

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА
ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Оспенников Александр Сергеевич

**Гидрогели на основе гибкоцепного полимера и нанокристаллов
целлюлозы: структура, механические свойства и 3D-печать**

Специальность 1.4.7. Высокомолекулярные соединения

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:
доктор физико-математических наук
профессор Филиппова Ольга Евгеньевна

Москва - 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
Список часто используемых сокращений	5
ВВЕДЕНИЕ	6
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	14
1.1. Основные подходы к повышению механической прочности гелей на основе природных полимеров	14
1.1.1. Двойные сшивки	15
1.1.2. Двойные сетки	20
1.1.2.1. Ковалентно сшитые двойные сетки	22
1.1.2.2. Двойные сетки с одним лабильным компонентом	24
1.1.2.3. Двойные сетки с двумя лабильными компонентами	27
1.1.3. Наноккомпозитные сетки	28
1.1.3.1. Неорганические наночастицы	29
1.1.3.2. Органические наночастицы	31
1.2. Нанокристаллы целлюлозы	33
1.2.1. Структура и морфология	33
1.2.2. Методы получения	34
1.2.3. Гидрогели на основе нанокристаллов целлюлозы	35
1.3. Гели на основе гуаровой камеди и гидроксипропилгуара	38
1.4. 3D-печать изделий из гелей	40
2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	45
2.1. Материалы	45
2.1.1. Реактивы	45
2.1.2. Синтез метакрилированного гидроксипропилгуара ГПГ-МА	47
2.1.3. Получение гидрогелей ГПГ-МА	47
2.1.4. Приготовление гелей НЦ, сшитых ионами кальция	48

2.1.5. Получение гидрогелей ГПГ-МА, содержащих НЦ, сшитые ионами кальция.....	48
2.1.6. Получение гидрогелей ГПГ-МА-ПФБК.....	49
2.1.7. Получение гидрогелей ГПГ-МА-ПФБК с введённым в них ЦПХ	50
2.3. Методы исследования.....	50
2.3.1. Реометрия	50
2.3.2. Криогенная электронная микроскопия.....	54
2.3.3. Малоугловое рассеяние нейтронов.....	58
2.3.4. Изотермическая калориметрия	60
2.3.5. ^1H ЯМР-спектроскопия	62
2.3.6. УФ-спектрометрия.....	63
2.3.7. ИК-спектрометрия.....	64
2.3.8. Механические свойства при одноосном сжатии и растяжении	65
2.3.9. 3D-печать.....	65
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	68
3.1. Гидроксипропилгуар и гели на его основе	68
3.1.1. Характеристика гидроксипропилгуара: химический состав, молярная масса, вязкость в растворе.....	68
3.1.2. Метакрилованный гидроксипропилгуар: синтез и свойства.....	69
3.1.3. Механические свойства ГПГ-МА гидрогелей.....	73
3.1.4 Гидрогели на основе ГПГ с двумя типами сшивок.....	76
3.1.4.1. Синтез гелей	76
3.1.4.2. Реологические свойства гелей	77
3.1.4.3. Восприимчивость к pH.....	80
3.2. Нанокристаллы целлюлозы и гели на их основе	84

3.2.1. Суспензии нанокристаллов целлюлозы в воде	85
3.2.1.1. Характеристики частиц	85
3.2.1.2. Фазовое поведение	88
3.2.1.3. Реологические свойства.....	88
3.2.2. Гели нанокристаллов целлюлозы, сшитые ионами кальция	92
3.2.2.1. Фазовое поведение	92
3.2.2.2. Реологические свойства.....	92
3.2.2.3. Взаимодействие карбоксиметилированных нанокристаллов целлюлозы с ионами кальция	97
3.2.2.4. Морфология	100
3.3. Гели на основе ГПГ и нанокристаллов целлюлозы	104
3.3.1. Фазовое поведение и морфология совместной системы	104
3.3.2. Механические свойства двойной сетки ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+}	110
3.3.3. 3D-печать гидрогелей из двойных сеток.....	115
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	123
Публикации по теме диссертации.....	144
Благодарности	145

Список часто используемых сокращений

ГПГ	гидроксипропилгуар
ГПГ-МА	метакрилированный гидроксипропилгуар
Крио-ЭМ	криоэлектронная микроскопия
МА	степень метакрилирования
НПВО	нарушенное полное внутреннее отражение
НЦ	нанокристаллы целлюлозы
НЦ- Ca ²⁺	нанокристаллы целлюлозы, сшитые ионами кальция
ПФБК	поли-3-(акриламидо)фенилбороновая кислота
УФ	ультрафиолет
ФБК	3-(акриламидо)фенилбороновая кислота
ЦПХ	цетилпиридиний хлорид
ЯМР	ядерный магнитный резонанс
ТРО-Li	фенил-2,4,6-триметилбензоилфосфинат лития

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

В связи со всё возрастающим загрязнением планеты полимерными отходами как никогда актуальными становятся создание биоразлагаемых полимерных материалов и внедрение безотходных технологий для их производства. Одни из самых доступных биоразлагаемых полимеров — это полисахариды. Интерес к их использованию постоянно растёт, и, по прогнозам, к концу 2034 г. объём рынка их производства достигнет около 23 миллиардов долларов США. Особое место среди полисахаридных материалов занимают гидрогели — трёхмерные полимерные сетки, способные удерживать большое количество воды. Благодаря своим механическим свойствам, гидрофильности, биосовместимости и способности к набуханию, гидрогели находят широкое применение для биомедицинских приложений. Они используются для адресной доставки лекарств, разработки «умных» систем высвобождения и раневых повязок, в тканевой инженерии и малоинвазивной хирургии. Кроме того, они применяются для создания “мягких” манипуляторов для робототехники и в носимой электронике и сенсорах, крепящихся на кожу.

Экструзионная 3D-печать относится к числу наиболее перспективных безотходных методов получения полимерных изделий. Она позволяет формировать конструкции из полимеров согласно компьютерной модели путем послойного нанесения материала. В экструзионной печати чернила, которые выдавливаются из экструдера, должны обладать следующими свойствами: уменьшать вязкость при сдвиге, легко проходить через сопло экструдера и быстро восстанавливать форму после экструзии. В случае 3D-печати гидрогелей часто используют гели с лабильными сшивками. Эти сшивки рвутся при экструзии, а затем восстанавливаются непосредственно после нанесения, возвращая гелю вязкоупругие свойства. Если же требуются ковалентно сшитые гели, то проводят сшивание под действием УФ-облучения (фотосшивание) уже после формования изделия.

Основной проблемой, ограничивающей широкое применение традиционных гидрогелей, являются их невысокие механические свойства. Чтобы их улучшить, можно использовать различные подходы: сочетание двух типов сшивок, создание двойных сетчатых структур, введение армирующих наночастиц. В настоящей работе мы применим все три подхода, причем два последние будут объединены, поскольку перколированные наночастицы, сшитые между собой, будут выполнять роль второй сетки.

Для создания биоразлагаемых гидрогелей нами выбран широкодоступный крупнотоннажный полисахарид – гидроксипропилгуар (ГПГ). Его получают из гуаровой камеди, извлекаемой из семян бобового растения *Cyamopsis tetragonoloba*, проводя реакцию гидроксипропилирования. В основном ГПГ используют в нефтедобыче в виде слабосшитых гелей. Область применения ГПГ может быть существенно расширена, если разработать способы получения прочных гелей из него. В качестве армирующего наполнителя выбраны нанокристаллы целлюлозы (НЦ), которые так же, как и основная полимерная матрица, являются биоразлагаемыми.

Цель и задачи диссертационной работы

Цель работы заключается в разработке подходов к созданию гидрогелей на основе биоразлагаемого полимера гидроксипропилгуара с регулируемыми механическими свойствами и функциональностью, а также оценка их пригодности в качестве чернил для экструзионной 3D-печати.

Для достижения заявленной цели предполагалось решить следующие задачи:

1. Осуществить синтез фотосшиваемого метакрилированного производного гидроксипропилгуара (ГПГ-МА) и определить его молекулярные характеристики. Исследовать реологические и механические свойства ковалентно сшитых гидрогелей ГПГ-МА в зависимости от содержания метакрилатных групп и концентрации полимера.

2. Создать гидрогели с двумя типами сшивок (необратимыми ковалентными и лабильными) на основе ГПГ-МА и поли(3-(акриламидо)фенилбороновой кислоты) (ПФБК). Изучить их механические свойства, а также способность к рН-зависимому набуханию и контролируемому высвобождению антисептика.
3. Исследовать реологические свойства и структуру физических сеток, образованных карбоксиметилированными НЦ, при их сшивании ионами кальция. Определить термодинамические параметры взаимодействия нанокристаллов с Ca^{2+} и выявить механизм упрочнения геля.
4. Изучить фазовое поведение, морфологию и механические свойства двойных сеток, состоящих из ковалентно сшитой сетки ГПГ-МА и физически сшитой сетки НЦ- Ca^{2+} . С помощью современных методов визуализации (криоэлектронная микроскопия (крио-ЭМ), криоэлектронная томография) выявить трёхмерную структуру сеток, ответственную за упрочнение гелей.
5. Оценить применимость полученных композиций ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} в качестве чернил для экструзионной 3D-печати, проанализировать точность воспроизведения заданных структур и влияние жёсткой сетки НЦ- Ca^{2+} на качество печати.

Объектами исследования были выбраны гидроксипропилгуар, его производное - метакрилированный гидроксипропилгуар, а также композиции на основе метакрилированного гидроксипропилгуара и поли(3-(акриламидо)фенилбороновой кислоты) или сшитых ионами кальция карбоксиметилированных нанокристаллов целлюлозы.

Научная новизна

Впервые введены метакрилатные группы в ГПГ и получены ковалентно сшитые гели ГПГ фотосшиванием. Впервые получены гидрогели на основе ГПГ-МА с двумя типами сшивок (необратимыми и обратимыми), обладающие высокой упругостью (модуль накопления до 30

кПа) и выраженным pH-чувствительным набуханием, что позволило реализовать контролируемое высвобождение антисептика.

Впервые показано, что модуль накопления гелей из нанокристаллов целлюлозы G' аномально сильно зависит от концентрации нанокристаллов ($G' \sim C^7$), что может быть связано с ростом размеров агрегатов, образованных нанокристаллами. Впервые визуализирована структура гелей НЦ- Ca^{2+} методом криоэлектронной томографии. Впервые обнаружено, что добавление ионов кальция приводит к росту агрегатов нанокристаллов целлюлозы не только в ширину, но и в длину.

Впервые получены и систематически исследованы двойные сетки, образованные мягким ковалентно сшитым гидрогелем гидроксипропилгуара и жесткой физической сеткой из карбоксиметилированных нанокристаллов целлюлозы, сшитых ионами кальция. Показано, что включение жесткой сетки НЦ- Ca^{2+} в мягкую ковалентную сетку ГПГ-МА позволяет одновременно повысить прочность, эластичность и энергию разрушения гидрогеля.

С помощью современных методов (крио-ЭМ, криоэлектронная томография) впервые визуализирована трёхмерная структура сетки НЦ- Ca^{2+} в объеме двойной сетки. Обнаружены узлы сшивки, образованные контактами между концевыми частями нанокристаллов и их агрегатов, что объясняет механизм упрочнения геля. Впервые предложено объяснение тенденции нанокристаллов соединяться торцами. Впервые показано, что в присутствии полимера ГПГ происходит микрофазное расслоение с образованием доменов, обогащённых нанокристаллами, что способствует локальному концентрированию НЦ и упрочнению сетки.

Впервые продемонстрирована возможность использования композиций ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} в качестве чернил для экструзионной 3D-печати с последующей фиксацией формы посредством УФ-излучения. Установлено, что наличие жесткой сетки НЦ- Ca^{2+} препятствует растеканию материала, повышая точность печати и позволяя создавать детализированные пористые структуры.

Практическая значимость

Созданные гидрогели ГПГ-МА-ПФБК с двумя типами сшивок демонстрируют pH-чувствительное высвобождение антисептика, что открывает возможности для разработки «умных» антисептических покрытий, а также систем контролируемой доставки лекарственных средств, способных реагировать в ответ на изменение pH среды.

Установленные фундаментальные закономерности формирования и механического поведения двойных сеток на основе полисахаридов могут быть использованы для создания нового класса биосовместимых гидрогелей с регулируемыми свойствами. Такие гидрогели обладают механическими свойствами, сравнимыми с механическими свойствами природных тканей (хрящ), что делает их перспективными для тканевой инженерии и регенеративной медицины. Разработанные чернила для 3D-печати на основе двойных сеток позволяют получать сложные трёхмерные структуры с высокой точностью и стабильностью формы, что имеет значение для создания индивидуальных имплантатов, полимерных каркасов для клеток или «умных» повязок для заживления ран, способных дозированно высвобождать требуемые лекарства.

Методология и методы исследования

Методология работы заключалась в установлении взаимосвязей между составом, структурой и реологическими/механическими свойствами разных типов полимерных сеток: одиночных сеток, сеток с двумя типами сшивок, двойных сеток. Используемые полимеры и наночастицы были детально охарактеризованы с помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР), вискозиметрии и просвечивающей электронной микроскопии. Структуру образцов и взаимодействие компонентов изучали при помощи современных методов: малоуглового рассеяния нейтронов (МУРН), крио-ЭМ, криоэлектронной томографии, ИК-спектроскопии, УФ-спектроскопии, изотермической титрационной калориметрии. Реологические свойства образцов исследовали методом ротационной реометрии, а

механические свойства - методами одноосного сжатия и растяжения. Для оценки пригодности для 3D-печати использовали тесты на провисание нити и анализ геометрии печатных структур. Все полученные результаты характеризуются высокой воспроизводимостью с учётом приборных ошибок и разрешения методов. **Достоверность** результатов и **обоснованность** выводов обеспечиваются их соответствием большому количеству экспериментальных данных, полученных комплементарными методами, и согласием с теоретическими предсказаниями.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Введение метакрилатных групп в гидроксипропилгуар позволяет получить фотосшиваемый полимер ГПГ-МА. УФ-облучение его растворов в присутствии фотоинициатора приводит к образованию ковалентно сшитых гидрогелей.
2. Введение поли(3-(акриламидо)фенилбороновой кислоты) в ГПГ-МА позволяет получить сетку ГПГ-МА-ПФБК с двумя типами сшивок: необратимыми и лабильными. ПФБК повышает модуль упругости геля и придает ему pH-чувствительность, обеспечивающую контролируемое высвобождение антисептика.
3. Сшивание карбоксиметилированных нанокристаллов целлюлозы ионами кальция позволяет повысить модуль накопления гелей при сохранении их способности к быстрому восстановлению структуры после сдвигового разрушения. Структурной причиной усиления реологических свойств является рост агрегатов нанокристаллов в длину и ширину при сшивании нанокристаллов ионами кальция.
4. Гибкоцепной полимер ГПГ-МА и нанокристаллы целлюлозы, сшитые ионами кальция, формируют двойную сетку. Включение жесткой физической сетки нанокристаллов, сшитых ионами кальция, в мягкую ковалентную сетку ГПГ-МА одновременно повышает прочность, эластичность и энергию разрушения по сравнению с одиночной сеткой ГПГ-МА. Методами крио-ЭМ и криоэлектронной томографии впервые обнаружены фибриллоподобные агрегаты из пучков нанокристаллов, соединённых концевыми частями. Эти физические контакты

наряду со сшивками ионами кальция играют роль жертвенных связей, обеспечивающих эффективную диссипацию энергии при циклических нагрузках и полное восстановление механических свойств после снятия нагрузки.

5. Суспензии ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} являются перспективными чернилами для экструзионной 3D-печати. При скоростях сдвига, характерных для экструзии, они имеют низкую вязкость, после нанесения быстро восстанавливают высокую вязкость, а последующее УФ-облучение фиксирует форму. Точность воспроизведения формы растёт с увеличением концентрации нанокристаллов за счёт подавления растекания материала.

Личный вклад автора

Синтез, приготовление всех экспериментальных образцов, их исследование и анализ данных, полученных при помощи реометрии, УФ-спектроскопии, ИК-спектроскопии, изотермической титрационной калориметрии, а также анализ данных по 3D-печати, обработка и анализ результатов МУРН, ЯМР-спектроскопии, крио-ЭМ, криоэлектронной томографии.

Достоверность

Достоверность научных результатов обеспечена воспроизводимостью экспериментальных данных, а также согласованностью результатов, полученных различными независимыми методами исследований, и их соответствием данным, опубликованным в рецензируемых научных журналах.

Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы были представлены автором в виде устных и стендовых докладов на следующих научных конференциях: Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2022» (Москва, 11-22 апреля 2022 г.), 16-й Санкт-Петербургской конференции молодых ученых с международным участием (Санкт-Петербург, 24-27 октября 2022 г.), XIX Международной научно-практической конференции «Новые полимерные композиционные материалы. Микитаевские чтения»

(Нальчик, 3-8 июля, 2023 г.), III Зезинской школе-конференции для молодых ученых «Химия и физика полимеров» (Москва, 8-10 ноября 2023 г.), Международной научной конференции «Chemistry of Organoelement Compounds and Polymers – 2024» (Москва, 18-22 ноября 2024 г.), девятой Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры-2024» (Москва, 1-3 июля 2024 г.), IV Зезинской школе-конференции для молодых ученых «Химия и физика полимеров» (Москва, 6-8 ноября 2024 г.), Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2025» (Москва, 11-25 апреля 2025 г.), Молодёжной научной конференции «Функциональные материалы: создание, изучение, применение», (Москва, 17-18 ноября 2025 г.).

1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Настоящая диссертация направлена на создание гидрогелей на основе биоразлагаемого полимера природного происхождения ГПП с улучшенными механическими свойствами, пригодных для безотходной технологии - экструзионной 3D-печати. В литературном обзоре последовательно рассмотрены три основные стратегии повышения механической прочности гидрогелей на основе природных полимеров – использование двойных сшивок, создание двойных сеток и введение армирующих наночастиц. Далее подробно охарактеризованы НЦ как один из наиболее перспективных биоразлагаемых наполнителей для гидрогелей и обсуждены свойства гидрогелей на основе ГПП. В заключительной части проанализированы принципы экструзионной 3D-печати изделий из гидрогелей.

1.1. Основные подходы к повышению механической прочности гелей на основе природных полимеров

Традиционные синтетические гидрогели, широко применяемые в медицине, робототехнике и сельском хозяйстве, обладают рядом недостатков, главным из которых является их стойкость к биоразложению, что приводит к накоплению отходов в окружающей среде. Природные полимеры, в частности полисахариды, и их производные являются экологически безопасной альтернативой, так как они деградируют в естественных условиях [1]. Однако ключевой проблемой, ограничивающей их широкое практическое применение, остаются низкие механические свойства: модуль упругости, прочность, а также хрупкость [2]. Для решения проблемы слабой механической прочности гелей в настоящее время используются три основные стратегии: введение двойных сшивок, создание двойных сеток и получение нанокомпозитных гелей.

1.1.1. Двойные сшивки

Первый подход к усилению механических свойств гидрогелей состоит в формировании двух типов сшивок: необратимых (ковалентных) и обратимых (лабильных). Необратимые сшивки обеспечивают структурную целостность и упругость сетки [3]. Лабильные сшивки (Рис. 1.1.) выполняют роль жертвенных, диссипируя энергию при деформации и снимая локальные напряжения с ковалентных связей, тем самым предотвращая разрушение геля. После снятия нагрузки лабильные сшивки восстанавливаются, придавая гелю способность к самовосстановлению [4]. Обратимые сшивки образованы, как правило, лабильными взаимодействиями: электростатическими [5], гидрофобными [6], π -катионными, водородными связями [4], динамическими ковалентными связями [7,8], образованием комплексов «гость–хозяин» [9] и т.д. Выбор конкретной комбинации необратимых ковалентных и лабильных сшивок определяется желаемыми свойствами геля.

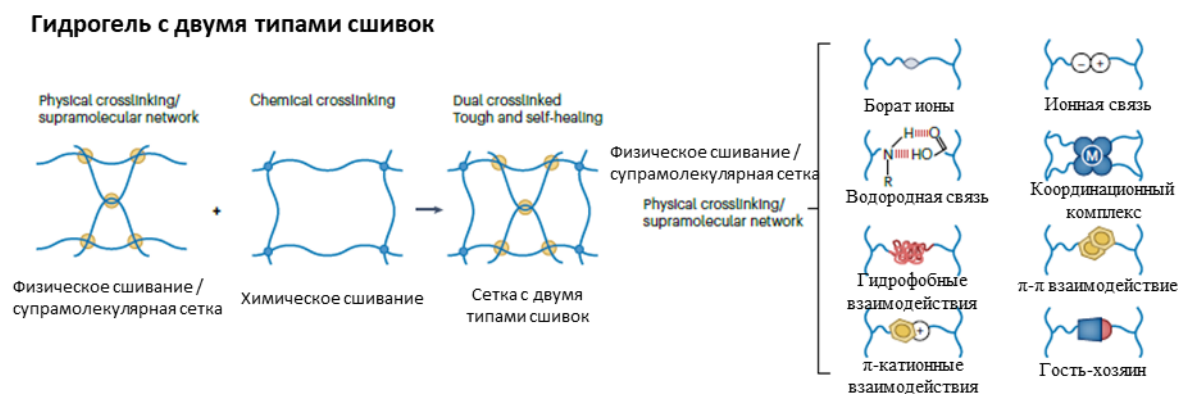


Рисунок 1.1. Схематическое изображение фрагмента гидрогеля с двумя типами сшивок: необратимыми и обратимыми [10].

В работе [11] Milne с соавторами разработали гель гиалуроновой кислоты, который предназначен для инъекций и последующего быстрого упрочнения в месте нанесения с целью герметизации ран. Для этого они использовали гиалуроновую кислоту, которая была последовательно модифицирована с введением альдегидных и метакрилатных групп. Первая

стадия гелеобразования протекала с формированием динамических ковалентных связей: альдегидные группы реагировали с дигидразидным сшивателем (DTPH), образуя основания Шиффа. При инъекции лабильные сшивки частично разрушаются, что понижает вязкость и позволяет материалу заполнять нужные области. В покое лабильные сшивки восстанавливаются, повышая модуль упругости геля до 0,5 кПа. После введения геля в место назначения проводили вторую стадию – радикальную фотополимеризацию метакрилатных групп под действием УФ-излучения, что формировало необратимые ковалентные сшивки (Рис. 1.2). Модуль упругости возрастал до 13–34 кПа (в зависимости от содержания метакрилатных групп), а скорость ферментативного разложения резко замедлялась. Сочетание обратимой и необратимой сшивок позволило получить гель, который выдерживал давление в 1,5 раза выше, чем используемый в настоящее время в качестве хирургического клея коммерческий гель на основе альбумина, сшитого глутаральдегидом, при сохранении высокой жизнеспособности клеток.

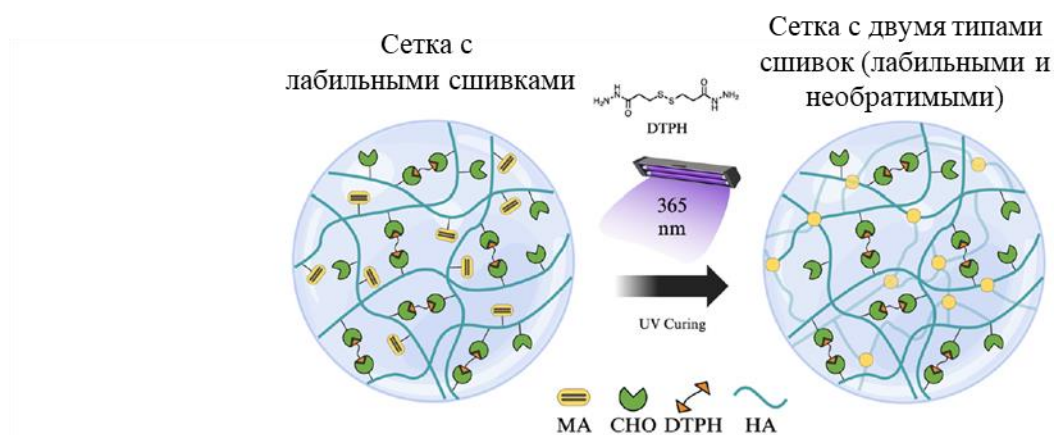


Рисунок 1.2. Схематическое изображение сетки гиалуроновой кислоты (HA), содержащей лабильные сшивки за счет взаимодействия альдегидных групп (CHO) с дигидразидом (DTPH), которую подвергают УФ-облучению с целью формирования второго типа сшивок – прочных ковалентных сшивок за счет фотополимеризации метакрилатных групп (MA) [11].

Для раневых повязок, заполняющих глубокие и геометрически сложные дефекты, ключевыми требованиями выступают легкость инъекции, способность к самовосстановлению после инъекции и значительные обратимые деформации, обеспечивающие адаптацию к

подвижности окружающих тканей. Исходя из этих требований, Ни с соавт. [5] разработали аморфные гидрогели на основе N-карбоксиметилхитозана (CMC) и альгината натрия (ALG), содержащие два типа обратимых сшивок (Рис. 1.3а). Первый тип сшивок был образован электростатическим взаимодействием катионных аминогрупп хитозана с анионными карбоксилатными группами альгината натрия. Второй тип сшивок был сформирован взаимодействием двухвалентных катионов Ca^{2+} с карбоксилатными группами α -L-гулуронатных блоков альгината натрия. Оптимальное соотношение двух указанных типов сшивок позволило преодолеть недостаток, характерный для альгинатных гелей с одним типом ионных сшивок, - вымывание катионов и вызванную этим потерю механической целостности в водной среде - и одновременно обеспечить высокую эластичность. Модуль упругости G' достигал 500 Па, что сопоставимо с модулем упругости кожи, а предельная деформация – 60 % (Рис 1.3б). После введения в гель фактора роста EGF гидрогель сохранял эластические свойства ($G' \approx 400$ Па) и обеспечивал пролонгированное высвобождение белка в течение нескольких суток, что ускоряло процесс заживления ран *in vivo*.

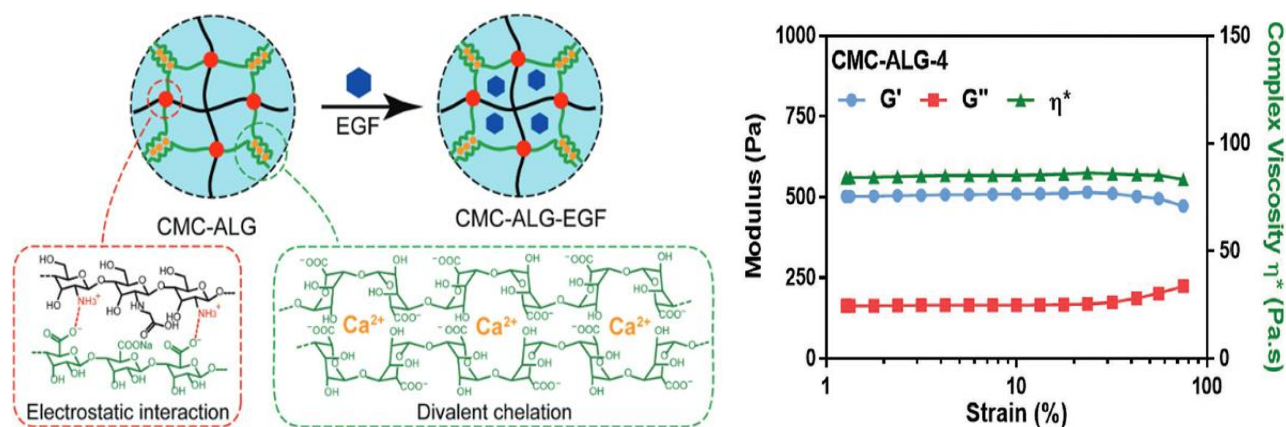


Рисунок 1.3. а) Схематическое изображение гидрогелей N-карбоксиметилхитозана (CMC) и альгината натрия (ALG) с двумя типами нековалентных сшивок, указанными на рисунке, до и после добавления фактора роста (EGF). б) Зависимости динамических модулей и комплексной вязкости от амплитуды деформации для указанного гидрогеля до введения фактора роста [5].

Таким образом, использование двух типов обратимых сшивок позволило получить инъекционное раневое покрытие, которое по модулю упругости сопоставимо с кожей, выдерживает значительные обратимые деформации без разрушения и обеспечивает длительную функциональную стабильность физиологической среде.

Для одних целей (создание раневых повязок) требуются мягкие сетки и поэтому для них используются подходы Milne [11] и Hu [5], однако в случае, когда необходимы высокая прочность и устойчивость к циклическим нагрузкам (например, для искусственных кровеносных сосудов или материалов для тканевой инженерии), Zhao с соавторами [4] использовали другой подход. Сначала в растворе целлюлозы, содержащем LiOH и мочевины, проводили химическое сшивание гидроксильных групп эпихлоргидрином (ECH), что приводило к формированию необратимых ковалентных сшивок. Затем помещали гель в водно-этанольный раствор. На этом этапе возникали водородные связи между макромолекулами и формировались кристаллиты целлюлозы II, которые выполняли роль обратимых физических сшивок (Рис. 1.4а). Таким образом, полученные гидрогели с двумя типами сшивок сочетали жесткие ковалентные и обратимые физические сшивки. Механические испытания показали, что в результате напряжение при сжатии достигало 4,8 МПа при деформации 74 %, а энергия разрушения возрастала на три порядка по сравнению с целлюлозой, сшитой только ковалентно. Такое упрочнение авторы объяснили синергетическим действием двух типов связей, при котором ковалентные сшивки служили «жертвенными связями», необратимо разрываясь и диссипируя энергию, тогда как водородные связи и кристаллиты поддерживали целостность геля, обеспечивая высокую упругость и быстрое восстановление формы после снятия напряжения. Полученные гидрогели выдерживали 100 последовательных циклов нагрузка–разгрузка без существенной пластической деформации (Рис. 1.4б). При этом значительную петлю гистерезиса наблюдали только в первом цикле: необратимое разрушение ковалентных «жертвенных связей» (ECH-сшивок) обеспечивало эффективную диссипацию энергии. В последующих циклах гистерезис резко уменьшался, поскольку нагрузка

перераспределялась на обратимую физическую сетку — водородные связи и кристаллы целлюлозы, которые после снятия напряжения быстро восстанавливаются, придавая материалу упругое поведение. Такая последовательность разрушения была обусловлена архитектурой сетки: короткие и жёсткие ковалентные мостики, образованные эпихлоргидрином, концентрируют на себе локальные напряжения, тогда как многочисленные водородные связи распределены вдоль полимерных цепей и способны к обратимому разрушению и рекомбинации без нарушения целостности материала.

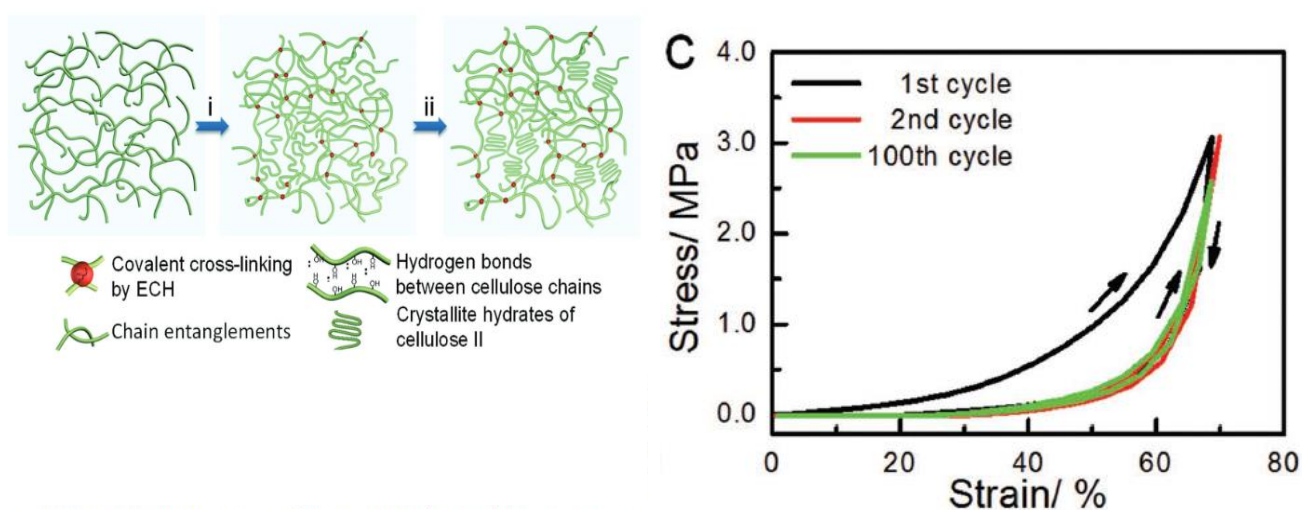


Рисунок 1.4. а) Схематическое изображение получения гидрогелей целлюлозы с двумя типами сшивок. i) Химическое сшивание с помощью эпихлоргидрина (ECH) и ii) физическое сшивание в водно-этанольном растворе. Иллюстрация сетчатой структуры гидрогеля целлюлозы с двумя типами сшивок. б) Кривые напряжение–деформация при сжатии этого гидрогеля для 1-го, 2-го и 100-го циклов при деформации 70 % в режиме циклического теста [4].

Таким образом, стратегия двух типов сшивок представляет собой универсальный инструмент для кардинального улучшения механических и функциональных свойств гидрогелей на основе природных полимеров, открывая путь к созданию материалов с поведением, адаптированным к конкретным задачам от регенерации костной ткани до инъекционных раневых повязок и хирургического клея.

1.1.2. Двойные сетки

Гидрогели, построенные на основе двойных полимерных сеток, являются в настоящее время одним из наиболее перспективных полимерных материалов [12]. Такие гидрогели обладают выдающимися механическими характеристиками, на несколько порядков превосходящими свойства “традиционных” полимерных гелей, содержащих одну сшитую полимерную сетку. Их предел прочности на разрыв составляет порядка 10–100 кПа, а энергия разрыва порядка 10–100 Дж/м² [13]. Многочисленные исследования показали, что гидрогели на основе двойной сетки имеют механические свойства (модуль упругости, механическую прочность, сопротивление распространению трещин), сравнимые со свойствами резины и мягких биологических тканей (Рис. 1.5) [14-17].

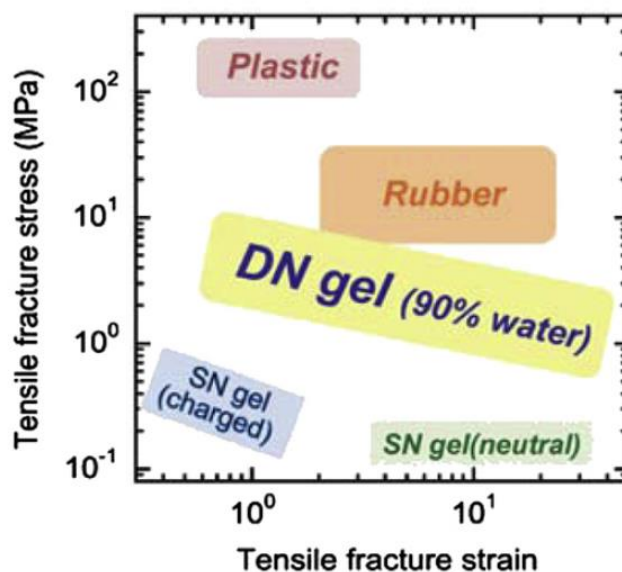


Рисунок 1.5. Зависимость напряжения разрыва при растяжении от деформации для разных полимерных материалов: гелей на основе двойных сеток (DN gel), пластмасс (plastic), резин (rubber), заряженных гелей (SN gel (charged)) и незаряженных гелей (SN gel (neutral)) на основе одной полимерной сетки [18].

Способ создания двойных сеток, который существенно улучшил механические свойства гидрогелей, был предложен японскими учеными Ж.П. Гонг (J.P. Gong) и Й. Осада (Y. Osada) [12].

Он заключается в создании двух взаимопроникающих полимерных сеток с сильно отличающимися свойствами: первая сетка обычно образована сильно сшитым и жестким полиэлектролитом, а вторая – слабо сшитым и гибким незаряженным полимером. При механической деформации происходит разрыв связей (называемых “жертвенными”) в первой сетке, которая, как правило, густо сшитая и хрупкая (Рис. 1.6). Ее разрушение сопровождается значительной диссипацией энергии в достаточно большом объеме, что препятствует распространению разрыва и разрушению всего геля [19]. При этом вторая, слабо сшитая сетка упруго деформируется и поддерживает эластичность геля [19]. Обычно такого эффекта добиваются, используя значительно большие концентрации полимера во второй сетке, чем в первой. Двойные сетки могут быть получены как двухстадийным последовательным синтезом первой и второй сетки, так и одностадийным способом. В первом случае синтеза двойных сеток важным условием является набухание синтезированной первой сетки в растворе мономера второй сетки, что вызывает растяжение субцепей в первой сетке, придавая ей жесткость и хрупкость. Во втором случае – все компоненты для синтеза обеих сеток смешивают одновременно. Такой подход обычно используют, когда хотя бы одна из сеток формируется за счёт обратимых нековалентных взаимодействий.



Рисунок 1.6. Схематическое изображение строения двойной сетки [18].

Благодаря уникальным механическим свойствам гидрогели на основе двойных сеток перспективны для ряда приложений. Биосовместимые двойные сетки могут служить заменителями повреждённых тканей, испытывающих высокие и многократные нагрузки - например, суставного хряща [20,21] и костной ткани [22]. На основе двойных сеток, восприимчивых к различным воздействиям, разрабатывают «мягкие» манипуляторы для робототехники [23], а двойные сетки с анизотропией свойств применяют для создания искусственных мышц [24]. Благодаря способности к большим обратимым деформациям двойные сетки используются в носимой электронике и сенсорах, крепящихся на кожу [25]. Описано также применение двойных сеток с квантовыми точками для голографических дисплеев [26]. Двойные сетки всё чаще служат материалами для 3D-печати [27,28], обеспечивая бóльшую прочность изделий по сравнению с гидрогелями на основе одной сетки [29]. В настоящее время 3D-печать биосовместимых двойных сеток рассматривается как инновационный подход к персонализированной регенерации тканей [30].

