

EDN: KKNCGR

УДК 546.05, 543.4, 548.3

Study of Resorption and Cytotoxicity of Composites Based on Carbonate Hydroxyapatite and High Molecular Weight Hyaluronic Acid *in Vitro*

Svetlana A. Gerk^{*a},
Yuliya A. Nashchekina^b and Olga A. Golovanova^a

^a*Dostoevsky Omsk State University
Omsk, Russian Federation*

^b*Institute of Cytology of the RAS
Saint Petersburg, Russian Federation*

Received 03.11.2024, received in revised form 17.01.2025, accepted 20.02.2025

Abstract. Carbonate hydroxyapatite composites were synthesized from model media with different contents of high-molecular hyaluronic acid. The dynamics of their dissolution in acetate buffer solution and 0,9 % sodium chloride solution was studied. It was shown that all powders are more soluble in weakly acidic conditions. Their resorption rate depends on the degree of apatite crystallinity and the polysaccharide content in the initial solution. The results of powder cytotoxicity tests on the FetMSC cell line using the MMT test are presented. It was found that the composites have an insignificant cytotoxic effect on cultured cells. Cell viability improves with a longer period of sample incubation. Composites dissolving at an average rate in physiological solutions exhibit a consistently positive effect on cells. The obtained composites are promising as non-toxic materials for accelerating implant bioresorption involving osteoclasts *in vivo*.

Keywords: hydroxyapatite, hyaluronic acid, composites, bone tissue, resorbability, cytotoxicity, MMT-test.

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

Citation: Gerk S. A., Nashchekina Yu. A., Golovanova O. A. Study of Resorption and Cytotoxicity of Composites Based on Carbonate Hydroxyapatite and High Molecular Weight Hyaluronic Acid *in Vitro*. J. Sib. Fed. Univ. Chem., 2025, 18(1), 64–73. EDN: KKNCGR



Исследование резорбируемости и цитотоксичности композитов на основе карбонатгидроксиапатита и высокомолекулярной гиалуроновой кислоты *in vitro*

С. А. Герк^{*а}, Ю. А. Нащекина^б, О. А. Голованова^а

^аОмский государственный университет им. Ф. М. Достоевского

Российская Федерация, Омск

^бИнститут цитологии РАН

Российская Федерация, Санкт-Петербург

Аннотация. Синтезированы композиты карбонатгидроксиапатита из модельных сред с различным содержанием высокомолекулярной гиалуроновой кислоты. Исследована динамика их растворения в ацетатном буферном растворе и в 0,9 %-ном растворе хлорида натрия. Показано, что все порошки более растворимы в слабокислых условиях. Скорость их резорбции зависит от степени кристалличности апатита и содержания полисахарида в исходном растворе. Представлены результаты испытаний цитотоксичности порошков на клеточной линии FetMSC с помощью ММТ-теста. Установлено, что композиты оказывают незначительный цитотоксический эффект на культивируемые клетки. Жизнеспособность клеток улучшается при более длительном периоде инкубирования проб. Стабильно положительный эффект к клеткам проявляют композиты, растворяющиеся со средней скоростью в физиологических растворах. Полученные композиты перспективны как нетоксичные материалы для ускорения биорезорбции имплантата, протекающей с участием остеокластов *in vivo*.

Ключевые слова: гидроксиапатит, гиалуроновая кислота, композиты, костная ткань, резорбируемость, цитотоксичность, ММТ-тест.

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

Цитирование: Герк С. А., Нащекина Ю. А., Голованова О. А. Исследование резорбируемости и цитотоксичности композитов на основе карбонатгидроксиапатита и высокомолекулярной гиалуроновой кислоты *in vitro*. Журн. Сиб. федер. ун-та. Химия, 2025, 18(1). С. 64–73. EDN: KKNCGR

Введение

Актуальным и развивающимся направлением современного материаловедения является создание композитных материалов нового поколения на основе синтетических фосфатов кальция и биоразлагаемых полимеров, используемых в качестве костнозамещающих имплантатов, субстратов для культивирования и дифференцировки клеток или в качестве носителей лекарственных средств. Основными требованиями, предъявляемыми к таким материалам, являются

