

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ НАНОРАЗМЕРНОГО КАРБОНАТА КАЛЬЦИЯ, СТАБИЛИЗИРОВАННОГО ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ

А.В. Блинов

З.А. Рехман

А.С. Аскерова

М.А. Пирогов

М.А. Ясная

М.А. Селимов

А.В. Прасолова

blinov.a@mail.ru

zafrehman1027@gmail.com

vikalinka04@mail.ru

pirogov.m.2002@gmail.com

jasnaja.marija@mail.ru

maselimov@ncfu.ru

prasolova.lina@yandex.ru

СКФУ, Ставрополь, Российская Федерация

Аннотация

Представлена методика синтеза и исследованы свойства образцов наноразмерного карбоната кальция, стабилизированного биополимером — гиалуроновой кислотой. Образцы получены методом химического осаждения в водной среде: в качестве кальцийсодержащего прекурсора использован уксуснокислый кальций, стабилизатора — гиалуроновая кислота, осадителя — карбонат аммония. Проведено исследование образца наноразмерного карбоната кальция, модифицированного биополимером (гиалуроновой кислотой), методами динамического рассеяния света, акустической и электроакустической спектроскопии, сканирующей электронной микроскопии, рентгенофазового и компьютерного квантовохимического моделирования. Результаты анализа фотонной корреляционной спектроскопии показали, что образец имеет гидродинамический радиус менее 30 нм и близкое к нулю значение электрокинетического потенциала. Исследование фазового состава показало, что образец имеет одну фазу с ромбоэдрической кристаллической решеткой. С использованием анализа микроструктуры наноразмерного карбоната кальция, стабилизированного гиалуроновой кислотой, установлено следующее: образец представлен кубическими частицами размерами 0,3...5 мкм, которые состоят из наночастиц меньшего размера. Квантовохимическое моделирование позволило определить оптимальную модель

Ключевые слова

Наночастицы карбоната кальция, остеотропные микронутриенты, биополимеры, гиалуроновая кислота

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (проект FSRN-2023-0037)

Введение. Ежегодно в мире имеет место большое число травм опорно-двигательного аппарата [1]. Актуальность лечения таких травм подтверждена более чем 170 работами по соответствующей теме [2, 3]. Существуют различные методы лечения полученных травм, среди которых имплантация в организм человека металлических конструкций и использование костно-пластических материалов [4]. Однако у этих методов есть недостатки, связанные с длительностью лечения и реабилитации, а также с отсутствием гарантированного положительного результата. Еще одним методом лечения является использование аутологичных костей [3], что не предотвращает повторного образования костных дефектов и предполагает достаточно травматичную операцию, при этом существует вероятность рассасывания аутотрансплантата [5]. Есть информация об использовании синтетических биоинертных материалов на основе полимеров, пластмасс, металлов и т. д. [3, 6, 7].

Структуры, которые максимально приближены к свойствам натуральной костной ткани — трехмерные пористые или волокнистые матрицы на основе скаффолдов, имеющих высокую биосовместимость, нетоксичность, биodeградацию, сравнимую по скорости со скоростью роста новой костной ткани, и пористость с возможностью формирования пор с заданными размерами для оптимального распределения клеток [8–12]. Для создания трехмерных скаффолд-матриц применяют различные полимеры, керамические материалы и их комбинации [13]. Соединения разных природных, синтетических полимеров и керамических материалов позволяют оптимизировать структуру и физико-химические свойства скаффолд-матриц, усилить их остеоиндуктивные и остеокондуктивные свойства [14, 15]. В связи с этим создание структурированных наноразмерных трехмерных систем является перспективным направлением [6, 16].

Для профилактики и лечения костных заболеваний используют CaCO_3 , который можно получить обменной реакции ацетата кальция и карбоната аммония [17–20]. Для увеличения биодоступности кальция предпринимаются попытки создания наночастиц карбоната кальция, которые имеют такие преимущества, как биосовместимость, мягкие условия разрушения (растворение при $\text{pH} < 6,5$), простота приготовления и низкая цена [21].

Одной из основных проблем, связанных с получением наночастиц карбоната кальция, является низкая агрегативная устойчивость водных дисперсий наночастиц CaCO_3 . Чтобы избежать коагуляции и получить отдельные наночастицы CaCO_3 , их необходимо стабилизировать [22–25].

Различные подходы к синтезу микро- и наночастиц карбоната кальция (осаждение, медленная карбонизация, эмульсионный, полимеропосредованный метод, включая полимеризацию *in situ*, механохимический, микроволновый и биологические методы) рассмотрены в [26]. Установлено [26], что метод осаждения может привести к точно контролируемому размеру частиц с различными полиморфами и морфологиями. Наночастицы карбоната кальция синтезированы в [27] термолизом молекулы-предшественника оксалата кальция. К преимуществам можно отнести низкую цену и простоту метода, к недостаткам — уменьшение массы в зависимости от скорости нагрева. Метод синтеза стабилизированных полиакриловой кислотой аморфных наночастиц карбоната кальция описан в [27]. Преимущество указанного метода: цена метода, недостаток: размер наночастиц карбоната кальция остается достаточно большим.