1.1.2.1. Ковалентно сшитые двойные сетки

Первые работы по двойным сеткам были посвящены полимерным сеткам, в которых каждая из сеток была сшита прочными ковалентными сшивками. Например, первая из предложенных двойных сеток состояла из заряженной сетки поли(2-акриламидо-2-метилпропансульфокислоты) (ПАМПС) (первая сетка) и незаряженной сетки из полиакриламида (ПАА) (вторая сетка). Наличие полиэлектролита было необходимо для обеспечения совместимости в системе, поскольку в данном случае сегрегативное фазовое разделение обоих полимерных компонентов привело бы к концентрированию противоионов в одной из фаз, что невыгодно с точки зрения их трансляционной энтропии. Двойную сетку получали двухстадийным методом радикальной полимеризации каждой сетки в присутствии сшивателя и инициатора. Удалось добиться значительного увеличения механического напряжения, которое гель выдерживал до разрушения

при сжатии: для двойных сеток его значение достигало 17,2 МПа, а для аналогичных одиночных сеток ПАМПС и ПАА – 0,4 и 0,8 МПа, соответственно (Рис. 1.7) [12].

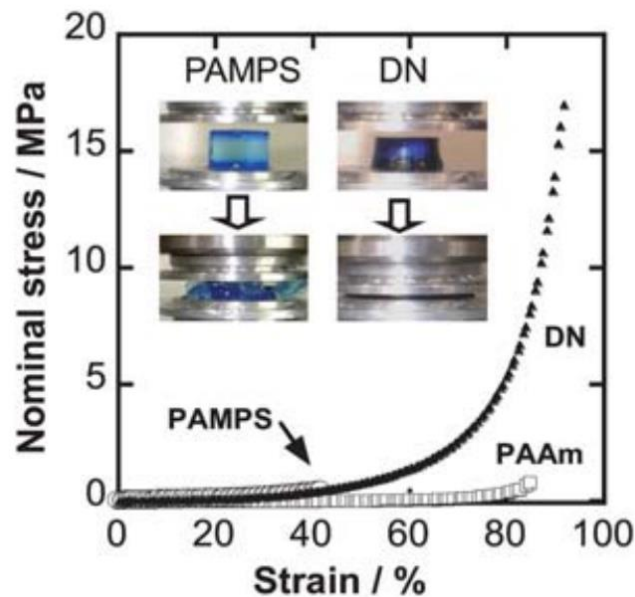


Рисунок 1.7. Кривые зависимости напряжения от деформации при сжатии для гелей на основе двойной сетки ПАМПС/ПАА (DN) и одиночных сеток ПАМПС (PAMPS) и ПАА (PAAm) [12].

Позже были получены разные примеры ковалентно сшитых двойных сеток, в которых в качестве одной из сеток были биополимеры, такие как целлюлоза [31], хитин [32], крахмал [33]. В работе [33] предложена двойная сетка на основе природного кукурузного крахмала (первая сетка) и ПАА (вторая сетка). Ее получали одностадийным методом в присутствии сшивателя для каждой сетки и инициатора. Синтезированная таким образом двойная сетка из ковалентно сшитого крахмала и ковалентно сшитого ПАА была дополнительно стабилизирована водородными связями между -ОН группами крахмала и -NH₂ группами ПАА. Полученный гидрогель показал высокую гибкость (Рис. 1.8) (деформация на сжатие - 80%, на растяжение - 135%), прочность на сжатие составила 37,7 кПа, что в три раза выше, чем для одиночной сетки крахмала (12,6 кПа). Двойная сетка выдерживала 1000 циклов сжатия при сохранении механических свойств.

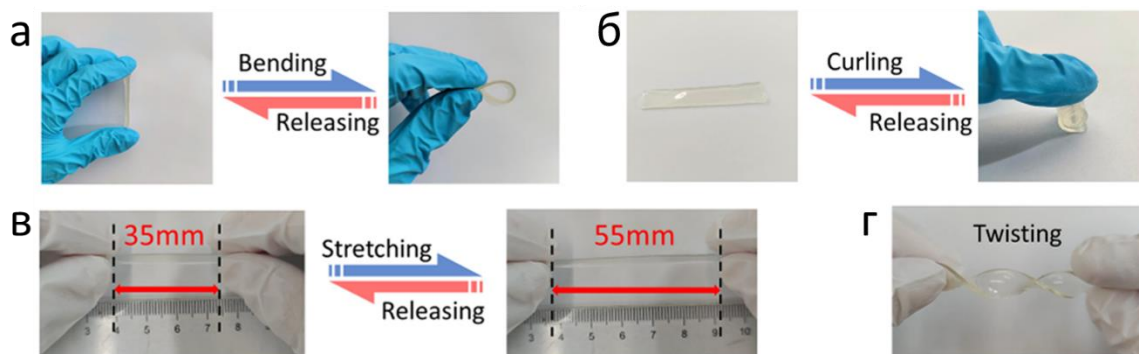


Рисунок 1.8. Разные виды деформаций для геля на основе двойной сетки крахмал/ПАА: а) изгиб, б) сворачивание, в) растяжение и г) закручивание в спираль [33].

Однако большинство ковалентно сшитых двойных сеток, которые изначально обладают высокой прочностью, уже после первой деформации теряют свои механические свойства из-за необратимого разрыва “жертвенных” связей и разрушения первой сетки. В результате при второй и последующих деформациях механическая прочность материала оказывается на несколько порядков меньше, чем у исходного геля [18]. В связи с этим следующим этапом стало создание двойных сеток, в которых связи в первой сетке способны обратимо разрываться и рекомбинировать.

1.1.2.2. Двойные сетки с одним лабильным компонентом

Чтобы избежать необратимого разрыва связей в жертвенной сетке, начали получать двойные сетки, в которых первая сетка образована за счет лабильных динамических связей, способных к обратимому разрыву и восстановлению, а вторая сшита прочными ковалентными связями. При этом первая сетка может представлять собой как полимерную сетку с лабильными сшивками, так и супрамолекулярную сетку, построенную за счет обратимой агрегации малых молекул.

В классической работе Sun и соавторов [34] был получен гидрогель альгинат натрия (ионное сшивание ионами Ca^{2+}) / ПАА (ковалентное сшивание). Такие гели с содержанием воды около 86 вес.% обладали энергией разрыва до 9000 Дж/м^2 , что сравнимо с натуральным каучуком, и способностью к значительным обратимым деформациям порядка 2000%, значительно

превышающим соответствующие значения для однокомпонентных сеток. Кроме того, их механические свойства оказались мало чувствительны к надрезам: образцы с надрезом выдерживали растяжение до 17 раз (Рис.1.9а). В этих гелях сетка альгината, сшитая ионами кальция, последовательно разрушается, рассеивая энергию, а ковалентная сетка предотвращает рост трещины. При этом гели способны к частичному (до 74%) самовосстановлению механических свойств после выдержки при 80 °С в течение суток (Рис.1.9б). Неполное восстановление авторы объясняют сложностью рекомбинации ионных сшивок между молекулами альгината натрия, которые являются кооперативными (они образованы одновременно десятками ионов), внутри геля ПАА. В работе Li и соавторов [13] удалось добиться дальнейшего усиления механических свойств гелей альгинат/ПАА за счёт использования смеси длинноцепочечного (200 000 г/моль) и короткоцепочечного (30 000 г/моль) альгината натрия. При этом энергия разрушения возросла до 16 кДж/м² при сохранении высокого модуля упругости примерно 1 МПа.

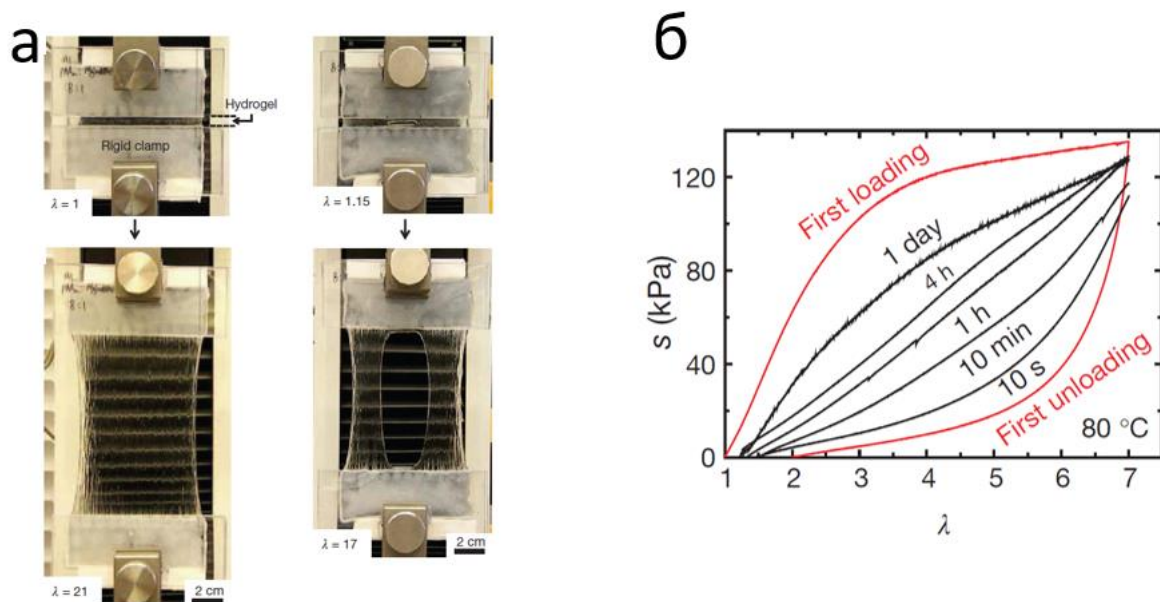


Рисунок 1.9. а) Гели на основе двойной сетки альгинат натрия/ПАА без надреза и с надрезом, растянутые в 21 и в 17 раз, соответственно. б) Восстановление образцов того же геля без надреза после выдерживания при 80 °С в течение разного времени, указанного на рисунке [34].

В ряде работ предложены двойные сетки, в которых в качестве лабильных сшивок в первой сетке выступают динамические ковалентные связи между борат-ионами и полиолами. Динамическая ковалентная связь – это ковалентная связь с невысокой энергией связи, которая может обратимо разрываться и восстанавливаться в равновесных условиях при внешних стимулах (температура, pH, катализатор). В отличие от обычных ковалентных связей (например, C–C связи с энергией ~350 кДж/моль), у динамически ковалентных связей активационный барьер обратной реакции намного ниже, что достигается наличием альтернативных путей (участие воды, катализ, стабилизация радикалов) протекания реакции [35]. Именно поэтому динамически ковалентные связи могут быть лабильны даже при комнатной температуре [35, 36], позволяя молекулярным системам перестраиваться и обмениваться фрагментами. Так, в работе [37] синтезированы гели ГПГ, сшитого борат-ионами (первая сетка), и ковалентно сшитого ПАА (вторая сетка), и показано, что они способны к достаточно быстрому самовосстановлению (за 8 мин при комнатной температуре) и обладают восприимчивостью к pH. Данные гидрогели демонстрируют высокую механическую прочность (напряжение разрушения до 843 кПа) и большое растяжение (до 1400%). При этом характер деформационного поведения зависит от величины нагрузки. При малых деформациях наблюдается самовосстановление: боратные сшивки между цепями ГПГ разрываются лишь частично и вновь образуются после снятия нагрузки. При больших деформациях наблюдается эффект самоусиления: после разрыва боратных сшивок цепи ГПГ распрямляются и переориентируются вдоль оси растяжения, эффективно перераспределяя нагрузку, а ковалентная сетка ПАА дополнительно укрепляется за счёт деформационного упрочнения (напряжение продолжает расти по мере вытягивания).

Сначала двойные сетки, содержащие жертвенную сетку с лабильными сшивками, часто формировали из комбинации синтетического (например, ПАА) и природного полимера. В работе [38] впервые предложена альтернативная стратегия, в которой обе сетки были образованы природными полимерами, что обеспечило высокую биоразлагаемость и биосовместимость.

Первая сетка была образована альгинатом натрия, а вторая - катехол-модифицированной гиалуроновой кислотой. Ионное сшивание первой сетки проводили ионами Ca^{2+} , а ковалентное сшивание второй сетки происходило за счёт ферментативной реакции в присутствии перекиси водорода. Полученные гидрогели демонстрировали высокую энергию разрушения (до 1217 Дж/м²) и деформацию (удлинение до 112%), а также способность к полному восстановлению механических свойств за 30 мин при 37°C.

Таким образом, замена в первой сетке необратимых ковалентных сшивок на лабильные сшивки позволяет придать двойным сеткам способность к восстановлению механических свойств после первой деформации. Однако если происходит хотя бы частичное разрушение ковалентно сшитой второй сетки, то полное восстановление механических свойств становится невозможным. В связи с этим последние годы начали создавать двойные сетки, построенные полностью на основе лабильных связей.

1.1.2.3. Двойные сетки с двумя лабильными компонентами

В работе [39] авторы создали гидрогель из поливинилового спирта и сополимера акриламида и акриловой кислоты без ковалентных сшивок. Первая сетка формировалась за счет кристаллических доменов поливинилового спирта, образующихся при циклах замораживания-оттаивания. Вторая – за счет водородных связей между цепями сополимера акриламида и акриловой кислоты. Такой гидрогель демонстрировал высокие механические свойства: прочность при растяжении до 1230 кПа и удлинение при разрыве около 550%. Материал был способен к самозаживлению после разрезания: при комнатной температуре разрезанные поверхности срастались при 37 °C в течение 12 часов за счёт обратимых водородных связей, и восстановленный образец мог растягиваться до 200%. Однако полного восстановления исходных свойств не происходило, поскольку кристаллические домены поливинилового спирта при разрушении не могут восстанавливаться при комнатной температуре – для их регенерации требуется повторное замораживание-оттаивание.

Созданы двойные сетки с двумя лабильными компонентами и на основе природных полимеров. В качестве природных полимеров чаще всего использовали полисахариды. Так, в работе [40] получены двойные сетки с нековалентными сшивками на основе агара, спирали которого агрегируют между собой за счет водородных связей, сшивая таким образом макромолекулы друг с другом, и гидрофобно модифицированного ПАА, сшитого гидрофобными доменами, образованными за счет агрегации боковых гидрофобных групп, принадлежащих разным макромолекулам гидрофобно модифицированного ПАА. Для таких двойных сеток наблюдалось лишь частичное восстановление механических свойств после деформации (на 40%). Это связано с тем, что сетка модифицированного ПАА восстанавливается быстро и эффективно за счёт обратимых гидрофобных взаимодействий, а для восстановления сетки агара требуются высокие температуры (около 100 °С), чтобы восстановить разрушенные связи между макромолекулами.

Таким образом, нековалентные сшивки в обеих полимерных сетках улучшают механические свойства физически сшитых гидрогелей, а также способность к частичному самовосстановлению и быстрой регенерации свойств после деформации за счёт динамического характера физических связей. Кроме того, они позволяют снизить высокую жёсткость, присущую химически сшитым гидрогелям, и повысить энергию разрыва. В то же время механические свойства таких сеток слабее, чем у сеток, содержащих один ковалентно сшитый компонент. В связи с этим представляются наиболее перспективными для дальнейшего развития двойные сетки, содержащие одну сетку с лабильными сшивками, а другую – с ковалентными сшивками.

1.1.3. Нанокompозитные сетки

Еще одним подходом к повышению прочности полимерных гелей является введение в них наночастиц с получением нанокompозитных гелей [41]. В последние несколько лет подходы, связанные с созданием двойных сеток и нанокompозитных гелей, начали комбинировать [42].

Исследования проводили по двум основным направлениям: диспергирование наночастиц в двойной сетке [42] или введение сетчатой структуры, образованной наночастицами вместо одной из полимерных сеток [43]. Использовали наночастицы на основе металлов [44], оксидов металлов [45], глины [43], углеродных наноматериалов [46] и биополимеров [47]. Каждый тип наночастиц обладает специфическими свойствами, которые делают его пригодным для конкретных целей.

1.1.3.1. Неорганические наночастицы

В работе [43] предложена нанокомпозитная двойная сетка, в которой первую (жесткую) сетку образуют перколированные нанотрубки глины галлуазит (НТГ), а вторую (мягкую) – альгинат натрия, сшитый ионами кальция. Важной особенностью является то, что нанотрубки покрыты цепями адсорбированного альгината натрия, поэтому ионы Ca^{2+} сшивают как свободные цепи альгината, так и цепи, адсорбированные на поверхности нанотрубок, что дополнительно упрочняет сетку перколированных нанотрубок. Введение жесткого наполнителя в мягкую полимерную сетку приводит к значительному росту модуля упругости (до 2 кПа) и предела текучести (до 327 Па). Благодаря тому, что обе сетки образованы лабильными (физическими) сшивками, система течёт при сдвиговом напряжении (вязкость падает на 4–5 порядков) и быстро восстанавливает исходные реологические свойства в покое (Рис. 1.10). Полное восстановление вязкости происходит за 18 с. Наиболее значительный эффект наблюдался, когда нанотрубки образуют собственную перколяционную сетку. Эти свойства делают предложенную систему перспективной для использования в экструзионной 3D-печати.

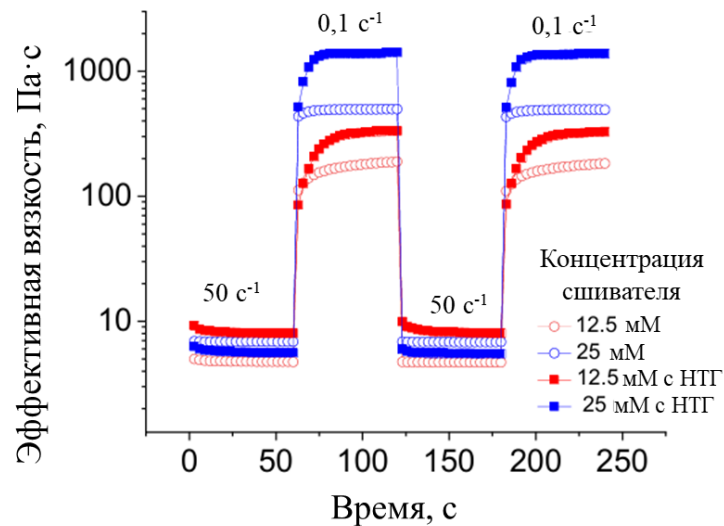


Рисунок 1.10. Восстановление вязкости после периодического изменения скорости сдвига (50 с^{-1} в течение 60 с, $0,1 \text{ с}^{-1}$ в течение 60 с и т.д.) для 2,7 вес.% альгината натрия, сшитого 12,5 мМ (красные символы) или 25 мМ (синие символы) хлоридом кальция в воде в отсутствие нанотрубок галлуазита (НТГ, пустые символы) и в присутствии 5,4 об.% нанотрубок (закрашенные символы) [43].

Помимо усиления механических свойств, введение наночастиц в двойные сетки позволяет наделить гидрогели дополнительными функциональными возможностями, такими как отклик на магнитное поле. В статье [45] получены самозаживляющиеся двойные сетки на основе хитозана (физическая сетка зацеплений) и терполимера акриловой кислоты, акриламида и дофамин-функционализированного акриламида, который сшивали наночастицами Fe_3O_4 , образующими лабильные связи с дофаминовыми группами. Благодаря обратимости всех сшивок гидрогели обладали способностью к самозаживлению (Рис. 1.11). Материалы демонстрируют сильный отклик на внешнее магнитное поле (Рис. 1.11), высокую механическую прочность ($>2 \text{ МПа}$), хорошую совместимость с клетками и могут быть использованы для 3D-печати в биомедицинских приложениях.

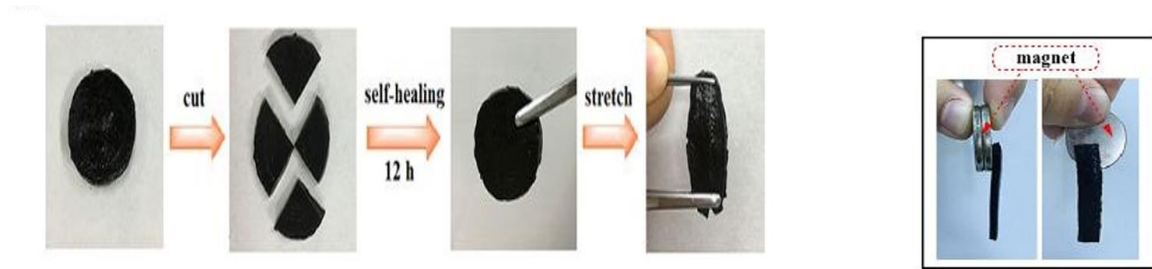


Рисунок 1.11. а) Самозаживление двойной сетки, содержащей сетку зацеплений на основе хитозана и сетку терполимера акриловой кислоты, акриламида и дофамин-функционализированного акриламида, сшитого наночастицами Fe_3O_4 , после разрезания; б) притяжение двойной сетки к магниту [45].

1.1.3.2. Органические наночастицы

По сравнению с неорганическими наночастицами, органические наночастицы обладают рядом преимуществ: они биоразлагаемы, биосовместимы, нетоксичны и могут быть получены из возобновляемых источников. Из органических наночастиц наиболее доступны наночастицы на основе целлюлозы. Они широко используются в приготовлении нанокомпозитных гидрогелей, благодаря высокому модулю упругости, высокой удельной поверхности и низкой плотности. Важно также, что наноцеллюлоза хорошо взаимодействует с гидрофильными полимерами, благодаря наличию большого количества гидроксильных групп.

Целлюлоза — это полисахарид, являющийся основным структурным компонентом клеточных стенок растений. Это самый распространённый на Земле полимер [48]. Доказано, что целлюлоза и большинство ее производных нетоксичны для человека [49]. Целлюлоза имеет значительное количество функциональных групп, что обеспечивает возможность ее модификации. В настоящее время используют главным образом два типа наночастиц на основе целлюлозы: нанокристаллы и нанофибриллы.

В работе [50] вводили НЦ в альгинатные гидрогели для улучшения механической прочности и адсорбционной способности. В работе [51] вводили нанофибриллы целлюлозы в альгинатные гидрогели, что приводило к увеличению модуля Юнга, а также прочности на разрыв и на сжатие.

Перспективным органическим нанонаполнителем являются также нанокристаллы хитина, второго по распространённости полимера после целлюлозы [52]. В работе [47] показано, что нанокристаллы хитина могут выступать в роли многофункциональных физических сшивателей для ПАА. Чтобы предотвратить агрегацию нанокристаллов хитина друг с другом, поверхность нанокристаллов предварительно модифицировали хитозаном, что обеспечивало стабильную дисперсию. В результате свободнорадикальной полимеризации акриламида в присутствии модифицированных нанокристаллов хитина были получены нанокомпозитные гидрогели, которые продемонстрировали исключительно высокое относительное удлинение при разрыве -до 3070%. Максимальная прочность при растяжении составляла 90 кПа, причём после 2000% деформации образцы почти полностью восстанавливали исходную форму, остаточная деформация была близка к нулю. Модуль сдвига G' возрастал на 61% по сравнению с чистым ПАА. Улучшение свойств объясняли образованием водородных связей между амидными группами ПАА и гидроксильными и ацетамидными группами на поверхности нанокристаллов хитина, а также формированием жёсткой трёхмерной сетки из нанокристаллов. Помимо нанокристаллов хитина используют также нанофибриллы хитина. Так, в работе [53] были получены плёнки на основе полиакриловой кислоты (ПАК), содержащие 1–3 вес.% нанофибрилл β -хитина (диаметр ~ 4 нм, отношение сторон >250). Показано, что нанофибриллы хитина образуют с матрицей ПАК сетку водородных и ковалентных связей. Армирование композита наиболее выражено при высокой температуре, когда чистая ПАК уменьшает модуль упругости. При нагреве до 200 °C (выше температуры стеклования ПАК) ПАК без хитина переходит в вязкотекучее состояние, тогда как композит с нанофибриллами хитина имеет модуль накопления 198 МПа, сохраняя упругое поведение до 250 °C. При 100%-ной относительной влажности, когда вода пластифицирует ПАК и снижает его модуль Юнга до 0,85 МПа, тот же композит имеет модуль >85 МПа. Таким образом, нанофибриллы хитина выступают как термо- и влагостойкий армирующий каркас.

Таким образом, каждый из рассмотренных подходов (двойные сшивки, двойные сетки, введение наночастиц) позволяет улучшить механические свойства гидрогелей, однако ни один из них не является универсальным. Выбор конкретной стратегии зависит от требуемого баланса между прочностью, эластичностью, способностью к самовосстановлению и чувствительностью к внешним стимулам, что определяется областью применения.

1.2. Нанокристаллы целлюлозы

1.2.1. Структура и морфология

НЦ - новый уникальный тип наноматериала, получаемый из целлюлозы. Макромолекулы целлюлозы в клеточных стенках растений и бактерий упакованы в микрофибриллы, в которых чередуются кристаллические и аморфные области (Рис. 1.12). НЦ обычно получают кислотным гидролизом аморфных доменов, в результате чего остаются палочкообразные нанокристаллы (шириной 4–70 нм и длиной ~100–500 нм [54]). Внутри НЦ молекулы целлюлозы расположены параллельно друг другу со спиральным закручиванием и удерживаются вместе водородными связями [55]. Кристаллическая структура целлюлозы I (естественная форма) существует в двух полиморфных модификациях: I_α (триклинной) и I_β (моноклинной). Преобладающая модификация определяется источником целлюлозы: I_β доминирует в высших растениях, а I_α - в бактериальной целлюлозе и водорослях. Будучи полученными из возобновляемых неисчерпаемых природных источников, НЦ являются экологически чистыми, биосовместимыми и биоразлагаемыми. Они обладают высокой кристаллическостью (54–88%) [56], большой удельной площадью поверхности (800 м²/г) [57] и высокой прочностью (модуль упругости 110–220 ГПа, предел прочности на разрыв 7,5–7,7 ГПа) [55].

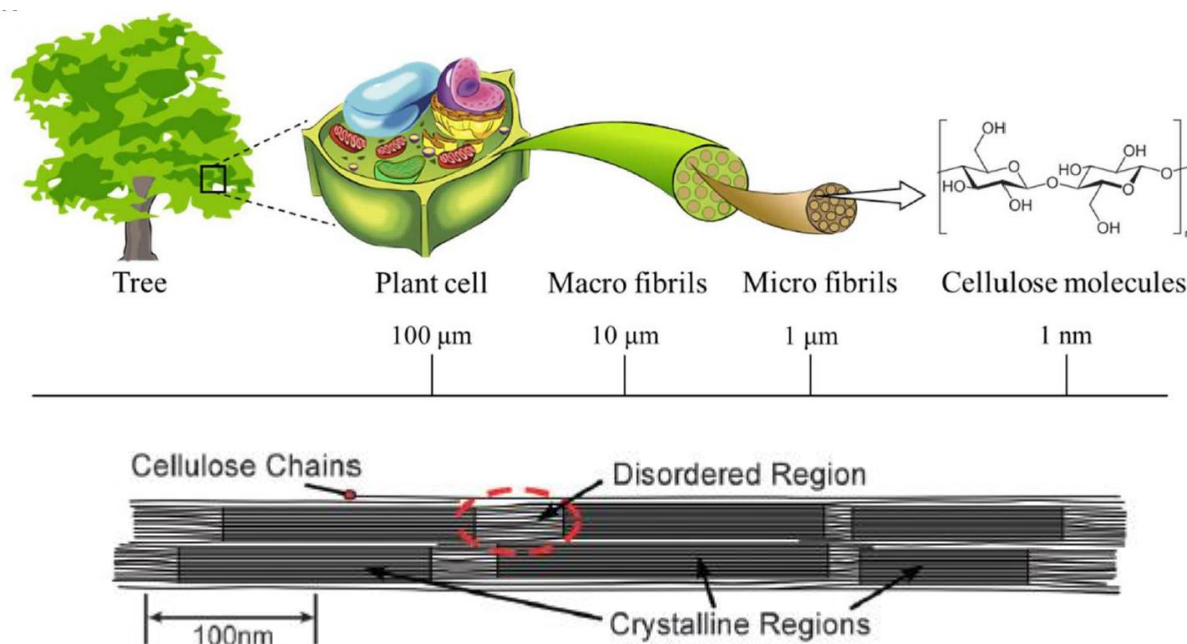


Рисунок 1.12. а) Иерархическая структура целлюлозы от метрового до нанометрового масштаба [49]. б) Модель микрофибриллы целлюлозы, состоящей из кристаллических и аморфных областей [55].

1.2.2. Методы получения

Чаще всего для получения НЦ используется серная кислота. В ходе гидролиза (Рис. 1.13) она не только разрушает аморфные участки целлюлозы, но и вызывает этерификацию поверхностных гидроксильных групп, замещая их на отрицательно заряженные $-\text{OSO}_3^-$ группы, которые создают электростатическое отталкивание, стабилизирующее суспензии нанокристаллов в воде. Отрицательно заряженные НЦ также могут быть получены взаимодействием 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксила (TEMPO) с НЦ, которое приводит к появлению карбоксилатных групп на поверхности нанокристаллов [58].

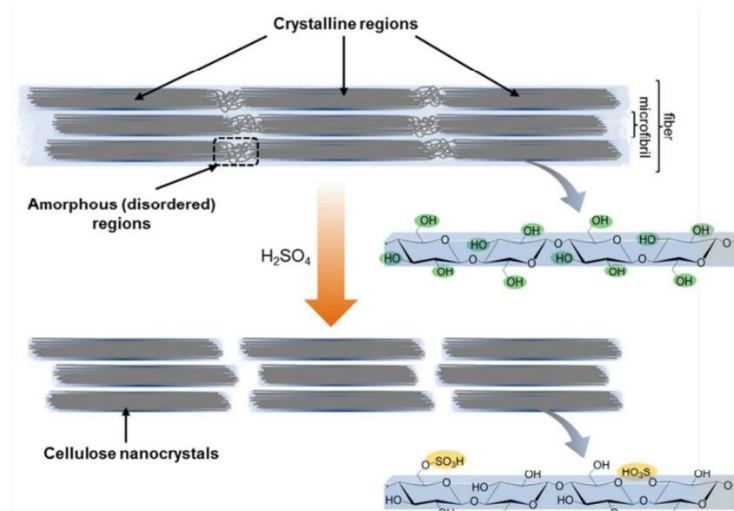


Рисунок 1.13. Схематическое изображение получения нанокристаллов целлюлозы с использованием серной кислоты [59].

1.2.3. Гидрогели на основе нанокристаллов целлюлозы

НЦ часто используются в качестве наполнителей для приготовления полимерных нанокомпозитов [60-62], но они также могут сами образовывать коллоидные гели. Такие гели основаны на перколяционной сетке НЦ, стабилизированной водородными связями между нанокристаллами. Гели НЦ можно получать без каких-либо добавок, даже если нанокристаллы одинаково заряжены, но для гелеобразования требуется довольно высокая концентрация нанокристаллов [63]. Недавно Льюис с соавторами [64] предложили использовать циклы замораживания-оттаивания для получения гелей НЦ (Рис.1.14а). В этом случае физическое ограничение пространства для НЦ между растущими доменами кристаллов льда вызывало агрегацию наностержней, которая приводила к упрочнению геля. В результате циклов замораживания-оттаивания модуль упругости суспензий НЦ увеличивался более, чем на два порядка, с 0,4 до 150 Па (Рис. 1.14б) при довольно низкой концентрации НЦ 4 вес.% [64]. Позже Ли с соавторами [54] применили последовательные циклы замораживания-оттаивания в сочетании с гидротермальной обработкой для дальнейшего увеличения комплексного модуля

упругости гелей НЦ до 160–32 000 Па. Также они использовали сублимационную сушку гидрогелей для получения легких аэрогелей НЦ с модулем Юнга 0,114–3,98 МПа.

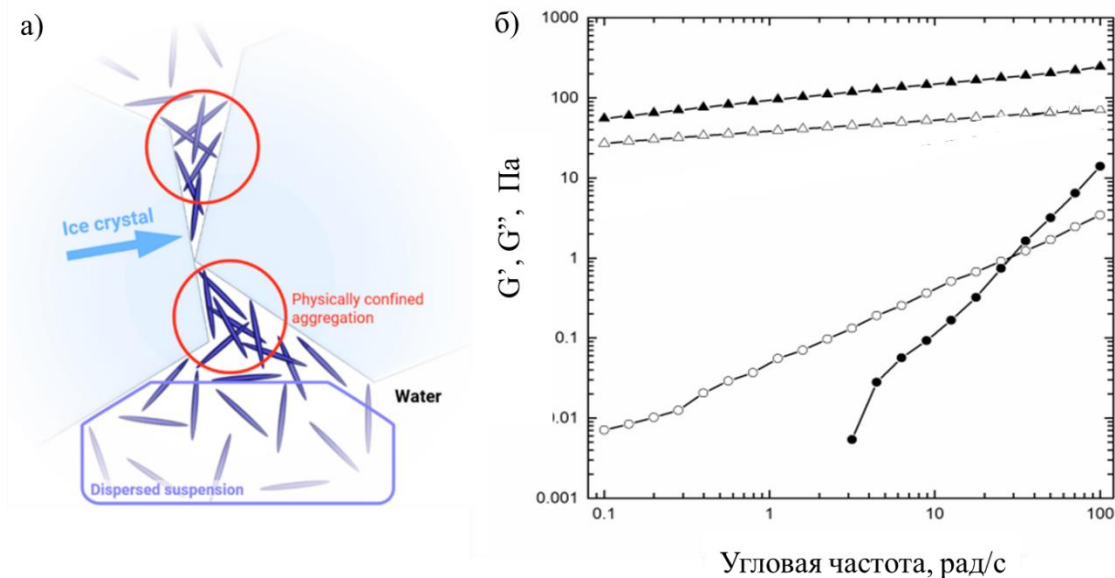


Рисунок 1.14. а) Гелеобразование нанокристаллов целлюлозы в условиях замораживания-оттаивания. б) Частотные зависимости модуля накопления (закрашенные символы) и модуля потерь (пустые символы) для 4 вес.%-ной суспензии НЦ до замораживания (круги) и после замораживания-оттаивания (треугольники) [54].

Таким образом, получение гелей НЦ без добавок требует либо высокой концентрации нанокристаллов, либо сложной обработки. Наиболее распространенные стратегии получения гелей НЦ основаны на понижении электростатического отталкивания между одноименно заряженными НЦ путем добавления соли. Экранируя электростатическое отталкивание, соль приводит к усилению притяжения между НЦ, в частности, за счет силы Ван-дер-Ваальса или водородных связей. Гелеобразование НЦ может быть вызвано различными солями [65-67]. Например, Шафией-Сабет и соавторы [65] получили гидрогели НЦ путем добавления NaCl. Однако чаще всего для получения гелей НЦ используются соли с мультивалентными катионами. Так, Кумачева с соавторами [66] получали гидрогели НЦ в 4 вес.%-ной суспензии НЦ в присутствии различных многовалентных катионов (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Al^{3+}). Было показано, что

прочность гидрогелей увеличивается с увеличением заряда и радиуса катионов. Наблюдаемое увеличение значений $|G^*|$ (Рис. 1.15) при увеличении радиуса двухвалентных катионов Ca^{2+} , Mg^{2+} , Sr^{2+} при одинаковой длине Дебая позволило авторам предположить, что в этот эффект вносит вклад не только электростатическое экранирование, но и сшивание нанокристаллов катионами [66]. Увеличение значений комплексного модуля $|G^*|$ при увеличении заряда катионов в ряду $\text{Na}^+ \rightarrow \text{Mg}^{2+} \rightarrow \text{Al}^{3+}$ авторы объяснили сшиванием нанокристаллов мультивалентными катионами [66]. При этом был обнаружен неожиданный факт: повышение прочности геля сопровождалось увеличением размера ячейки сетки, а не её уменьшением. Авторы объяснили этот эффект боковой агрегацией наностержней НЦ, вызванной добавленными катионами, что делало сетку более жесткой [66]. Предположение о боковой агрегации соответствует структурным данным [68], которые показывают, что заряженные группы располагаются только на боковых поверхностях НЦ, а на торцах они отсутствуют.

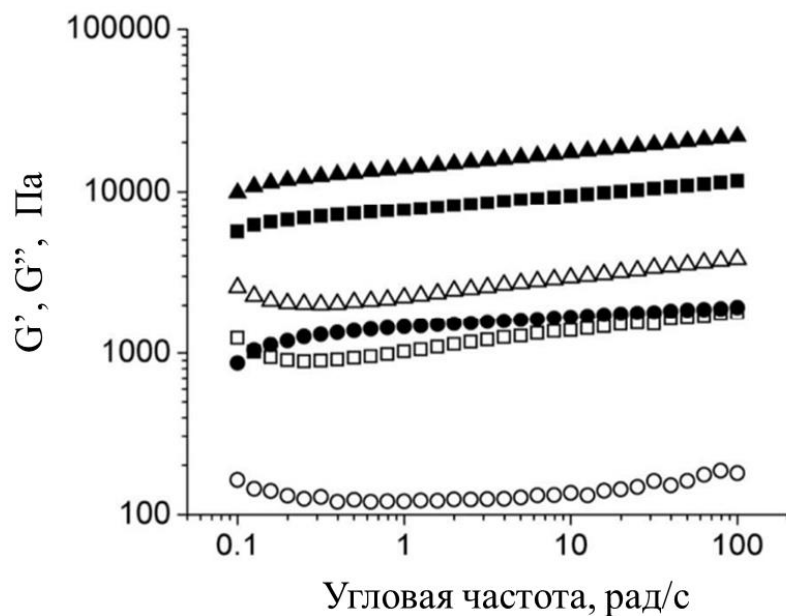


Рисунок 1.15. Частотные зависимости модуля накопления G' (закрашенные символы) и модуля потерь G'' (пустые символы) для 4 вес.%-ной суспензии НЦ, сшитых разными ионами: натрия (круги), магния (квадраты) и алюминия (треугольники) с концентрацией 50 мМ [66].

Гели НЦ, являющиеся нековалентными, имеют много преимуществ благодаря своей обратимости. Обратимость означает, что разрушенные структуры геля могут самопроизвольно восстанавливаться, что полезно для ряда применений, где требуется восстановление структуры геля после его экструзии или инъекции, например, в экструзионной 3D-печати [69], при приготовлении загустителей для нефтяной промышленности [70,71] или гидрогелей для инъекций в медицинских целях [72].