отсутствие токсического воздействия на окружающие ткани [1] и способность растворяться в биологических жидкостях с образованием апатитоподобного слоя в области дефекта, т.е. постепенно замещаться формирующейся нативной костной тканью [2, 3]. Нестехиометрический гидроксиапатит (ГА) обладает подобными свойствами для фосфатов кальция. Известно, что именно модифицированный ГА является минеральной компонентой костной ткани человека и в отличие от стехиометрической фазы $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ обладает лучшей биоактивностью [3]. Однако это соединение обладает рядом недостатков, таких как недостаточная прочность и эластичность, а также высокая цитотоксичность [4]. Применение полимерной матрицы позволяет изменять характеристики неорганического наполнителя, следовательно, создавать их композиции с заданными остеоиндуктивными, остеокондуктивными и резорбционными свойствами. Среди многообразия биоразлагаемых природных полимеров, которые могут быть использованы в качестве органической матрицы (коллаген, хитин, желатин и т.д.), применяется несulfатированный гликозаминогликан – гиалуроновая кислота (ГК), благодаря биосовместимости и особым вязкоупругим свойствам. Как естественный компонент межклеточного матрикса полисахарид играет важнейшую роль в создании комфортной среды для адгезии, миграции и пролиферации клеток [5, 6]. Ионнообменная активность полисахарида, способность поддерживать гидробаланс, связывать катионы и концентрировать биологически активные вещества, создавать «буферный объем», определяют трофику и механические свойства различных тканей [1, 5]. Однако, помимо положительного влияния ГК на физиологические процессы, в ряде исследований существует мнение о возможном негативном воздействии гликозаминогликана на жизнеспособность клеток при применении ее в качестве матрицы композитов. Так, ГК с высокой молекулярной массой (>1000 кДа) в ряде случаев оказывает ингибирующее влияние на клеточные процессы [5, 7]. В связи с чем в настоящем исследовании представлены результаты доклинических испытаний биоактивности биоматериалов ГА-ГК в лабораторных условиях *in vitro*.

Цель работы: изучение резорбции и цитотоксичности композитов на основе карбонатгидроксиапатита и высокомолекулярной гиалуроновой кислоты, синтезированных из модельных растворов синовиальной жидкости человека.

Материалы и методы исследования

Композиты получены по модифицированной методике [8] путем осаждения из модельной среды, близкой по электролитному составу к синовиальной жидкости (синовии) человека в присутствии высокомолекулярной гиалуроновой кислоты (ВГК) в виде натриевой соли (молекулярная масса $2,0 \cdot 10^6$ Да, Германия) разной концентрации, концентрация полисахарида, масс. %: ГА-ВГК-1–0,1; ГА-ВГК-2–0,2; ГА-ВГК-3–0,6. Эксперименты проведены при пятидесятикратном пересыщении по ионам Ca^{2+} и HPO_4^{2-} и кислотности среды $\text{pH} = 7,4 \pm 0,05$. Время кристаллизации осадков составляло 7 суток. Полученные твердые фазы отделяли от раствора фильтрованием, промывали водой, сушили при 80°C до постоянной массы для полного удаления химически не связанной воды (вакуумный сушильный шкаф VAC-52), затем взвешивали.

Изучение фазового состава полученных порошков осуществлялось с помощью рентгенофазового анализа (РФА, дифрактометр D 8 Advance, Bruker с детектором Lynxeye) и ИК-спектроскопии (спектрометр ФСМ-2202).

Моделирование «пассивной» и «активной» фаз резорбции образцов осуществлялось путем динамического растворения образцов (масса навески 0,2000 г) при постоянном перемешивании в 100 мл раствора 0,9 %-ного хлорида натрия ($\text{pH} = 7,4 \pm 0,05$) и в ацетатном буфере ($\text{pH} = 5,5 \pm 0,05$). Фиксировали значение pCa в интервале времени до достижения в растворе насыщения и выхода кривой на плато (иономер И-160М). Полученные зависимости обрабатывали с помощью регрессионного анализа (программный пакет SigmaPlot 12.5) по методике, предложенной в работе [9].