Доказано, что композитные гидрогелевые системы обладают механической прочностью, биосовместимостью, биоразлагаемостью и могут использоваться в сочетании с несколькими клетками, каркасами и лекарственными препаратами для стимулирования остеогенеза [28]. Результаты успешно проведенного синтеза проводящих полимерных наночастиц с биоактивными стабилизаторами на основе гиалуроновой кислоты для биомедицинских применений приведены в [29].

Цель работы — привести результаты синтеза и исследования свойств наноразмерного карбоната кальция, стабилизированного гиалуроновой кислотой. Применены карбонат аммония и ацетат кальция для получения наноразмерного карбоната кальция, стабилизированного гиалуроновой кислотой методом осаждения.

Материалы и методы эксперимента. Для синтеза карбоната кальция в качестве прекурсора использовали ацетат кальция $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, осадителя — карбонат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, биополимера — гиалуроновую кислоту. Синтез наночастиц карбоната кальция проводили по следующей методике: приготавливали 0,8 М раствора прекурсора и перемешивали при 700...1000 мин⁻¹ до полного растворения; добавляли необходимый объем 1%-ного раствора биополимера; готовили 0,8 М раствора осадителя и переливали в капельную воронку, медленно вводили раствор осадителя в раствор прекурсора со скоростью 60 капель/мин; после введения всего

раствора осадителя перемешивали в течение 10 мин; центрифугировали 5 мин при 3000 мин^{-1} ; центрифугирование повторяли пять раз; после последнего центрифугирования осадок переносили в фарфоровый тигель и сушили при температуре $110 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 8 ч [30].

Уровень интенсивности динамического рассеяния света в исследовании измеряли на установке *Photocor-Complex* (ООО «Фотокор», Россия). Компьютерную обработку результатов спектроскопии проводили с использованием компьютерного обеспечения *DynaLS*. Интенсивность рассеяния измеряли в реальном времени, что позволило оценивать коллоидную стабильность и оптическое качество образца.

Измерение ξ -потенциала (электрокинетический) полученного образца проводили на акустическом и электроакустическом анализаторе DT-1202 (*Dispersion Technology Inc.*, США), который предназначен для определения структурных, электрических и реологических характеристик различных дисперсий, включая размеры частиц, пористость, проводимость, модуль упругости, объемную вязкость, ξ -потенциал.

Исследования микроструктуры образца наноразмерного карбоната кальция, стабилизированного гиалуроновой кислотой, проводили на сканирующем электронном микроскопе MIRA-LMN с системой определения элементного состава *AZtecEnergy Standart / X-max 20 (standard)* (*TESCAN ORSAY HOLDING*, Чехия).

Компьютерное квантовохимическое моделирование взаимодействия карбоната кальция с гиалуроновой кислотой выполняли в программе *QChem* с использованием молекулярного редактора *IQmol*. Расчеты проводили на оборудовании Центра обработки данных (*Schneider Electric*) СКФУ с использованием следующих параметров построения: расчет *Energy*, метод *V3LYP*, базис $6-31\text{G}^*$, *convergence 5*, силовое поле *Ghemical*.

Результаты и обсуждение. На первом этапе исследовали средний гидродинамический радиус частиц наноразмерного карбоната кальция, стабилизированного гиалуроновой кислотой, методом динамического рассеяния света на приборе *Photocor-Complex*. Полученная гистограмма распределения среднего гидродинамического радиуса частиц приведена на рис. 1. Результаты анализа полученной гистограммы показали, что образец имеет мономодальное распределение по размерам. Средний гидродинамический радиус составляет $29 \pm 11 \text{ нм}$. В образце наблюдается нормальное распределение с положительной асимметрией.

На втором этапе образец наноразмерного карбоната кальция, стабилизированного гиалуроновой кислотой, исследовали методом акустической

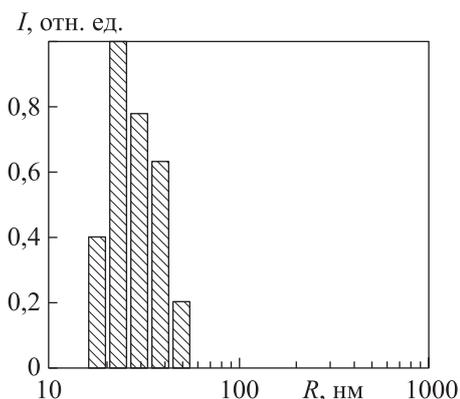


Рис. 1. Гистограмма распределения среднего гидродинамического радиуса частиц наноразмерного карбоната кальция, стабилизированного гиалуроновой кислотой

и электроакустической спектроскопии на приборе DT-1202. Установлено, что ξ -потенциал образца составляет $-0,45$ мВ. Низкое значение потенциала обусловлено отсутствием преобладающих зарядов в молекуле стабилизатора.

На третьем этапе образец исследовали методом рентгенофазового анализа. Полученная дифрактограмма показана на рис. 2. Результаты анализа дифрактограммы показали, что в образце формируется однофазная система. В образце присутствует фаза кальцита (CaCO_3 , ромбоэдрическая кристаллическая решетка с пространственной группой R-3c).