1.3. Гели на основе гуаровой камеди и гидроксипропилгуара

Полисахарид гуар (гуаровая камедь) является одним из наиболее распространенных полисахаридов, производство которого достигает около 1,5 млн. тонн в год. Его получают из семян растения гуар (*Cyamopsis tetragonoloba*), произрастающего преимущественно в Индии и Пакистане. Гуар (Рис. 1.16) представляет собой незаряженный линейный галактоманнан, состоящий из главной (1→4)-β-D-маннопиранозной цепи с (1→6)-α-D-галактопиранозильными остатками, присоединёнными в качестве боковых групп [73]. Молярная масса гуара является одной из самых высоких среди всех встречающихся в природе водорастворимых полисахаридов [73], поэтому для приготовления полуразбавленных растворов с зацеplениями, необходимых для образования гелей, требуются довольно низкие концентрации полимера.

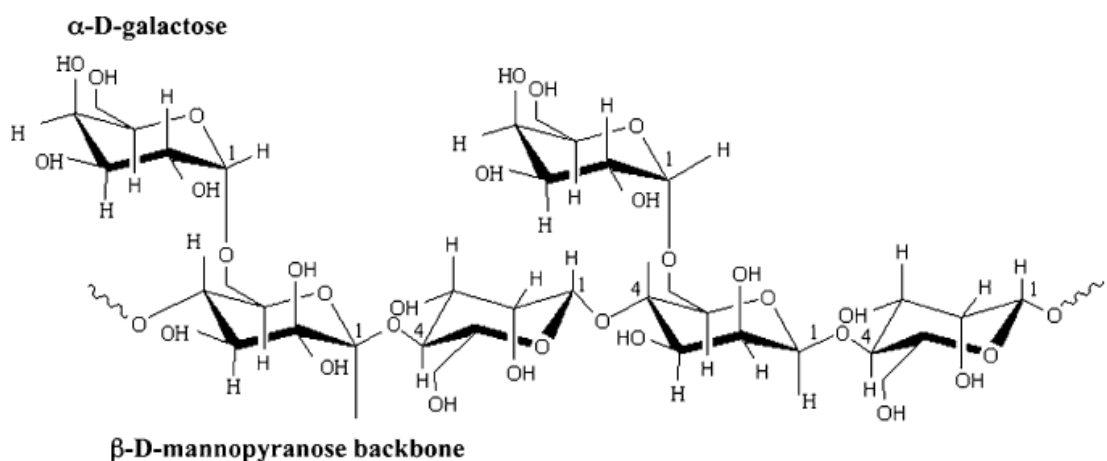


Рисунок 1.16. Химическая структура гуара [73].

Для повышения растворимости гуара в воде при комнатной температуре его можно химически модифицировать [74]. Наиболее широкодоступным производным гуара является ГПГ [75]. Он обладает лучшей растворимостью в воде, поскольку гидроксипропильные группы препятствуют образованию водородных связей между макромолекулами гуара, тем самым уменьшая межмолекулярную агрегацию [75]. В то же время он остаётся биосовместимым и биоразлагаемым полимером [76].

Для получения гидрогелей ГПГ чаще всего сшивают борат-ионами, которые образуют динамические ковалентные связи с 1,2- и 1,3-цис-диольными группами ГПГ [8, 77-79]. Подробный механизм взаимодействия диол-борат описан в работе [80]. Энергия связи между диольными группами гуара и борат-анионом была оценена как $-2,7$ ккал/моль [81], что составляет всего несколько кТ. Поэтому такие связи очень лабильны (обратимы) даже при комнатной температуре. Они придают гелю ярко выраженные восприимчивые свойства по отношению ко многим внешним воздействиям. К ним относятся, например, pH (влияющий на образование борат-ионов из остатков борной кислоты), температура и различные добавки, такие как глюкоза, которые могут конкурировать с диольными группами за взаимодействие с борат-ионами. Подобные гидрогели являются перспективными матрицами для регулируемого высвобождения лекарств или антисептиков в ответ на специфические триггеры, что позволяет снизить потенциальные токсические эффекты. Согласно обзору [82], полимеры на основе гуара остаются наиболее распространённым типом загустителей для водных жидкостей гидроразрыва пласта (ГРП). Обратимое сшивание гуара борат-ионами обеспечивает резкое увеличение вязкости (до >1000 сПз) при низком содержании полимера [82]. Химическая связь между борат-анионом и диольными группами гуара является обратимой: гель восстанавливает вязкость после снятия сдвиговых нагрузок, а его разрушение может быть инициировано снижением pH (кислотные брейкеры). Благодаря этому высоковязкий гель эффективно транспортирует проппант в

созданную трещину, а после завершения процесса легко разжижается и выводится на поверхность.

В то же время гели с лабильными сшивками обладают довольно низкими механическими свойствами, что ограничивает их более широкое применение. Для получения механически прочных гелей следует использовать необратимое химическое сшивание. Эффективной стратегией необратимого сшивания полимеров является фотополимеризация [83], которая часто используется в 3D-печати. Для фотосшивания в полисахаридные цепи обычно вводят функциональные группы, участвующие в полимеризации [84]. С этой целью, в частности, были синтезированы метакрилированные производные гуара [85]. Затем путём фотополимеризации водных растворов метакрилированного полимера в присутствии фотоинициатора были получены биodeградируемые и биосовместимые гидрогели с регулируемыми свойствами (пористость, набухание, время жизни). Иногда метакрилированные производные используются для создания сеток на основе гуара и синтетических полимеров, например, полиакрилата натрия [86] или акриламида [87]. В обеих работах [86,87] получены гидрогели с высокой сорбционной способностью: для гидрогеля на основе гуара и полиакрилата натрия с добавлением гумата натрия водопоглощение достигало 532 г/г в дистиллированной воде и 62 г/г в 0,9% растворе NaCl; для гидрогеля на основе привитого сополимера гуара и полиакрилата (из акриламида) водопоглощение достигало 52 г/г в дистиллированной воде. К настоящему времени, ковалентно сшитые гидрогели на основе ГПП еще не получены. Они представляются более перспективными, чем гели гуара, так как ГПП существенно лучше растворим в воде.

1.4. 3D-печать изделий из гелей

Экологические проблемы привели к быстрому развитию ресурсосберегающих и безотходных технологий, таких как трёхмерная 3D-печать, которая представляет собой аддитивную технологию изготовления объемных объектов путем последовательного послойного добавления

материала в соответствии с цифровым дизайном. В связи с этим 3D-печати биоматериалами стала актуальной областью исследований, особенно для гидрогелей на основе полисахаридов, которые разлагаются в конце срока службы, не загрязняя окружающую среду. Изделия из полисахаридных гидрогелей, изготовленные при помощи 3D-печати, получали из альгината натрия [88], метилцеллюлозы [89], гидроксипропилметилцеллюлозы [90], хитозана [91] и некоторых других полисахаридов. Полученные мягкие изделия хорошо совместимы с биологическими тканями. Более того, в поры геля можно помещать разные химические вещества, а также некоторые биологические объекты, например клетки. Полученные при помощи 3D-печати изделия из гелей перспективны для использования в качестве мягких манипуляторов в робототехнике, персонализированных «умных» сенсоров, наклеиваемых на кожу, которые могут являться датчиками движения или содержания различных веществ в организме, и для многих других применений, например, в регенеративной медицине [92].

Перспективной для получения изделий из гидрогелей является экструзионная 3D-печать. Она подходит для сетчатых структур, которые, с одной стороны, способны течь при прикладывании значительного напряжения, с другой стороны, быстро восстанавливают свои исходные механические свойства в покое и способны легко сшиваться с нижележащим гелевым слоем, нанесенным ранее. Для этой цели удобны сетчатые структуры с нековалентными сшивками или УФ-сшивание после формования изделия.

Как правило, изделия, напечатанные на 3D-принтере из традиционных гидрогелей, обладают низкой механической прочностью (модуль упругости составляет менее 10 кПа [93]) и низкой способностью сопротивляться росту дефектов (энергия разрушения менее 10 Дж/м²) [10], что ограничивает их применение. Для повышения механической прочности и сопротивляемости дефектам, как правило, используют стратегию формирования двойных сеток [12] и введение армирующих наполнителей [69].

В работе [94] были разработаны гидрогели (Рис. 1.17а) на основе природного полисахарида агарозы и нанопластин глины лапонит RD. Нанопластины глины представляют собой наночастицы с гетерогенным распределением зарядов (отрицательно заряженные поверхности и положительно заряженные края), которые самостоятельно образуют обратимую сетку. В свою очередь гелеобразование агарозы происходит за счёт формирования двойных спиралей при охлаждении. Добавление нанопластин привело к увеличению вязкости растворов до трех порядков (Рис. 1.17б) при низких скоростях сдвига и к повышению модуля накопления G' при 37 °C с 10 до 700 Па (Рис. 1.17в), что позволило применять данную систему в экструзионной 3D-печати. Благодаря тиксотропным свойствам нанокомпозитных чернил достигается высокое качество 3D-печати. В стационарных условиях (при низких скоростях сдвига) система демонстрирует высокую вязкость и наличие предела текучести, что обусловлено образованием обратимых физических связей между нанопластинами лапонита, а также между лапонитом и цепями агарозы. При экструзии через сопло (в режиме высоких скоростей сдвига) эти связи разрушаются, вязкость падает на несколько порядков, обеспечивая беспрепятственную подачу материала. После нанесения физические связи быстро восстанавливаются: в течение 60 секунд модуль накопления G' составляет 80% от исходного значения (Рис. 1.17г). Такое быстрое восстановление структуры предотвращает растекание напечатанных нитей и обеспечивает сохранение формы (Рис. 1.17д). Для сравнения чистые растворы агарозы без лапонита обладают низкой вязкостью и неспособны формировать устойчивые трёхмерные объекты. В то же время гели, образованные в присутствии лапонита, более прочные и пригодны для 3D-печати.

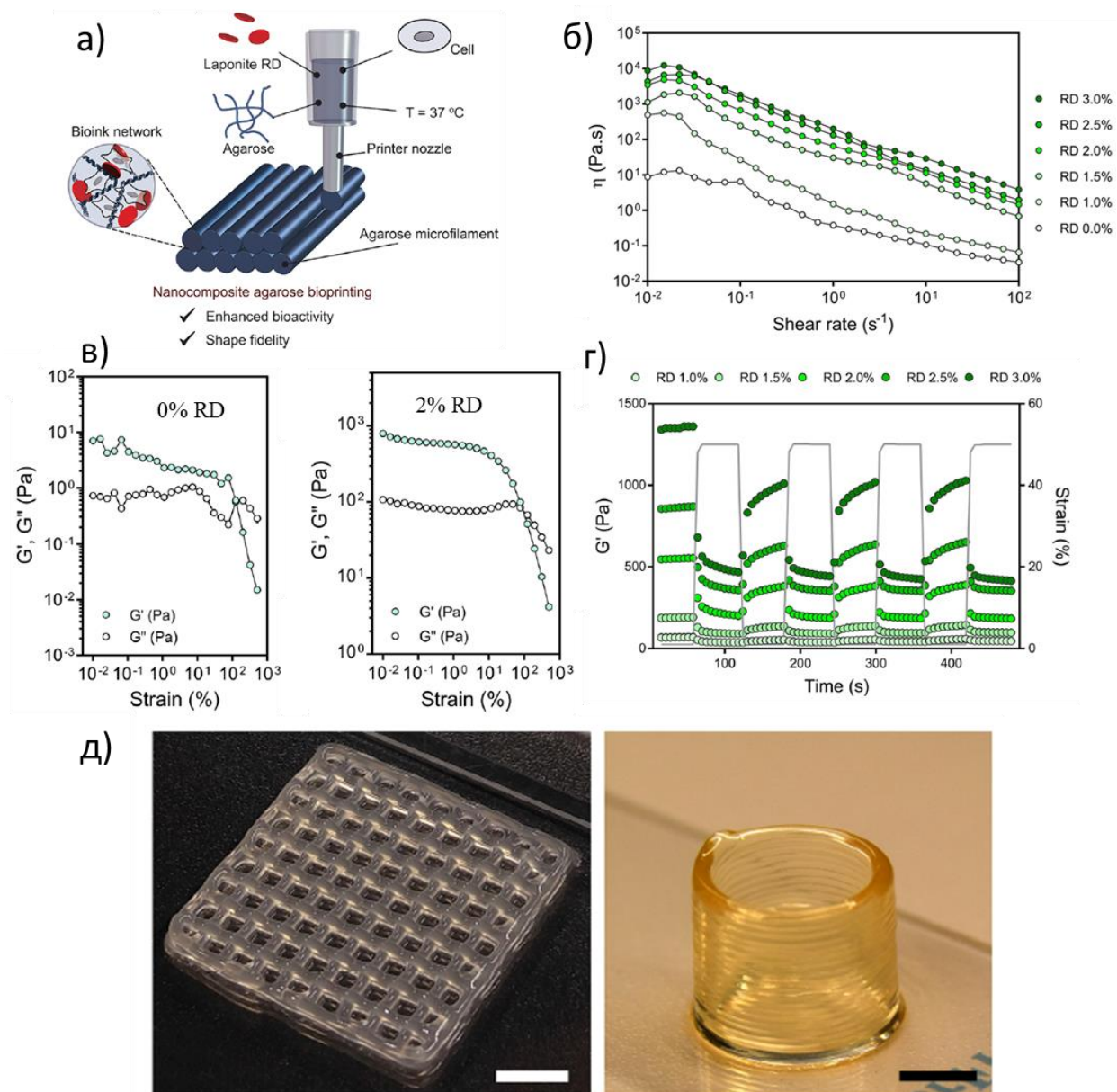


Рисунок 1.17. а) Схематическое изображение 3D-печати чернилами из агарозы в присутствии лапонита RD. б) Зависимость вязкости от скорости сдвига для раствора агарозы в присутствии разных концентраций лапонита RD, указанных на рисунке. в) Амплитудный тест для агарозы в отсутствие и в присутствии 2 вес.% лапонита RD при 37°C . г) Изменение модуля накопления G' чернил в процессе циклической деформации с периодами высокой (50%) и низкой (1%) сдвиговой деформации для имитации процесса 3D-печати. д) Напечатанные на 3D-принтере структуры нанокомпозитного гидрогеля, содержащие 2 вес.% лапонита RD, при 37°C , масштабные отрезки - 5 мм [94].

Таким образом, для экструзионной 3D-печати гидрогелей чернила должны легко проходить через сопло и быстро восстанавливать вязкость после нанесения. Традиционные гидрогели

имеют недостаточную механическую прочность, однако её можно повысить формированием двойных сеток и введением наполнителей. Нанокompозитные полисахаридные гидрогели, благодаря способности наночастиц выступать в роли армирующих элементов, приобретают улучшенные механические свойства, что делает их перспективными для биомедицины – создания персонализированных имплантатов, каркасов для тканевой инженерии и раневых повязок.

Литературный обзор показал, что для повышения механических свойств гидрогелей на основе природных полисахаридов эффективны три стратегии: использование двойных сшивок, создание двойных сеток и введение армирующих наночастиц. Наиболее перспективно их комбинирование – создание двойных сеток, где жёсткая сетка образована наночастицами (например, НЦ). Среди полисахаридов для производства гидрогелей перспективен ГПГ. Несмотря на его многотоннажное производство, гели на его основе с прочными ковалентными сшивками пока не были созданы. В основном использовали обратимое сшивание борат ионами для задач нефтяной промышленности. Для расширения потенциального применения ГПГ (3D-печать, персонализированные имплантаты) необходимо увеличивать механические свойства его гелей, чего можно достигнуть любым из трех вышеуказанных способов. Это определило постановку цели диссертационной работы, которая состоит в разработке подходов к созданию гидрогелей на основе биоразлагаемого полимера гидроксипропилгуара с регулируемыми механическими свойствами и функциональностью, а также в оценке их пригодности в качестве чернил для экструзионной 3D-печати.

2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Материалы

2.1.1. Реактивы

Карбоксиметилированные НЦ (Рис. 2.1) были приобретены у компании Cellulose Lab (Канада). Согласно информации, предоставленной поставщиком, НЦ имеют плотность 1,5 г/см³, степень кристалличности 86–90%, дзета-потенциал –40 мВ. ГПГ Jaguar® HP-105 (Рис. 2.2) был любезно предоставлен компанией Solvay (Бельгия).

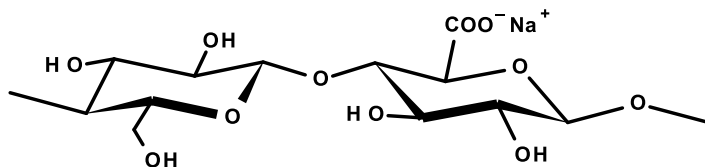


Рисунок. 2.1. Химическая структура карбоксиметилированных нанокристаллов целлюлозы.

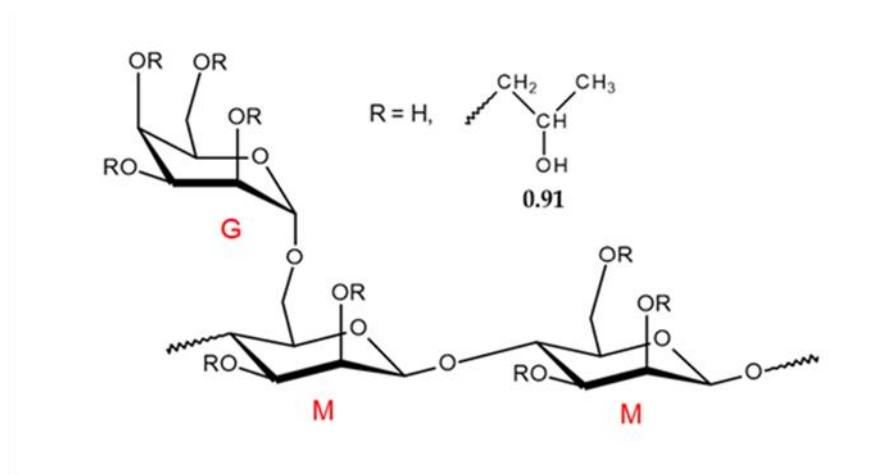


Рисунок 2.2. Химическая структура гидроксипропилгуара ГПГ. Степень замещения гидроксипропильными группами указана на рисунке.

Метакриловый ангидрид (чистота > 94%) (Рис. 2.3), 3-(акриламидо)фенилбороновая кислота (ФБК) (чистота > 98%) (Рис.2.4), хлорид кальция (чистота >97%) и цетилпиридиний хлорид (ЦПХ) (чистота > 98%) (Рис. 2.5), предоставленные компанией Sigma-Aldrich (США), а также фенил-2,4,6-триметилбензоилфосфинат лития (ТРО-Li) (чистота > 99%) (Рис 2.5.), полученный

от CPS Polymers (США), использовали без предварительной очистки. Для регулирования pH растворов использовали гидроксид калия и натрия (Sigma-Aldrich, 99%) или азотную кислоту (Sigma-Aldrich, 99%). Для приготовления растворов использовали деионизованную воду, очищенную на установке Milli-Q (США). В экспериментах по ЯМР-спектроскопии и малоугловому рассеянию нейтронов в качестве растворителя использовали дейтерированную воду (изотопическая чистота > 99,9%; AstraChem, Россия).

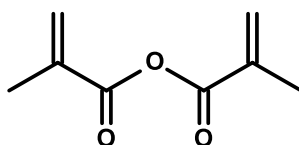


Рисунок 2.3. Химическая структура метакрилового ангидрида, использованного для модификации ГПГ.

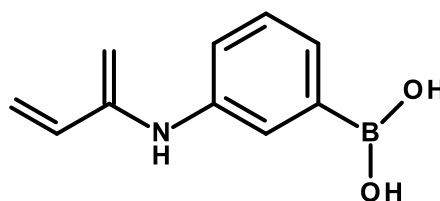


Рисунок 2.4. Химическая структура 3-(акриламида)фенилбороновой кислоты ФБК.

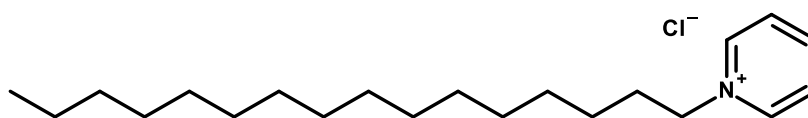


Рисунок 2.5. Химическая структура катионного ПАВ цетилпиридиний хлорида ЦПХ.

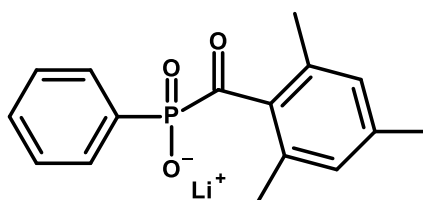


Рисунок 2.6. Химическая структура фенил-2,4,6-триметилбензоилфосфината лития ТРО-Li.

2.1.2. Синтез метакрилированного гидроксипропилгуара ГПГ-МА

Метакрилированный полимер ГПГ-МА (Рис. 2.7) получали добавлением 0,65–2,46 мМ метакрилового ангидрида (Рис. 2.3) к 0,5 вес.%-ному водному раствору ГПГ при pH=8. Реакция протекала в течение 1 ч при 4°C. Полученный полимер осаждали 10-кратным избытком этанола. Осадок ГПГ-МА растворяли в воде, проводили диализ этого раствора и затем выделяли полимер при помощи лиофильной сушки.

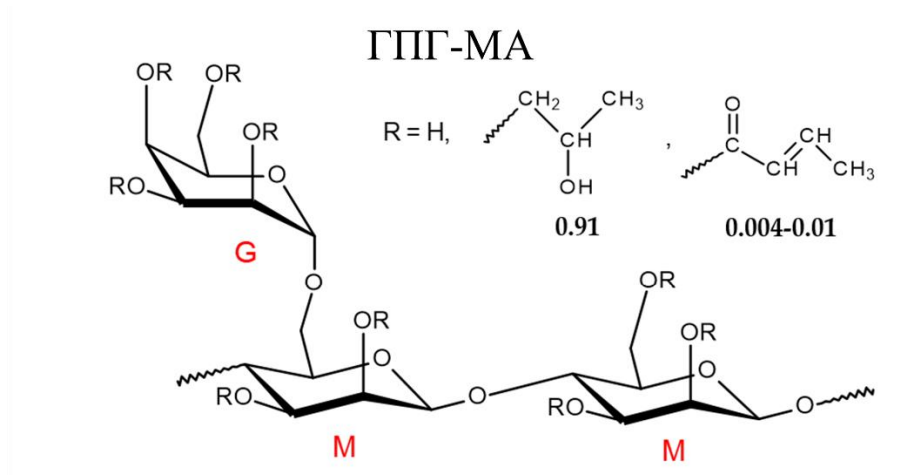


Рисунок 2.7. Химическая структура метакрилированного гидроксипропилгуара ГПГ-МА. Степень замещения гидроксипропильными и метакрилатными группами указана на рисунке.

2.1.3. Получение гидрогелей ГПГ-МА

Для получения гидрогелей ГПГ-МА 1,5 мг фотоинициатора ТРО-*Li* добавляли к 1,5 мл 8 вес.%-ного раствора ГПГ-МА и перемешивали гомогенизатором в течение 15 мин на скорости 7000 об/мин. Затем раствор, находящийся в кварцевой пробирке диаметром 2,5 мм, подвергали УФ-излучению (мощность 36 Вт, длина волны 365 нм) в течение 10 мин. В результате получали однородно сшитый гель.

Для определения оптимальной продолжительности УФ-облучения готовили серию гидрогелей при разном времени засветки и определяли степень конверсии следующим образом. Гидрогели погружали в большой объем воды на несколько дней для удаления золь-фракции и

непрореагировавших компонентов, воду несколько раз меняли. Затем гидрогели высушивали. Степень конверсии определяли как отношение массы сухого геля к исходной массе макромономера, взятого для приготовления геля. Результаты представлены в Таблице 2.1. Они свидетельствуют о том, что высокая конверсия (около 100%) достигается после 10 мин облучения. Во всех последующих экспериментах время УФ-облучения было фиксированным и составляло 10 мин.

Таблица 2.1. Степень конверсии гидрогелей, полученных в растворе ГПГ-МА с концентрацией 8 вес.% ($[MA] = 0,45$ мол.%, толщина образца 2,5 мм), в зависимости от времени воздействия УФ-излучения

Время воздействия УФ-излучения, с	5	30	60	180	360	600
Степень конверсии, %	0	77,7	94,5	95,4	97,6	100

2.1.4. Приготовление гелей НЦ, сшитых ионами кальция

Суспензии НЦ готовили путем диспергирования порошка нанокристаллов в воде с помощью ультразвуковой обработки (5 мин, 100 Вт) с использованием ультразвукового гомогенизатора Sonics VCX-500 Vibra-Cell (Cole Palmer, США). Затем к суспензии НЦ добавляли раствор соли $CaCl_2$ и перемешивали с помощью гомогенизатора Ultra-Turrax IKA (Германия) в течение 15 мин при 7000 об/мин, а затем с помощью магнитной мешалки в течение 1 ч при 250 об/мин. Приготовленные образцы оставляли на 1 день для установления равновесия.

2.1.5. Получение гидрогелей ГПГ-МА, содержащих НЦ, сшитые ионами кальция

Для приготовления гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} (Рис. 2.8) порошок НЦ диспергировали в воде ультразвуковой обработкой (100 Вт) в течение 5 мин. Затем добавляли ГПГ-МА с

фотоинициатором ТРО- Li (0,1 вес.%), и смесь перемешивали в течение 24 ч. После этого добавляли раствор соли CaCl_2 и перемешивали с помощью гомогенизатора Ultra-Turrax в течение 15 мин при 7000 об/мин. Был проведен специальный эксперимент, подтверждающий, что интенсивное перемешивание гомогенизатором (15 мин при 7000 об/мин) не влияет на молярную массу ГПГ. pH полученной суспензии составлял 7,0-7,2. Приготовленные образцы оставляли на 1 день для релаксации, а затем облучали УФ-светом (36 Вт, 365 нм) в течение 10 мин (толщина образца 2,5 мм), получая гидрогель.

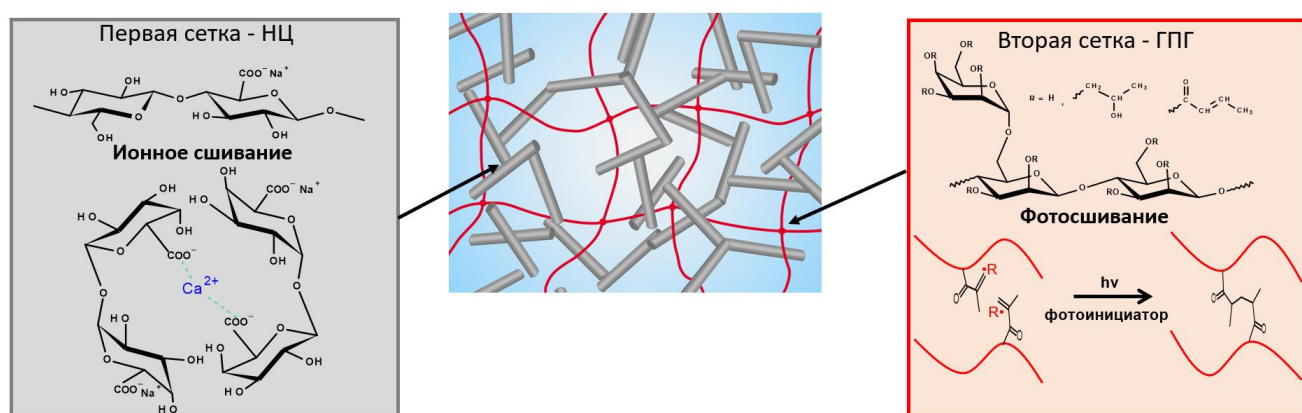


Рисунок 2.8. Химический состав гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} .

2.1.6. Получение гидрогелей ГПГ-МА-ПФБК

Для приготовления гидрогелей ГПГ-МА-ПФБК 1,5 мг фотоинициатора ТРО- Li добавляли к 1,5 мл 8 вес.%-ного водного раствора ГПГ-МА, содержащего необходимую концентрацию мономера ФБК при pH=9, и перемешивали гомогенизатором в течение 15 мин при скорости 7000 об/мин. Затем смесь облучали УФ-светом в течение 10 мин, получая гидрогель. Влияние pH на реологические свойства полученных гидрогелей ГПГ-МА-ПФБК изучали путем добавления небольшого объема 5 М HNO_3 к 1,5 мл гелей, исходно полученных при pH=9.

Степень набухания гелей ГПГ-МА и ГПГ-МА-ПФБК определяли по формуле:

$$\alpha = (m_n - m_0) / m_0$$

где m_n - масса набухшего геля, а m_0 - масса сухого геля.

2.1.7. Получение гидрогелей ГПГ-МА-ПФБК с введённым в них ЦПХ

Для изучения введения катионного ПАВ ЦПХ в гидрогель ГПГ-МА-ПФБК и дальнейшее высвобождение ПАВ из гидрогеля в разных условиях проводили следующие три типа экспериментов. В первом типе экспериментов гидрогель погружали в 0,14 М водный раствор ЦПХ на 24 ч. Затем гель извлекали из раствора ЦПХ и разрезали на две части. Одну часть геля помещали в 43 мл воды с рН 5,9, а другую — в такой же объем воды с рН 8,9 (в обоих случаях объем воды примерно в 200 раз превышал объем полимерного геля). Для изучения высвобождения ЦПХ отбирали небольшой объем раствора, окружающего гель, и разбавляли дистиллированной водой для получения оптической плотности D в диапазоне от 0,1 до 1. Во втором типе экспериментов на поверхность гидрогеля ГПГ-МА-ПФБК наносили 0,2 мл 0,244 М водного раствора ЦПХ. Через один час на поверхность геля наносили 0,2 мл 0,9 вес.-%-ного водного раствора NaCl, и через 2 с раствор собирали с поверхности геля, разбавляли дистиллированной водой и анализировали с помощью УФ-спектроскопии. В третьем типе экспериментов введение ЦПХ в гидрогели ГПГ-МА-ПФБК проводили так же, как и во втором типе экспериментов, но затем гель высушивали при комнатной температуре в течение 1 дня. После этого на поверхность высушенного геля наносили 0,2 мл 0,9 вес.-%-ного водного раствора NaCl и через 2 с раствор собирали с поверхности геля, разбавляли дистиллированной водой и анализировали с помощью УФ-спектроскопии.

2.3. Методы исследования

2.3.1. Реометрия

Реологические исследования проводили на ротационном реометре Anton Paar Physica MCR – 301 (Австрия) (Рис. 2.9а). Образец помещали в измерительную ячейку, которая состоит из двух частей: нижняя часть неподвижна (1), а верхняя подвижна и представляет из себя ротор (3), присоединенный к подшипнику (Рис. 2.9б). Неподвижная часть ячейки термостатируется

элементом Плетье и циркуляционным водным термостатом (2). Синхронный магнитный привод (5) регулирует момент сил, который прикладывается к ротору. Компрессор (7) создает воздушный поток, формирующий воздушную подушку, которая исключает механическое трение в подшипнике при поворачивании ячейки. Оптический датчик используется для измерения смещения угла и регистрации деформации образца (изменения угловой координаты ротора с течением времени). Датчик очень чувствительный и позволяет измерять один миллион импульсов за один оборот ротора.

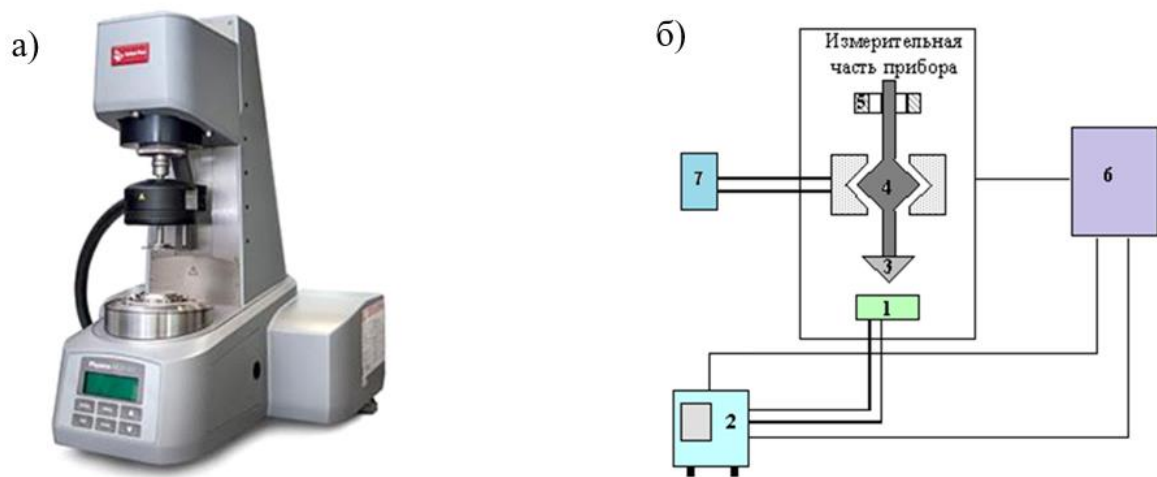


Рисунок 2.9. а) Реометр Anton Paar Physica MCR-301 (Австрия). б) Блок-схема реометра Anton Paar Physica MCR-301. (1) - нижняя часть измерительной ячейки, (2) - циркуляционный термостат, (3) - ротор, (4) - воздушная подушка, (5) - магнитный привод, (6) - компьютер, (7) – компрессор.

В работе использовали измерительные ячейки двух типов. Для исследования образцов с высокой вязкостью использовали ячейку конус-плоскость CP40-2, которая представляет собой усеченный конус с углом раствора $\alpha = 2^\circ$ и радиусом $R = 20$ мм, закрепленный на роторе (Рис. 2.10а). Толщина зазора между пластинами составляла 97 мкм. Образец помещали в зазор между верхней и нижней частями реометра, после чего образец выдерживали в ячейке в течение нескольких минут. В данном типе ячейки скорость сдвига постоянна во всем объеме помещенного в нее образца. Перед проведением измерений на ячейку устанавливали кожух, который

препятствует испарению растворителя из образца. Для исследования сшитых гелей использовали ячейку плоскость-плоскость PP25/TG, которая представляет собой круг диаметром $d=25$ мм (Рис. 2.10б), закрепленный на роторе. Образец, определенной высоты (2-3 мм) помещали в зазор между верхней и нижней частями реометра, после чего образец выдерживали в ячейке в течение нескольких минут. Затем на ячейку устанавливали кожух, который препятствует испарению растворителя из образца.

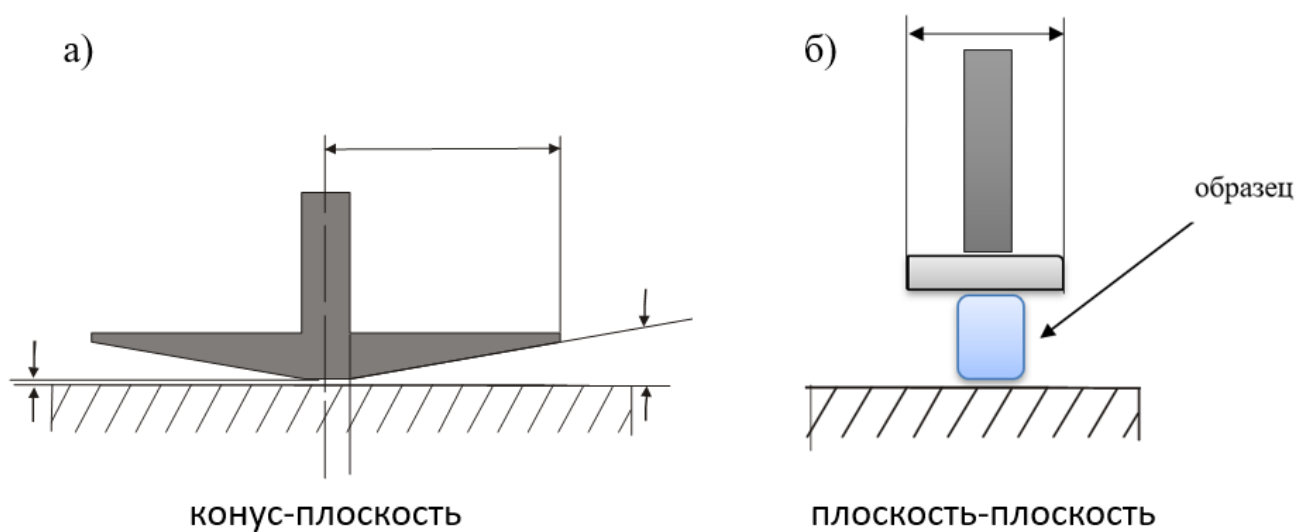


Рисунок 2.10. Схематическое изображение ячеек а) “конус-плоскость” и б) “плоскость-плоскость”.

Использовали два метода измерения: статический и динамический (Рис. 2.11). При статических измерениях измерительный конус поворачивается в одном направлении. При динамических испытаниях измерительный конус колеблется вокруг оси. Для получения правильных значений вязкости образца должны соблюдаться следующие требования:

- в растворе не должно происходить химических и физических изменений во время измерения,
- образец должен однородно реагировать на приложенное напряжение,
- поток должен быть ламинарным,

- напряжение сдвига должно передаваться от движущейся плоскости (ротора) через пограничный слой жидкости ко всему ее объему.

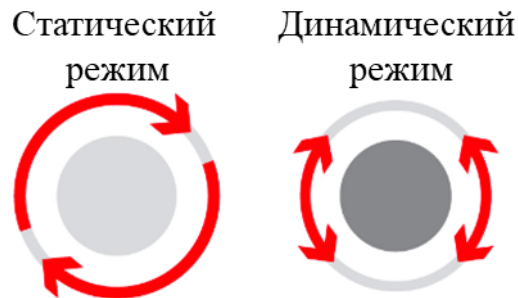


Рисунок 2.11. Схема движения измерительного конуса в реометре при статическом (слева) и динамическом (справа) режимах измерения.