Оценка цитотоксичности проведена с применением ММТ-теста. Предварительно порошковые композиты массой 1 г стерилизовались озоном в течение 90 мин. После стерилизации порошок ГА заливали полной питательной средой объемом 5 мл (DMEM/F12 (modified Eagle's medium; Gibco), содержащей 10 % (об/об) (Gibco) термический инактивированную фетальную бычью сыворотку (FBS; HyClone, США), 1 % L-глутамина, 50 Ед/мл пенициллина и 50 мкг/мл стрептомицина). Порошки ГА-ВГК с полной питательной средой хранили с инкубаторе при 37 °С в атмосфере CO_2 в течение 4 и 6 суток.

Для исследования цитотоксичности использовалась клеточная линия мезенхимных стволовых клеток человека FetMSC (Институт цитологии, г. Санкт-Петербург). Клетки культивировали в CO_2 -инкубаторе при 37 °С в увлажненной атмосфере, содержащей воздух и 5 % CO_2 в питательной среде DMEM/F12 (modified Eagle's medium; Gibco), содержащей 10 % (об/об) (Gibco) термическую инактивированную фетальную бычью сыворотку (FBS; HyClone, США), 1 % L-глутамина, 50 Ед/мл пенициллина и 50 мкг/мл стрептомицина.

Для эксперимента на $5,0 \times 10^3$ клеток/100мкл/лунку высевали в 96-луночных планшетах. Через одни сутки среду удаляли, в лунки добавляли инкубационную питательную среду и культивировали с порошками ГА в течение 1 и 3 суток. По окончании инкубационного периода убрали среду и вносили 50 мкл/лунку среды DMEM/F12 или MEM с МТТ (0,1 мг/мл). Клетки инкубировали в CO_2 -инкубаторе в течение 2 ч при 37 °С. После удаления надосадочной жидкости, образованные метаболически жизнеспособными клетками кристаллы формазана растворяли в диметилсульфоксиде (50 мкл/лунку) и переносили в чистые лунки, затем измеряли оптическую плотность при 570 нм на планшетном спектрофотометре. Для расчёта использовали анализ полиномиальной регрессии в программе Microsoft Excel.

Исследование морфологии клеточных культур проведено с помощью инвертированного микроскопа (Nicon, Германия).

Результаты и их обсуждение

С помощью РФА установлено, что все композиционные материалы однофазны и представлены плохо окристаллизованным ГА ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, JCPDS № 9–432). Видно, что из всех композитов лучшая кристалличность характерна для образца ГА-ВГК-2 (рис. 1а). На его дифрактограмме, в отличие от других порошков, присутствуют наиболее разрешенные рефлекссы отражений ГА (300) и (222) и (020) в интервалах 30–35 2θ и 45–50 2θ . На рентгенограмме порошка ГА-ВГК-3 пики узкие и менее интенсивные, возможно, из-за наличия гидратированной гелеобразной оболочки полисахарида на поверхности неорганических кристаллов. С помощью ИК-спектроскопии установлено, что синтезированы гидратированные образцы из карбонатсодержащих апатитов, содержащих полимерную матрицу полисахарида (рис. 1б). Ранее нами