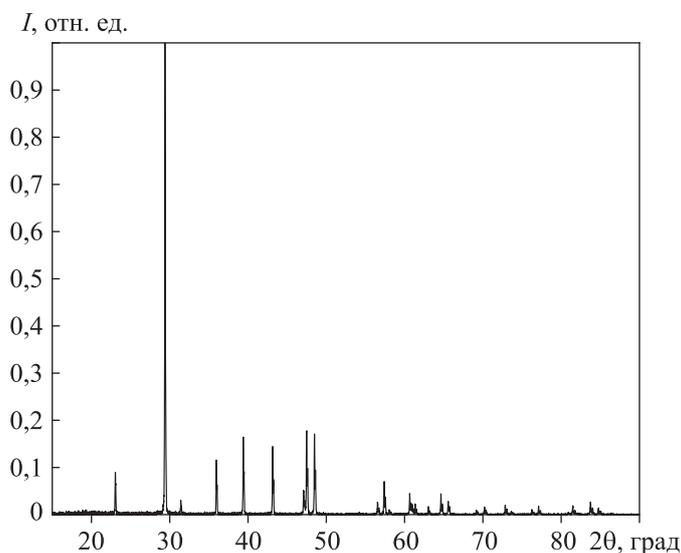
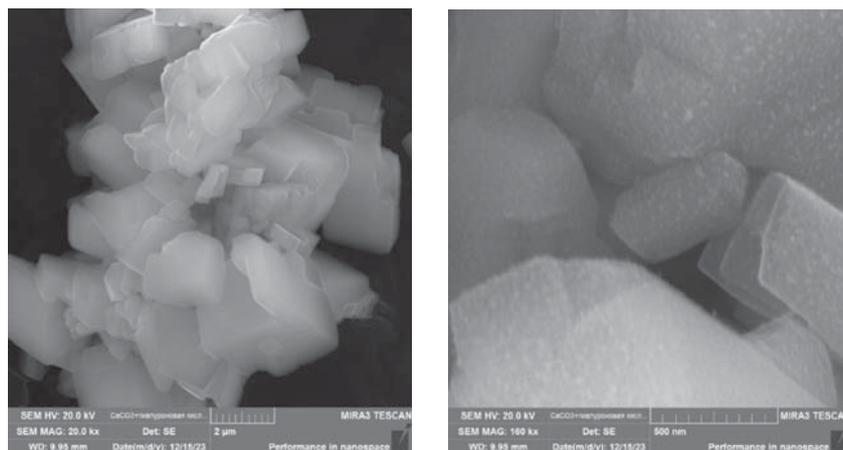


Рис. 2. Дифрактограмма образца наноразмерного карбоната кальция, стабилизированного гиалуроновой кислотой

На четвертом этапе образец исследовали методом сканирующей электронной микроскопии. Полученные микрофотографии представлены на рис. 3. Результаты анализа микрофотографий наноразмерного кар-

боната кальция показали, что микроструктура представлена частицами неправильной формы с размерами 0,3...5 мкм. Очевидно, исследованные агрегаты состоят из наночастиц карбоната кальция меньших размеров. Предположительно, кубическая форма полученных частиц зависит от того, что нанокристаллиты карбоната кальция имеют ромбоэдрическую решетку.



a

б

Рис. 3. Микрофотографии образца частиц наноразмерного карбоната кальция, стабилизированного гиалуроновой кислотой, которые получены методом сканирующей электронной микроскопии при увеличении в 20 000 (*a*) и 160 000 раз (*б*)

По результатам квантовохимического моделирования процесса взаимодействия наночастиц карбоната кальция с гиалуроновой кислотой выполнены квантовохимические расчеты (таблица).

**Результаты квантовохимического моделирования
процесса взаимодействия наночастиц карбоната кальция
с гиалуроновой кислотой**

Взаимодействие с гиалуроновой кислотой	E , ккал/моль	ΔE , ккал/моль	$E_{НОМО}$, эВ	$E_{ЛУМО}$, эВ	η , эВ
–	–1429,434	–	–0,232	–0,002	0,115
Через карбоксильную группу, присоединенную к C_6 остатка глюконовой кислоты (вариант № 1)	–2368,784	939,350	–0,098	–0,063	0,018

Окончание таблицы

Взаимодействие с гиалуроновой кислотой	E , ккал/моль	ΔE , ккал/моль	$E_{НОМО}$, эВ	E_{LUMO} , эВ	η , эВ
Через гидроксильную группу, присоединенную: к C_3 остатка глюконовой кислоты (вариант № 2)	-2368,806	939,372	-0,072	-0,041	0,016
к C_2 остатка глюконовой кислоты (вариант № 3)	-2368,831	939,397	-0,080	-0,036	0,022
к C_4 остатка N -ацетилглюкозамина (вариант № 4)	-2368,809	939,375	-0,073	-0,034	0,020
к C_6 остатка N -ацетилглюкозамина (вариант № 5)	-2368,847	939,413	-0,074	-0,030	0,022
Через вторичную аминогруппу в ацетамидном радикале, присоединенном к C_2 остатка N -ацетилглюкозамина (вариант № 6)	-2368,766	939,332	-0,070	-0,032	0,019

Исходя из анализа полученных данных установлено, что все представленные соединения являются энергетически выгодными ($\Delta E > 939,330$ ккал/моль) (рис. 4). На основе оптимальных значений химической жесткости и разности полной энергии определен наиболее вероятный вариант взаимодействия карбоната кальция с гиалуроновой кислотой. Так, оптимальным взаимодействием ($\Delta E = 939,413$ ккал/моль, $\eta = 0,022$ эВ) является соединение через гидроксильную группу, присоединенную к C_6 остатка N -ацетилглюкозамина (рис. 4, д).

