формирующихся в растворах нанокристаллов ГА, что препятствует их росту и агрегации. В наиболее вязких средах возможны процессы вторичной кристаллизации минеральной компоненты на сформированном слое ГА-ВГК.

*Резорбируемость*

Известно, что в организме человека первоначально протекает быстрая «активная» фаза резорбции биоматериала в слабокислой среде, далее в процессе формирования нативных кристаллов костной ткани происходит медленное его растворение при физиологическом значении межклеточных жидкостей (pH ≈ 7,4; «пассивная фаза») [13]. Для изучения биорезорбируемости композитов проведено их растворение в ацетатном буферном растворе и в изотоническом растворе 0,9 %-ного NaCl (рис. 4).



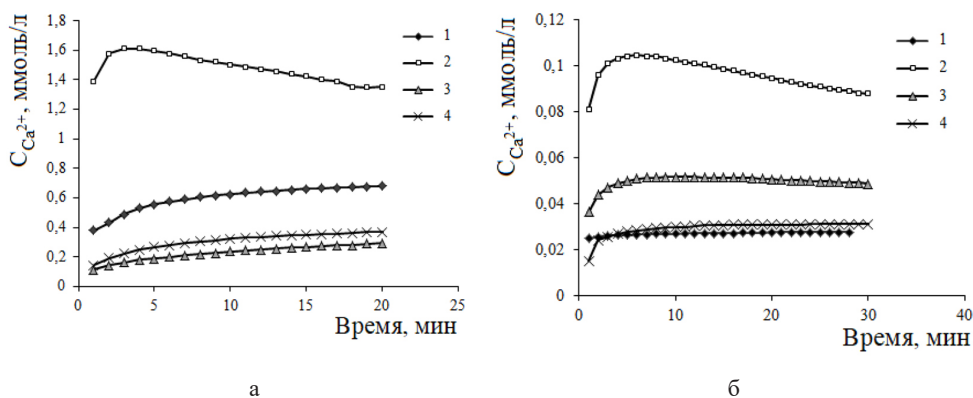


Рис. 4. Зависимости концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  от времени растворения в ацетатном буфере (а) и 0,9 % NaCl (б) для образцов: ГА (1) и композитов, синтезированных в присутствии ВГК, масс. %: 0,05 (2); 0,15 (3) и 0,2 (4)

Fig. 4. Dependences of the concentration of  $\text{Ca}^{2+}$  ions on the time of dissolution in acetate buffer (a) and 0.9 % NaCl (b) for samples: HA (1) and composites synthesized in the presence of high molecular weight hyaluronic acid, wt.%: 0,05 (2); 0,15 (3) and 0.2 (4)

Показано, что в слабокислых условиях менее растворимы композиты ГА-ВГК-4–5 по сравнению с фазой ГА, очевидно, из-за того, что они являются наиболее окристаллизованными или/и полисахарид более прочно связан с минеральной компонентой. На этапе «пассивной» резорбции эти образцы также устойчивы. В отличие от чистого порошка ГА резорбируемость композитов, полученных при содержании в модельном растворе полисахарида менее 0,15 масс.%, содержащих менее кристаллический апатит и мало упорядоченную систему полисахарид-вода, возрастает в пять раз.

### Выводы

В работе синтезированы кальций-фосфатные композиты из модельного раствора синовиальной жидкости в присутствии высокомолекулярной гиалуроновой кислоты. Все порошки однофазны и представлены плохо окристаллизованным карбонатгидроксиапатитом. Установлено, что кристаллографические параметры ГА порошков близки к параметрам нестехиометричных водородсодержащих кальцийдефицитных апатитов. С увеличением вязкости среды уменьшается параметр  $a$  кристаллической решетки ГА и происходит формирование наиболее окристаллизованных композитов. Полученные порошки содержат от 35 до 40 масс.% полисахарида.

Выявлено, что реологические свойства растворов гиалуроновой кислоты практически не оказывают влияния на удельную поверхность композитов, она равна 105–130 м<sup>2</sup>/г. Средний размер их кристаллитов составляет ~ 15 нм.

Показано, что форма частиц синтезированных порошков и их резорбируемость зависят от содержания полисахарида в исходном модельном растворе. В менее вязких средах (<0,15 масс.% полисахарида) образуются чешуйчатые аморфизированные агрегаты, наиболее растворимые в ацетатном буферном растворе и в изотоническом растворе хлорида натрия по сравнению с чистой фазой ГА. Частицы композитов, полученных из сред, содержащих  $\geq 0,15$  масс.%

гиалуроновой кислоты, имеют овальную форму, на их поверхности происходит рост новых пластинчатых кристаллов. Такие порошки менее растворимы в физиологических условиях.