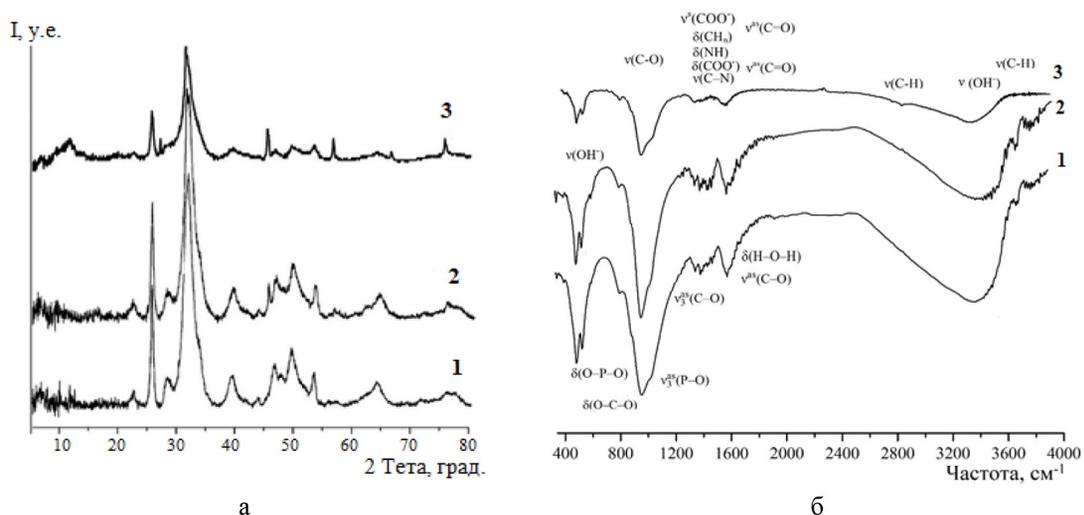


Рис. 1. Дифрактограммы (а) и ИК-спектры (б) композитов, содержание ВГК, масс.‰: 0,1 (1); 0,2 (2) и 0,6 (3)
 Fig. 1. Diffraction patterns (a) and IR spectra (б) of composites, hyaluronic acid content, wt.‰: 0,1 (1); 0,2 (2) and 0,6 (3)

в работе [10] было показано, в составе всех композитов присутствует 87–90 масс.‰ ГК от исходного его количества в модельной среде и в более вязких растворах происходит формирование фазы, кристаллохимические параметры которой близки к значению для стехиометрического ГА. Так, на ИК-спектре порошка ГА-ВГК-2 появляется мода колебаний ОН-групп ($630\text{--}632$ и $3570\text{--}3575\text{ см}^{-1}$), что указывает на наличие их в структуре ГА и подтверждает формирование наиболее окристаллизованных композитов.

Важной характеристикой имплантата для замещения костных дефектов является его резорбируемость *in vivo*. Известно, что первоначально протекает активная фаза резорбции биоматериала в слабокислой среде с участием остеокластов, далее в процессе его замещения на нативные кристаллы костной ткани остеобластами происходит растворение при физиологическом значении pH межклеточных жидкостей [3, 11]. В связи с этим проведено растворение композитов в ацетатном буфере (pH = 5,5) и в 0,9 %-ном растворе NaCl. Кинетические кривые обработаны с помощью регрессионного анализа (рис. 2). На начальном участке кривых зависимость концентрации ионов кальция в растворе от времени можно аппроксимировать линейной функцией, с течением времени скорость замедляется, и кинетика описывается экспоненциальной зависимостью.

Установлено, что более растворимы композиты ГА-ВГК в слабокислых условиях, соответствующих активной фазе резорбции *in vivo*. Положительный эффект на биодеградацию порошка оказывает гиалуроновая кислота. В работе [1] показано, что ГК концентрирует биологически активные вещества и способствует адгезии остеокластов к месту резорбции.

Результаты количественных расчетов кинетических параметров процесса растворения представлены в табл. 1. Выявлено, что в ацетатном буферном растворе наименее растворимым является композит ВГК-ГА-2 (табл. 1), содержащий наиболее окристаллизованный ГА. Образец ВГК-ГА-3 на начальном этапе резорбции растворяется с максимальной скоростью, что может

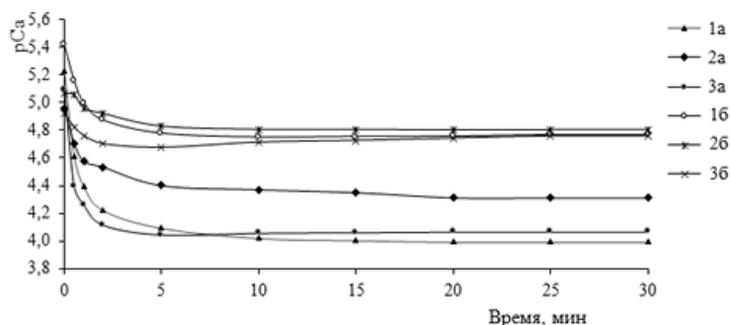


Рис. 2. Кинетические кривые растворения композитов в ацетатном буферном растворе (а) и в 0,9 %-ном растворе NaCl (б), содержание ВГК, масс.‰: 0,1 (1); 0,2 (2) и 0,6 (3)