Заключение. Проведен синтез наночастиц карбоната кальция, стабилизированных гиалуроновой кислотой, и исследованы их физико-химические свойства. При использовании в качестве стабилизатора наноразмерного карбоната кальция гиалуроновой кислоты образец имеет мономодальное распределение по размерам, а его средний гидродинамический радиус равен 29 ± 11 нм. В результате исследования образца методом рентгенофазового анализа установлено наличие формирующейся

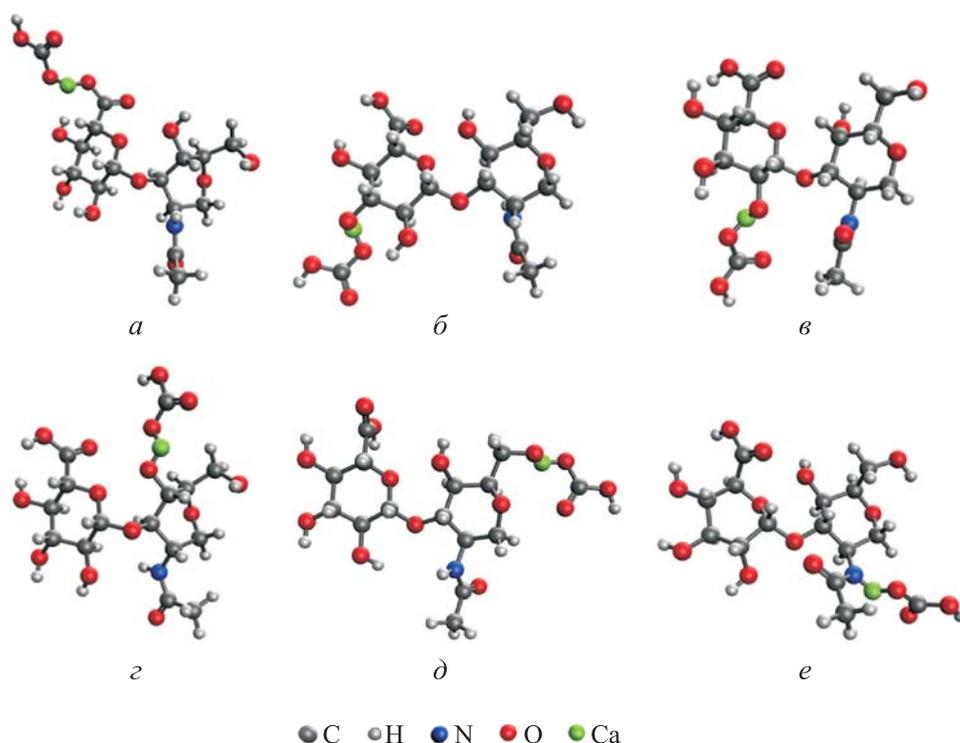


Рис. 4. Модели молекулярных комплексов вариантов №№ 1 (а), 2 (б), 3 (в), 4 (г), 5 (д), 6 (е)

однофазной системы и определено значение ζ -потенциала образца $-0,45$ мВ. Результаты анализа полученных с использованием метода сканирующей электронной микроскопии микрофотографий наночастиц карбоната кальция, стабилизированного гиалуроновой кислотой, показали следующее: микроструктура имеет преимущественно кубические частицы размерами $0,3...5$ мкм. С использованием полученных на основе компьютерного квантовохимического моделирования данных установлено, что оптимальной моделью молекулярного комплекса является взаимодействие карбоната кальция с гидроксильной группой, присоединенной к C_6 остатка *N*-ацетилглюкозамина в гиалуроновой кислоте.