В статическом режиме к образцу прикладывается постоянное напряжение $\sigma = const$. В диапазоне низких значений приложенного напряжения σ вязкость раствора сохраняет свое постоянное значение, что соответствует ньютоновской вязкости η_0 . Для жидкостей, которые называются ньютоновскими жидкостями, вязкость не меняется при изменении скорости сдвига $\dot{\gamma}$, а для других жидкостей вязкость зависит от скорости сдвига. Предполагая, что деформация γ по объему образца постоянна, можно определить зависимость вязкости η от приложенного напряжения:

$$\sigma = \eta \cdot \dot{\gamma}$$

В режиме переменного напряжения к образцу прикладывается напряжение сдвига, которое представляется следующим образом:

$$\sigma^*(t) = \sigma_0 \cdot e^{i\omega t}$$

где σ_0 — амплитуда напряжения, ω — частота изменения напряжения, t — время.

Деформации образца в данном режиме тоже изменяется по гармоническому закону:

$$\gamma(t)^* = \gamma_0 \cdot e^{i\omega t + i\varphi}$$

Напряжение и деформация связаны соотношением

$$\sigma^* = G^* \gamma^*,$$

в котором $G^* = G' + iG''$ - комплексный модуль упругости, где величина действительной компоненты G' называется модулем накоплений, а величина мнимой компоненты G'' - модулем потерь.

Напряжение и скорость деформации связаны между собой соотношением

$$\sigma^* = \eta^* \dot{\gamma}^*$$

где коэффициент пропорциональности η^* называется комплексной вязкостью.

На реометре можно прикладывать к образцу осцилляционное напряжение различной частоты ω и измерять частотные зависимости $G'(\omega)$ и $G''(\omega)$ и модуля комплексной вязкости $\eta^*(\omega)$.

2.3.2. Криогенная электронная микроскопия

Крио-ЭМ – это метод электронной микроскопии, при котором исследуемый образец подвергают быстрой заморозке до криогенных температур. Далее через образец пропускают пучок высокоэнергетических электронов, а формирование увеличенного изображения осуществляют с помощью системы электронных линз. В результате получается прямая проекция образца (Рис. 2.12) [95].

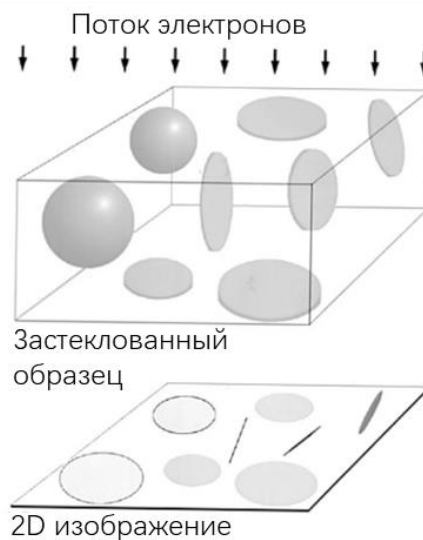


Рисунок 2.12. Схема получения 2D изображения при помощи крио-ЭМ [95].

Крио-ЭМ изображения получали с использованием просвечивающего электронного микроскопа Titan Krios 60-300 (Рис. 2.13) (Thermo Fisher Scientific, США) на базе Курчатовского института. Ускоряющее напряжение составляло 300 кВ. Микроскоп оснащен детектором прямых электронов K3 (Gatan, США), фильтром для визуализации «Biocontinuum» (Gatan, США) и корректором Cs (ЦЕОС, Германия).

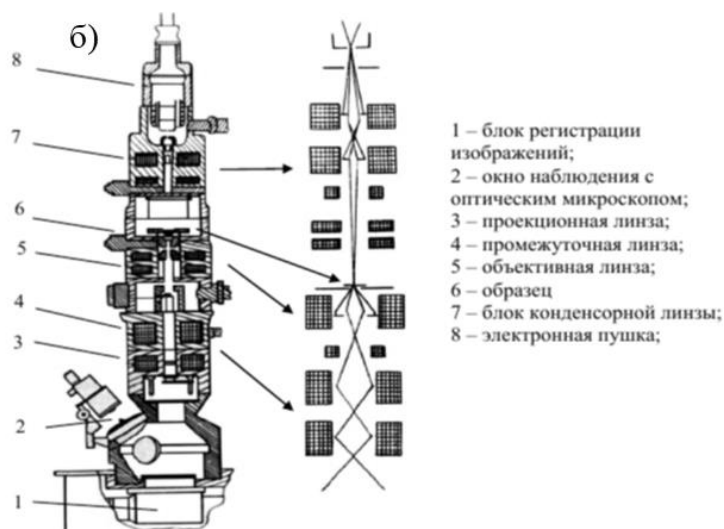


Рисунок 2.13. а) Электронный микроскоп Титан Криос 60-300. б) Схема устройства микроскопа.

Для подготовки образцов использовали сеточки Lacey EM 300 mesh (Ted Pella, США), которые обрабатывали тлеющим разрядом в течение 30 с при 0,26 мбар с использованием тока 20 мА на установке PELCO easiGLOW (Ted Pella, США). На таким образом подготовленные сеточки наносили 0,5 мкл образца. Затем сетки промокали фильтровальной бумагой в течение 2,5 с и оставляли для релаксации на 5 с. Сразу после этапа релаксации сетки быстро погружали в жидкий этан. Нанесение образца и последующее его замораживание проводили с использованием установки Vitrobot Mark IV (Thermo Fisher Scientific, США) при 20°C и 100% влажности.

Крио-ЭМ изображения получали при 26000-кратном увеличении с размером пикселя 2,68 Å, диапазон расфокусировки составлял от -6 до -8 мкм. Для каждого изображения собирали 5 кадров, в результате чего общая доза составляла $60 \text{ e}^-/\text{Å}^2$. Для получения изображений с коррекцией движения и шумоподавлением использовали программное обеспечение Warp1.0.9 [96].

Криозлектронная томография – метод электронной микроскопии с низкотемпературной заморозкой образца для получения трехмерной реконструкции рассеивающих объектов - томограммы. Трехмерная реконструкция объекта является результатом обработки методом томографической реконструкции обратной проекции серии проекционных изображений крио-ЭМ, полученных под разными углами наклона образца (Рис. 2.14). Серии проекционных изображений с симметричной схемой дозы электронов получали с использованием программного обеспечения Serial EM [97]. Диапазон наклона составлял от -60° до $+60^\circ$ с шагом 3° (Рис. 2.14), расфокусировка была в диапазоне от -6 до -8 мкм. Для каждого изображения собирали по 10 кадров, в результате чего общая доза в серии экспериментов с разным углом наклона составляла $60 \text{ e}^-/\text{Å}^2$. Серии изображений криозлектронной томографии снимали при 26000-кратном увеличении с помощью детектора K3 с постфильтром, в результате чего размер пикселя составлял 2,68 Å. Использовали энергетический фильтр с шириной щели 20 эВ. Кадры выравнивали с помощью программного обеспечения Warp [96], а последующее выравнивание рядов, полученных под разными углами наклона, выполняли с использованием отслеживания участков без привязки. Томограммы реконструировали с использованием обратной проекции с SIRT-подобным фильтром (20 итераций) в IMOD 4.11 [98]. Томограммы были разделены на четыре части, в результате чего размер пикселя составил 10,72 Å/пиксель. Изотропное разрешение томограмм улучшали с помощью программного обеспечения IsoNet [99]. Сегментацию (выделение разных типов рассеивающих объектов), анализ данных и визуализацию проводили с

использованием Avizo 2019.4 (Thermo Fisher Scientific, США) с удлинителем XFiber для томограмм с толщиной образца от 100 до 150 нм.

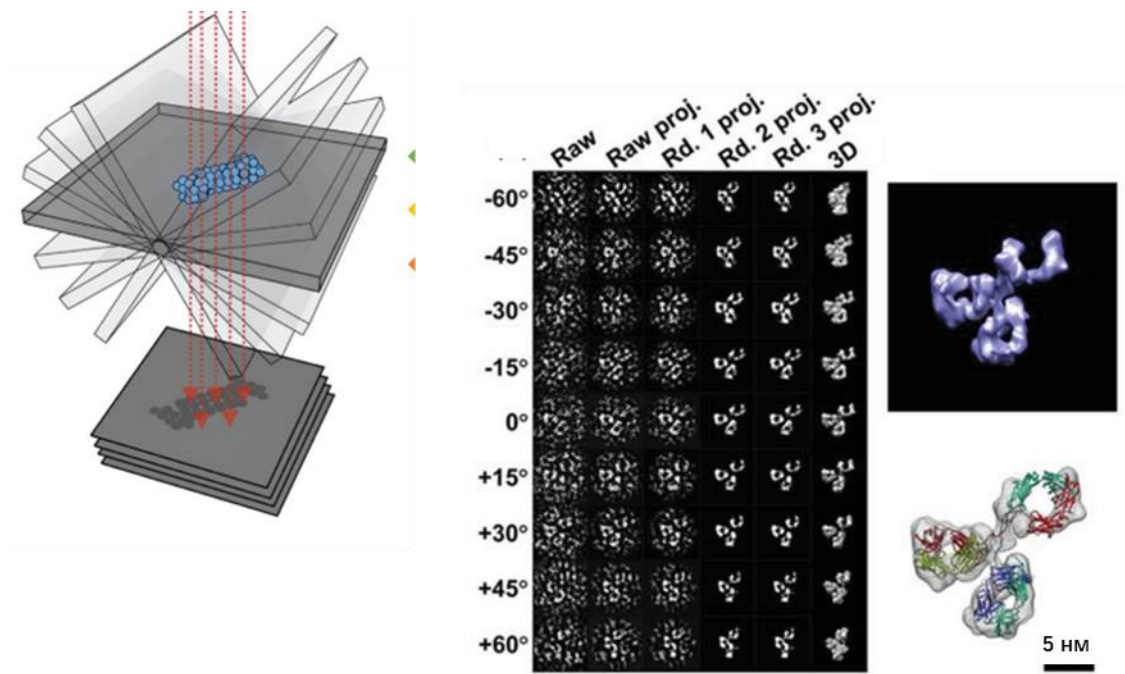


Рисунок 2.14. Схема проведения эксперимента в криоэлектронной томографии для получения 3D изображения [100].

В ходе исследования образцов методом криоэлектронной томографии были получены изображения трёх типов: томографический срез, изображение изоповерхности, а также 3D-модель, построенная путём скелетизации изоповерхности сетчатых структур. «Томографический срез» — это двумерное изображение одного слоя трехмерной реконструкции объекта. Такие изображения позволяют наблюдать объекты, расположенные в одной плоскости, устраняя эффект наложения проекций, который затрудняет интерпретацию данных, полученных классической просвечивающей крио-ЭМ. Трехмерную реконструкцию объектов называют изображением изоповерхности рассеивающих объектов или изображением поверхности образца, полученным методом криоэлектронной томографии. Изображения изоповерхности объектов дают возможность изучать образцы, обладающие сложной трехмерной структурой. Изоповерхности

сеток, образованных НЦ, в работе были подвергнуты скелетизации при помощи программы Auto Skeleton. Для удобства в полученных пространственных графах нанокристаллы представляли в виде цилиндров, что соответствовало локальной цилиндрической структуре получаемых объектов. С помощью сверточных нейронных сетей были получены изображения изоповерхности двойных сеток, в которых НЦ выделены разными цветами. Такие трехмерные модели были обозначены как "3D-модель, полученная скелетизацией". Получение и анализ данных крио-ЭМ и криоэлектронной томографии были проведены в сотрудничестве с научным сотрудником Курчатовского Института к.ф.-м.н. Чесноковым Юрием Михайловичем.

2.3.3. Малоугловое рассеяние нейтронов

Измерения по МУРН проводили на времяпролетном спектрометре ЮМО, расположенном на четвертом канале высокопоточного импульсного реактора ИБР-2 в Лаборатории нейтронной физики им. Франка Объединенного института ядерных исследований (г. Дубна) [101, 102]. Схема спектрометра ЮМО приведена на рис. 2.15. В виде короткого импульса пучок нейтронов, образовавшийся в реакторной зоне, проходит через систему коллиматоров, которая задает толщину и диаметр проходящего пучка. Диаметр пучка нейтронов, сформированного таким образом, составляет 6-10 мм. После этого пучок нейтронов попадает в спектрометр и затем на образец, термостатирующийся с помощью термостата «Lauda». Поток тепловых нейтронов, падающих на образец, составляет $\sim 10^7 \text{ см}^{-2}\text{с}^{-1}$. После взаимодействия с образцом рассеянные нейтроны попадают на кольцевые детекторы. Нейтроны, прошедшие через образец без взаимодействия, попадают на детектор прямого пучка. Интенсивность прямого пучка калибруется по ванадиевому стандарту, расположенному перед каждым из кольцевых детекторов, что позволяет получить интенсивность рассеяния в абсолютных единицах.

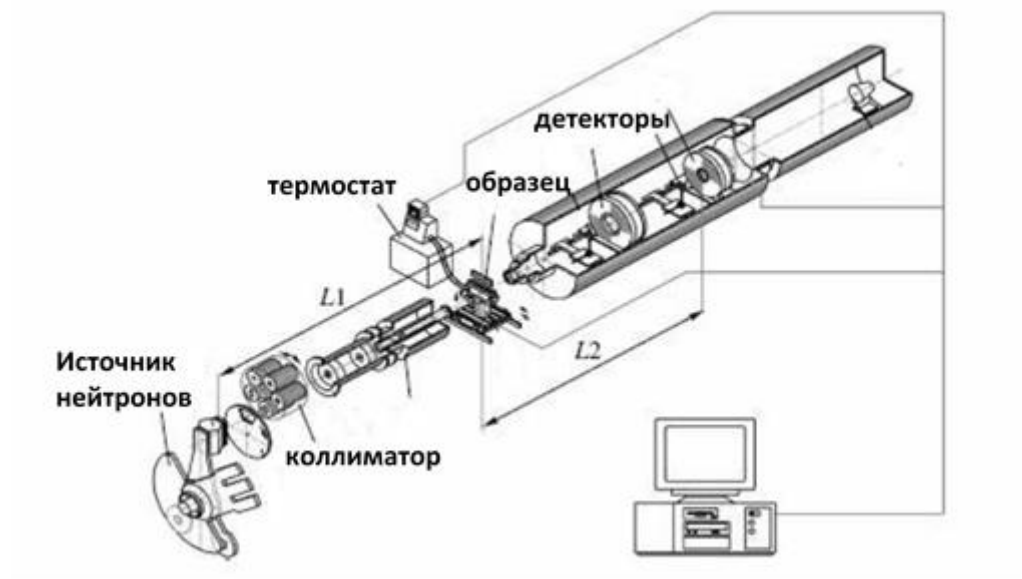


Рисунок 2.15. Схема установки по малоугловому рассеянию нейтронов.

Для измерения образцов использовали разборные кварцевые кюветы с зазором 2 мм и устанавливали в кассету, которую помещали в спектрометр. Все измерения проводили с использованием D_2O в качестве растворителя, поэтому применение таких кювет с большим зазором увеличивало некогерентное рассеяние, но зато позволяло загрузить образцы с высокой вязкостью без образования пузырей и неоднородностей. Температура, установленная с помощью циркулярного термостата, составляла $20,0 \pm 0,5$ °C.

В результате измерений регистрировали зависимость интенсивности рассеяния от волнового вектора q , который связан с углом рассеяния θ соотношением [103]:

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2},$$

где λ – длина волны. Интенсивность рассеяния I связана с распределением плотности длины рассеяния в образце $\rho(\mathbf{r})$ соотношением:

$$I(q) = \frac{1}{V} \iint_V \rho(\mathbf{r}) \rho(\mathbf{r}') e^{-i\mathbf{q}(\mathbf{r} - \mathbf{r}')} d\mathbf{r} d\mathbf{r}',$$

где интегрирование производится по всему объему образца V .

Интенсивность рассеяния от различных молекул, присутствующих в образце, зависит от ядер, входящих в состав атомов, а также от плотности вещества. При обработке результатов измерений сначала из кривых рассеяния $I(q)$ вычитали некогерентное рассеяние от растворителя. В образцах с объектами одного типа интенсивность рассеяния в общем случае выражается соотношением:

$$I(q) = P(q) \cdot S(q),$$

где $P(q)$ – форм-фактор рассеивающего объекта, связанный с его геометрической формой, а $S(q)$ – структурный фактор, выражающий взаимодействие между объектами. Обработку данных производили с помощью программы SasView.

2.3.4. Изотермическая калориметрия

Измерения проводили с использованием изотермического калориметра Nano ITC (TA Instruments, США) при 20°C (Рис. 2.16а). Калориметр Nano ITC использует дифференциальную схему компенсации мощности (измеряется мощность, требуемая для поддержания нулевой разности температур между измерительной ячейкой и ячейкой сравнения) (Рис. 2.16б).



Рисунок 2.16. а) Изотермический калориметр Nano ITC. б) Схема измерительных ячеек.

Данные по базовой линии, т.е. тепловой поток в интервалах до и после каждого впрыскивания титранта, показывают мощность, которая требуется для поддержания нулевой разности температур между ячейками для образца и эталона. Ячейка для образца была заполнена 1 вес.%-ной суспензией НЦ. Для титрования суспензии ионами Ca^{2+} в шприц загружали 30 мМ водный раствор CaCl_2 . Всего было выполнено 20 инъекций титранта (по 2,5 мкл каждая) в 170 мкл суспензии НЦ с интервалом 20 минут при скорости перемешивания 200 об/мин. Необработанные данные титрования НЦ катионами были скорректированы путем вычитания соответствующих термограмм титрования катионов в дистиллированную воду (Рис. 2.17).

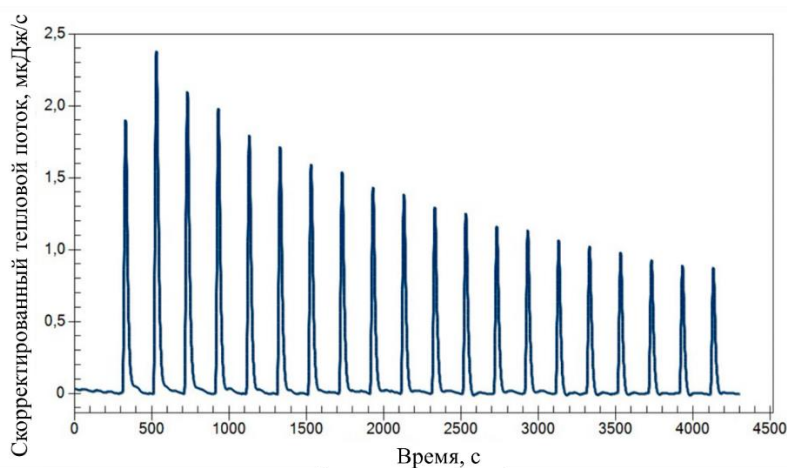


Рисунок 2.17. Термограмма, полученная при изотермическом титровании ионов Ca^{2+} в воду при 20°C.

Пики на скорректированной термограмме были интегрированы для получения соответствующих термодинамических профилей, представляющих изменение энтальпии в зависимости от мольного отношения катионов к COO^- группам наноцеллюлозы. Первый пик в каждой термограмме не учитывали. Термодинамические параметры взаимодействия определяли путем фитирования профилей с помощью модели взаимодействия с независимыми сайтами связывания, которая подразумевает связывание ионов с одинаковыми сайтами связывания наноцеллюлозы [104]. Аппроксимация профилей изотермой Вайсмана [105] выполняли с использованием программного обеспечения NanoAnalyze 3.12.0 (TA Instruments, США).

2.3.5. ^1H ЯМР-спектроскопия

ЯМР-спектроскопия изучает поглощение радиочастотного излучения атомными ядрами, обладающими собственным магнитным моментом. Этот момент возникает из-за вращения заряженного ядра (спина). При помещении такого ядра во внешнее магнитное поле его магнитный момент начинает вращаться вокруг направления этого поля — это явление называется прецессией. Частота прецессии (ларморовская частота, ν) прямо пропорциональна напряженности поля B и зависит от типа ядра (через гиромагнитное отношение γ):

$$\nu = \frac{\gamma B}{2\pi}$$

Согласно квантовой механике, ядро со спином I может находиться только в $(2I+1)$ дискретных ориентациях (энергетических уровнях) в магнитном поле. Энергия уровня определяется магнитным квантовым числом m . Переход между соседними уровнями (правило отбора $\Delta m = \pm 1$) происходит при поглощении ядром энергии извне. Энергия этого квантового перехода равна:

$$E = -\frac{\gamma m B}{2\pi}$$

Резонанс возникает, когда частота внешнего радиочастотного поля точно совпадает с ларморовской частотой прецессии ядра. В этот момент энергия поля поглощается ядром, вызывая переход на более высокий энергетический уровень, что и регистрируется как сигнал ЯМР. Таким образом, каждое ядро в данном поле резонирует на строго определенной частоте.

ЯМР-измерения проводили с помощью ЯМР-спектрометра Agilent 400, работающего на частоте 400 МГц и оснащенного автоматическим тройным широкополосным детектором. Образцы, приготовленные в растворителе D_2O , помещали в стандартные 5-мм кварцевые трубки (Norell), спектры регистрировали при 20°C и суммировали по результатам 10 сканирований. Данные обрабатывали с использованием программного обеспечения MestReNova. Предварительная обработка спектров включала коррекцию фазы и базовой линии. После

проводили калибровку химических сдвигов по сигналу растворителя, а также интегрирование сигналов.

2.3.6. УФ-спектроскопия

Ультрафиолетовая спектроскопия используется для количественного определения веществ, содержащих хромофорные группы. При поглощении кванта света молекула переходит из основного электронного состояния в возбуждённое, а вероятность и энергия такого перехода определяются электронной структурой молекулы. В полимерах и поверхностно-активных веществах (ПАВ) наиболее важными хромофорами являются сопряжённые двойные связи и гетероатомы с неподелёнными электронными парами.

В настоящей работе метод УФ-спектроскопии использовали для исследования концентрации выделившегося ЦПХ из гидрогеля ГПГ-МА-ПФБК. Измерения проводили при помощи УФ-спектрофотометра U-2900 (Hitachi, Япония) (Рис. 2.18).

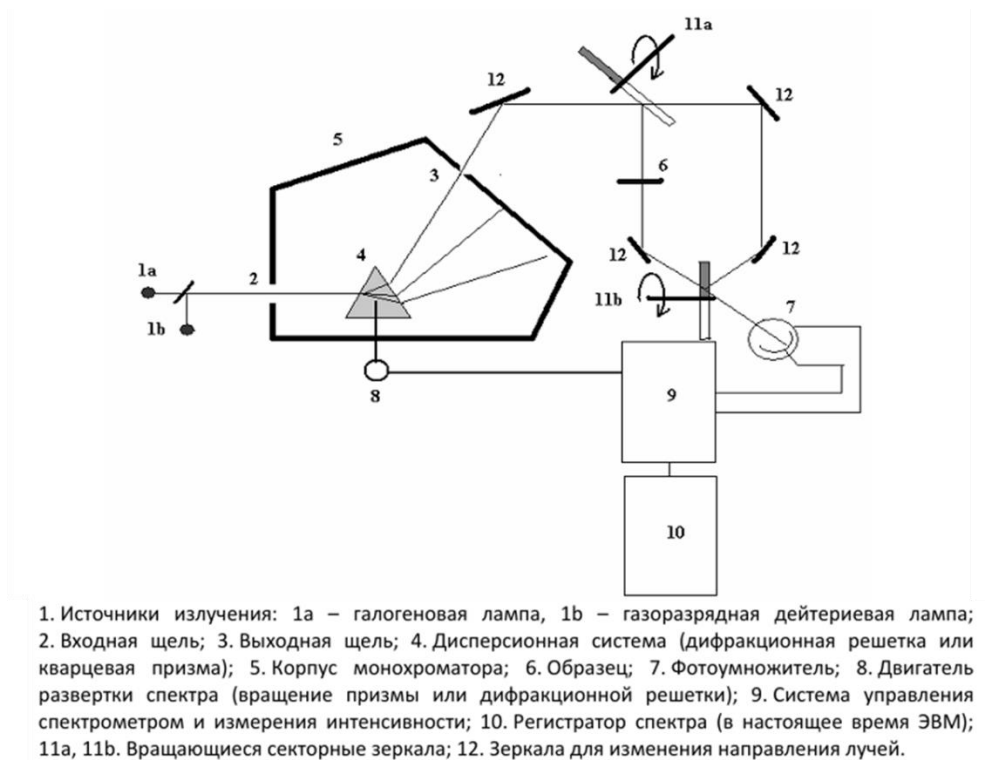


Рисунок 2.18. Схема двухлучевого УФ-спектрометра.

Концентрацию ЦПХ определяли по оптической плотности D пика поглощения пиридиниевого кольца при 259 нм по формуле:

$$C_{CPC} = D / \varepsilon l,$$

где ε — коэффициент экстинкции, равный $4070 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [106, 107], а l — длина оптического пути.

2.3.7. ИК-спектроскопия

Инфракрасная спектроскопия является одним из основных методов идентификации функциональных групп и изучения межмолекулярных взаимодействий в химических соединениях. Метод регистрирует изменение дипольного момента молекулы при поглощении инфракрасного излучения: частота поглощённого фотона соответствует частоте собственных колебаний в молекуле (валентных или деформационных).

Для измерения ИК-спектров образцов, содержащих воду, таких как гидрогели, используют метод нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Метод основан на явлении полного внутреннего отражения ИК-луча на границе раздела двух сред с разными показателями преломления. Излучение из оптически более плотной среды (кристалл-волновод) падает на границу с менее плотной средой (образец) под углом, превышающим критический угол. При этом часть электромагнитной волны в виде затухающей волны проникает в образец на глубину порядка длины волны. Если образец обладает характеристическим поглощением, интенсивность отражённого луча ослабляется, и регистрируемый спектр НПВО аналогичен спектру пропускания, но свободен от мешающего влияния сильного поглощения воды благодаря фиксированной и очень малой длине оптического пути.

ИК-спектры образцов измеряли с помощью ИК-спектрометра Bruker Vertex 70 В в режиме НПВО с помощью приставки PIKE GladyATR с алмазным блоком. Образцы плотно прижимали к поверхности блока, используя специальное зажимное устройство. Спектры регистрировали в

диапазоне 4000-400 см^{-1} с разрешением 2 см^{-1} для высушенных образцов и 4 см^{-1} для гелей и растворов. Из спектров для гидрогелей и водных растворов вычитали поглощение воды.

2.3.8. Механические свойства при одноосном сжатии и растяжении

Исследования методом одноосного сжатия проводили для образцов цилиндрической формы (диаметром 4 мм и высотой 4,5 мм) при скорости деформации 5 мм/мин на одноколонной универсальной испытательной машине Lloyd LS5 (США) (Рис. 2.19) с использованием датчика максимальной нагрузки 100 Н. На той же установке проводили испытания на растяжение образцов в форме параллелепипеда (толщина 3 мм, длина 8 мм и высота 30 мм) при скорости деформации 5 мм/мин. В обоих экспериментах модуль Юнга определяли по наклону начального линейного участка упругой деформации, которую претерпевал материал при сжатии или растяжении.



Рисунок 2.19. Одноколонная универсальная испытательная машина Lloyd LS5.

2.3.9. 3D-печать

3D-печать проводили с использованием существенно модифицированного 3D-принтера Anet A8, в котором специально изготовленный шприцевой насос был сконструирован для удержания

пластикового шприца объемом 1 мл (B.Braun). Внутренний диаметр шприца был измерен гравиметрически в соответствии со стандартами ISO 8655-6, как описано в статье [108].

Файлы на основе G-кода были сгенерированы с использованием пользовательского R-скрипта. Ключевые параметры включали XY-размер структуры (15×15 мм), высоту слоя (0,6 мм), ширину линии (0,6 мм), расстояние между линиями (1,8 мм или 3 ширины линии), общее количество слоев (1–8), множитель скорости потока (0,75–2,5) и скорость печати (2,5 мм/с). Множитель скорости потока, прямо пропорциональный дозируемому объему, служит аналогом давления экструзии в пневматических дозирующих системах. Во время печати структуры сшивали под воздействием УФ-излучения (36 Вт, 365 нм) в течение 60 с. Выбор времени УФ-излучения основывался на результатах измерений степени конверсии. При расчетах предполагали, что поперечное сечение экструдированной нити имеет идеально круглую форму с диаметром, соответствующим соплу 0,6 мм.

На протяжении всего процесса экструдер перемещали в плоскости XY со скоростью 2,5 мм/с. Выбор был обусловлен нашими предварительными экспериментами, которые показали, что более высокие скорости печати приводят к ухудшению адгезии первого слоя к подложке (кремниевой пластине) и снижению точности формы последующих слоев, особенно на прямых углах решетчатой структуры. Эти негативные эффекты были особенно выражены при низких параметрах скорости потока.

Для оценки точности воспроизведения формы проводили тест на провисание нити [109] путем печати нити над опорными столбиками, расположенными на расстоянии 2, 4, 8 и 16 мм друг от друга. Такую модель (Рис. 2.20) со столбиками заранее изготовили на принтере Form 2 (Formlabs) из смеси акрилатных олигомеров с фотоинициатором. Угол отклонения на краю подвешенной нити измеряли с использованием стоп-кадров видео и программного обеспечения ImageJ.

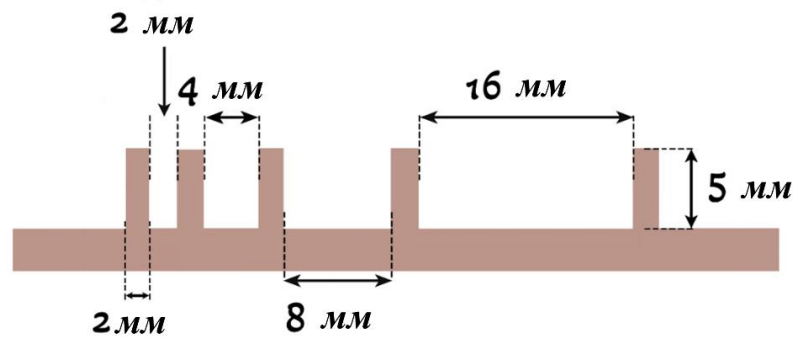


Рисунок 2.20. Схематическое изображение структуры опорных столбиков, используемой в тесте на провисание нити.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Гидроксипропилгуар и гели на его основе

В данной работе для создания гидрогеля был выбран ГПГ — биоразлагаемый гибкоцепной полисахарид с высокой молярной массой (до нескольких миллионов г/моль [73]).

3.1.1. Характеристика гидроксипропилгуара: химический состав, молярная масса, вязкость в растворе

Согласно данным ^1H ЯМР-спектроскопии, полученным в работе [110], используемый нами образец ГПГ содержит около 0,7 боковых групп галактозы на каждое звено маннозы в основной цепи и в среднем 0,91 гидроксипропильной группы на остаток моносахарида. Молярная масса исследуемого образца ГПГ составляет 1 500 000 г/моль. Она была оценена из данных по характеристической вязкости ($[\eta]=12,14$ (Рис. 3.1)) с использованием уравнения Марка – Куна – Хаувинка:

$$[\eta] = 1,72 \times 10^{-4} \times M_w^{0.785} \text{ (дл/г)},$$

коэффициенты которого были определены Ченгом с соавторами [75]. Показатель $\alpha = 0,785$ характеризует форму макромолекулы в растворе и степень ее взаимодействия с растворителем. Заметим, что величина α в случае ГПГ выше, чем у гуара ($\alpha=0,75$ [75]). Это означает, что введение гидроксипропильных групп несколько увеличивает жесткость цепи. Это может быть связано с тем, что объемные гидроксипропильные группы создают стерические препятствия, ограничивающие вращение вокруг гликозидных связей, что приводит к распрямлению цепи. Полученная молярная масса соответствует степени полимеризации около 4100 (в расчете на одно маннопиранозное кольцо в основной цепи). Персистентная длина ГПГ составляет 10 нм [111].

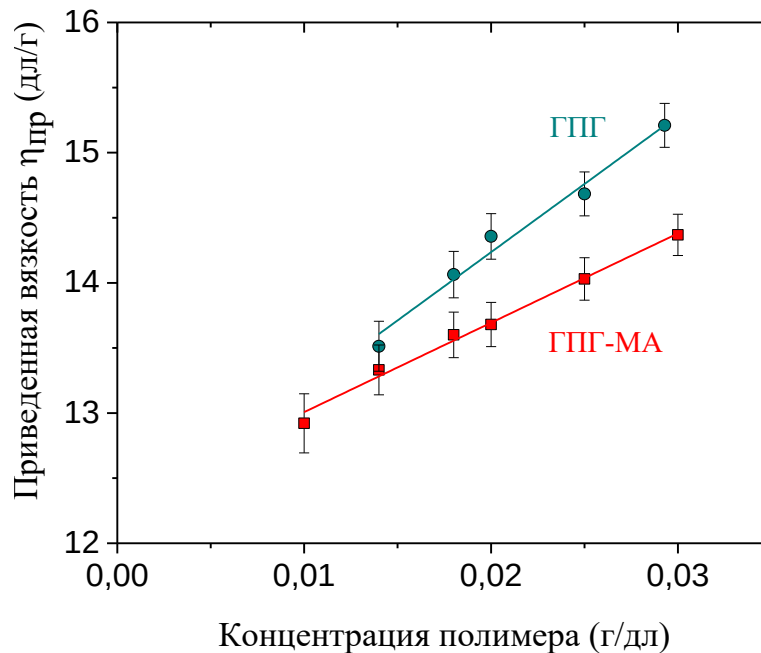


Рисунок 3.1. Зависимость приведенной вязкости от концентрации полимера для водных растворов гидроксипропилгуара ГПГ (круги) и метакрилированного гидроксипропилгуара ГПГ-МА (квадраты) при 20 °С.

3.1.2. Метакрилированный гидроксипропилгуар: синтез и свойства

Для сшивания цепей ГПГ между собой их химически модифицировали путем введения фотополимеризуемых метакрилатных групп. Такой подход широко используется для получения ковалентно сшитых полисахаридов [112], однако для ГПГ его еще не применяли. Предложенная нами методика метакрилирования ГПГ основана на подходах, ранее разработанных для метакрилирования альгината, хитозана и гиалуроновой кислоты [112, 113], но в ней использованы существенно меньшие количества метакрилового ангидрида и щелочи. Метакрилированный ГПГ (ГПГ-МА) (Рис. 2.7) мы получали взаимодействием 0,5 вес.%-ного водного раствора ГПГ с 0,65–2,46 мМ метакрилового ангидрида (Рис. 2.3) при pH = 8. Реакция протекала в течение 1 ч при 4°C. Полученный таким образом полимер осаждали 10-кратным избытком этанола для удаления взятого в избытке метакрилового ангидрида, а также метакриловой кислоты, образовавшейся в процессе гидролиза. Затем модифицированный

полимер ГПГ-МА растворяли в воде, проводили диализ этого раствора и затем выделяли полимер при помощи лиофильной сушки.

Включение метакрилатных групп в полимерные цепи было подтверждено данными ^1H ЯМР-спектроскопии для образцов, тщательно очищенных диализом от остатков непрореагировавшей метакриловой кислоты и метакрилового ангидрида. Типичный ^1H ЯМР спектр представлен на Рис. 3.2. Из ^1H ЯМР спектров определяли степень метакрилирования (МА) – среднее количество метакрилатных заместителей в расчете на одно моносахаридное кольцо. Определение МА проводили из отношения интеграла пика протонов CH_3 -группы метакрилата (при 1,94 м.д.), соответствующего одному протону, к сумме интегралов пиков аномерных протонов $-\text{O}-\text{CH}-\text{O}-$ моносахаридных колец: галактопиранозильного (при 5,18 и 5,01 м.д. [114]) и маннопиранозильного (при 4,72 м.д. [114]). Поскольку каждая метакрилатная группа содержит три протона CH_3 -группы, а каждая моносахаридная единица содержит один аномерный протон, степень метакрилирования можно оценить по следующей формуле:

$$\text{МА} = \frac{I_{\text{МА}}}{I_{\text{моносахарид}}} = \frac{\frac{1}{3} I_{1,94 \text{ м.д.}}}{I_{5,18 \text{ м.д.}} + I_{5,01 \text{ м.д.}} + I_{4,72 \text{ м.д.}}}$$

где $I_{\text{МА}}$ - интеграл, соответствующий одному протону метильной группы в метакрилатных фрагментах, а $I_{\text{моносахарид}}$ - интеграл аномерных протонов моносахаридных колец.

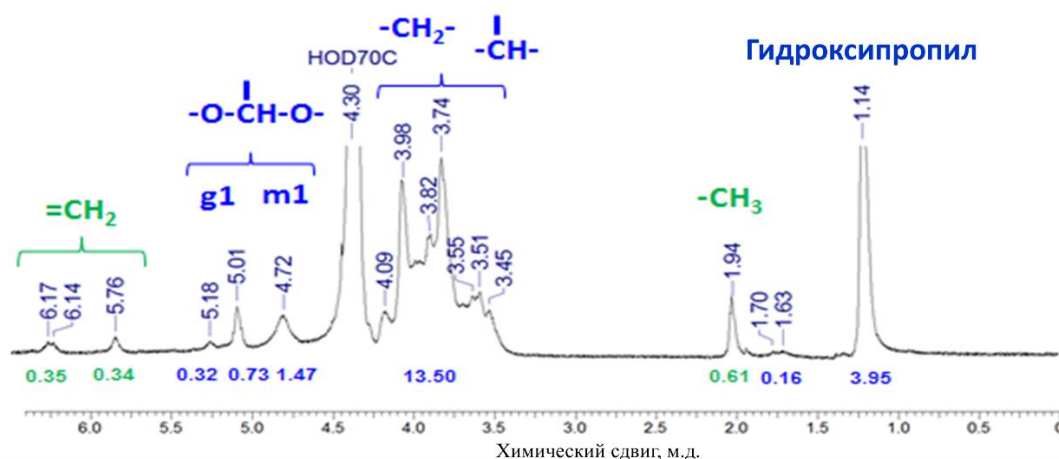


Рисунок 3.2. ^1H ЯМР спектр 1 вес. %-ного раствора ГПГ-МА ($[\text{МА}] = 0,08$) в D_2O . Отнесение пиков приведено согласно работе [87].