Fig. 2. Kinetic curves of dissolution of composites in acetate buffer (a) and 0,9 % NaCl solution (b), content of hyaluronic acid, mass%: 0,1 (1); 0,2 (2) and 0,6 (3)

Таблица 1. Кинетические характеристики растворения композитов

Table 1. Kinetic characteristics of composite dissolution

№	Линейный участок				Экспоненциальный участок			
	t	Уравнение, $C(\text{Ca}^{2+})$, ммоль/л	R^2	u	t	Уравнение, $C(\text{Ca}^{2+})$, ммоль/л	R^2	u
Ацетатный буферный раствор								
1	0–5	$0,0093 + 0,0267 \cdot t$	0,9753	0,0267	6–30	$0,0806 + 0,0922 \cdot e^{4,3 \cdot 10^{-3} t}$	0,9082	0,0806
2	0–2	$0,0141 + 0,0088 \cdot t$	0,9083	0,0088	3–30	$0,0397 + 0,0392 \cdot e^{8,3 \cdot 10^{-3} t}$	0,9294	0,0397
3	0–2	$0,0164 + 0,0324 \cdot t$	0,9276	0,0324	3–30	$0,0900 + 0,0900 \cdot e^{0,9 \cdot 10^{-3} t}$	0,9025	0,0900
0,9 %-ный раствор NaCl								
1	0–2	$0,0044 + 0,0148 \cdot t$	0,9717	0,0048	3–30	$0,0167 + 0,0182 \cdot e^{2 \cdot 10^{-3} t}$	0,9167	0,0167
2	0–2	$0,0088 + 0,0034 \cdot t$	0,9296	0,0034	3–30	$0,0148 + 0,0151 \cdot e^{1,8 \cdot 10^{-3} t}$	0,9079	0,0148
3	0–2	$0,0127 + 0,0380 \cdot t$	0,9587	0,0380	3–30	$0,0212 + 0,0214 \cdot e^{8 \cdot 10^{-3} t}$	0,9056	0,0212

* $C(t) = C_0 + C_m \cdot \exp(bt)$, где C_0 – условная начальная концентрация (начальная u растворения); C_m – концентрация насыщения; b – коэффициент; t – время [9].

быть связано деградацией молекул полисахарида, которые обволакивают кристаллы неорганической фазы.

Показано, что в изотоническом растворе хлорида натрия с разной скоростью растворяются композиты только на начальном этапе «пассивной» биodeградации материала. Скорость растворения аморфного образца ГА-ВГК-3, в отличие от других порошков, больше в 8–11 раз. Количество полисахарида в составе композитов не влияет на экспоненциальную стадию резорбции композитов в 0,9 %-ном хлориде натрия.

Таким образом, образец ВГК-ГА-2 перспективен в качестве материала с пролонгированным процессом «активной» фазы резорбции в костном дефекте, который постепенно замещается новообразованной костной тканью. Порошок ВГК-ГА-3 может применяться в качестве хорошо разрушаемого имплантата на всех стадиях костного ремоделирования. Композит ВГК-

ГА-1 резорбируется со средней скоростью во всех растворителях и является альтернативным синтетическим композитом для костной регенерации.

Оценка цитотоксичности композитов проведена с помощью МТТ-теста. Он основан на восстановлении МТТ-реактива клеточными ферментами – оксиредуктазами. В результате восстановления образуется водонерастворимый формазан, количество которого коррелирует с числом жизнеспособных метаболически активных клеток [1, 6]. Инкубационный период контакта частиц ГА с питательной средой составлял 4 и 6 суток, с клетками – 1 и 3 суток.