Следовательно, наноразмерный карбонат кальция является перспективным материалом в качестве основы скаффолд-матриц, поскольку кальций представляет собой основную часть костных и соединительных тканей. В связи с этим синтез и изучение свойств наночастиц карбоната кальция — весьма актуальная задача.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Cieza A., Causey K., Kamenov K., et al. Global estimates of the need for rehabilitation based on the Global Burden of Disease study 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*, 2020, vol. 396, iss. 10267, pp. 2006–2017. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32340-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32340-0)
- [2] Ponkilainen V., Kuitunen I., Liukkonen R., et al. The incidence of musculoskeletal injuries: a systematic review and meta-analysis. *Bone Joint Res.*, 2022, vol. 11, iss. 11, pp. 814–825. DOI: <https://doi.org/10.1302/2046-3758.1111.BJR-2022-0181.R1>
- [3] Кирилова И.А., Фомичев Н.Г., Подорожная В.Т. и др. Новые виды материалов для костной пластики в свете современных представлений о костных трансплантатах. *Хирургия позвоночника*, 2007, № 2, с. 66–70. EDN: IBZTSD
- [4] Попков А.В. Биосовместимые имплантаты в травматологии и ортопедии (обзор литературы). *Гений ортопедии*, 2014, № 3, с. 94–99. EDN: SNRZXD
- [5] Базаров Н.И., Нарзулов В.А., Усмонов Х.С. и др. Некоторые аспекты костной аутотрансплантации при костных новообразованиях и опухолеподобных процессах. *Вестник Авиценны*, 2009, № 4, с. 34–40. EDN: SNEDON
- [6] Кирилова И.А., Садовой М.А., Подорожная В.Т. и др. Керамические и костно-керамические имплантаты: перспективные направления. *Хирургия позвоночника*, 2013, № 4, с. 52–62. EDN: RKRELP
- [7] Буюкова С.П., Хлусов И.А., Кульков С.Н. Пористая циркониевая керамика для эндопротезирования костной ткани. *Физическая мезомеханика*, 2004, т. 7, № S1-2, с. 127–130. EDN: ISCSCL
- [8] Полунина Е.С., Джакеева А.И., Беляков А.В. и др. Композиционные биоактивные материалы, содержащие фосфаты кальция и арагонит. *Успехи в химии и химической технологии*, 2012, т. 26, № 6, с. 52–54. EDN: RCCHCJ
- [9] Кирилова И.А., Таранов О.С., Подорожная В.Т. Остеоинтеграция композиционных костно-керамических материалов в эксперименте. *Хирургия позвоночника*, 2014, № 4, с. 80–87. EDN: TODHDN
- [10] Калита В.И., Маланин Д.А., Мамаева В.А. и др. Модификация поверхностей внутрикостных имплантатов: современные исследования и нанотехнологии. *Вестник ВолГМУ*, 2009, № 4, с. 17–22. EDN: KYMDRX
- [11] Котлярова М.С., Архипова А.Ю., Мойсенович А.М. и др. Биорезорбируемые скаффолды на основе фиброина для регенерации костной ткани. *Вестник Московского университета. Сер. 16. Биология*, 2017, т. 72, № 4, с. 222–228. EDN: ZISVRP
- [12] Иванов А.Н., Норкин И.А., Пучиньян Д.М. Возможности и перспективы использования скаффолд-технологий для регенерации костной ткани. *Цитология*, 2014, т. 56, № 8, с. 543–548. EDN: SIWGGT
- [13] Садовой М.А., Ларионов П.М., Самохин А.Г. и др. Клеточные матрицы (скаффолды) для целей регенерации кости: современное состояние проблемы. *Хирургия позвоночника*, 2014, № 2, с. 79–86. EDN: YSREXR

- [14] Кузнецова Д.С., Тимашев П.С., Баграташвили В.Н. и др. Костные имплантаты на основе скаффолдов и клеточных систем в тканевой инженерии (обзор). *СТМ*, 2014, т. 6, № 4, с. 202–212. EDN: TFASDJ
- [15] Терещенко В.П., Ларионов П.М., Кирилова И.А. и др. Материалы и методы тканевой инженерии костной ткани. *Хирургия позвоночника*, 2016, т. 13, № 1, с. 72–81. DOI: <https://doi.org/10.14531/ss2016.1.72-81>
- [16] Забелин С.Ф., Коновалова Ж.Ю. Анализ технологий получения биокерамики для имплантатов. *Ученые записки Забайкальского государственного университета*, 2016, т. 11, № 4, с. 85–90. EDN: WLZXUX
- [17] Malone P.G., Torres-Cancel K., Moser R.D., et al. Influence of temperature on calcium carbonate polymorph formed from ammonium carbonate and calcium acetate. *J. Nanotech Smart Mater.*, 2014, vol. 1, pp. 1–6. DOI: <http://dx.doi.org/10.17303/jnsm.2014.105>
- [18] Cheng H., Zhang X., Song H. Morphological investigation of calcium carbonate during ammonification-carbonization process of low concentration calcium solution. *J. Nanomater.*, 2014, vol. 214, art. 503696. DOI: <https://doi.org/1155/2014/503696>
- [19] Прохоров М., Кислов А., Елистратов Д. и др. Влияние остеомеда на консолидацию переломов костей. *Врач*, 2016, № 2, с. 68–69. EDN: VQZUOX
- [20] Erfanian A., Mirhosseini H., Manap M.Y.A., et al. Influence of nano-size reduction on absorption and bioavailability of calcium from fortified milk powder in rats. *Food Res. Int.*, 2014, vol. 66, pp. 1–11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.026>
- [21] Пирогов М.А., Блинов А.В., Шевченко И.М. и др. Компьютерное квантово-химическое моделирование взаимодействия карбоната кальция с биополимерами. *Современная наука и инновации*, 2023, № 4, с. 130–137. DOI: <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2023.4.14>
- [22] Huang S., Chen J.C., Hsu C.W., et al. Effects of nano calcium carbonate and nano calcium citrate on toxicity in ICR mice and on bone mineral density in an ovariectomized mice model. *Nanotechnology*, 2009, vol. 20, no. 37, art. 375102. DOI: <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/37/375102>
- [23] Shahnazari M., Martin B.R., Legette L.L., et al. Diet calcium level but not calcium supplement particle size affects bone density and mechanical properties in ovariectomized rats. *J. Nutr.*, 2009, vol. 139, iss. 7, pp. 1308–1314. DOI: <https://doi.org/10.3945/jn.108.101071>
- [24] Захарова И.Н., Творогова Т.М., Васильева С.В. и др. Остеотропные микронутриенты и их влияние на ремоделирование костной ткани у подростков. *Педиатрия. Consilium Medicum*, 2020, № 2, с. 72–79. DOI: <https://doi.org/10.26442/26586630.2020.2.200240>
- [25] Eurov D.A., Shvidchenko A.V., Kurdyukov D.A. Electrostatic stabilization of hydrosols of calcium carbonate nanoparticles synthesized by the template method. *Colloid J.*, 2020, vol. 82, no. 2, pp. 115–121. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1061933X20020040>