Композиты ГА-ВГК перспективны для пролонгирования «активной» и «пассивной» фаз резорбции имплантата в организме человека и как остеокондуктивный матрикс для формирования и роста на его поверхности костной ткани.

### Список литературы / References

[1] Venugopal J., Prabhakaran M.P., Low S., Choon A.T., Ramakrishna S. Biomimetic hydroxyapatite – containing composite nanofibrous substrates for bone tissue engineering. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Science* 2010. Vol. 368(1917), P. 2065–2081.

[2] Мухаметов У.Ф., Люлин С.В., Борзунов Д.Ю., Гареев И.Ф., Бейлерли О.А., Yang Guang. Аллопластические и имплантационные материалы для костной пластики: обзор литературы. *Креативная хирургия и онкология* 2021. Т. 11(4), С. 343–353. [Mukhametov U.F., Lyulin S.V., Borzunov D. Yu., Gareev I.F., Beylerli O. A., YangGuang. Alloplastic and implantation materials for bone grafting: literature review. *Creative surgery and Oncology* 2021. Vol. 11(4), P. 343–353. (In Russ.)]

[3] Кирилова И.А., Садовой М.А., Подорожная В.Т. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства. *Химия позвоночника* 2012. 3, С. 72–83. [Kirillova I. A., Sadovoy M. A., Podorozhnaya V. T. Comparative characteristics of materials for bone grafting: composition and properties. *Chemistry of the spine* 2012. 3, P. 72–83. (In Russ.)]

[4] Zhao R., Yang R., Cooper P.R., Khurshid Z., Shavandi A., Ratnayake J. Bone grafts and substitutes in dentistry: a review of current trends and developments. *Molecules* 2021. Vol. 26(3007), P. 2–26.

[5] Petta D., Fussell G., Hughes L., Buechter D.D., Sprecher C.M., Alimi M., Eglin D., D'Este M. Calcium phosphate/thermoresponsive hyaluronan hydrogel composite delivering hydrophilic and hydrophobic drugs. *Journal of Orthopaedic Translation* 2016. 5, P. 57–68.

Cui X., Huang C., Chen Zh., Zhang M., Liu Ch., Su K., Wang Li., Li L., Wang R., Li B., Chen D., Ruan Ch., Wang D., Lu W.W., Pan H. Hyaluronic acid facilitates bone repair effects of calcium phosphate cement by accelerating osteogenic expression. *Bioactive Materials* 2021. Vol. 6(11), P. 3801–3811.

Zhai P., Peng X., Li B., Liu Yi., Sun H., Li X. The application of hyaluronic acid in bone regeneration *International Journal of Biological Macromolecules* 2020. Vol. 151, P. 1224–1239.

[6] Xu H.H.K. Wang P., Wang L., Bao C.Y., Chen Q.M., Weir M.D., Chow L.C., Zhao L., Zhou X.D., Reynolds M.A. Calcium phosphate cements for bone engineering and their biological properties. *Bone Research* 2017. Vol. 5 (17059), P. 1–19.

[7] Golovanova O.A., Gerk S.A. Structural and morphological characteristics and dissolution behavior of carbonate hydroxyapatite prepared in the presence of proline. *Inorganic Materials* 2020. Т. 56(5), P. 543–551.

[8] Николаев А.М. *Изоморфизм, условия образования и свойства биогенного апатита и ассоциирующих с ним фосфатов*. Дис. ... канд. геол. наук. СПб.: СПГУ, 2017. 141 с. [Nikolaev A.M. *Isomorphism, conditions of formation and properties of biogenic apatite and*

*associated phosphates*. Dis. ... Candidate of Geological Sciences. St. Petersburg: St. Petersburg State University, 2017. 141 p. (In Russ.)]

[9] Vignoles M., Bonel G., Holcomb D. W., Young R. A. Influence of preparation conditions on the composition of type B carbonated hydroxyapatite and on the localization of the carbonate ions. *Calcified Tissue International* 1988. Vol. 43, P. 33–40.

[10] Калмыкова Т.П., Северин А. В., Иванов П. Л., Костина Ю. В. Гиалуронозная кислота как активная среда синтеза гидроксиапатита. *Успехи в химии и технологии* 2016. Т. 30(12), С. 49–51. [Kalmykova T. P., Severin A. V., Ivanov P. L., Kostina Yu. V. Hyaluronic acid as an active medium for the synthesis of hydroxyapatite. *Advances in Chemistry and Technology* 2016. Vol. 30(12), P. 49–51. (In Russ.)]

[11] Trubitsyn M. A., Hung H. V., Furda L. V., Hong N. T. T. Effect of molar ratios in the crystallochemical structure of biomimetic nanostructured hydroxyapatite on the characteristics of the product. *Russian Journal of Inorganic Chemistry* 2021. Vol. 66(5), С. 654–661.