Состояние культуры через 1 и 3 сутки культивирования FetMSCs в питательной среде после 4 суток инкубирования с композитами (рис. 3а). На снимках контрольного образца после

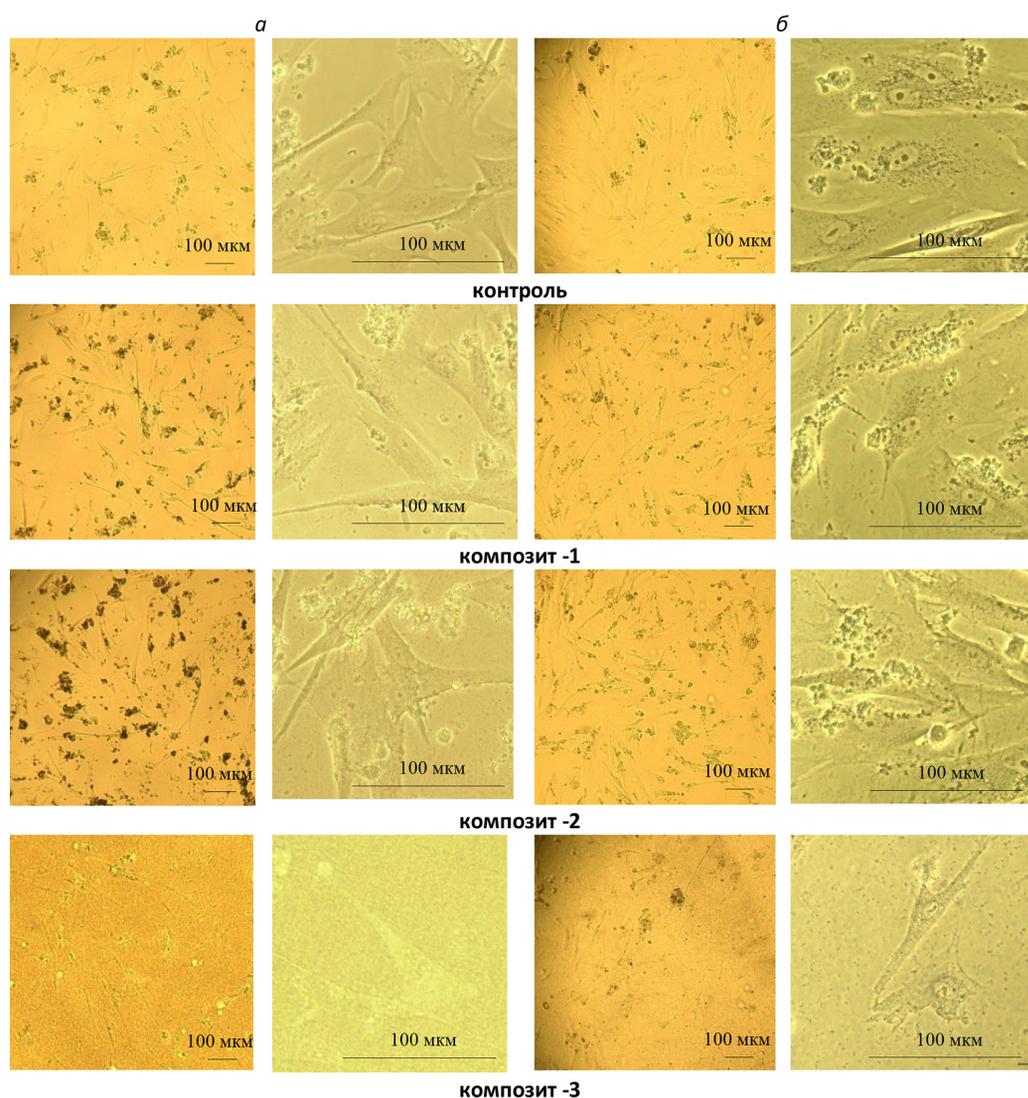


Рис. 3. Оптические изображения FetMSCs после 1 суток культивирования в питательной среде и инкубирования с композитами в течение суток: 4 (а) и 6 (б); X 4 крат (слева) и X 20 крат (справа)

Fig. 3. Optical images of FetMSCs after 1 day of cultivation in a nutrient medium and incubation with composites for 24 hours: 4 (а) and 6 (б); X 4x (left) and X 20x (right)

культивирования через сутки видно, что культура в хорошем состоянии, клетки распределены практически на всей поверхности, форма клеток преимущественно веретеновидная, с четкими контурами и выраженными отростками. В опытных лунках среда + клетки + композиты картина идентична таковой в контроле: в среде клетки, зон альтерации нет, рост в целом равномерный. Наибольшее количество веретеновидных клеток отмечается на микрофотографиях композитов ГА-ВГК-1 и ГА-ВГК-2. В культуре с порошком ГА-ВГК-3 рисунок *FetMSCs* менее выражен и похож на контрольную пробу. Во всех случаях в питательной среде отмечаются мелкие частицы ГА. Через 3 суток микрофотография аналогичная, но число клеток на поверхности чашки больше примерно в 2 раза.