- [26] Fadia P., Tyagi S., Bhagat S., et al. Calcium carbonate nano- and microparticles: synthesis methods and biological applications. *Biotech*, 2021, vol. 11, art. 457. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02995-2>
- [27] Ranjan R., Narnaware S.D., Patil N.V. A novel technique for synthesis of calcium carbonate nanoparticles. *Natl. Acad. Sci. Lett.*, 2018, vol. 41, no. 6, pp. 403–406. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40009-018-0704-4>
- [28] Zheng Z., Patel M., Patel R. Hyaluronic acid-based materials for bone regeneration: a review. *React. Funct. Polym.*, 2022, vol. 171, art. 105151. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105151>
- [29] Zamboni F., Wong C.K., Collins M.N. Hyaluronic acid association with bacterial, fungal and viral infections: can hyaluronic acid be used as an antimicrobial polymer for biomedical and pharmaceutical applications? *Bioact. Mater.*, 2023, vol. 19, pp. 458–473. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.04.023>
- [30] Блинов А.В., Гвозденко А.А., Ясная М.А. и др. Синтез, структура и свойства наночастиц карбоната кальция, стабилизированного аминополисахаридом. *Технологии аддитивного производства*, 2024, т. 2, № 1, с. 5–13. EDN: EPEPNV

Блинов Андрей Владимирович — канд. техн. наук, доцент кафедры физики и технологии наноструктур и материалов СКФУ (Российская Федерация, 355017, Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1).

Рехман Зафар Абдулович — ассистент кафедры физики и технологии наноструктур и материалов СКФУ (Российская Федерация, 355017, Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1).

Аскерова Алина Салмановна — лаборант научно-исследовательской лаборатории агробиотехнологии «Золото полей» СКФУ (Российская Федерация, 355017, Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1).

Пирогов Максим Александрович — лаборант научно-исследовательской лаборатории керамики и технохимии научно-лабораторного комплекса «Чистые зоны» СКФУ (Российская Федерация, 355017, Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1).

Ясная Мария Анатольевна — канд. хим. наук, доцент кафедры физики и технологии наноструктур и материалов СКФУ (Российская Федерация, 355017, Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1).

Селимов Магомед Асланович — канд. техн. наук, доцент кафедры физики и технологии наноструктур и материалов СКФУ (Российская Федерация, 355017, Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1).

Прасолова Алина Вениаминовна — лаборант кафедры физики и технологии наноструктур и материалов СКФУ (Российская Федерация, 355017, Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1).

Просьба ссылаться на эту статью следующим образом:

Блинов А.В., Рехман З.А., Аскерова А.С. и др. Исследование свойств наноразмерного карбоната кальция, стабилизированного гиалуроновой кислотой. *Вестник МГТУ им. Н.Э. Баумана. Сер. Естественные науки*, 2024, № 6 (117), с. 72–87.

EDN: BXLDEW

STUDY OF THE PROPERTIES OF NANOSCALE CALCIUM CARBONATE STABILIZED WITH HYALURONIC ACID

A.V. Blinov

Z.A. Rekhman

A.S. Askerova

M.A. Pirogov

M.A. Yasnaya

M.A. Selimov

A.V. Prasolova

blinov.a@mail.ru

zafrehman1027@gmail.com

vikalinka04@mail.ru

pirogov.m.2002@gmail.com

jasnaja.marija@mail.ru

maselimov@ncfu.ru

prasolova.lina@yandex.ru

North Caucasus Federal University, Stavropol, Russian Federation

Abstract

The aim of this study is to present a novel synthesis technique and investigate the properties of nanoscale calcium carbonate samples stabilized with hyaluronic acid, a biopolymer. The samples were produced through chemical precipitation in an aqueous environment, utilizing calcium acetate as a calcium-containing precursor, hyaluronic acid as a stabilizing agent, and ammonium carbonate as a precipitating agent. A sample of nanosized calcium carbonate, modified with the biopolymer, was analyzed using dynamic light scattering, acoustic, and electroacoustic spectroscopies, scanning electron microscopy, X-ray diffraction, and computational quantum chemical modeling techniques. The results obtained from photon correlation spectroscopy analysis indicated that the sample had a hydrodynamic radius less than 30 nanometers and an electrophoretic mobility close to zero. Investigation of the phase composition revealed that the sample consisted of a single phase with a rhombohedral crystalline structure. Based on the analysis of the microstructural features of nanoscale calcium carbonate stabilized with hyaluronic acid, it was found that the sample consists of cubic particles with dimensions ranging from 0.3 to 5 microns. These particles are composed of smaller nanoparticles. Quantum chemical

Keywords

Calcium carbonate nanoparticles, osteotropic micronutrients, biopolymers, hyaluronic acid

modeling was used to determine the optimal molecular structure of the complex formed between calcium carbonate nanoparticles and hyaluronic acid. The modeling also allowed us to calculate the quantum characteristics of this complex

Received 02.05.2024

Accepted 11.07.2024

© Author(s), 2024

The work was carried out with the state financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project FSRN-2023-0037)