Образцы ГПГ-МА с разной степенью метакрилирования получали, варьируя концентрацию метакрилового ангидрида в реакционной смеси. На Рис. 3.3 представлена зависимость количества метакрилатных групп, пришитых к полимерным цепям ГПГ-МА, в расчете на моносахаридное кольцо от исходной концентрации метакрилового ангидрида. Поскольку метакрилатные группы в дальнейшем использовали для сшивания полисахаридных цепей, модифицировали только относительно небольшую долю звеньев, чтобы обеспечить образование достаточно длинных субцепей в сетке. Для большинства дальнейших исследований был использован образец ГПГ-МА, содержащий 0,56 мол.% метакрилатных групп, то есть одну метакрилатную группу в расчете на 180 моносахаридных колец или на 106 маннопиранозных колец основной цепи.

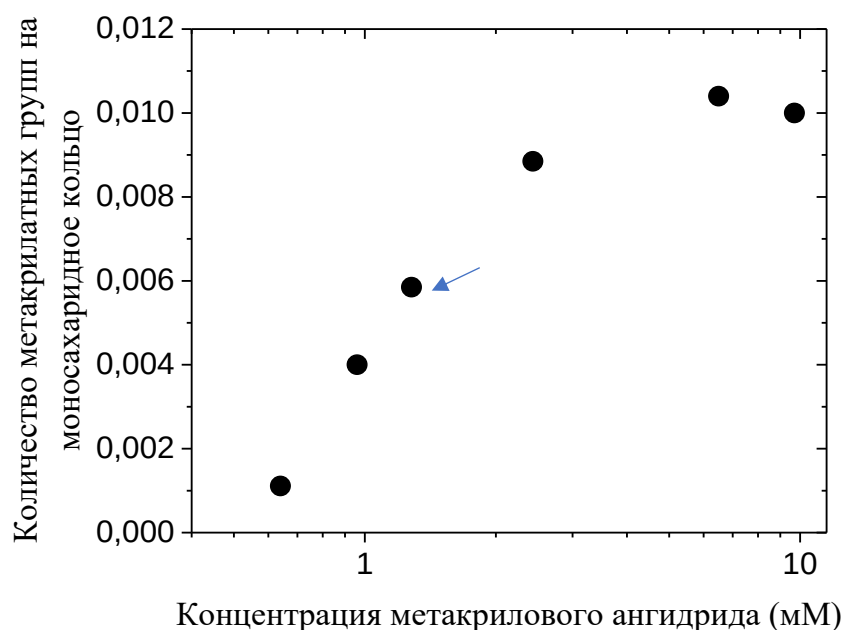


Рисунок 3.3. Зависимость количества метакрилатных групп, внедренных в полимерные цепи ГПГ-МА, в расчете на моносахаридное кольцо от концентрации метакрилового ангидрида, добавленного к 0,5 вес.%-ному раствору ГПГ при pH 8 в ходе химической модификации. Образец, использованный для большинства дальнейших исследований, отмечен стрелкой. Он содержит 0,56 мол.% метакрилатных групп, то есть одну метакрилатную группу на 106 маннопиранозных колец основной цепи.

Молярную массу модифицированного полимера ГПГ-МА определяли методом вискозиметрии (Рис. 3.1) по значению характеристической вязкости, которая составляла $[\eta]=12,32$ дл/г. Для расчета использовали те же коэффициенты в уравнении Марка-Куна-Хаувинка, что и для немодифицированного ГПГ [75]. Полученное значение молярной массы составило 1530000 г/моль, что близко к значению для ГПГ до модификации. Это указывает на то, что реакция метакрилирования не сопровождалась деструкцией полимера.

В то же время сравнение прямых линий, аппроксимирующих зависимости приведенной вязкости $\eta_{пр}$ от концентрации полимера C для ГПГ до и после модификации (Рис. 3.1), показывает, что наклон прямой для раствора немодифицированного ГПГ круче. По величинам наклона были определены значения коэффициента Хаггинса (k_H) из уравнения [75]:

$$\eta_{пр} = [\eta] + k_H[\eta]^2C$$

Они составили 0,71 и 0,45 для растворов ГПГ и ГПГ-МА, соответственно. Известно, что коэффициент Хаггинса является мерой количественной характеристики межмолекулярных взаимодействий в разбавленном растворе полимера [114]. Следовательно, значительно более низкие значения k_H в случае ГПГ-МА указывают на ослабление притяжения между макромолекулами после модификации полимера. Это может быть обусловлено стерическими затруднениями, которые создают объёмные метакрилатные группы, препятствуя образованию водородных связей - одной из основных причин ассоциации макромолекул ГПГ [114]. Отметим, что значения k_H составляют около 0,7 в тета-условиях и уменьшаются из-за эффекта исключенного объема, достигая предельного значения около 0,3 в условиях хорошего растворителя [115]. Таким образом, воду можно считать растворителем, близким к тета-растворителю, для исходного ГПГ и хорошим растворителем для ГПГ-МА при 20 °С.

3.1.3. Механические свойства ГПГ-МА гидрогелей

Для получения гидрогелей цепи ГПГ-МА сшивали под действием УФ-облучения в воде в присутствии биосовместимого [113] фотоинициатора ТРО-*Li*. Среди водорастворимых фотоинициаторов ТРО-*Li* показывает наилучшие результаты при УФ-облучении и обладает низкой цитотоксичностью ($LC_{50} = 3,1$ ммоль/л), что допускает дальнейшее применение сшитого полимера в биологии, например, для инкапсуляции клеток [116]. ТРО-*Li* вызывает образование свободных радикалов, которые взаимодействуют с метакрилатными группами, что приводит к сшиванию макромолекул ГПГ. Процедура фотополимеризации была ранее разработана для нескольких метакрилированных полисахаридов: гиалуроновой кислоты [112, 113, 117], хитозана [113], альгината [112, 118], хондроитинсульфата [119] и гуара [85]. Здесь мы впервые применяем её для ГПГ.

Для сшивания использовали растворы ГПГ-МА с концентрацией от 1 до 8 вес.%. Эти концентрации соответствовали полуразбавленному режиму с зацеплениями, поскольку концентрация перехода из полуразбавленного режима без зацеплений в полуразбавленный режим с зацеплениями (C_e) составляет 0,2 вес.%, что было ранее определено по реологическим данным [110]. В результате сшивания под действием УФ-облучения вязкая жидкость превращалась в гидрогель. Образование геля подтверждено реологическими данными (Рис. 3.4а). Действительно, исходный раствор ГПГ-МА представлял собой жидкость, так как вязкий вклад в комплексный модуль (модуль потерь) G'' превышал упругий вклад (модуль накопления) G' при большей части измеренных частот. После УФ-облучения в течение 10 мин. модуль накопления G' становился выше модуля потерь G'' почти на два порядка величины и почти не зависел от частоты, демонстрируя широкое плато (Рис 3.4а). При постоянной доле метакрилатных групп ($[MA]=0,56$ мол.%) величина модуля упругости на плато G_0 гидрогелей ГПГ-МА увеличивается с 0,2 до 5 кПа при увеличении концентрации полимера (Рис. 3.4б). Для гидрогеля, содержащего 8 вес.% ГПГ-МА, модуль упругости на плато G_0 составлял 5 кПа (Рис. 3.4б), что почти в 3 раза выше, чем

для 8 вес.%-ного гидрогеля гиалуроновой кислоты, содержащей метакрилатные группы [111]. Следовательно, сшивка в настоящей системе была более эффективной, что может быть связано, в частности, с различием в структурах гиалуроновой кислоты и ГПГ.

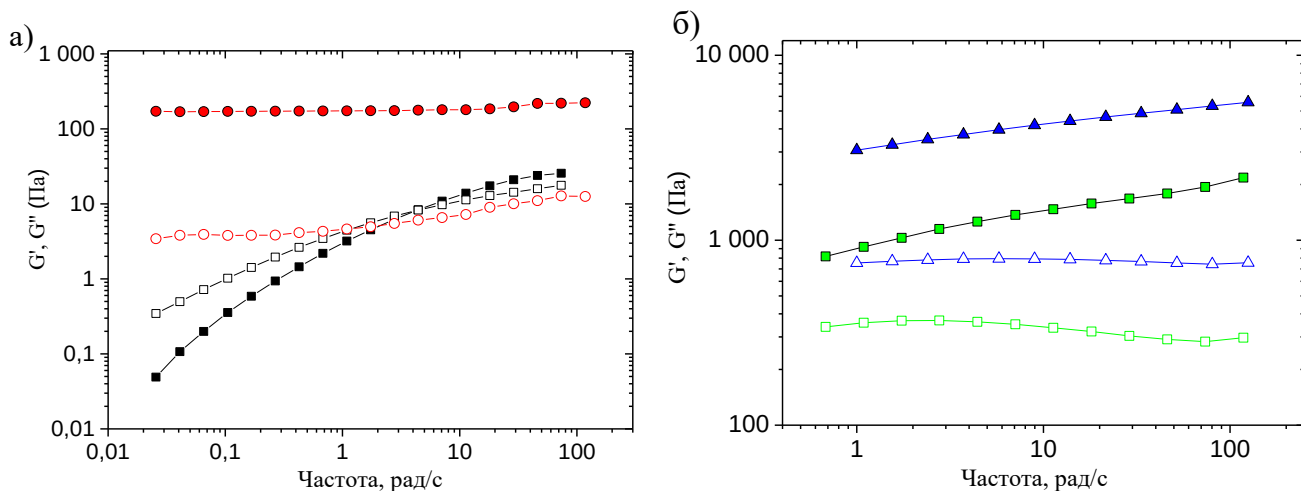


Рисунок 3.4. а) Частотные зависимости модуля накопления G' (закрашенные символы) и модуля потерь G'' (пустые символы) для 1 вес.%-ного раствора ГПГ-МА ($[MA]=0,56$ мол.%) до (квадраты) и после (круги) УФ-облучения при 20 °С. б) Частотные зависимости модуля накопления G' (закрашенные символы) и модуля потерь G'' (пустые символы) для гидрогелей ГПГ-МА ($[MA]=0,56$ мол.%) при разном содержании полимера: 5 вес.% (квадраты) и 8 вес.% (треугольники) при 20 °С.

Из модуля упругости на плато (G_0) оценивали размер элементарной ячейки сетки, представляющий линейное расстояние между двумя соседними сшивками [120], используя формулу, предложенную Маккинтошем с соавторами [121] для полуразбавленных растворов полимеров с зацеплениями:

$$G_0 \approx \frac{k_B T l_p^{7/5}}{\xi^{22/5}}$$

где k_B - постоянная Больцмана, T - температура, l_p - персистентная длина (для ГПГ 10 нм [111]). Размеры ячеек сетки, рассчитанные из модуля упругости на плато G_0 для гидрогелей ГПГ-МА, полученных при разных концентрациях полимера, находились в диапазоне от 10 до 20,4 нм, что сравнимо с размером пор многих биологических гидрогелей [122]. Такой размер ячеек позволяет

осуществлять беспрепятственный транспорт питательных веществ, продуктов метаболизма, низкомолекулярных лекарств, антисептиков [123] и факторов роста [124].

Таким образом, была получена серия гидрогелей ГПГ-МА, различающихся механическими свойствами и размером пор. Данные реологических экспериментов на сдвиг показывают, что в результате УФ-облучения вязкоупругая жидкость превращается в гель: модуль накопления G' становится практически независимым от частоты, превышая модуль потерь G'' почти на два порядка.

На Рис. 3.5а показаны зависимости напряжения от деформации при растяжении для гидрогелей, полученных из образцов ГПГ-МА с разной степенью метакрилирования. Видно, что с увеличением степени метакрилирования, обеспечивающей более высокую плотность сшивки геля, модуль упругости, определённый по начальному линейному наклону кривых, возрастает (Рис. 3.5б). Одновременно увеличивается предел прочности при растяжении, тогда как относительное удлинение при разрыве уменьшается (Рис. 3.5а). Таким образом, образцы

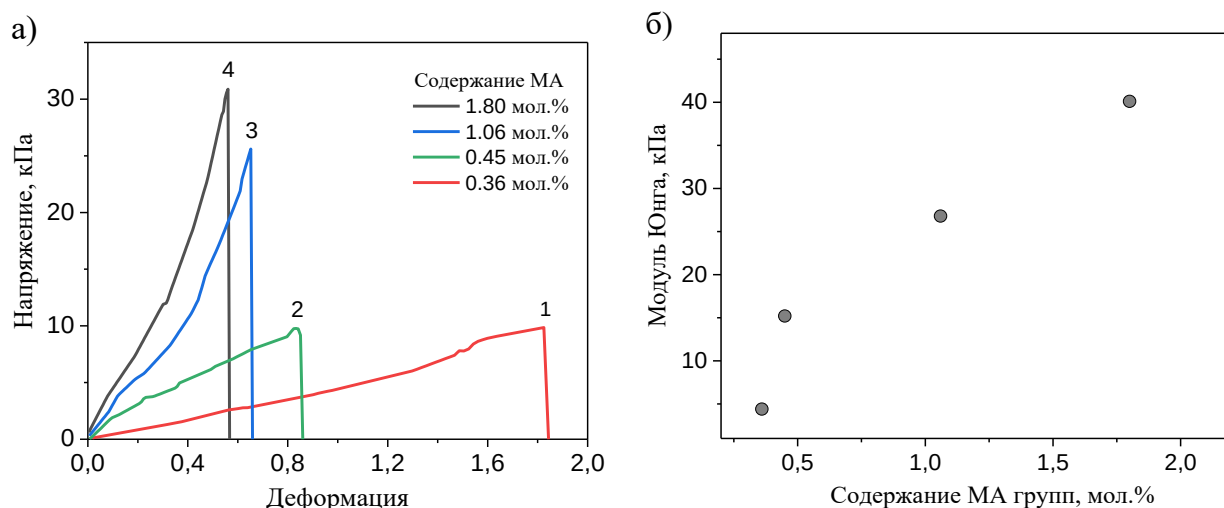


Рисунок 3.5. а) Зависимости напряжения от деформации при растяжении для гидрогелей, полученных фотосшиванием 8 вес.%-ных растворов ГПГ-МА с разным содержанием метакрилатных групп, указанным на рисунке. б) Зависимость модуля Юнга, определенного по начальному участку кривых растяжения, от содержания МА групп для той же системы.

гидрогелей с большей плотностью сшивки демонстрируют более высокий начальный модуль упругости и более раннее разрушение. Эти результаты согласуются с экспериментальными данными [125] и результатами компьютерного моделирования [126], полученными для различных гидрогелей.

Таким образом, нами впервые получены гидрогели широкодоступного биоразлагаемого полимера ГПГ с прочными ковалентными сшивками. Мы полагаем, что метакрилирование ГПГ не должно существенно влиять на его биоразлагаемость, поскольку степень модификации очень мала (0,45–0,55 мол.% в большинстве экспериментов). Из литературных данных следует, что метакрилированная гуаровая камедь с гораздо более высокой степенью модификации (14 мол.%) может разлагаться всего за 44 часа при добавлении ферментов [85].

3.1.4 Гидрогели на основе ГПГ с двумя типами сшивок

Гидрогели ГПГ-МА, рассмотренные в разделе 3.1.3, содержат только один тип поперечных связей - необратимые ковалентные сшивки, образующиеся при фотополимеризации метакрилатных групп. Механические свойства таких гелей могут быть усилены путем введения в полимерную сетку также еще одного типа сшивок.

3.1.4.1. Синтез гелей

Для синтеза гидрогелей ГПГ с двумя типами сшивок водный раствор, содержащий ГПГ-МА, мономер ФБК и фотоинициатор ТРО-*Li*, облучали УФ-светом при pH 9 для инициирования фотополимеризации ФБК, сополимеризации ФБК с метакрилатными группами ГПГ-МА и сшивания ГПГ по метакрилатным группам. В результате была получена сетка ГПГ-МА-ПФБК, содержащая цепи ГПГ и ПФБК со сшивками по МА группам. Поскольку концентрация ФБК была довольно низкой, некоторые цепи ПФБК могли быть присоединены только к одной МА группе. В этой сетке, помимо необратимых сшивок, можно также ожидать образования лабильных

(обратимых) сшивок вследствие взаимодействия между ФБК и цис-диольными группами ГПГ (Рис. 3.6а) [110].

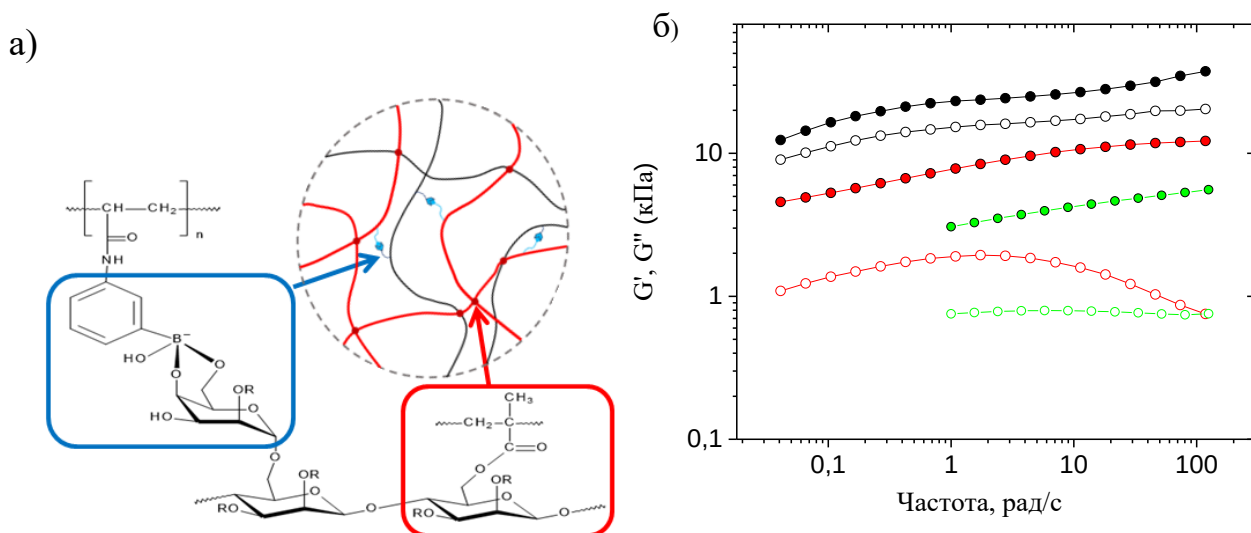


Рисунок 3.6. а) Молекулярная структура сетки ГПГ-МА-ПФБК с двумя типами сшивок. Сшивки отмечены прямоугольниками. б) Частотные зависимости модулей накопления G' (закрашенные символы) и потерь G'' (пустые символы) для гидрогелей, содержащих 8 вес.% ГПГ-МА-ПФБК ($[MA]=0,56$ мол.%), с разным содержанием ПФБК: 0% (зеленые символы), 0,5 вес.% (красные символы) и 2 вес.% (черные символы).

3.2.4.2. Реологические свойства гелей

На Рис. 3.6б показаны реологические свойства полученных гидрогелей ГПГ-МА-ПФБК. Видно, что при добавлении 2 вес.% ПФБК модуль накопления увеличивается на порядок, достигая 30 кПа. Это указывает на то, что в этих условиях концентрация эластически активных субцепей в сетке стала выше.

Отметим, что в гидрогелях ГПГ-МА, содержащих только необратимые сшивки, и G' , и G'' практически не зависят от частоты (Рис. 3.4). В то же время в большинстве гидрогелей ГПГ-МА-ПФБК модуль потерь проявляет сильную зависимость от частоты, показывая выраженный максимум ($G'_{\max}$) и минимум (Рис. 3.6б). Такие зависимости $G''(\omega)$ характерны для полимерных систем с лабильными сшивками (например, с временными зацеплениями или слабыми связями). Например, такие зависимости $G''(\omega)$ наблюдаются для гелей поливинилового спирта [127-129] и

гуара [77, 78, 130], сшитых борат-ионами. Из величины, обратной частоте ω^* , соответствующей $G''_{\max}$, можно оценить наибольшее время релаксации τ_r , которое представляет собой время, необходимое для выхода макромолекулы из эффективной трубки, образованной соседними цепями, путем рептации [77]. Поскольку рептация в гелях поливиниловый спирт/борат и гуар/борат затруднена из-за взаимодействия диольных групп полимера с борат-ионами, наибольшее время релаксации рассматривали как величину, обратно пропорциональную скорости обмена при образовании межмолекулярных сшивок [77]. Значение ω^* зависит от количества комплексов диол/борат-ионов и уменьшается при увеличении концентрации диольных групп или борат-ионов [77].

Аналогичная модель рептации с обратимыми связями может быть справедлива для гидрогелей ГПГ-МА-ПФБК, если они содержат свободные цепи ПФБК, захваченные сеткой, или цепи ПФБК, присоединенные к сетке только одним концом. В этом случае рептация должна быть затруднена, потому что любое мономерное звено ПФБК может обратимо связываться с соседними цепями ГПГ. Для гидрогеля, содержащего 8 вес.% ГПГ-МА-ПФБК и 0,5 вес.% ПФБК, оценка наибольшего времени релаксации, соответствующего $G''_{\max}$, составила 0,57 с. При более высоком содержании ФБК четкий максимум на зависимости $G''(\omega)$ исчезает. Это может быть объяснено, в частности, значительным замедлением процесса релаксации. Замедление, вероятно, обусловлено двумя факторами. Во-первых, образованием большего количества связей диол/борат. Во-вторых, увеличением времени жизни этих связей, которое возникает благодаря участию нескольких соседних звеньев ФБК в формировании сшивок. В результате обратимые сшивки становятся более прочными, а их лабильность уменьшается.

Чтобы выявить влияние лабильных сшивок на динамические модули, мы разрушили сшивки диольных групп полимера с борат-ионами путем снижения pH среды [131] (Рис. 3.7a). Добавление азотной кислоты, приводящее к понижению pH, смещает кислотно-основное равновесие слабой ФБК, уменьшая концентрацию борат-ионов, участвующих в образовании

сшивок с цис-диольными группами полимера. Рис. 3.7б показывает влияние добавленной азотной кислоты на вязкоупругое поведение гелей ГПГ-МА-ПФБК. Видно, что кислота вызывает уменьшение обоих динамических модулей. Этот результат показывает, что сшивки диол/боратионы вносят значительный вклад в модуль упругости. Отметим, что при добавлении кислоты максимум на зависимости $G''(\omega)$ исчезает, подтверждая, что он действительно был обусловлен наличием лабильных сшивок.

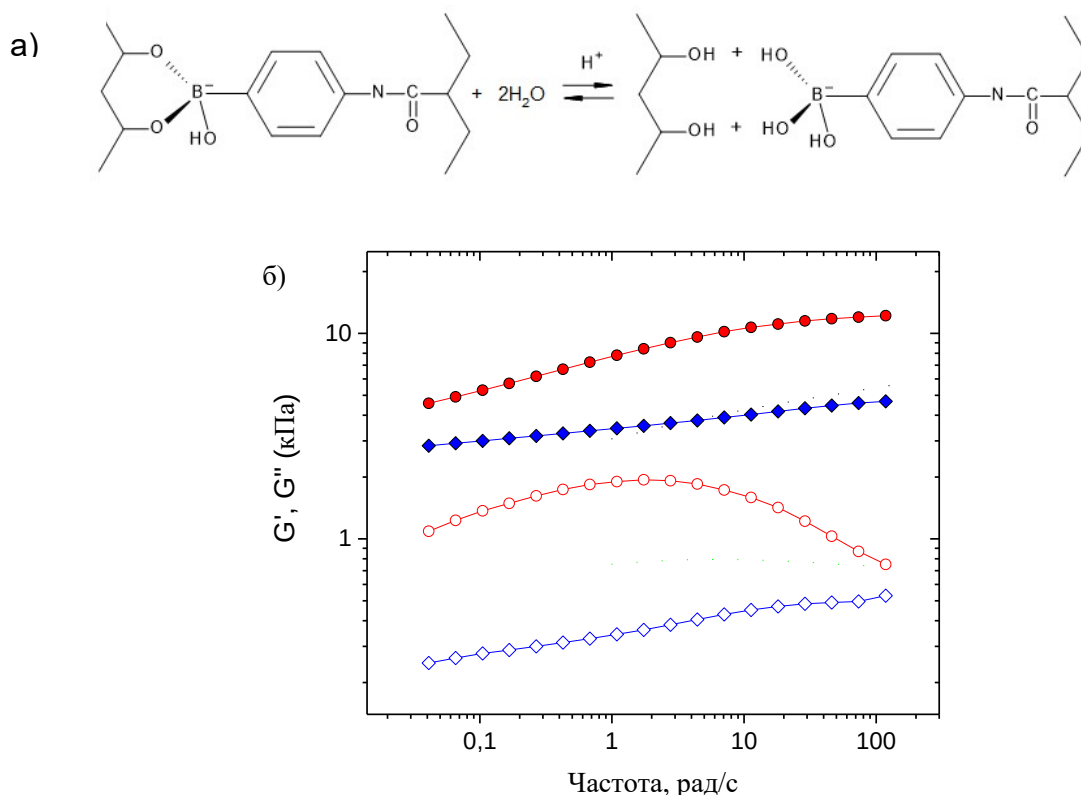


Рисунок 3.7. а) Схематическое представление разрушения и образования связей между цис-диольными группами и ФБК. б) Частотные зависимости модулей накопления G' (закрашенные символы) и потерь G'' (пустые символы) для гидрогелей, содержащих 8 вес.% ГПГ-МА-ПФБК ($[MA] = 0,56$ мол.%) и 0,5 вес.% ПФБК, до (круги) и после (ромбы) добавления 42,1 мМ азотной кислоты.

Таким образом, были получены гидрогели ГПГ-МА-ПФБК, которые содержат два типа сшивок: необратимые ковалентные сшивки за счет МА групп и обратимые сшивки между звеньями ФБК и ГПГ.

3.1.4.3. Восприимчивость к pH

Введенные цепи ПФБК, с одной стороны, укрепляют гель, создавая дополнительные сшивки и увеличивая модуль упругости, с другой стороны, они придают ему ярко выраженную восприимчивость к pH, так как ФБК является слабой кислотой. Рис. 3.8 показывает влияние pH на степень набухания гидрогелей ГПГ-МА-ПФБК. Видно, что гели ГПГ-МА, не содержащие группы ФБК, практически не проявляет зависимости степени набухания от pH, как и можно ожидать для геля, не содержащего звеньев слабой кислоты или слабого основания. В то же время поведение гелей ГПГ-МА-ПФБК кардинально другое: их степень набухания сильно зависит от pH. Видно, что при pH 6 степень набухания близка к степени набухания геля ГПГ-МА, поскольку при этом pH звенья ФБК не заряжены. Когда pH становится выше 6,8, степень набухания резко возрастает. Это связано с возникновением зарядов на ПФБК, которое вызывает полиэлектролитное набухание. Этот эффект обусловлен двумя факторами: электростатическим отталкиванием между одноименно заряженными мономерными звеньями и осмотическим давлением, создаваемым противоионами [132]. Максимальная степень набухания гелей ГПГ-МА-ПФБК составляет примерно 120 при pH 9,4, что превышает значение для гелей ГПГ-МА в 5 раз. Максимум находится вблизи значения pK_a ФБК, равного 8,8 [133].

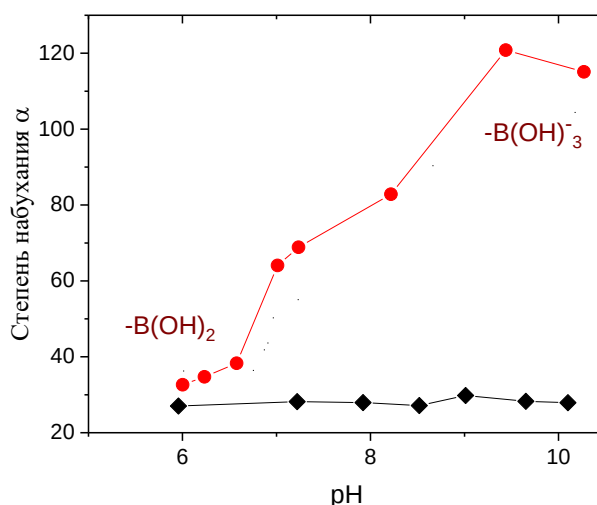


Рисунок 3.8. Зависимость степени набухания α от pH для следующих гидрогелей: гидрогеля ГПГ-МА ($[MA]=0,56$ мол.%) в воде (ромбы) и гидрогеля ГПГ-МА-ПФБК ($[MA]=0,56$ мол.%), содержащего 2 вес.% ПФБК в воде (круги).

Таким образом, гидрогели ГПГ-МА-ПФБК показывают выраженную зависимость набухания от pH. Это дает возможность использовать эти гели для контролируемого выделения содержащихся в них веществ в зависимости от pH среды. Это важно, в частности, для контролируемого высвобождения дезинфицирующих агентов.

Чтобы исследовать контролируемое pH высвобождение дезинфицирующих агентов, мы выбрали антисептик цетилпиридиний хлорид (ЦПХ), который эффективен, в частности, против SARS-CoV-2 [106]. ЦПХ представляет собой катионное ПАВ. Связывание ПАВ с противоположно заряженными гидрогелями носит двухстадийный характер. Известно [107], что отрицательно заряженные гидрогели могут эффективно поглощать противоположно заряженные ионы ПАВ благодаря реакции ионного обмена с противоионами полимера, причем этот процесс начинается при критической концентрации агрегации, которая может быть на 1-2 порядка ниже критической концентрации мицеллообразования ПАВ в растворе [134]. Когда количество связанных ионов ПАВ приближается к количеству заряженных полимерных звеньев, гель поджимается [107], поскольку ионы ПАВ агрегируют в мицеллы, которые, связываясь с полимерной сеткой, действуют как дополнительные сшивки, что наряду с уменьшением осмотического давления внутри геля приводит к коллапсу [107]. При избытке ПАВ по отношению к заряженным группам полимерной сетки гель может дополнительно поглощать ПАВ благодаря гидрофобным взаимодействиям. В этом случае ионы ПАВ проникают в гель вместе со своими противоионами, что вызывает перезарядку комплекса ПАВ-полимер и увеличение осмотического давления, а также исчезновение дополнительных сшивок, что в совокупности обуславливает повторное набухание [134].

Чтобы избежать коллапса геля, мы использовали избыток ЦПХ по отношению к заряженным звеньям геля. Такой гель, содержащий ЦПХ, разрезали на две части, одну из которых погружали в раствор с pH 5,9, а другую - в раствор с pH 8,9. Согласно экспериментам по набуханию (Рис. 3.8), гель должен набухать гораздо сильнее при pH 8,9, чем при pH 5,9. На Рис.

3.9а показан профиль высвобождения ЦПХ при разных значениях pH (5,9 и 8,9). Видно, что скорость высвобождения намного выше при щелочном pH, что может быть связано с большим набуханием геля (Рис. 3.8), способствующим диффузии растворенного вещества. Профиль доли высвобожденного ЦПХ от времени аппроксимируется зависимостью квадратного корня ($t^{1/2}$), что характерно для диффузионно-контролируемого процесса, описываемого законом Фика [135]. Видно (Рис. 3.9а), что гель обеспечивает пролонгированное высвобождение ЦПХ в течение нескольких дней.

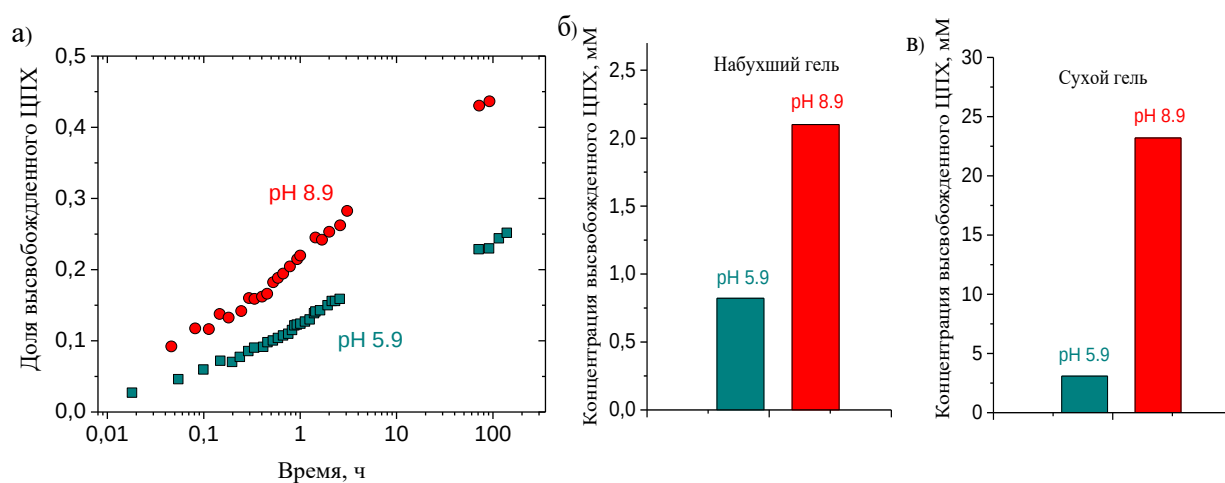


Рисунок 3.9. а) Профиль высвобождения цетилпиридиний хлорида из гидрогелей, содержащих 8 вес.% ГПГ-МА-ПФБК ([МА]=0,56 мол.%) и 2 вес.% ПФБК, в 43 мл воды при pH 5,9 (квадраты) и 8,9 (круги). б) Высвобождение цетилпиридиний хлорида из гидрогелей, содержащих 8 вес.% ГПГ-МА-ПФБК ([МА]=0,56 мол.%) и 2 вес.% ПФБК, набухших в воде при pH 5,9 (зеленые символы) и 8,9 (красные символы), в 0,2 мл 0,9 вес.%-ного раствора NaCl за 2 с. в) Высвобождение цетилпиридиний хлорида из сухого покрытия, полученного из гидрогелей, содержащих 8 вес.% ГПГ-МА-ПФБК ([МА]=0,56 мол.%) и 2 вес.% ПФБК, набухших в воде при pH 5,9 (зеленые символы) и 8,9 (красные символы), в 0,2 мл 0,9 вес.%-ного раствора NaCl за 2 с.

При рассмотрении применения покрытия из гидрогеля для дезинфекции важно изучить высвобождение дезинфицирующего средства в небольшие капли воды, образующиеся на поверхности, например, при кашле или чихании. Чтобы промоделировать эту ситуацию, мы определяли количество ЦПХ, высвободившегося за 2 с в очень малый объем (0,2 мл) 0,9 вес.%-

ного раствора NaCl. Результаты представлены на Рис. 3.9б. Видно, что и в этом случае высвобождение увеличивается с повышением pH. Количество высвободившегося ЦПХ при pH 8,9 было достаточным для полной инактивации SARS-CoV-2 (коэффициент ингибирования =100%) за 5 с, как ранее было продемонстрировано в работе [106].

Рис. 3.9в показывает результаты высвобождения ЦПХ из сухого покрытия, приготовленного из того же геля ГПГ-МА-ПФБК ([МА]=0,56 мол.%), в очень малый объем (0,2 мл) 0,9 вес.-%-ного раствора NaCl. В этом случае разница между количеством ЦПХ, высвободившегося при двух разных значениях pH, стала еще более выраженной. Вероятнее всего, это связано с тем, что локальное набухание высушенного геля при контакте с добавленной каплей воды приводит к тому, что высвобождение ЦПХ происходит гораздо медленнее для незаряженного геля (при pH 5,9), чем для заряженного (pH 8,9). В результате за 2 с из незаряженного геля высвобождается гораздо меньше ЦПХ. В то же время концентрация высвободившегося ЦПХ из высушенного геля намного выше, чем из набухшего геля (Рис. 3.9б,в), что можно объяснить более высокой концентрацией ЦПХ внутри геля после его высушивания. Количество ЦПХ, высвободившегося из высушенных гелей ГПГ-МА-ПФБК, было более чем достаточным для полной инактивации SARS-CoV-2 (коэффициент ингибирования =100%) за 5 с [106].

Таким образом, созданные гидрогели демонстрируют pH-зависимое высвобождение дезинфицирующего средства, которое может быть использовано для создания антисептических покрытий с заданной активностью.

К настоящему времени предложено несколько полимерных гидрогелей для высвобождения дезинфицирующих средств, включая, например, гели на основе сополимера 4-винилбензилхлорида и акриловой кислоты и на основе сополимера 4-стиролсульфоната натрия и глицидилметакрилата [136], гели на основе сополимеров акриламида и 2-акриламидо-2-метилпропансульфоната натрия или метакрилата натрия [106] и микрогели на основе взаимопроникающей сетки поли(N-изопропилакриламида) и полиакриловой кислоты [137].

Особенность настоящей системы заключается в том, что (1) она основана на биоразлагаемом нетоксичном полимере природного происхождения и (2) этот полимер может быть сшит *in situ*, что позволяет создавать долговременное дезинфицирующее покрытие на различных (даже очень сложных) поверхностях.

Таким образом, нами разработаны гидрогели на основе биоразлагаемого полимера ГПГ, сшитые двумя типами сшивок – необратимыми ковалентными сшивками (по метакрилатным группам) и обратимыми боратными сшивками (между ФБК и диольными группами полимера). Такие гели обладают эластичностью и ярко выраженной pH-чувствительностью. Они полезны для создания антисептических покрытий. Но для ряда других применений их механические свойства недостаточны. Одним из наиболее перспективных способов их улучшения является введение армирующих наполнителей [69].

3.2. Нанокристаллы целлюлозы и гели на их основе

НЦ являются одним из наиболее перспективных биоразлагаемых наноматериалов благодаря высокой кристалличности, биосовместимости и возможности химической модификации их поверхности [55, 138, 139]. Именно поэтому в большинстве практических приложений НЦ используют в качестве наполнителя для полимерных матриц, чтобы повысить жёсткость и прочность композита [140, 141].

Ключевым условием армирования является формирование самими НЦ собственной перколяционной сетки внутри полимерной матрицы – только в этом случае нагрузка эффективно передаётся на жёсткие наночастицы [142, 143]. В связи с этим прежде, чем переходить к композитам, необходимо детально изучить структурообразование в суспензиях НЦ, условия формирования физических сетей и способы повышения прочности, например, путем сшивания НЦ. Одним из эффективных методов сшивания отрицательно заряженных карбоксилированных НЦ является использование двухвалентных катионов, например, ионов кальция. Такой подход

позволяет сформировать физическую сетку с регулируемой жёсткостью [144]. В данном разделе мы исследуем реологические свойства водных суспензий карбоксиметилированных НЦ, определяем концентрацию перекрывания и точку гелеобразования, а также изучаем влияние ионов кальция на формирование гидрогелей.