Состояние культуры FetMSCs через 1 и 3 суток культивирования в питательной среде после 6 суток инкубирования с композитами (рис. 3б). Во всех лунках композит + клетки отмечается рисунок схожий с предыдущей серией эксперимента при более длительном культивировании клеток в течение 3 суток. Можно отметить большее число веретеновидных с отростками клеток с четкими контурами в образцах ГА-ВГК-1 и ГА-ВГК-2. На снимке клеточной культуры после 1 суток культивирования и 6 суток инкубирования с композитом ГА-ВГК-3 по сравнению с меньшим периодом их инкубации отмечается увеличение количества *FetMSCs*. Клетки более вытянуты в длину и меньшего размера. Можно сделать предположение, что при более длительном времени инкубирования в питательной среде порошков, частицы ГА-ВГК поддерживают пролиферацию клеток, в то время как контрольные клетки разрастались и демонстрировали округлую морфологию.

Жизнеспособность *FetMSC* оценивали с помощью МТТ – теста по соотношению оптической плотности растворенного формазана клеток в эксперименте и в контрольном образце (рис. 4).

Видно, что частицы композитов ГА-ВГК практически не оказывают цитотоксического эффекта на культивируемые клетки. Метаболическая активность клеток в лунках с питательной средой после инкубирования с порошками по сравнению с контрольным образцом составляет 80–94 %. Минимальное токсичное воздействие на клетки оказывает хорошо резорбируемый

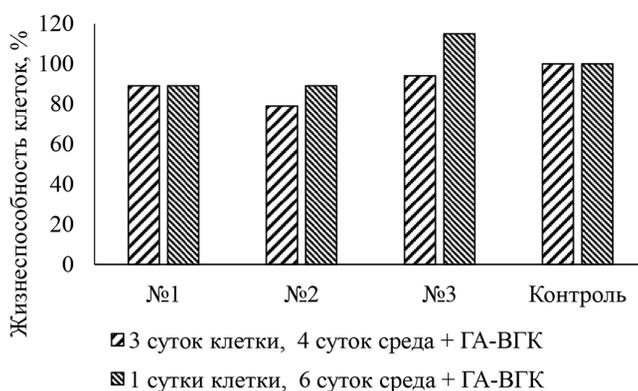


Рис. 4. Жизнеспособность *FetMSCs* после культивирования в питательной среде и инкубирования с композитами

Fig. 4. Viability of *FetMSCs* after culture in nutrient medium and incubation with composites

образец ГА-ВГК-3, инкубирование которого проводилось в течение 4 суток. Стабильный положительный эффект к клеткам при разном времени инкубирования порошков в питательной среде проявляет композит ГА-ВГК-1, в котором присутствует ГА с низкой степенью кристалличности. Образец ГА-ВГК-2, состоящий из наиболее окристаллизованного апатита, оказал токсическое действие на 21 % клеток после инкубирования порошков в питательной среде в течение 4 суток. При более длительном периоде инкубации в течение 6 суток его негативное воздействие понижается до 11 % и в опытных лунках отмечается дальнейшее увеличение количества веретеновидных клеток (рис. 3).

Таким образом, эксперименты на клеточных культурах показали незначительную цитотоксичность и положительную адгезию клеток к композитам ГА-ВГК.

Выводы

В работе синтезированы композиты плохо окристаллизованного карбонатгидроксиапатита при варьировании концентрации высокомолекулярной гиалуроновой кислоты в модельном растворе синовиальной жидкости. Выявлено, что с увеличением содержания полисахарида в маточном растворе среды до 0,2 масс.%, улучшается степень кристалличности и стехиометричность гидроксиапатита. В сильновязких средах (более 2 масс.%) получены композиты, содержащие наибольшее количество гиалуроновой кислоты.