REFERENCES

- [1] Cieza A., Causey K., Kamenov K., et al. Global estimates of the need for rehabilitation based on the Global Burden of Disease study 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*, 2020, vol. 396, iss. 10267, pp. 2006–2017. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32340-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32340-0)
- [2] Ponkilainen V., Kuitunen I., Liukkonen R., et al. The incidence of musculoskeletal injuries: a systematic review and meta-analysis. *Bone Joint Res.*, 2022, vol. 11, iss. 11, pp. 814–825. DOI: <https://doi.org/10.1302/2046-3758.1111.BJR-2022-0181.R1>
- [3] Kirilova I.A., Fomichev N.G., Podorozhnaya V.T., et al. New materials for bone grafting in view of current concepts. *Khirurgiya pozvonochnika* [Russian Journal of Spine Surgery], 2007, no. 2, pp. 66–70 (in Russ.). EDN: IBZTSD
- [4] Popkov A.V. Biocompatible implants in traumatology and orthopaedics (a review of literature). *Geniy ortopedii* [Orthopaedic Genius], 2014, no. 3, pp. 94–99 (in Russ.). EDN: SNRZXD
- [5] Bazarov N.I., Narzuloev V.A., Usmonov Kh.S., et al. Some aspects of bone auto-transplantation during osteoneoplasms and tumourlike processes. *Vestnik Avitsenny* [Avicenna Bulletin], 2009, no. 4, pp. 34–40 (in Russ.). EDN: SNEDOH
- [6] Kirilova I.A., Sadovoy M.A., Podorozhnaya V.T., et al. Ceramic and osteoceramic implants: upcoming trends. *Khirurgiya pozvonochnika* [Russian Journal of Spine Surgery], 2013, no. 4, pp. 52–62 (in Russ.). EDN: RKRELP
- [7] Buyakova S.P., Khlusov I.A., Kulkov S.N. Porous zirconium-based ceramics for endoprosthesis of bone tissue. *Fizicheskaya mezhmekhanika*, 2004, vol. 7, no. S1-2, pp. 127–130 (in Russ.). EDN: ISCSCL
- [8] Polunina E.S., Dzhakeeva A.I., Belyakov A.V., et al. Composite bioactive materials containing calcium phosphates and aragonite. *Uspekhi v khimii i khimicheskoy tekhnologii*, 2012, vol. 26, no. 6, pp. 52–54 (in Russ.). EDN: RCCHCJ
- [9] Kirilova I.A., Taranov O.S., Podorozhnaya V.T. Osseointegration of composite bone-ceramic implants in experimental study. *Khirurgiya pozvonochnika* [Russian Journal of Spine Surgery], 2014, no. 4, pp. 80–87 (in Russ.). EDN: TODHDN
- [10] Kalita V.I., Malanin D.A., Mamaeva V.A., et al. Modification of intrabone implants surfaces: modern research and nanotechnologies. *Vestnik VolGMU* [Journal of Volgograd State Medical University], 2009, no. 4, pp. 17–22 (in Russ.). EDN: KYMDRX

- [11] Kotlyarova M.S., Arkhipova A.Yu., Moysenovich A.M., et al. Bioresorbable scaffolds based on fibroin for bone tissue regeneration. *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.*, 2017, vol. 72, no. 4, pp. 190–195. DOI: <https://doi.org/10.3103/S0096392517040095>
- [12] Ivanov A.N., Norkin I.A., Puchinyan D.M. The possibilities and perspectives of using scaffold technology for bone regeneration. *Tsitologiya*, 2014, vol. 56, no. 8, pp. 543–548 (in Russ.). EDN: SIWGGT
- [13] Sadovoy M.A., Larionov P.M., Samokhin A.G., et al. Cellular matrices (scaffolds) for bone regeneration: state of the art. *Khirurgiya pozvonochnika* [Russian Journal of Spine Surgery], 2014, no. 2, pp. 79–86 (in Russ.). EDN: YSREXR
- [14] Kuznetsova D.S., Timashev P.S., Bagratashvili V.N., et al. Scaffold- and cell system-based bone grafts in tissue engineering (review). *STM* [Modern Technologies in Medicine], 2014, vol. 6, no. 4, pp. 202–212 (in Russ.). EDN: TFASDJ
- [15] Tereshchenko V.P., Larionov P.M., Kirilova I.A., et al. Materials and methods of bone tissue engineering. *Khirurgiya pozvonochnika* [Russian Journal of Spine Surgery], 2016, vol. 13, no. 1, pp. 72–81 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.14531/ss2016.1.72-81>
- [16] Zabelin S.F., Konovalova Zh.Yu. Analysis of producing bioceramics for implants technology. *Uchenye zapiski Zabaykalskogo gosudarstvennogo universiteta* [Scholarly Notes of Transbaikal State University], 2016, vol. 11, no. 4, pp. 85–90 (in Russ.). EDN: WLZXUX
- [17] Malone P.G., Torres-Cancel K., Moser R.D., et al. Influence of temperature on calcium carbonate polymorph formed from ammonium carbonate and calcium acetate. *J. Nanotech Smart Mater.*, 2014, vol. 1, pp. 1–6. DOI: <http://dx.doi.org/10.17303/jnsm.2014.105>
- [18] Cheng H., Zhang X., Song H. Morphological investigation of calcium carbonate during ammonification-carbonization process of low concentration calcium solution. *J. Nanomater.*, 2014, vol. 214, art. 503696. DOI: <https://doi.org/1155/2014/503696>
- [19] Prokhorov M., Kislov A., Elistratov D., et al. Effect of osteomed on consolidation of bone fractures. *Vrach* [The Doctor], 2016, no. 2, pp. 68–69 (in Russ.). EDN: VQZUOX
- [20] Erfanian A., Mirhosseini H., Manap M.Y.A., et al. Influence of nano-size reduction on absorption and bioavailability of calcium from fortified milk powder in rats. *Food Res. Int.*, 2014, vol. 66, pp. 1–11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.026>
- [21] Pirogov M.A., Blinov A.V., Shevchenko I.M., et al. Computer quantum-chemical simulation of the interaction of calcium carbonate with biopolymers. *Sovremennaya nauka i innovatsii* [Modern Science and Innovations], 2023, no. 4, pp. 130–137 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2023.4.14>
- [22] Huang S., Chen J.C., Hsu C.W., et al. Effects of nano calcium carbonate and nano calcium citrate on toxicity in ICR mice and on bone mineral density in an ovariectomized mice model. *Nanotechnology*, 2009, vol. 20, no. 37, art. 375102. DOI: <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/37/375102>