3.2.1. Суспензии нанокристаллов целлюлозы в воде

3.2.1.1. Характеристики частиц

Размеры НЦ были определены при помощи просвечивающей электронной микроскопии (Рис. 3.10). Показано, что нанокристаллы имеют средний диаметр $D = 5$ нм и среднюю длину $L = 90$ нм. Это соответствует соотношению сторон L/D , равному 18.

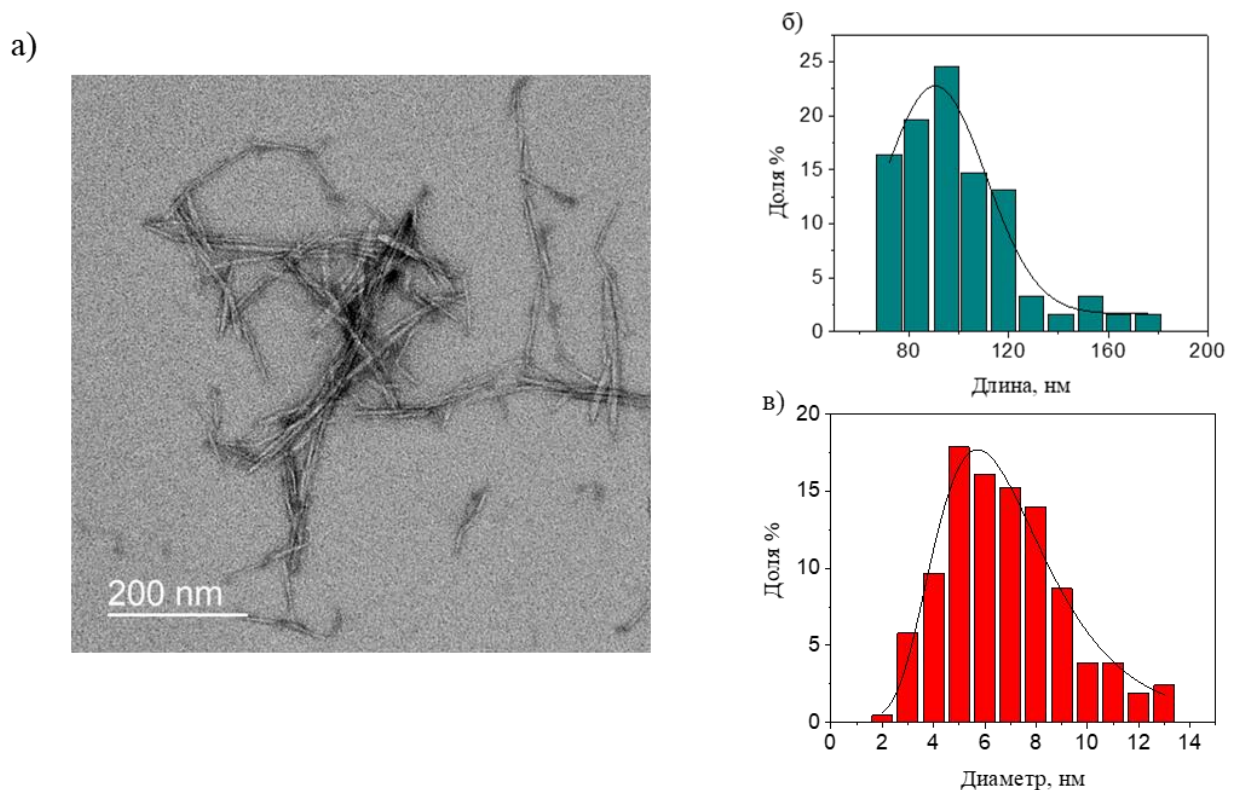


Рисунок 3.10. Микрофотография нанокристаллов целлюлозы, полученная методом просвечивающей электронной микроскопии (а), и гистограммы распределения длины (б) и диаметра (в) исследуемых нанокристаллов и их аппроксимация логнормальной функцией (линия).

Количество COO^- групп на поверхности НЦ оценивали методом кондуктометрического титрования. Для этого в суспензию нанокристаллов добавляли избыток HCl для протонирования всех карбоксильных групп. Затем проводили титрование добавлением 0,1 М NaOH . Кривые титрования состоят из трех областей (Рис. 3.11). В первой области происходит уменьшение проводимости из-за связывания протонов сильной кислоты HCl гидроксидом натрия. Во второй области наблюдается плато, которое объясняется депротонированием карбоксильных групп нанокристаллов [145]. В третьей области наблюдается рост проводимости, связанный с увеличением концентрации ионов OH^- по мере добавления избытка NaOH , после того как все карбоксильные группы нанокристаллов были депротонированы (Рис. 3.11). Количество раствора 0,1 М NaOH , израсходованного на депротонирование карбоксильных групп нанокристаллов (область II), было использовано для оценки содержания карбоксильных групп. Оно составило $1,15 \pm 0,10$ ммоль на грамм нанокристаллов.

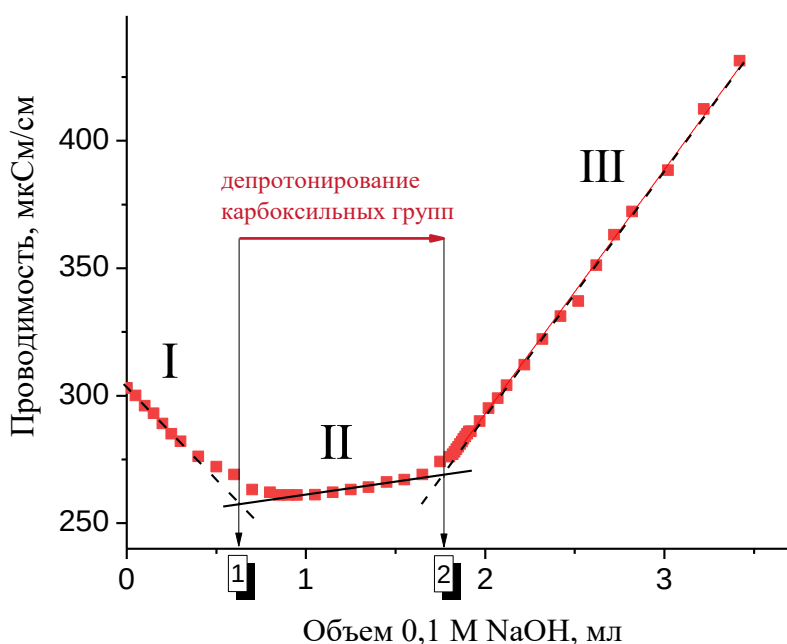


Рисунок 3.11. Кривая кондуктометрического титрования водной суспензии НЦ, содержащей 0,1 г нанокристаллов, 0,1 М раствором NaOH . 1 — точка эквивалентности сильной кислоты, 2 — точка эквивалентности слабой кислоты. Объем раствора NaOH , добавленного между точками эквивалентности сильной и слабой кислоты, который был израсходован на депротонирование карбоксильных групп, использовали для оценки содержания этих групп.

Величина pK_a карбоксильных групп на поверхности НЦ была определена из кривой потенциометрического титрования (Рис. 3.12) как значение pH в точке полуэквивалентности, когда половина COO^- групп была депротонирована [146]. Величина pK_a для карбоксильных групп НЦ составила 3,7 (Рис. 3.12), что близко к значению $pK_a=3,9$ для карбоксилированных наноприбрилл целлюлозы [147]. Дальнейшие эксперименты мы проводили при pH 6,5, когда все карбоксильные группы в суспензиях НЦ были депротонированы.

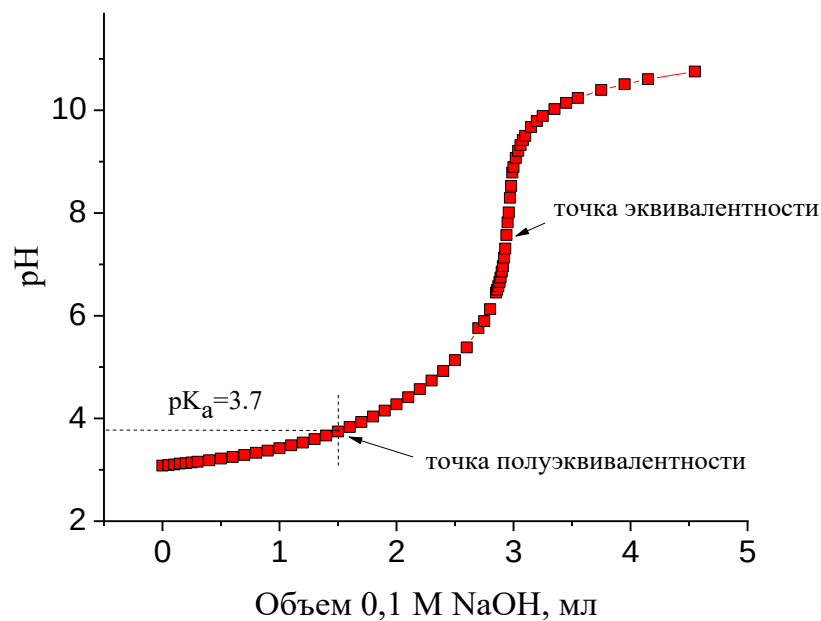


Рисунок 3.12. Кривая потенциометрического титрования 0,05 вес. %-ной водной суспензии НЦ, содержащей 0,1 г нанокристаллов, 0,1 М раствором NaOH. Значение pK_a определено как pH в точке полуэквивалентности, когда половина COO^- групп депротонирована.

Плотность поверхностного заряда НЦ была оценена как $1,3 \text{ e}^-/\text{nm}^2$ путем деления количества заряженных групп на поверхности одного нанокристалла на площадь поверхности этого нанокристалла:

$$\psi = \frac{qN_A\rho D^2L}{2(D^2 + 2DL)}$$

Средняя площадь поверхности нанокристалла была рассчитана как $2(D^2+2DL)$ в предположении, что нанокристалл имеет форму прямоугольного параллелепипеда с высотой $L=90 \text{ нм}$ и

шириной $D=5$ нм. Количество заряженных групп на поверхности одного нанокристалла было оценено путем умножения количества молей заряженных групп COO^- на грамм НЦ (q) на число Авогадро (N_A) и массу одного НЦ (ρV), где ρ — плотность НЦ, а V — его объём ($V=D^2L$).

3.2.1.2. Фазовое поведение

Водные суспензии НЦ стабильны. Фазового расслоения не происходит в течение нескольких месяцев при концентрации НЦ до 20 вес.%. Вероятно, это связано с высоким зарядом нанокристаллов, сегрегация которых в отдельную фазу невыгодна, так как ведёт к усилению электростатического отталкивания и значительной потере в трансляционной энтропии противоионов. Действительно, дзета-потенциал суспензии НЦ в воде составляет -40 мВ, тогда как коллоидные суспензии считаются электростатически стабилизированными, когда абсолютное значение дзета-потенциала частиц превышает 30 мВ [148].

3.2.1.3. Реологические свойства

На Рис. 3.13а представлены кривые течения суспензий НЦ. Видно, что при низких концентрациях нанокристаллов (0,05–1 вес.%) суспензии проявляют ньютоновское поведение: их вязкость не зависит от скорости сдвига. Образец с 2 вес.% нанокристаллов имеет ньютоновское плато, за которым следует область, в которой вязкость уменьшается при увеличении скорости сдвига. Такое поведение позволяет предположить, что изначально нанокристаллы имеют случайную ориентацию, но начиная с некоторой скорости сдвига, они начинают выстраиваться вдоль направления потока [65]. Такие кривые течения характерны для изотропных суспензий НЦ [104]. При более высоких концентрациях нанокристаллов (3–8 вес.%) наблюдается кривая течения с двумя наклонами в области падения вязкости (Рис. 3.13а). Аналогичные кривые течения НЦ ранее получали в литературе [65, 149]. Они обычно характерны для лиотропных жидких кристаллов (ЖК) [150]. Первый наклон (при низких скоростях сдвига) связывают с ориентацией ЖК-доменов вдоль направления потока, в то время как второй наклон (при высоких скоростях

сдвига) объясняют ориентацией отдельных частиц [149]. Такое поведение суспензий НЦ при сдвиге было подтверждено в экспериментах, комбинирующих реометрию с методами малоуглового светорассеяния и малоуглового рентгеновского рассеяния [151]. Для суспензий НЦ появление кривых течения с двумя наклонами хорошо коррелирует с появлением двойного лучепреломления, что подтверждает образование ЖК-доменов [65].

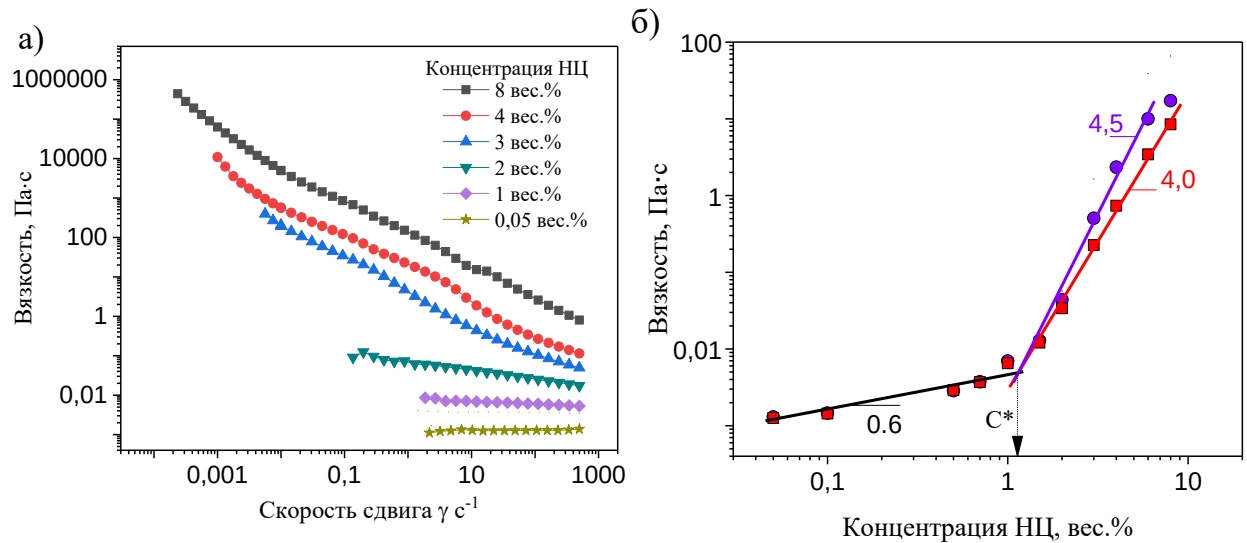


Рисунок 3.13. а) Кривые течения для водных суспензий НЦ с разными концентрациями нанокристаллов, указанными на рисунке. б) Зависимость вязкости от концентрации НЦ при скоростях сдвига 10 с⁻¹ (круги) и 30 с⁻¹ (квадраты). Концентрация C^* соответствует началу перколяции нанокристаллов.

На Рис. 3.13б показана зависимость вязкости η от концентрации НЦ. На ней можно увидеть два концентрационных режима. Первый режим ($\eta \sim C^{0.6}$) имеет показатель степени, близкий к теоретическим предсказаниям ($\eta \sim C^1$) для разбавленных растворов стержней [152] и к экспериментальным данным для разбавленных суспензий НЦ [153]. Во втором режиме наблюдается резкое увеличение вязкости с показателями степени, зависящими от скорости сдвига: $\eta \sim C^{4.5}$ (при 10 с⁻¹) и $\eta \sim C^{4.0}$ (при 30 с⁻¹). Наблюдаемые показатели степени выше, чем предсказанные теоретически ($\eta_{\text{уд}} \sim C^3$) для полуразбавленных растворов стержней [152]. Однако аналогичные высокие показатели степени ранее наблюдали для многих стержнеобразных

полимеров [154]. Согласно предположению Дои и Эдвардса [155], более сильная, по сравнению с их теоретическими предсказаниями, концентрационная зависимость вязкости может быть обусловлена, в частности, эффектом "заклинивания" стержней при течении. Переход между этими двумя режимами происходит при концентрации НЦ около 1 вес.%, что соответствует концентрации перколяции нанокристаллов C^* . Если аппроксимировать частицу НЦ цилиндром с длиной L и диаметром D , концентрацию перколяции можно оценить как массу одного цилиндра $m_{\text{цил}}$, делённую на его исключённый объём V [156]:

$$C^* \approx \frac{m_{\text{цил}}}{V_{\text{сф}}} = \frac{\rho \cdot \pi \left(\frac{D}{2}\right)^2 L}{\frac{4}{3} \pi \left(\frac{L}{2}\right)^3} = \frac{3\rho D^2}{2L^2}$$

где $V_{\text{сф}}$ - объём сферы диаметром L , описанной вокруг цилиндра, а ρ - плотность НЦ ($\rho = 1,5$ г/см³). Оценка даёт значение $C^* = 0,01$ (или 1,0 вес.%), что хорошо согласуется с экспериментальными данными (Рис. 3.13б). Такое же значение C^* ранее наблюдали экспериментально для НЦ похожего размера с отношением сторон, равным 13 [157].

На Рис. 3.14а представлены частотные зависимости модуля накопления G' и модуля потерь G'' для суспензий НЦ. При низких концентрациях нанокристаллов (2 вес.%) вязкий отклик преобладает ($G'' > G'$) в большей части исследуемого частотного диапазона. При концентрации нанокристаллов, равной 2,5 вес.%, кривые $G'(\omega)$ и $G''(\omega)$ практически совпадают, что указывает на точку гелеобразования. Наклон этих кривых ($0,52 \pm 0,02$) близок к 0,5, что и ожидается для точки гелеобразования [158]: $G'(\omega) = G''(\omega) = K\omega^{1/2}$, где K - коэффициент, зависящий от температуры. Хотя этот подход к определению точки гелеобразования был первоначально разработан для химически сшитых гелей, позже было показано [158], что он также может быть применен к физическим сеткам коллоидных частиц. Насколько нам известно, это первое определение точки гелеобразования для суспензии НЦ. При 3 вес.% НЦ G' становится больше, чем G'' , оставаясь сильно зависимым от частоты (Рис. 3.14а), что указывает на формирование слабого геля. При высокой концентрации НЦ (8 вес.%) G' становится намного больше, чем G'' , и

престает зависеть от частоты, что указывает на гелеобразное состояние суспензии. Это свидетельствует о формировании обратимой перколяционной сетки из НЦ.

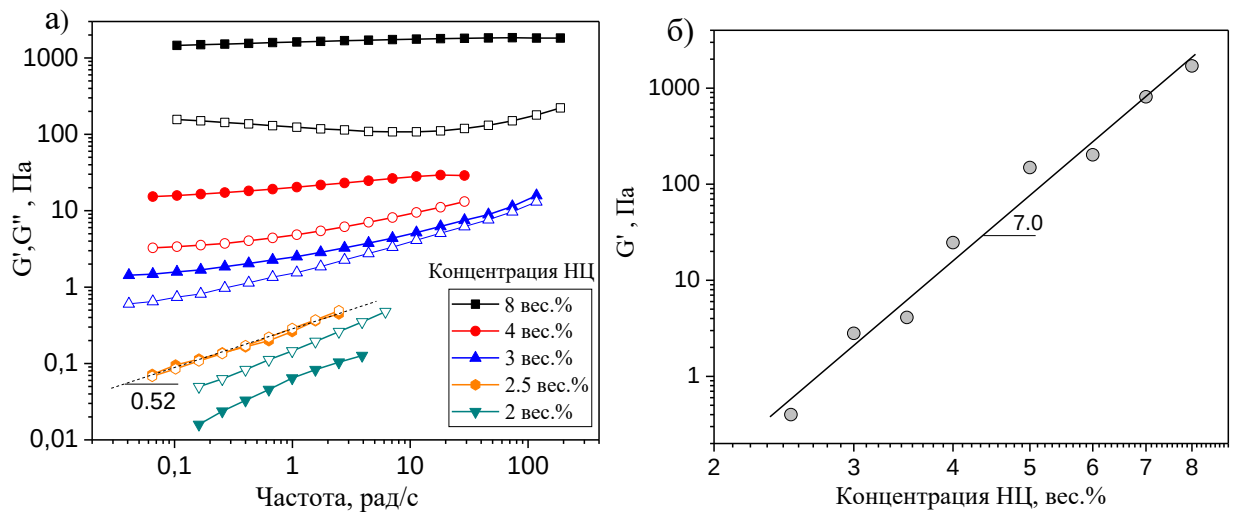


Рисунок 3.14. а) Частотные зависимости модуля упругости G' (закрашенные символы) и модуля потерь G'' (открытые символы) для водных суспензий НЦ с разными концентрациями, указанными на рисунке. б) Концентрационная зависимость модуля упругости G' при 4,6 рад/с для водных суспензий НЦ.

Зависимость G' от концентрации НЦ описывается степенным законом $G' \sim C^{7,0}$ (при 4,6 рад/с) (Рис. 3.14б). Этот показатель степени выше, чем для сульфированных НЦ ($L = 210$ нм, $D = 15$ нм) $G' \sim C^{2,7}$ [91], но близок к показателю степени для углеродных нановолокон с отношением сторон $L/D=100$: $G' \sim C^{6,3}$ [159]. Это позволяет предположить образование длинных агрегатов НЦ. Для подтверждения этого предположения структура образцов НЦ была исследована методом крио-ПЭМ (см. раздел 3.2.2.4.). Микрофотографии показали, что действительно НЦ формируют длинные агрегаты. Таким образом, высокий степенной показатель концентрационной зависимости модуля накоплений обусловлен агрегацией нанокристаллов, усиливающейся при повышении концентрации НЦ.

3.2.2. Гели нанокристаллов целлюлозы, сшитые ионами кальция

НЦ содержат карбоксильные группы на поверхности. В связи с этим для их сшивания удобно использовать мультивалентные катионы. В качестве мультивалентных катионов были выбраны катионы кальция. Выбор соли кальция среди разных солей поливалентных металлов обусловлен её биосовместимостью [160].

3.2.2.1. Фазовое поведение

Эксперименты с НЦ, сшитыми ионами кальция, проводили при фиксированной концентрации нанокристаллов, равной 3 вес.%. Показано, что при добавлении CaCl_2 суспензия подвергается гелеобразованию и остается гомогенной до тех пор, пока концентрация соли не достигнет 75 мМ, что соответствует мольному отношению $\text{Ca}^{2+}/\text{COO}^-$, равному 2,17. При концентрациях CaCl_2 выше 75 мМ наблюдается синерезис - сжатие геля с выделением раствора на его поверхность. В случае традиционных полимерных гелей считается [161], что такое выделение раствора происходит, когда количество сшивок превышает естественное число контактов между макромолекулами в полуразбавленном растворе. Вероятно, аналогичное объяснение справедливо в случае, когда вместо полимерных цепей гель образуют полимерные нанокристаллы.

3.2.2.2. Реологические свойства

На Рис. 3.15а показаны частотные зависимости модулей накопления G' и потерь G'' для 3 вес.%-ных суспензий НЦ при разных концентрациях сшивателя CaCl_2 . Для всех исследованных образцов модуль накопления G' , который характеризует упругий отклик, выше модуля потерь G'' , характеризующего вязкий отклик, во всем диапазоне исследованных частот (от 0,04 до 30 рад/с). Это указывает на гелеподобное поведение всех систем, поскольку упругие свойства преобладают над вязкими. В то же время значения G' и G'' существенно зависят от частоты колебаний, особенно при низких концентрациях соли. Это может быть связано с диссипацией энергии, происходящей

из-за перемещений фрагментов сетки НЦ [66]. По мере увеличения концентрации сшивателя зависимость от частоты уменьшается. По-видимому, это указывает на то, что упрочнение сетки затрудняет смещение ее компонентов.

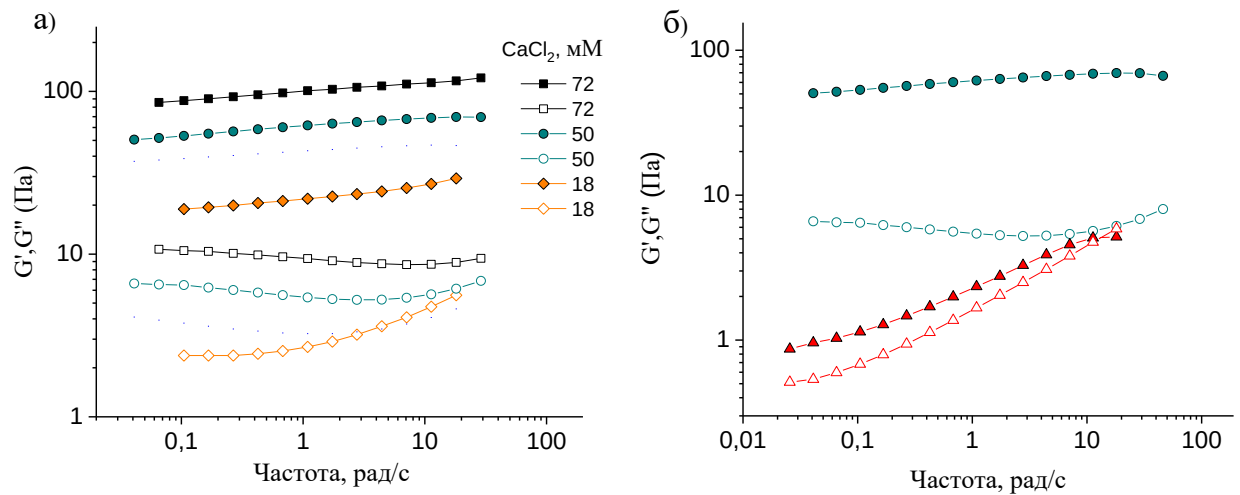


Рисунок 3.15. а) Частотные зависимости модуля накопления G' (заполненные символы) и модуля потерь G'' (пустые символы) для суспензий, содержащих 3 вес.% НЦ и разные концентрации CaCl_2 , указанные на рисунке. б) Частотные зависимости модуля накопления G' (заполненные символы) и модуля потерь G'' (пустые символы) для 3 вес.%-ных суспензий НЦ, содержащих 50 мМ CaCl_2 (круги) или 150 мМ NaCl (треугольники). Концентрации солей выбраны таким образом, чтобы ионная сила растворов была одинакова.

При увеличении содержания сшивателя как упругий, так и вязкий вклады в модуль упругости возрастают (Рис. 3.15а, 3.16) из-за увеличения количества сшивков. Это согласуется с данными, полученными в литературе, для сульфированных НЦ [66] и карбоксилированных нанопибрилл целлюлозы [162]. Можно полагать, что рост G' и G'' при увеличении концентрации CaCl_2 вызван сшиванием отрицательно заряженных наностержней двухвалентными катионами [66, 163]. Как предположили Кумачева с коллегами [66], сшивание в основном приводит к латеральной ассоциации НЦ, при которой нанокристаллы располагаются параллельно друг другу, поскольку заряженные группы НЦ расположены на боковых поверхностях нанокристаллов [68] (Рис. 3.16б). Однако нами при помощи метода крио-ПЭМ было показано, что добавление CaCl_2 приводит к

росту агрегатов НЦ не только в толщину, но и в длину (раздел 3.2.2.4.). Рост длины агрегатов может быть связан с тем, что при латеральном связывании нанокристаллы могут быть смещены друг относительно друга, а также гидрофобным взаимодействием между концами НЦ. Более жёсткие и длинные агрегаты упрочняют сетку НЦ.

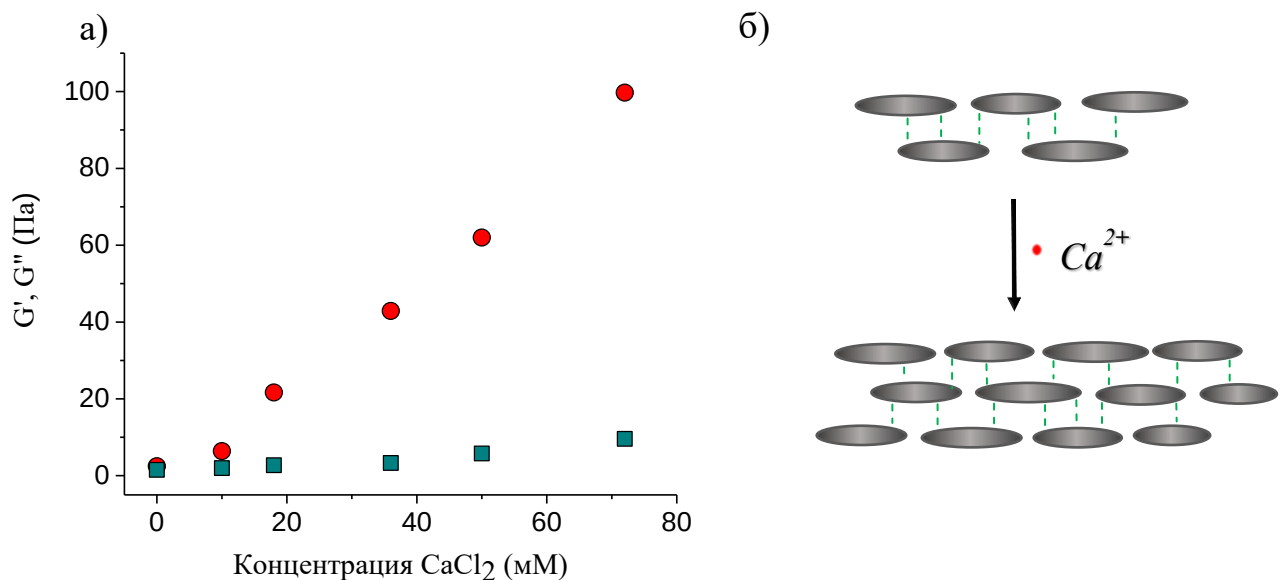


Рисунок 3.16. а) Модуль накопления G' (круги) и модуль потерь G'' (квадраты) при частоте колебаний 1 рад/с в зависимости от концентрации CaCl_2 . б) Схема, показывающая структуру агрегатов НЦ до и после добавления CaCl_2 . Присутствие ионов кальция инициирует рост агрегатов НЦ как в поперечном, так и в продольном направлениях.

В работе [67] было высказано предположение о том, что при добавлении CaCl_2 важную роль должно играть более сильное экранирование электростатического отталкивания между наностержнями солью, что делает доминирующими силы притяжения (например, Ван-дер-Ваальсово взаимодействие и/или водородные связи), способствующие ассоциации НЦ, согласно теории Дерягина-Ландау-Фервея-Овербека (ДЛФО) [164, 165]. По мнению Бертша с соавторами [67], этот фактор должен быть основным, поскольку они показали, что максимальная прочность геля НЦ одинакова независимо от валентности ионов добавленной соли. Но в настоящей системе динамические модули при добавлении CaCl_2 более чем на порядок выше, чем в присутствии NaCl при той же ионной силе раствора (Рис. 3.15б), что однозначно свидетельствует о том, что

основной причиной увеличения G' является сшивание нанокристаллов ионами кальция. В то же время нельзя исключить, что сближение нанокристаллов в процессе агрегации может благоприятствовать дополнительному взаимодействию между НЦ за счет водородных связей или сил Ван-дер-Ваальса.

Таким образом, выраженное увеличение модуля накопления с ростом концентрации CaCl_2 (Рис. 3.16а) в исследуемой системе, по-видимому, обусловлено главным образом сшиванием отрицательно заряженных НЦ двухвалентными катионами кальция посредством электростатических взаимодействий, но усиление межмолекулярных нековалентных взаимодействий между НЦ может также играть свою роль (Рис. 3.16б).

Можно ожидать, что образование самособирающейся физической сетки НЦ должно быть обратимым. Чтобы проверить это, мы измерили восстановление вязкости во времени после резкого изменения приложенной скорости сдвига (Рис. 3.17а). При увеличении скорости сдвига с $0,1$ до 50 c^{-1} наблюдалось падение вязкости более чем на два порядка. Однако, когда скорость

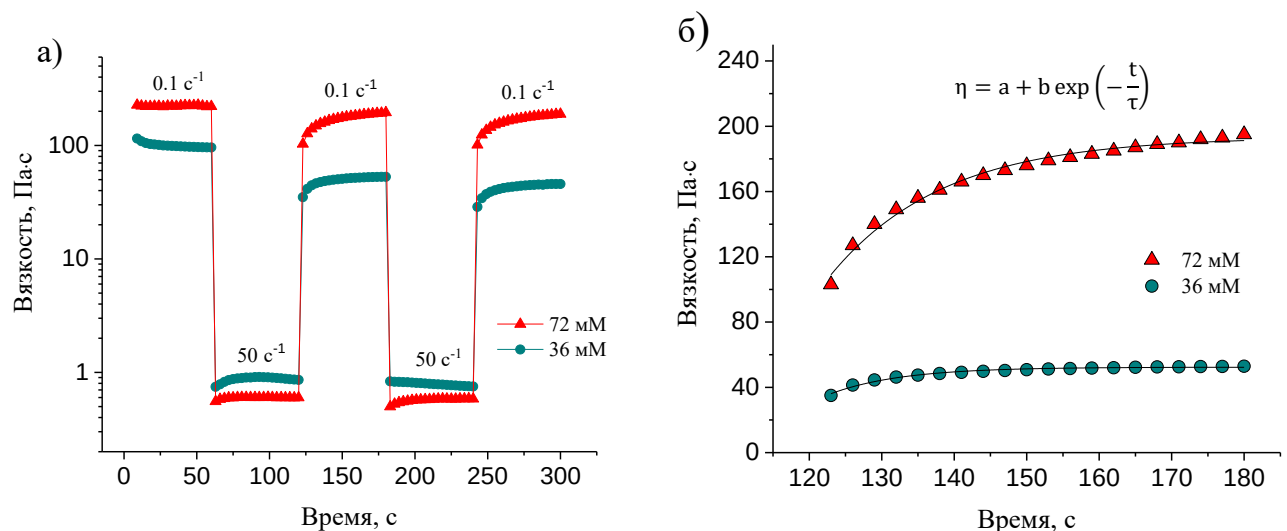


Рисунок 3.17. а) Восстановление вязкости после периодического изменения скорости сдвига (50 c^{-1} в течение 60 с, $0,1 \text{ c}^{-1}$ в течение 60 с и т.д.) для суспензий, содержащих 3 вес.% НЦ и 36 мМ (зеленый) и 72 мМ (красный) CaCl_2 . б) Аппроксимация кривых восстановления вязкости экспоненциальной функцией для второго цикла периодического изменения скорости сдвига для суспензий, содержащих 3% вес. НЦ с 36 мМ (зеленый) и 72 мМ (красный) CaCl_2 . В формуле η - кажущаяся вязкость, t - время, τ - время восстановления, a , b - коэффициенты.

сдвига уменьшали до $0,1 \text{ с}^{-1}$, вязкость восстанавливалась. Быстрое снижение вязкости с увеличением скорости сдвига указывает на то, что перколяционная сетка нанокристаллов разрушается, и мы наблюдаем вязкость НЦ, ориентированных в направлении потока.

Кривые восстановления (Рис. 3.17б) могут быть аппроксимированы экспоненциальной функцией, что позволяет определить время восстановления τ . Было обнаружено (Таблица 3.1), что при низкой концентрации сшивателя (18 mM CaCl_2) время восстановления τ довольно велико, но затем значительно уменьшается, проходя через минимум с увеличением концентрации сшивателя. Это указывает на то, что существует некоторая оптимальная концентрация двухвалентных ионов, обеспечивающая более быстрое восстановление. В данной системе она близка к эквимольному соотношению $\text{Ca}^{2+}/\text{COO}^-$. При более низких концентрациях Ca^{2+} восстановление происходит медленно из-за нехватки ионов для фиксации восстанавливаемой структуры. При высоких концентрациях Ca^{2+} должно образоваться больше сшивков, и перестройка занимает несколько большее время. Таблица 3.1. показывает, что время восстановления в третьем цикле больше, чем во втором цикле, что указывает на то, что восстанавливать структуру системы, которая была недавно построена заново, сложнее.

Таблица 3.1. Время восстановления и процент восстановления при периодическом изменении скорости сдвига для водных суспензий, содержащих 3 вес.% НЦ и разные концентрации CaCl_2 .

Концентрация CaCl_2 , mM	Время восстановления, с		Процент восстановления	
	цикл 2	цикл 3	цикл 2	цикл 3
18	59,4	162,3	41	30
36	9,7	10,6	49	44
72	15,7	15,8	91	87

Восстановление структуры является неполным, о чем свидетельствует уменьшение эффективной вязкости восстановленной сетки в каждом последующем цикле (Рис. 3.17а). Как

следует из данных, представленных в Таблице 3.1., степень восстановления возрастает с увеличением концентрации сшивателя, достигая 91% при 72 мМ CaCl_2 . Полученные результаты указывают на то, что повышение концентрации Ca^{2+} способствует более полному восстановлению физической сетки.

3.2.2.3. Взаимодействие карбоксиметилированных нанокристаллов целлюлозы с ионами кальция

Для исследования взаимодействия между НЦ и катионами Ca^{2+} , мы использовали метод ИК-спектроскопии с НПВО. На Рис. 3.18а показаны спектры НЦ до и после добавления 72 мМ CaCl_2 , что соответствует двум ионам кальция на одну карбоксилатную группу.