Установлено, что все композиты растворяются с большей скоростью в слабокислых условиях. Показано, что процесс резорбции зависит как от характеристик неорганической компоненты, так и от содержания полисахарида в среде синтеза. В ацетатном буферном растворе с минимальной скоростью растворяется образец, состоящий из наиболее окристаллизованного гидроксиапатита. Плохо окристаллизованный композит, полученный из слабвязких растворов, резорбируется со средней скоростью во всех растворителях. Лучшую резорбируемость в физиологических условиях имеют материалы, полученные из вязких сред, содержащих более 2 масс.% полисахарида.

Установлено, что композиты проявляют незначительный цитотоксический эффект на клетки. Жизнеспособность клеточных культур после инкубирования порошков в питательной среде составляет 80–94 % и улучшается при более длительном времени инкубации композитов. Стабильно положительный эффект к клеткам оказывают порошки, растворяющиеся со средней скоростью на различных фазах резорбции. Полное отсутствие цитотоксичности к клеткам выявлено на шестые сутки инкубирования наиболее окристаллизованного композита.

Полученные композиты на основе карбонатгидроксиапатита и высокомолекулярной гиалуроновой кислоты могут использоваться в качестве имплантатов, стимулирующих регенерацию костной ткани в ортопедии и стоматологии, а также как наноносители лекарственных средств.

Список литературы / References

[1] Boeckel D.G., Shinkai R. S.A., Grossi M. L., Teixeira E. R. In vitro evaluation of cytotoxicity of hyaluronic acid as an extracellular matrix on OFCOL II cells by the MTT assay. *Oral and maxillofacial surgery* 2014. 117(6), 423–428.

[2] Prilepskiy A. Yu., Drozdov A. S., Bogatyrev V. A., Staroverov S. A. Methods of working with cell cultures and determining the toxicity of nanomaterials. St. Petersburg, 2019. 43.

[3] Solonenko A.P., Blesman A.P., Polonyankin D.A. Dynamics of resorption of composites based on apatite and hydrosilicate in a tris buffer. *Dynamics of systems, mechanisms and machines* 2019. 7(3), 177–182.

[4] Smirnov S.S., Karpov A. A., Gutsalova A. A., Kurzina I. A., Lytkina D. N., Schepkina E. A., Plisko G. A., Karev V. E., Ivkina A. S. Study of biocompatibility of composite materials based on hydroxyapatite and lactide-glycolide copolymer on laboratory mice. *Laboratory animals for scientific research* 2020. 3, 43–48.

[5] Sigaeva N.N., Kolesov S. V., Nazarov P. V., Vildanova R. R. Chemical modification of hyaluronic acid and its use in medicine. *Bulletin of the Bashkir State University* 2012. 17(3), 1220–1241.

[6] Mohan S.P., Palaniappan A., Khaja Khalid Nawaz M., Kripamol R., Seenuvasan R., Anil Kumar P.R. In vitro cytotoxicity evaluation of flowable hyaluronic acid-acellular stromal vascular fraction (HA-aSVF) mixture for tissue engineering applications. *Journal of Pharmacy and bioallied sciences* 2023. 15(1), 677–682.

[7] Harvima I.T., Heikura H., Hyttinen M., Naukkarinen A. Hyaluronic acid inhibits the adherence and growth of monolayer keratinocytes but does not affect the growth of keratinocyte epithelium. *Arch Dermatol Res* 2006. 298(5), 207–219.

[8] Patent 2526191 RF. Izmailov R. R., Golovanova O. A., Lemesheva (Gerk) S. A. Method for obtaining carbonate hydroxyapatite from a model solution of human synovial fluid. Published 20.08.2014.

[9] Izmailov R. R., Golovanova O. A. Bioresorbability of granulated composite based on carbonate hydroxyapatite and gelatin in environments with different pH values. *Bulletin of Omsk University* 2015. 2, 61–65.

[10] Gerk S.A., Golovanova O. A., Krivoshechkova A. I. Phase composition and morphological characteristics of biomimetic composites carbonate hydroxyapatite – hyaluronic acid. *Journal of the Siberian Federal University. Chemistry.* 2024, 17(1). P. 48–58.

[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. 66(5), 654–661.