- [23] Shahnazari M., Martin B.R., Legette L.L., et al. Diet calcium level but not calcium supplement particle size affects bone density and mechanical properties in ovariectomized rats. *J. Nutr.*, 2009, vol. 139, iss. 7, pp. 1308–1314.
DOI: <https://doi.org/10.3945/jn.108.101071>
- [24] Zakharova I.N., Tvorogova T.M., Vasil'eva S.V., et al. Osteotropic micronutrients and their effect on bone remodeling in adolescents. *Pediatriya. Consilium Medicum* [Pediatrics. Consilium Medicum], 2020, no. 2, pp. 72–79 (in Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.26442/26586630.2020.2.200240>
- [25] Eurov D.A., Shvidchenko A.V., Kurdyukov D.A. Electrostatic stabilization of hydrosols of calcium carbonate nanoparticles synthesized by the template method. *Colloid J.*, 2020, vol. 82, no. 2, pp. 115–121. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1061933X20020040>
- [26] Fadia P., Tyagi S., Bhagat S., et al. Calcium carbonate nano- and microparticles: synthesis methods and biological applications. *Biotech*, 2021, vol. 11, art. 457.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02995-2>
- [27] Ranjan R., Narnaware S.D., Patil N.V. A novel technique for synthesis of calcium carbonate nanoparticles. *Natl. Acad. Sci. Lett.*, 2018, vol. 41, no. 6, pp. 403–406.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s40009-018-0704-4>
- [28] Zheng Z., Patel M., Patel R. Hyaluronic acid-based materials for bone regeneration: a review. *React. Funct. Polym.*, 2022, vol. 171, art. 105151.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105151>
- [29] Zamboni F., Wong C.K., Collins M.N. Hyaluronic acid association with bacterial, fungal and viral infections: can hyaluronic acid be used as an antimicrobial polymer for biomedical and pharmaceutical applications? *Bioact. Mater.*, 2023, vol. 19, pp. 458–473. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.04.023>
- [30] Blinov A.V., Gvozdenko A.A., Yasnaya M.A., et al. Synthesis, structure and properties of calcium carbonate nanoparticles stabilized with aminopolysaccharide. *Tekhnologii additivnogo proizvodstva* [Additive Fabrication Technology], 2024, vol. 2, no. 1, pp. 5–13 (in Russ.). EDN: EPEPNV

Blinov A.V. — Cand. Sc. (Eng.), Assoc. Professor, Department of Physics and Technology of Nanostructures and Materials, North Caucasus Federal University (Pushkina ul. 1, Stavropol, 355017 Russian Federation).

Rekman Z.A. — Assistant, Department of Physics and Technology of Nanostructures and Materials, North Caucasus Federal University (Pushkina ul. 1, Stavropol, 355017 Russian Federation).

Askerova A.S. — Laboratory Assistant, Research Laboratory of Agro and Biotechnology “Gold of the Fields”, North Caucasus University (Pushkina ul. 1, Stavropol, 355017 Russian Federation).

Pirogov M.A. — Laboratory Assistant, Scientific Research Laboratory of Ceramics and Technochemistry of the Scientific Laboratory Complex “Clean Zones”, North Caucasus Federal University (Pushkina ul. 1, Stavropol, 355017 Russian Federation).

Yasnaya M.A. — Cand. Sc. (Chem.), Assoc. Professor, Department of Physics and Technology of Nanostructures and Materials, North Caucasus Federal University (Pushkina ul. 1, Stavropol, 355017 Russian Federation).

Selimov M.A. — Cand. Sc. (Eng.), Assoc. Professor, Department of Physics and Technology of Nanostructures and Materials, North Caucasus Federal University (Pushkina ul. 1, Stavropol, 355017 Russian Federation).

Prasolova A.V. — Laboratory Assistant, Department of Physics and Technology of Nanostructures and Materials, North Caucasus Federal University (Pushkina ul. 1, Stavropol, 355017 Russian Federation).

Please cite this article in English as:

Blinov A.V., Rekhman Z.A., Askerova A.S., et al. Study of the properties of nanoscale calcium carbonate stabilized with hyaluronic acid. *Herald of the Bauman Moscow State Technical University, Series Natural Sciences*, 2024, no. 6 (117), pp. 72–87 (in Russ.). EDN: BXLDEW