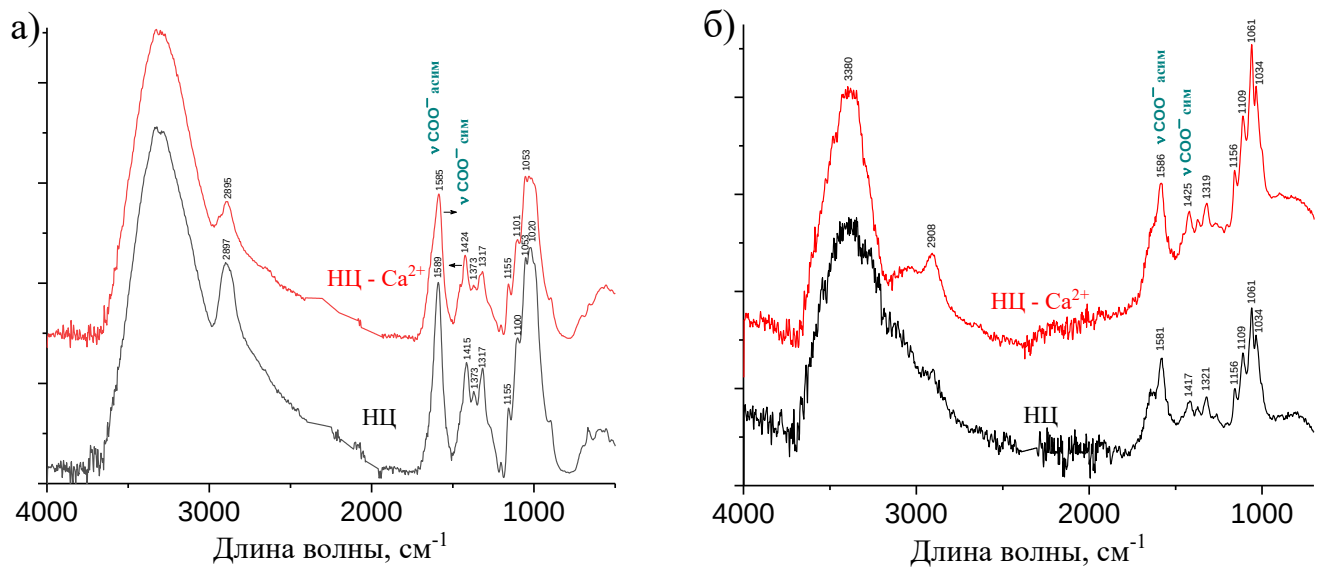


Рисунок 3.18. а) ИК-спектры нарушенного полного внутреннего отражения НЦ в отсутствие (черный) и в присутствии 72 мМ CaCl_2 (красный) в высушенном состоянии. б) ИК-спектры нарушенного полного внутреннего отражения 6 вес. %-ных суспензий НЦ в отсутствие (черный) и в присутствии 72 мМ CaCl_2 (красный) в воде. Спектры смещены по оси y для удобства просмотра.

ИК-спектр НЦ (Рис. 3.18а) содержит основные характеристические пики целлюлозы: широкую полосу валентных колебаний ОН-групп (около 3380 см^{-1}), полосы валентных колебаний С-Н связей (около 2900 см^{-1}), маятниковые колебания CH_2 -групп (1317 см^{-1}), асимметричные валентные колебания группы С-О-С $\beta(1\rightarrow4)$ -гликозидной связи (1155 см^{-1}) и валентные

колебания C-O связи у атомов углерода C2, C3 и C6, связанных с OH-группами (при 1100, 1053 и 1020 см^{-1} , соответственно) [160, 166-168]. Также в спектре НЦ видны асимметричные и симметричные валентные колебания групп COO^- при 1589 и 1415 см^{-1} , соответственно [169]. Отметим, что полоса поглощения валентных колебаний C=O протонированных карбоксильных групп COOH при 1730 см^{-1} [167] отсутствует, что подтверждает тот факт, что почти все карбоксильные группы находятся в виде карбоксилат-анионов.

Из Рис. 3.18а видно, что наиболее заметные изменения в ИК-спектрах НЦ при добавлении CaCl_2 касаются полос валентных колебаний COO^- групп. Полоса асимметричных валентных колебаний карбоксилатной группы смещается с 1589 до 1585 см^{-1} , при этом полоса симметричных валентных колебаний COO^- показывает еще более выраженный сдвиг с 1415 до 1424 см^{-1} . Эти данные позволяют предположить, что во взаимодействие с катионами Ca^{2+} вовлечены именно карбоксилат-ионы COO^- .

На Рис. 3.18б представлены ИК-спектры нарушенного полного внутреннего отражения НЦ до и после добавления CaCl_2 в воде. В спектрах деформационные колебания H_2O вблизи 1640 см^{-1} [145] перекрываются с полосой асимметричных валентных колебаний карбоксилатной группы. Но при этом можно заметить, что полоса асимметричных валентных колебаний COO^- смещается с 1581 до 1586 см^{-1} . В то же время полоса симметричных валентных колебаний COO^- претерпевает значительный сдвиг с 1417 до 1425 см^{-1} , аналогично соответствующей полосе в безводном образце (Рис. 3.18а). Таким образом, данные ИК-спектроскопии указывают на связывание ионов кальция с COO^- группами нанокристаллов.

Термодинамика взаимодействия НЦ с Ca^{2+} была изучена методом изотермической титрационной калориметрии. Полученная термограмма для НЦ (Рис. 3.19) характеризуется наличием эндотермических пиков при каждом добавлении раствора CaCl_2 . Аналогичные результаты ранее были получены в литературе [58]. Их объясняли адсорбцией катионов Ca^{2+} на отрицательно заряженных наночастицах. Поскольку, согласно данным ИК-спектроскопии, во

взаимодействии с Ca^{2+} участвуют COO^- группы карбоксиметилированных НЦ, площадь каждого пика на термограмме была построена в зависимости от мольного соотношения $\text{Ca}^{2+}/\text{COO}^-$ (Рис. 3.19). Аппроксимация полученных зависимостей (Рис. 3.19) с использованием модели независимых центров связывания даёт параметры, которые представлены в Таблице 3.2. Видно, что изменение свободной энергии Гиббса ΔG отрицательно, что указывает на то, что связывание

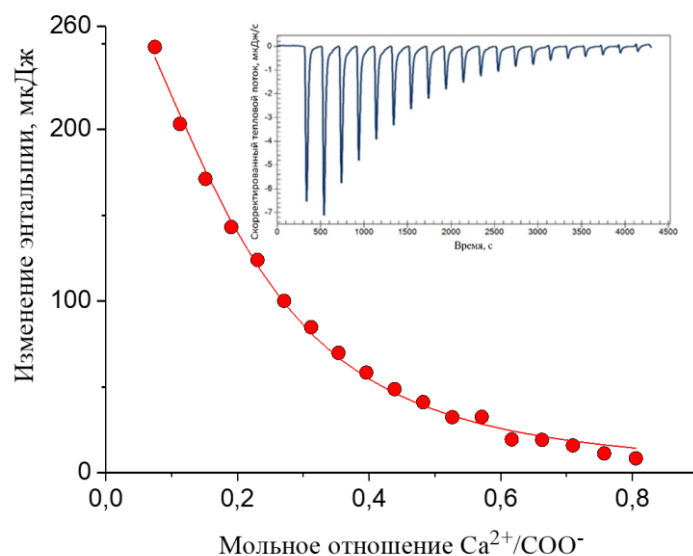


Рисунок 3.19. Изотерма связывания НЦ ионами Ca^{2+} , полученная при последовательном добавлении 30 мМ раствора хлорида кальция по 50 мкл в 170 мкл 1 вес. %-ной суспензии НЦ при 20°C. Сплошная линия представляет собой аппроксимацию профиля с использованием модели независимых центров связывания. Вставка: Термограмма изотермического титрования для той же системы.

Таблица 3.2. Изменения энтальпии ΔH , энтропии ΔS и энергии Гиббса ΔG и стехиометрическое число n , полученные из изотермы связывания НЦ ионами Ca^{2+} при 20°C при аппроксимации моделью независимых центров связывания.

Образец	ΔH , кДж/моль	n	ΔS , Дж/моль·К	ΔG , кДж/моль
НЦ- Ca^{2+}	6 ± 1	$0,18 \pm 0.03$	77 ± 3	-16 ± 1

ионов Ca^{2+} с противоположно заряженными наночастицами является термодинамически выгодным [170]. Положительные значения изменений энтальпии ΔH и энтропии ΔS позволяют предположить, что связывание вызвано выигрышем в энтропии [171], что, по-видимому, обусловлено высвобождением структурированных молекул воды, окружающих взаимодействующие наночастицы целлюлозы и ионы Ca^{2+} [58]. Полученное значение стехиометрического числа n указывает на то, что 1 моль Ca^{2+} взаимодействует с 5–6 молями групп COO^- . Этот результат хорошо согласуется с данными, полученными для адсорбции Ca^{2+} на карбоксиметилированных НЦ в работе [58]. Низкое стехиометрическое число авторы объясняли делокализацией отрицательного заряда на поверхности карбоксиметилированной наноцеллюлозы [58].

Таким образом, показано, что ионы Ca^{2+} взаимодействуют с карбоксилатными группами на поверхности НЦ, образуя физические сшивки, что объясняет значительное упрочнение гелей НЦ при добавлении CaCl_2 .

3.2.2.4. Морфология

Структура гидрогелей была изучена методом крио-ЭМ. В суспензии НЦ без сшивателя (Рис. 3.20а) обнаружено множество доменов, в которых несколько стержневидных нанокристаллов (от 3 до 7) расположены параллельно друг другу. Такое взаимное расположение НЦ не связано с методом подготовки образца, поскольку ориентация, вызванная удалением избытка жидкости фильтровальной бумагой, привела бы к однонаправленному выстраиванию всех НЦ [172]. В наших экспериментах ориентации стержневидных НЦ в разных доменах не коррелируют между собой. Можно полагать, что параллельная ориентация нескольких соседних нанокристаллов внутри одного домена обусловлена электростатическим отталкиванием между сильно заряженными НЦ. При добавлении CaCl_2 ориентация нанокристаллов становится более беспорядочной, и количество параллельно ориентированных НЦ внутри доменов уменьшается до 2-3 (Рис. 3.20б). Это связано с тем, что соль усиливает экранирование электростатического

отталкивания. В более неупорядоченной системе нанокристаллы могут легче образовывать перколяционную сетку, необходимую для гелеобразования. Аналогичную ситуацию наблюдали при крио-ЭМ исследованиях карбоксилированных нановолокон целлюлозы [173], а именно, некоторую упорядоченность в отсутствие соли и более случайную ориентацию после добавления 0,1M NaCl, что объясняли экранированием электростатического отталкивания при добавлении соли.

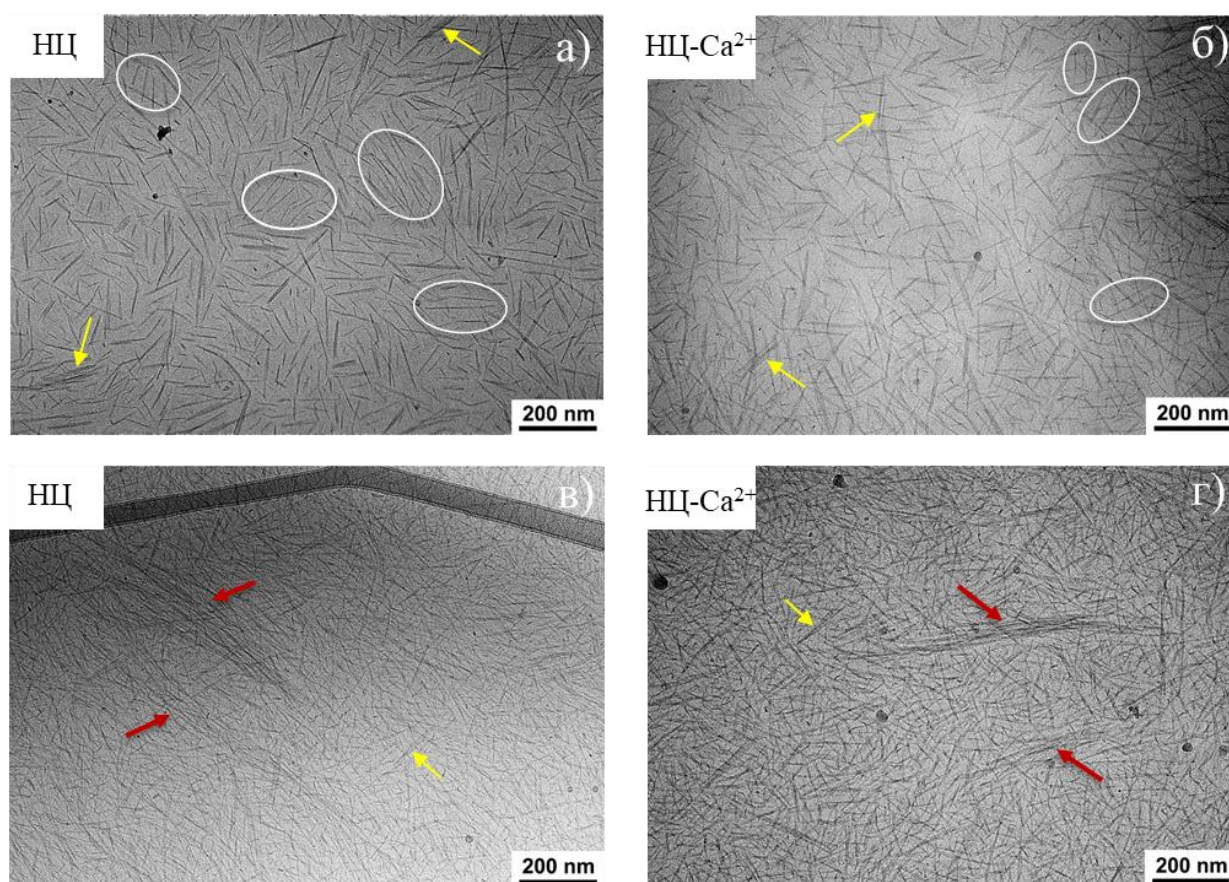


Рисунок 3.20. а-г) Крио-ЭМ изображения 3 вес.%-ных суспензий НЦ до (а, в) и после добавления 50 mM CaCl₂ (б, г) для более тонких (а, б) и более толстых (в, г) образцов. Некоторые домены, содержащие НЦ, ориентированные параллельно друг другу, отмечены овалами. Пучки НЦ отмечены желтыми стрелками, а фибриллоподобные агрегаты НЦ - красными стрелками.

На микрофотографиях крио-ЭМ видно, что нанокристаллы могут агрегировать между собой. При этом можно наблюдать два типа агрегатов, образованных НЦ: (1) короткие пучки из 2-3

наностержней, расположенных параллельно друг другу (Рис. 3.20а,б), и (2) длинные толстые фибриллоподобные агрегаты (Рис. 3.20в,г). Последние видны только в достаточно толстых образцах. На Рис. 3.21, полученном при помощи криоэлектронной томографии, видно, как фибриллоподобные агрегаты выглядят в объеме.

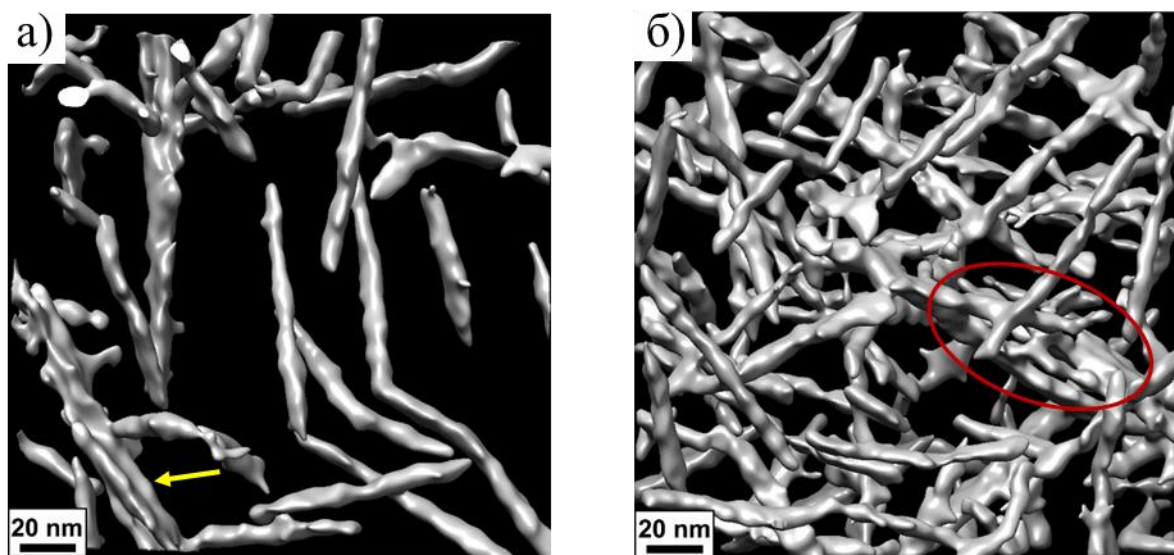


Рисунок 3.21. а, б) Изображения изоповерхности НЦ внутри сетки до (а) и после (б) добавления 50 мМ CaCl_2 , полученные с помощью криоэлектронной томографии. Пучок отмечен желтой стрелкой, фрагмент фибриллоподобного агрегата – овалом.

Оба типа агрегатов можно наблюдать как до, так и после добавления CaCl_2 (Рис. 3.20в,г). Количественный анализ гистограмм (Рис. 3.22) показывает, что введение CaCl_2 приводит к сдвигу распределений длины и толщины наностержней в сторону больших значений. Более длинные и толстые агрегаты могут способствовать упрочнению геля, которое мы наблюдаем в реологических исследованиях при добавлении CaCl_2 .

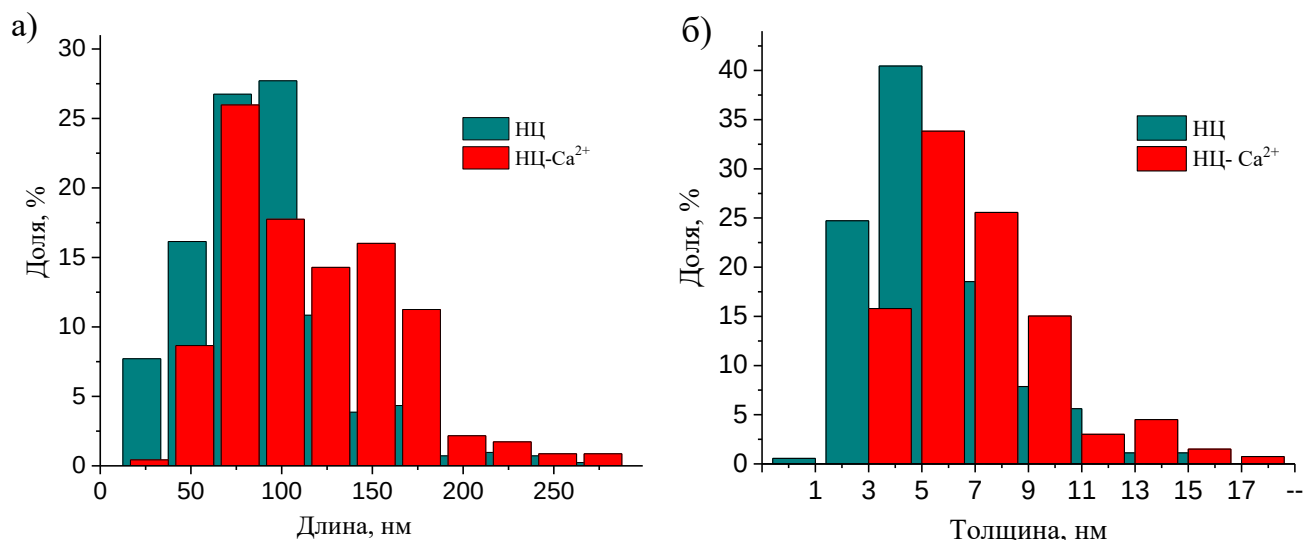


Рисунок 3.22. Гистограммы распределения длины (а) и толщины (б) отдельных НЦ и их агрегатов в 3 вес.%-ных суспензиях НЦ до (зеленый) и после (красный) добавления 50 мМ CaCl₂.

Заключение к главе

В данной главе впервые детально исследованы реологические свойства водных суспензий карбоксиметилированных НЦ и гидрогелей на их основе, сшитых ионами кальция. Определены ключевые концентрационные параметры системы: концентрация перекрывания НЦ (1 вес.%) и точка гелеобразования (2,5 вес.%). Показано, что при концентрации 2,5 вес.% в суспензиях НЦ формируется физическая перколяционная сетка, проявляющая гелеподобное поведение. При более высоких концентрациях (3 вес.% и выше) наблюдается переход к упругому гелю с модулем накопления, слабо зависящим от частоты.

Добавление CaCl₂ к 3 вес.% суспензии НЦ приводит к резкому росту модулей упругости и потерь более чем на порядок, что указывает на существенное упрочнение сетки НЦ за счёт взаимодействия Ca²⁺ с карбоксильными группами нанокристаллов.

Структурные исследования методом крио-ЭМ и криоэлектронной томографии дополнили реологическую картину и показали, что НЦ образуют пучки и длинные фибриллоподобные агрегаты, а введение CaCl₂ усиливает их рост как в длину, так и в толщину. Тем самым подтверждается, что упрочнение геля связано не только с экранированием зарядов, но и с

развитием более протяжённой и жёсткой пространственной сетки из агрегированных нанокристаллов. Таким образом, охарактеризованы условия формирования и механизмы упрочнения физических сеток карбоксиметилированных НЦ, сшитых ионами кальция, что создаёт основу для создания композитных гидрогелей с двойной сетчатой структурой и регулируемые механическими свойствами.

3.3. Гели на основе ГПГ и нанокристаллов целлюлозы

Данные, полученные в разделах 3.1. и 3.2. о структуре и свойствах одиночных сеток ГПГ и НЦ, помогают в создании композитных гидрогелей с двойной сеткой, образованной ковалентной полимерной сеткой ГПГ-МА и физической сеткой НЦ, сшитой ионами кальция (НЦ- Ca^{2+}). При совместном формировании двух сеток связи между жёсткими нанокристаллами играют роль «жертвенных связей»: при деформации они разрушаются первыми, рассеивая энергию и предотвращая разрушение геля, в то время как эластичная полимерная сетка обеспечивает целостность и восстановление формы. Такой подход, известный как концепция двойных (double-network) сеток, позволяет достичь уникального сочетания высокой прочности, высокой энергии разрушения и значительной деформации [10].

3.3.1. Фазовое поведение и морфология совместной системы

Для приготовления гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} раствор ГПГ-МА сначала смешивали с суспензией нанокристаллов, при этом не наблюдалось фазового расслоения в широком диапазоне концентраций ГПГ-МА (1-8 вес.%) и НЦ (0,5-8 вес.%). Хорошая совместимость с ГПГ уже была продемонстрирована ранее на примере нанопибрилл целлюлозы [174]. Она может быть связана с высоким зарядом наноцеллюлозы, который препятствует ее выделению в отдельную фазу из-за электростатического отталкивания и потери трансляционной энтропии противоионами.

Морфология суспензий ГПГ/НЦ- Ca^{2+} до фотосшивания была изучена с помощью крио-ЭМ при концентрации НЦ 3 вес.%, значительно превышающий их порог перколяции (Рис. 3.136). На

полученных микрофотографиях (Рис. 3.23а) видны НЦ, образующие сетку. В суспензиях нанокристаллов, сшитых ионами Ca^{2+} , сетка покрывает всё поле крио-ЭМ изображения (Рис. 3.20б,г), тогда как в образцах ГПГ/НЦ- Ca^{2+} она занимает лишь небольшую область микрофотографии (Рис. 3.23а,б). Вероятнее всего, остальная область на микрофотографии занята молекулярными цепями ГПГ, которые не видны из-за их низкого контраста. Подобная «островная» структура была ранее обнаружена в гелях поливинилового спирта, содержащих сетку червеобразных мицелл ПАВ [129]. Это объясняли микрофазным расслоением, приводящим к образованию микродоменов, обогащённых полимером, и микродоменов, обогащённых ПАВ. Соответственно, можно полагать, что в нашей системе также происходит образование микродоменов. Одни из них обогащены НЦ, а другие - ГПГ. На Рис. 3.23б показана структура суспензии ГПГ/НЦ- Ca^{2+} в более крупном масштабе, где микродомен, обогащенный нанокристаллами - тёмный, а область, обогащённая ГПГ - светлая. Видно, что размер микродомена с НЦ составляет порядка нескольких микрометров, тогда как микродомен ГПГ – имеет больший размер.

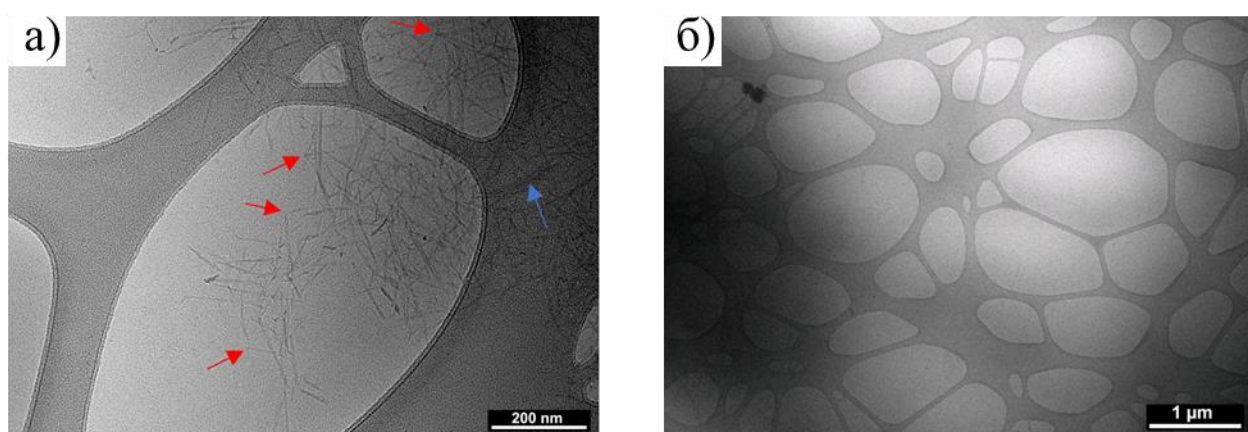


Рисунок 3.23. а, б) Крио-ЭМ изображения сетки ГПГ/НЦ- Ca^{2+} , содержащей 1 вес.% ГПГ, 3 вес.% НЦ и 50 мМ CaCl_2 , в меньшем (а) и большем (б) масштабе. Пучок отмечен синей стрелкой. Контакты концевых групп НЦ отмечены красными стрелками. Темная область в левой части изображения (б) представляет собой микрофазу, обогащенную НЦ, в то время как белая область соответствует микрофазе, обогащенной ГПГ.

Микрофазное расслоение ранее наблюдали, например, в смесях НЦ с отрицательно заряженной карбоксиметилцеллюлозой [175] и незаряженной гидроксиэтилцеллюлозой [176]. Его объясняли депляционными (depletion) взаимодействиями наночастиц [177], когда исключение полимера из области вокруг частиц приводит к эффективному притяжению между частицами. Депляция часто вызывает фазовое расслоение [178]. Однако заряды частиц могут предотвратить полное расслоение, в результате чего происходит микрофазное расслоение. Микрофазное расслоение характерно для многих полимерных систем в случаях, когда есть тенденция к разделению компонентов в малом масштабе и стабилизирующий фактор в большом масштабе, который препятствует полному расслоению [179]. Действительно, в исследуемой нами системе отталкивание между ГПГ и НЦ на малом масштабе было выявлено с помощью МУРН. Рис. 3.24а показывает кривые рассеяния для раствора ГПГ (имеет наклон, типичный для полимера в Θ -растворителе [180]), суспензии НЦ- Ca^{2+} и их смеси. Видно, что при малых

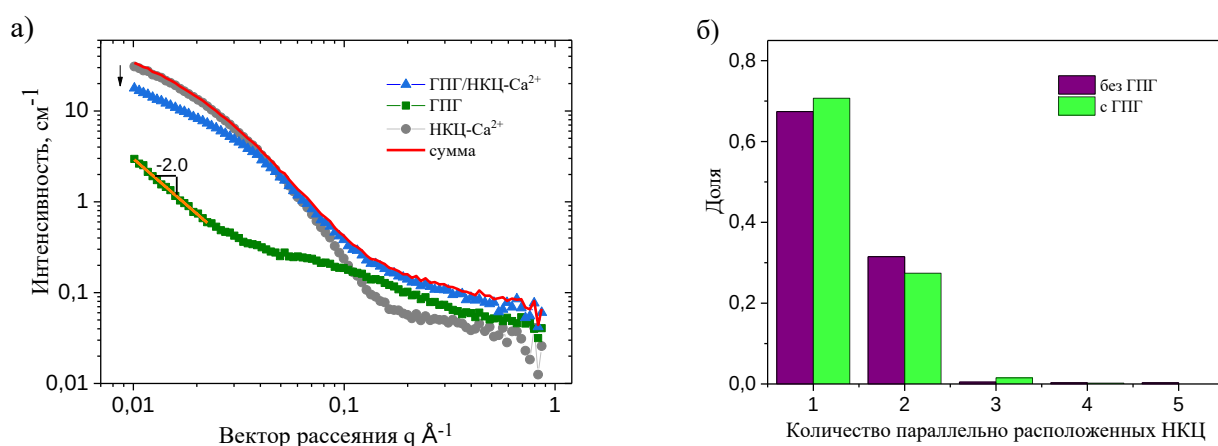


Рисунок 3.24. а) Кривые малоуглового рассеяния нейтронов для суспензии ГПГ/НЦ- Ca^{2+} , содержащей 8 вес.% ГПГ, 8 вес.% НЦ и 133 мМ CaCl_2 (треугольники), и ее компонентов: 8 вес.% ГПГ (квадраты), 8 вес.% НЦ, сшитых 133 мМ CaCl_2 (круги), в D_2O при 20°C. Красная линия представляет собой математическую сумму интенсивностей рассеяния кривых ГПГ и НЦ- Ca^{2+} . Оранжевая линия соответствует линейной аппроксимации фрагмента кривой рассеяния ГПГ. Ее наклон составляет -2.0, что характерно для гауссовых цепей в растворе [180]. б) Гистограмма распределения НЦ между отдельными наностержнями и пучками от двух до пяти наностержней для сетки НЦ- Ca^{2+} , содержащей 3 вес.% НЦ и 50 мМ CaCl_2 , с добавлением и без добавления 1 вес.% ГПГ.

волновых векторах q рассеяние от смеси меньше, чем суммарное рассеяние её двух компонентов (ГПГ и НЦ- Ca^{2+}), что указывает на отталкивание между ними [181]. Ранее подобный подход применяли для выявления молекулярных взаимодействий в полимерных смесях [181] и смесях полимер/ПАВ [110]. Здесь он нами использован впервые для смесей полимера с наночастицами.

Внутри микрофазы нанокристаллов на крио-ЭМ микрофотографиях (Рис. 3.23а) можно наблюдать плотную сетку из наностержней. Она состоит либо из одиночных наностержней, либо из пучков, образованных 2-5 наностержнями, расположенными параллельно друг другу. Гистограмма (Рис. 3.24б) показывает, что соотношение одиночных наностержней и пучков лишь незначительно изменяется при добавлении полимера. Как до, так и после добавления полимера можно наблюдать множество мест, где наностержни касаются друг друга своими концами (Рис. 3.20а,б, 3.23а). Однако контакты концевых фрагментов не могут быть однозначно подтверждены с помощью крио-ЭМ, так как концы разных нанокристаллов, которые кажутся близкими друг к другу в двумерной проекции, на самом деле могут находиться далеко друг от друга на разной высоте внутри образца. Следует отметить, что толщина образца, визуализируемого методом крио-ЭМ, составляет около 100–150 нм, тогда как диаметр нанокристаллов - всего 6 нм.

Для получения трёхмерной структуры сеток был использован современный метод криоэлектронной томографии. Изображения томографических срезов толщиной в несколько нанометров, полученные этим методом, представлены на Рис. 3.25а,б, 3.26, 3.27. Путем компьютерной обработки серии томографических срезов были преобразованы в 3D-модели. Полученные 3D-модели сеток НЦ- Ca^{2+} до и после добавления полимера показаны на Рис. 3.25в,г, соответственно. Как на срезах томограмм, так и на 3D-моделях, чётко видно множество контактов между концевыми фрагментами соседних наностержней. Такие контакты могут быть выгодны по двум причинам. Во-первых, в этом случае отталкивание между одноименно заряженными стержнями меньше. Во-вторых, концевые части нанокристаллов обладают гидрофобной

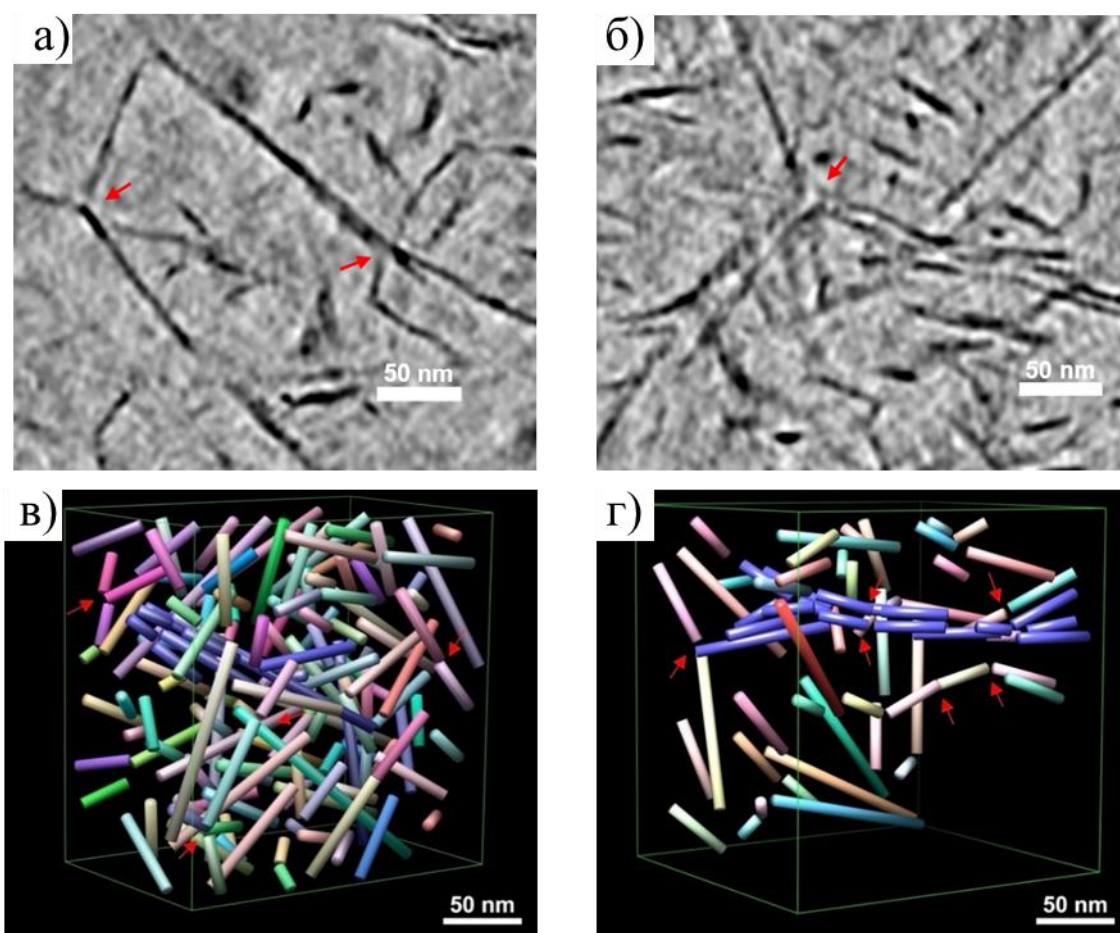


Рисунок 3.25. а,б) Срезы томограммы суспензии ГПГ/НЦ- Ca^{2+} , содержащей 1 вес.% ГПГ, 3 вес.% НЦ и 50 мМ CaCl_2 . в,г) 3D-модели расположения НЦ внутри (в) суспензии НЦ- Ca^{2+} , содержащей 3 вес.% НЦ и 50 мМ CaCl_2 , и (г) суспензии ГПГ/НЦ- Ca^{2+} , содержащей 1 вес.% ГПГ, 3 вес.% НЦ и 50 мМ CaCl_2 , полученные методом криоэлектронной томографии. Фиолетовым цветом показаны нанокристаллы, образующие вытянутые фибриллоподобные агрегаты. Красными стрелками отмечены контакты концевых групп НЦ.

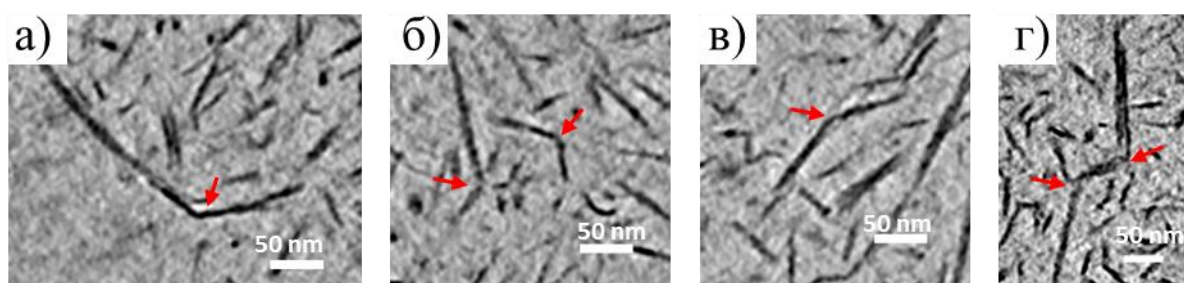


Рисунок 3.26. Срезы томограммы водных суспензий НЦ- Ca^{2+} , содержащих 3 вес.% НЦ и 50 мМ CaCl_2 . Масштаб отрезка на изображениях соответствует 50 нм. Стрелками указаны контакты концевых частей наностержней.

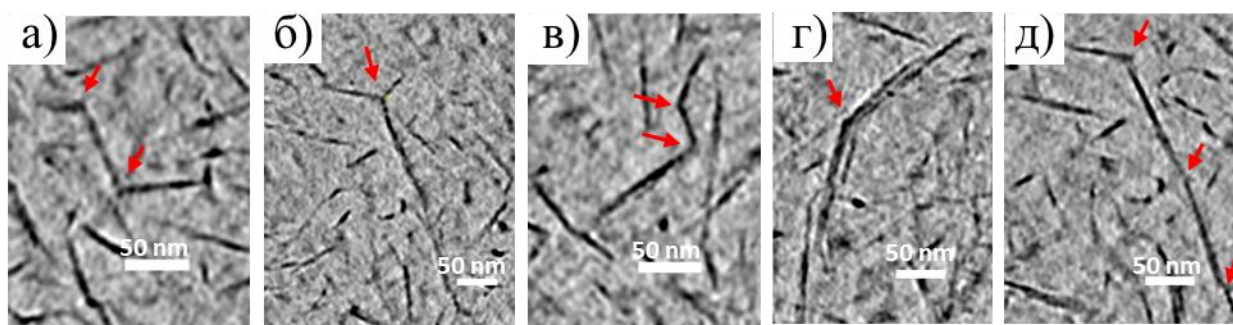


Рисунок 3.27. Срезы томограммы водных суспензий ГПГ/НЦ- Ca^{2+} , содержащих 1 вес.% ГПГ, 3 вес.% НЦ и 50 мМ CaCl_2 . Масштаб отрезка на изображениях соответствует 50 нм. Стрелками указаны контакты концевых частей наностержней.

поверхностью, состоящей в основном из СН-групп (край плоскости (200)) [68,182], что может способствовать гидрофобным взаимодействиям между краями соседних нанокристаллов.

В большинстве случаев соприкасаются концы только двух нанокристаллов, что приводит к эффективному удлинению стержней; иногда в точке контакта может образовываться излом (Рис. 3.26, 3.27.). Когда три стержня соединяются своими концами, это приводит к образованию узла сшивки в сетке НЦ (Рис. 3.25а,б, 3.26, 3.27). В узлах сшивки стержни часто расположены под углом 120° (Рис. 3.25а,б, 3.27б), что может быть обусловлено отталкиванием между боковыми поверхностями одноименно заряженных стержней. Насколько нам известно, такие узлы сшивки НЦ ранее никогда не наблюдали. По-видимому, они обусловлены гидрофобными взаимодействиями и не включают Ca^{2+} , так как предполагается, что сшивка ионами кальция происходит между боковыми поверхностями нанокристаллов [66], где расположены карбоксилатные группы, взаимодействующие с Ca^{2+} .

Взаимодействия концевых групп 2-3 соседних наностержней НЦ, приводящие к их удлинению, ранее были продемонстрированы методом криоэлектронной томографии в присутствии сильно разветвленного гликополимера с большим количеством мальтозных групп, взаимодействующих с НЦ [183]. В настоящей работе мы впервые показываем, что агрегаты, связанные за счет взаимодействия концевых групп, могут состоять из десятков частиц НЦ. Кроме

того, мы впервые наблюдаем, что в точках контакта между соседними наностержнями агрегат может изгибаться, иногда под малым, а иногда под большим углом (Рис. 3.25а,б, 3.26, 3.27). Благодаря этому агрегаты приобретают гибкость, позволяющую им увеличивать свою конформационную энтропию. Также мы впервые демонстрируем образование узлов сшивки, в которых участвуют несколько стержней, взаимодействующих друг с другом своими концами (Рис. 3.25а,б). Отметим, что в отличие от вышеупомянутой работы [183], здесь агрегация НЦ происходит без связывания нанокристаллов в результате адсорбции полимера одновременно на соседних нанокристаллах, поскольку ГПГ и НЦ- Ca^{2+} , согласно данным МУРН, отталкиваются.

На изображениях, полученных при помощи криоэлектронной томографии (Рис. 3.25в,г), видно множество концевых контактов не только между отдельными стержнями, но и между пучками стержней. В последнем случае образуются толстые фибриллоподобные агрегаты, похожие на агрегаты, недавно обнаруженные в нанокристаллах хитина [156]. Стержни, входящие в эти агрегаты, на 3D-реконструкциях выделены фиолетовым цветом (Рис. 3.25в,г). Подобно случаю отдельных стержней, концевые соединения пучков могут вызывать изгиб (Рис. 3.27г) и образование узлов сшивки (Рис. 3.25б). Отметим, что структура сетки ГПГ/НЦ- Ca^{2+} лучше всего видна на границе микрофазы НЦ (Рис. 3.23а), где плотность наностержней относительно низкая. Нельзя исключать, что в центре микрофазы НЦ, где плотность нанокристаллов выше, фибриллоподобные агрегаты могут быть толще и длиннее. Мы полагаем, что образующиеся длинные фибриллоподобные агрегаты могут значительно улучшать механические свойства гидрогеля.

3.3.2. Механические свойства двойной сетки ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+}

Исследованы механические свойства гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} в экспериментах на сдвиг, растяжение и сжатие. В большинстве экспериментов концентрация ГПГ-МА была фиксированной и составляла 8 вес.%, в то время как концентрация НЦ- Ca^{2+} варьировалась от 0 до 8 вес.% (при постоянном соотношении НЦ/ Ca^{2+}), чтобы выявить влияние жесткой сетки НЦ-

Ca^{2+} на механические свойства. Результаты экспериментов на сдвиг представлены на Рис. 3.28а,б. Видно, что при увеличении содержания НЦ, сшитых Ca^{2+} , с 0 до 8 вес.% модуль накопления G' возрастает с 3,2 до 12,9 кПа, что обусловлено упрочняющим эффектом нанокристаллов. В то же время G' становится зависимым от частоты (Рис. 3.28а). Это можно объяснить возрастающим вкладом физической сетки НЦ- Ca^{2+} по сравнению с химически сшитой сеткой ГПГ-МА.

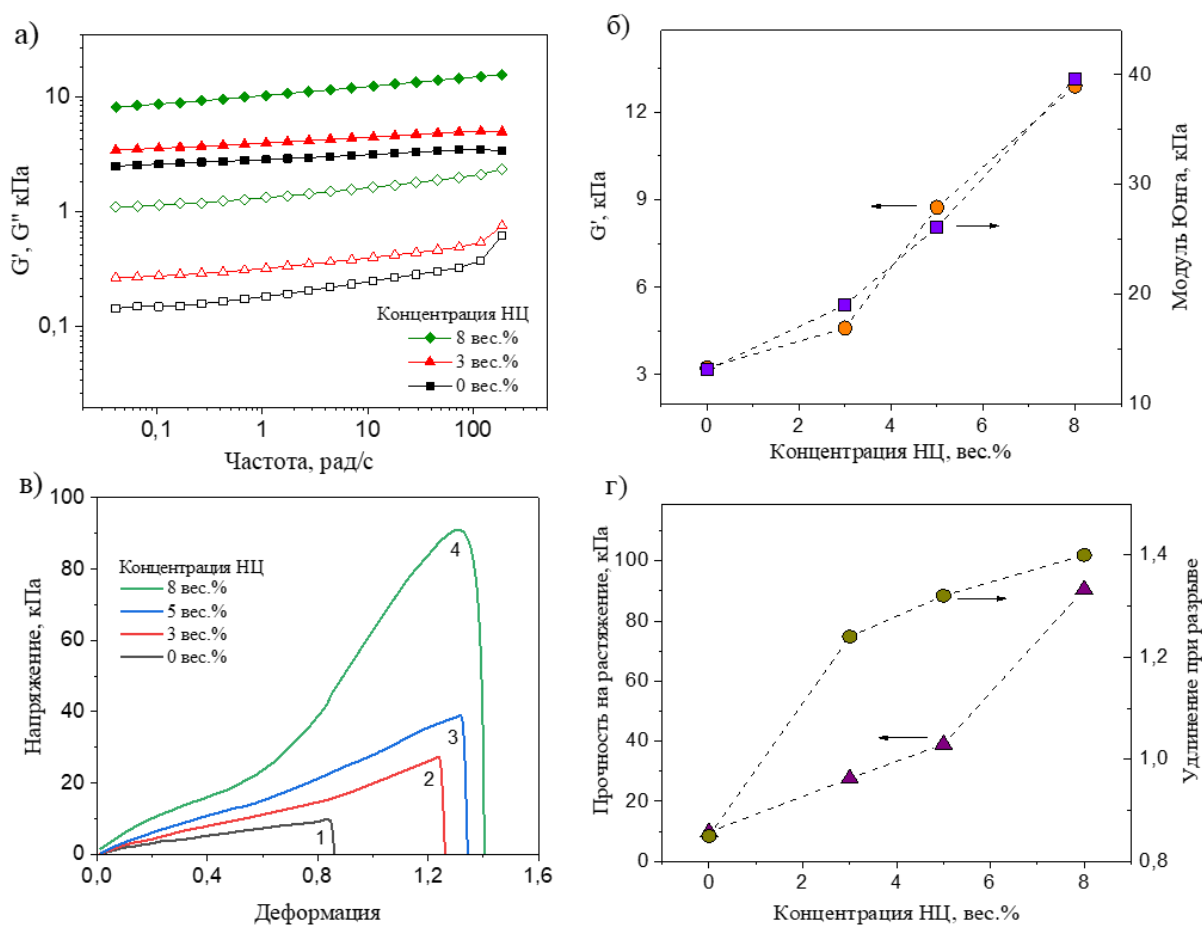


Рисунок 3.28. а) Зависимость модуля накопления G' (закрашенные символы) и модуля потерь G'' (пустые символы) от частоты для гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} , полученных фотосшиванием 8 вес.-%-ных растворов ГПГ-МА ($[\text{МА}]=0,45$ мол.%) с разными концентрациями НЦ, указанными на рисунке. б) Зависимость модуля накопления при 18,1 рад/с (круги) и модуля Юнга, определенного по начальному участку кривых растяжения (квадраты), от концентрации НЦ для тех же систем. в) Кривые напряжение–деформация для тех же гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} с разными концентрациями НЦ, указанными на рисунке. г) Предел прочности на растяжение (треугольники) и относительное удлинение при разрыве (круги) в зависимости от концентрации НЦ для тех же систем. Во всех экспериментах использовали постоянное соотношение НЦ/ CaCl_2 : 16,7 мМ CaCl_2 на 1 вес.% НЦ.

Результаты экспериментов на растяжение представлены на Рис. 3.28в. Они показывают, что предел прочности при растяжении возрастает при увеличении концентрации НЦ до 90 кПа (Рис. 3.28г). По начальному участку кривых напряжение-деформация были определены значения модуля Юнга. Они увеличиваются при увеличении концентрации НЦ аналогично значениям модуля накопления при сдвиге (Рис. 3.28б), что указывает на возрастание жесткости геля. Заметим, что модуль Юнга увеличивается одновременно с удлинением при разрыве (Рис. 3.28б,г), что приводит к увеличению энергии разрушения в 6 раз по сравнению с гидрогелями ГПГ-МА. Энергия разрушения — это величина, характеризующая количество энергии, необходимое для образования новой поверхности при разрушении материала. Значительно более высокая энергия разрушения гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} (до $1,1 \text{ кДж/м}^2$) по сравнению с хрупкими гидрогелями ГПГ-МА ($0,19 \text{ кДж/м}^2$) указывает на их более высокое сопротивление распространению трещин, что может быть связано с наличием жесткой сетки НЦ- Ca^{2+} . Энергия разрушения полученных гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} близка к энергии разрушения ткани хряща (около $1,0 \text{ кДж/м}^2$ [184]). Полученные значения модуля Юнга, предела прочности на растяжение и энергии разрушения аналогичны значениям, типичным для гидрогелей с одной химически и одной физически сшитой сеткой [10].

Таким образом, включение жесткой сетки НЦ- Ca^{2+} в мягкую сетку ГПГ-МА позволяет увеличить как прочность гидрогеля, так и его удлинение. Это важно, поскольку многие подходы к повышению механической прочности гелей (например, увеличение плотности сшивки) неизбежно приводят к уменьшению их удлинения [185].

В экспериментах на сжатие (Рис. 3.29а) было обнаружено, что модули сжатия, определенные по наклону начальных участков кривых напряжение-деформация, увеличиваются с ростом содержания НЦ, что согласуется с результатами, полученными на сдвиг и растяжение.

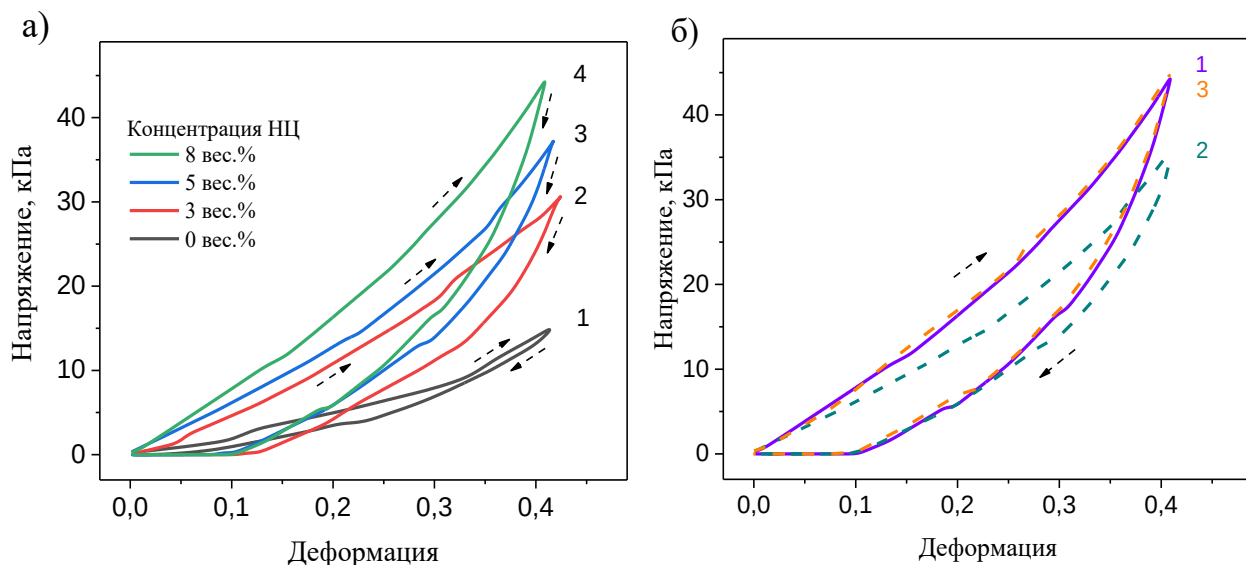


Рисунок 3.29. а) Первый цикл нагрузка–разгрузка при сжатии для гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} , полученных фотосшиванием 8 вес.%-ных растворов ГПГ-МА ($[\text{МА}]=0,45$ мол.%) с разными концентрациями НЦ, указанными на рисунке. б) Два последовательных цикла нагрузка–разгрузка при сжатии, полученные сразу (сплошная линия 1) и с разницей между циклами в 10 мин (зеленая пунктирная линия 2) и 30 мин (оранжевая пунктирная линия 3) для гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} , полученных фотосшиванием 8 вес.%-ных растворов ГПГ-МА ($[\text{МА}]=0,45$ мол.%) в присутствии 8 вес.% НЦ и 133 мМ CaCl_2 . Во всех экспериментах использовали постоянное соотношение НЦ/ CaCl_2 : 16,7 мМ CaCl_2 на 1 вес.% НЦ.

Важной характеристикой гидрогелей является способность сохранять свои механические свойства при многократных циклических нагрузках. Рис. 3.29а показывает поведение гелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} при последовательных циклах нагрузка-разгрузка при сжатии. Гели ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} имеют большие петли гистерезиса, а гель ГПГ-МА без нанокристаллов - имеет лишь небольшую петлю, что указывает на то, что он ближе к чисто упругой системе (Рис. 3.29а). Энергия E_d рассеянная в течение цикла нагрузка-разгрузка, была рассчитана путем интегрирования площади внутри петель. Для гидрогеля ГПГ-МА E_d составляет всего 0,46 кДж/м³. Для гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} она увеличивается с 2,2 до 3,3 кДж/м³ при повышении содержания нанокристаллов с 3 до 8 вес.%. Подобное поведение ранее наблюдали для гелей полиакриламид/НЦ [186] и гелей поливиниловый спирт/поливинилпирролидон/сульфированные

НЦ/FeCl₃ [187]. В обеих работах было показано, что в отсутствие НЦ гистерезис очень мал, тогда как введение НЦ приводит к его значительному росту. Добавление сшивающего агента, взаимодействующего с НЦ, дополнительно увеличивает гистерезис [187]. Таким образом, разные типы физических взаимодействий между НЦ (такие, как ионная сшивка, водородные связи и гидрофобные ассоциации) могут вносить вклад в наблюдаемый гистерезис. Гели ГПГ-МА/НЦ-Са²⁺ рассеивают в 5–7 раз больше энергии, чем гель ГПГ-МА, обеспечивая более высокую прочность. Это может быть связано с разрывом физических связей в сетке НЦ-Са²⁺, приводящим к эффективной диссипации энергии. Можно предположить, что при нагрузке множественные контакты между концевыми группами нанокристаллов, визуализированные с помощью криоэлектронной томографии, могут разрушаться первыми (до разрушения ионных сшивок). Отметим, что способность к диссипации энергии сильно зависит от скорости деформации (Рис. 3.30), что ожидаемо, когда прочность гелей повышается за счет лабильных жертвенных связей [188].

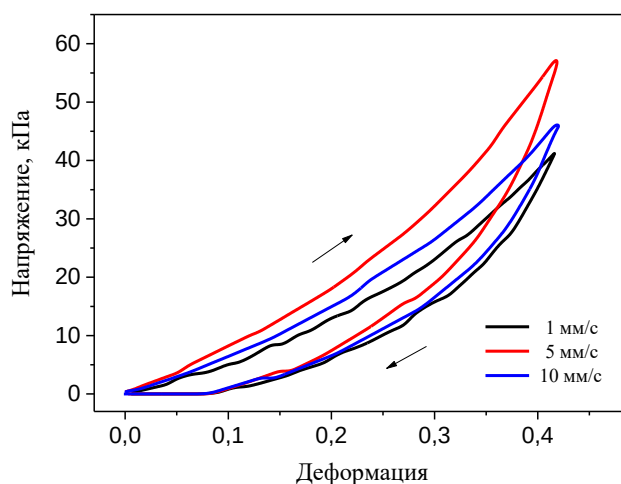


Рисунок 3.30. Первый цикл нагрузка–разгрузка при сжатии для гидрогелей, полученных фотосшиванием водных суспензий ГПГ-МА/НЦ-Са²⁺, содержащих 8 вес.% ГПГ-МА ([МА]=0,55 мол.%), 8 вес.% НЦ и 133 мМ СаCl₂, при разных скоростях деформации, указанных на рисунке.

Рис. 3.29б показывает два последовательных цикла напряжение-деформация при сжатии с разными промежутками времени между ними. Когда время между циклами составляет 10 мин

механические свойства гидрогелей снижаются во втором цикле нагрузки. Но если время между циклами увеличить до 30 мин, то зависимость напряжение-деформация становится идентичной исходной (Рис. 3.29б), указывая на полное восстановление модуля упругости. Аналогичное время, необходимое для полного восстановления, было обнаружено для гидрогелей поливиниловый спирт/поливинилпирролидон/сульфированные НЦ/ FeCl_3 [187]. Следовательно, в обеих системах физической сетке НЦ, сшитой многовалентными катионами, требуется около 30 мин для полного восстановления после цикла напряжение-деформация.

Таким образом, добавление жертвенной, обратимой жесткой сетки НЦ- Ca^{2+} к необратимой мягкой сетке ГПГ-МА повышает механическую прочность гелей и их устойчивость к циклическим нагрузкам.

3.3.3. 3D-печать гидрогелей из двойных сеток

Суспензии ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} были использованы в качестве чернил для 3D-печати. Растворы, применяемые в экструзионной 3D-печати, должны обладать рядом свойств. Во-первых, они должны иметь достаточно низкую вязкость при скоростях сдвига $50\text{--}300\text{ с}^{-1}$, чтобы легко протекать через сопло печатающего устройства. Во-вторых, после нанесения на поверхность раствор должен сохранять желаемую форму, сопротивляясь растеканию [189].

Рис. 3.31а показывает, что у суспензии ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} до фотосшивания вязкость уменьшается более чем на 4 порядка с увеличением скорости сдвига. Такое поведение обусловлено ориентацией наностержней НЦ и цепей ГПГ-МА вдоль направления потока. Наностержни делают падение вязкости более значительным (Рис. 3.31а), поскольку в их присутствии исходное значение вязкости при низкой скорости сдвига высокое из-за сетки перколированных НЦ. При скоростях сдвига $50\text{--}300\text{ с}^{-1}$, типичных для течения чернил через сопло экструдера [190], вязкость суспензии ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} становится менее $100\text{ Па}\cdot\text{с}$, что соответствует требованиям к чернилам для экструзионной печати [189]. Таким образом, данная система до фотосшивания должна легко экструдироваться. Сразу после нанесения форму

напечатанного изделия можно зафиксировать путем фотосшивания цепей ГПГ-МА под действием УФ-излучения.

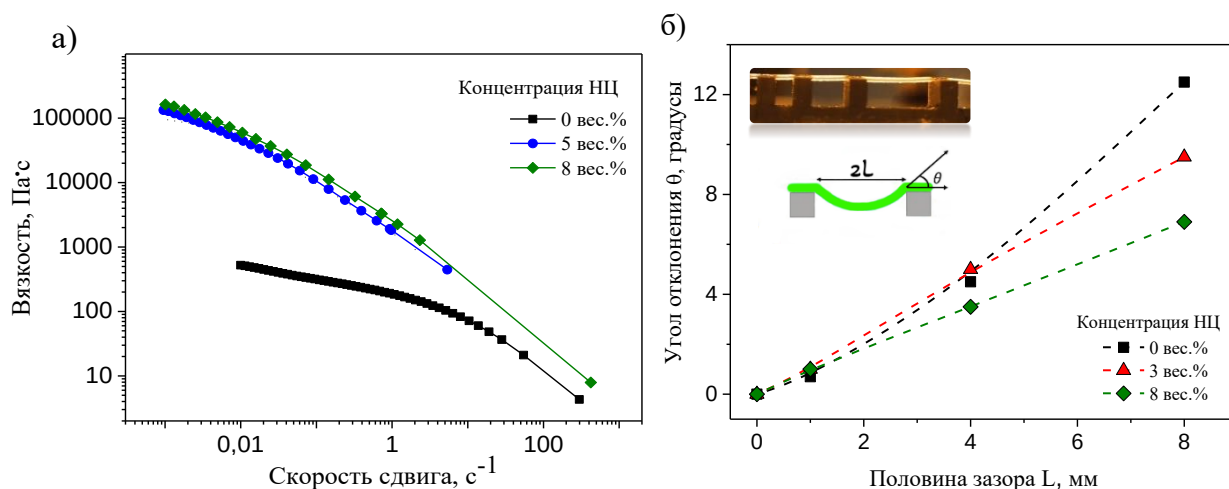


Рисунок 3.31. а) Кривые течения для суспензий ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} , содержащих 8 вес.% ГПГ-МА ($[\text{МА}] = 0,55$ мол.%), до фотосшивания при разных концентрациях добавленных НЦ, указанных на рисунке, при постоянном соотношении НЦ/ CaCl_2 : 16,7 мМ CaCl_2 на 1 вес.% НЦ. б) Результаты теста на провисание нити. Угол отклонения θ в зависимости от полуширины зазора L между опорами для тех же гелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} после фотосшивания. Множитель расхода составляет 1,5. На вставке: Фотография нити, изготовленной из геля ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} и размещенной над опорами, через 30 с после печати. Схематическое изображение нити (зеленый цвет), подвешенной между двумя опорными столбиками (серый цвет), находящимися на расстоянии $2L$ друг от друга.

Одним из наиболее важных аспектов 3D-печати является точность, то есть способность напечатанного изделия точно воспроизводить заданную форму. Для ее оценки был проведен тест на провисание нити ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} [191]. Он основан на измерении угла отклонения полученной 3D-печатью нити, помещенной над опорами (Рис. 3.31б). Провисание вызвано действием гравитации, а препятствует ему поверхностное натяжение и вязкоупругие свойства нити [109]. Рис. 3.31б показывает, что с увеличением расстояния между опорами провисание нити становится более заметным, как и можно было ожидать [109]. Важно, что угол отклонения нити уменьшается с увеличением содержания НЦ, что указывает на то, что включение жесткой сетки

НЦ- Ca^{2+} в мягкую сетку ГПГ-МА должно обеспечивать более высокую точность напечатанных изделий.

Из суспензий ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} были напечатаны пористые структуры в виде решеток (Рис. 3.32а-д, 3.33, 3.34). Обнаружено, что в напечатанных структурах ширина нити уменьшается при увеличении содержания НЦ (Рис. 3.32е), при этом высота увеличивается на 30% (Рис. 3.32ж). Оба эффекта могут быть связаны с уменьшением растекания чернил при увеличении содержания НЦ, армирующих гель. Аналогичный вывод можно сделать из анализа средней площади пор в напечатанной решетке, которая увеличивается с ростом концентрации НЦ (Рис. 3.32з,и). В случае изделий, полученных из мягкого гидрогеля ГПГ-МА без нанокристаллов, поры имели округлую, а не квадратную форму, и при определенных условиях даже происходило слияние соседних нитей (Рис. 3.34). Напротив, для гидрогелей ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} , содержащих жесткую сетку НЦ- Ca^{2+} , напечатанный рисунок является четким благодаря низкому растеканию материала, что позволяет создавать детализированные структуры.

Полученные результаты открывают перспективы использования разработанных гидрогелей в качестве экологических чернил для 3D-печати. Учитывая природное происхождение, биосовместимость и биоразлагаемость обоих компонентов, такие гели обладают высоким потенциалом для широкого круга применений, включая биомедицинские. В частности, для тканевой инженерии 3D-печать скаффолдов позволяет добиться их точного соответствия форме места имплантации. Биоактивные компоненты, такие как клетки и факторы роста, можно вводить до гелеобразования, обеспечивая их равномерное распределение. Ориентация нанокристаллов целлюлозы, достигаемая в процессе 3D-печати, способна придать направленность и упорядоченность на наноуровне, что благоприятно для выравнивания и направленной миграции клеток вдоль пор.

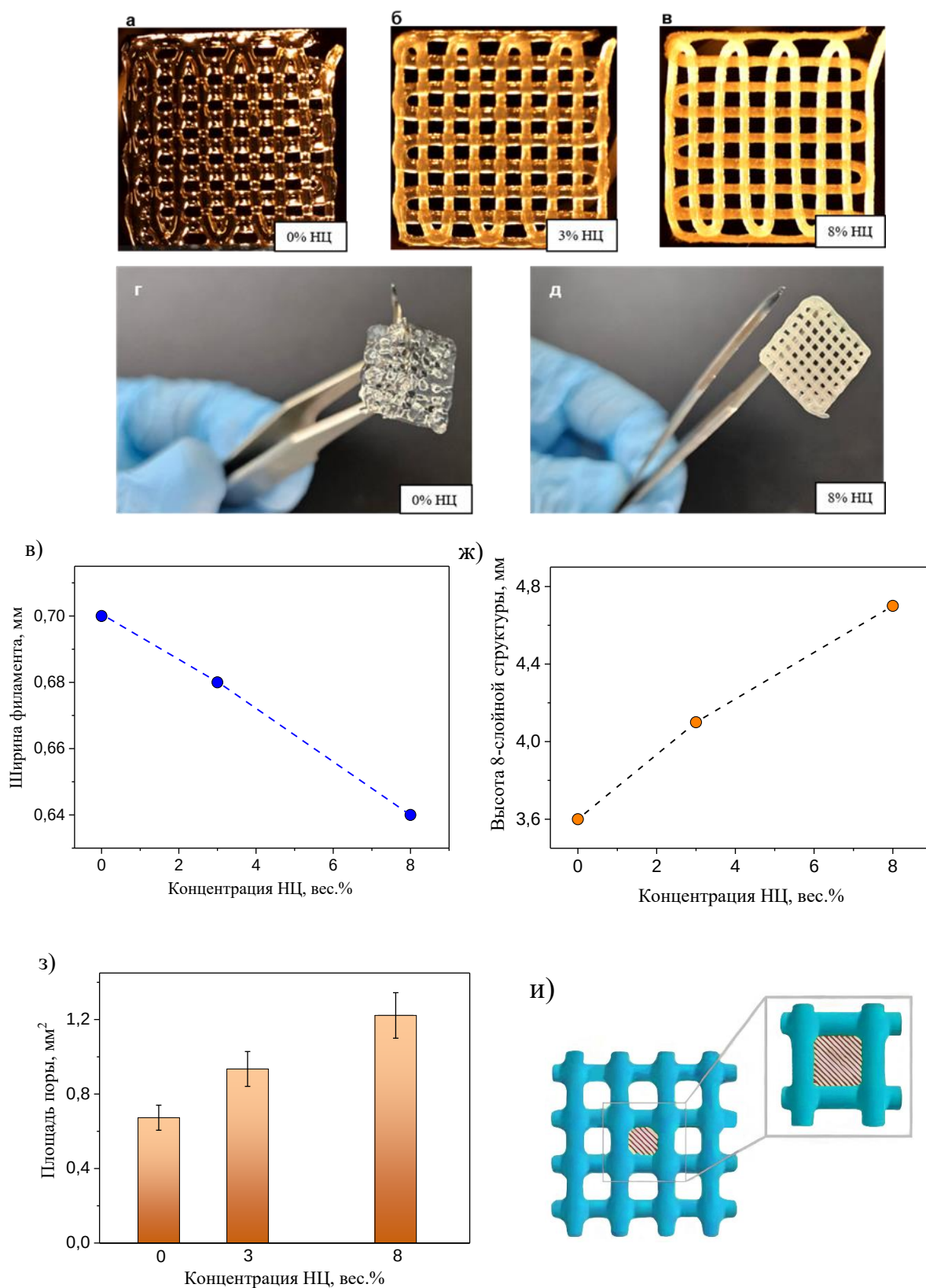


Рисунок 3.32. а–д) Решетчатые структуры, изготовленные при помощи 3D-печати из суспензий ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} , содержащих 8 вес.% ГПГ-МА ($[\text{MA}] = 0,55$ мол.%) и разное количество НЦ: 0 вес.% (а, г), 3 вес.% (б) и 8 вес.% (в, д), при постоянном соотношении НЦ/ CaCl_2 : 16,7 мМ CaCl_2 на 1 вес.% НЦ, после фотосшивания. е, ж) Зависимость средней ширины нити (е) и высоты 8-слойных структур (ж) от концентрации НЦ для тех же систем. з) Зависимость

площади пор от концентрации НЦ для тех же систем. Множитель расхода составляет 1,5. и)
Схематическое представление пор в решетчатой структуре.

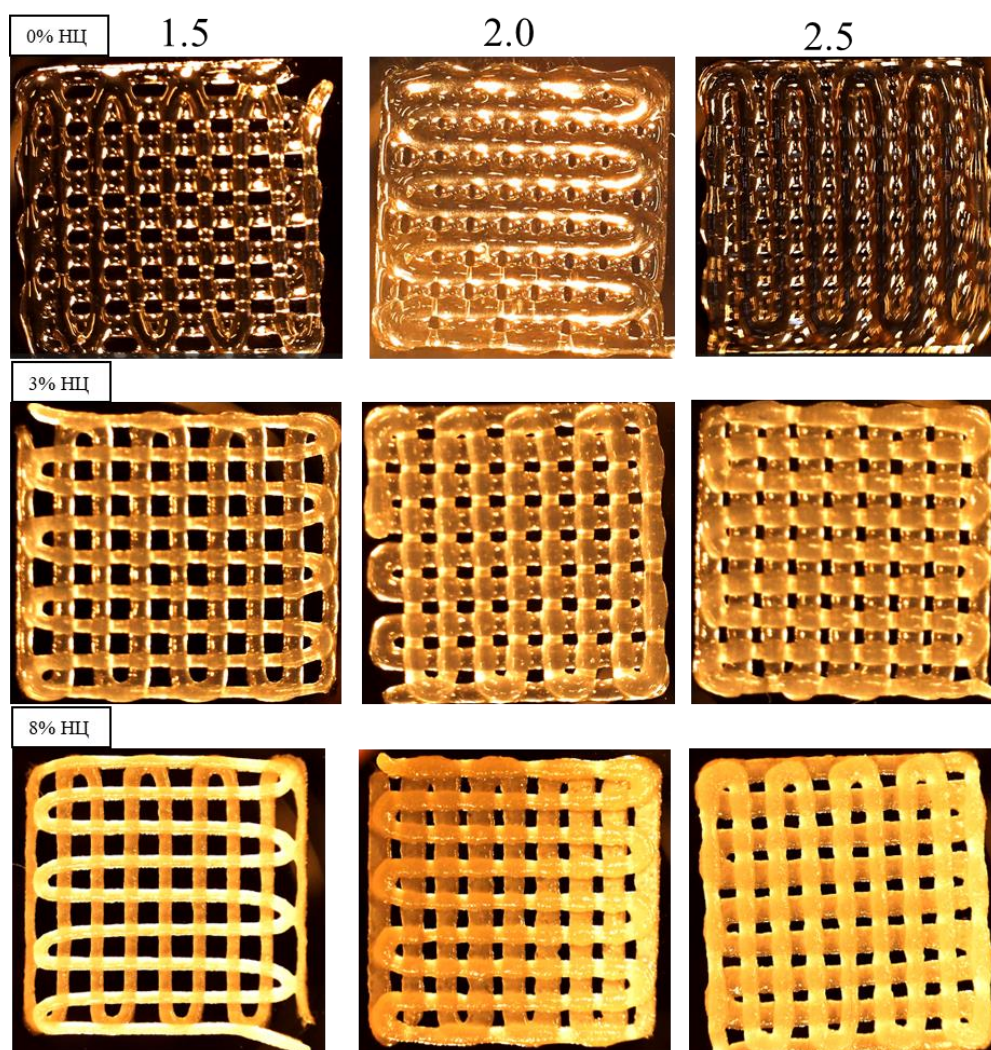


Рисунок 3.33. Решетчатые структуры, изготовленные методом 3D-печати из водных суспензий ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} , содержащих 8 вес.% ГПГ-МА ($[\text{MA}]=0,55$ мол.%) и разное количество НЦ, указанное на рисунке, при постоянном соотношении НЦ/ CaCl_2 : 16,7 мМ CaCl_2 на 1 вес.% НЦ, после фотосшивания. Суспензии экструдировали из сопла диаметром 0,6 мм при скорости печати 2,5 мм/с и различных значениях множителя расхода, указанных на рисунке: 1,5; 2; 2,5. Регулировка множителя расхода выше 1,0 позволяет увеличить объем дозируемого материала по сравнению с объемом материала, рассчитанным исходя из предположения, что поперечное сечение экструдированной нити было идеально круглым с диаметром, равным диаметру печатающего сопла (0,6 мм).

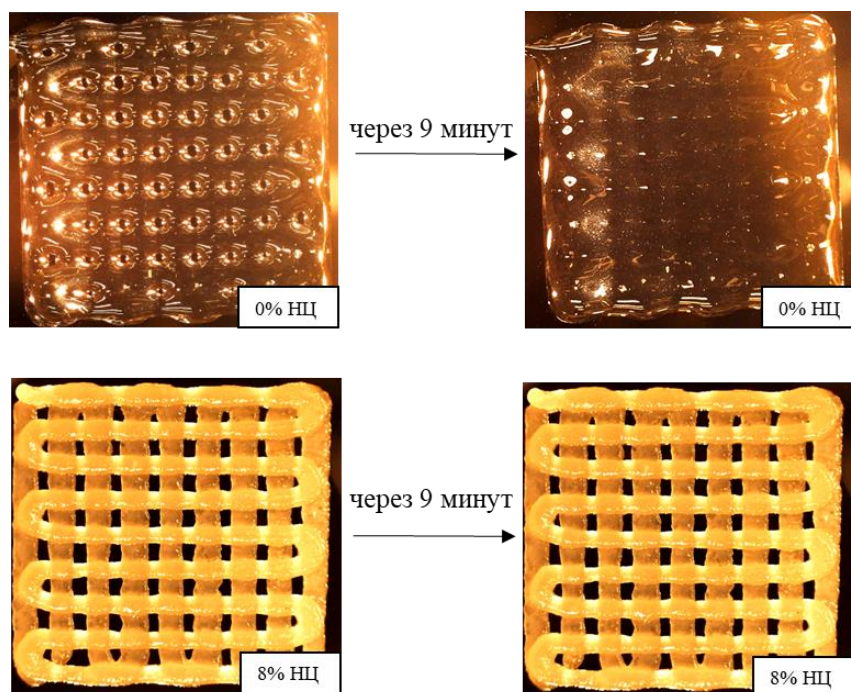


Рисунок 3.34. Решетчатые структуры сразу после печати на 3D-принтере и через 9 минут после печати. Структуры были получены из водных суспензий ГПГ-МА/НЦ- Ca^{2+} , содержащих 8 вес.% ГПГ-МА ($[\text{MA}] = 0,55$ мол.%) и разное количество НЦ, указанное на рисунке, при постоянном соотношении НЦ/ CaCl_2 : 16,7 мМ CaCl_2 на 1 вес.% НЦ. Суспензии экструдировали из сопла диаметром 0,6 мм при скорости печати 2,5 мм/с и множителе расхода, равном 2.

Кроме того, такие гидрогели можно использовать как раневые повязки. По сравнению с традиционными гидрогелевыми повязками, 3D печать позволяет сформировать дышащую микропористую структуру, сходную с естественной биологической тканью. Такая структура способна ускорять клеточную пролиферацию и транспорт веществ, способствуя восстановлению и регенерации тканей. Более того, напечатанные на 3D-принтере гидрогели открывают возможности для более персонализированного лечения, так как они могут быть адаптированы к форме раны и содержать индивидуально подобранные терапевтические средства, такие как лекарственные препараты, противомикробные или ранозаживляющие агенты (включая факторы роста).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые получено метакрилированное производное полимера природного происхождения гидроксипропилгуара ГПГ-МА и синтезированы гели на его основе путем УФ-сшивания. Разработанный способ синтеза геля гидроксипропилгуара перспективен для использования в экструзионной 3D-печати.
2. Впервые получены гели ГПГ-МА с введенными в них цепями поли(3-(акриламидо)фенилбороновой кислоты) ПФБК, содержащие два типа сшивок: необратимые ковалентные сшивки за счет метакрилатных групп и лабильные сшивки за счет взаимодействия фенилборат-ионов с цис-диольными группами ГПГ. Цепи ПФБК не только создают лабильные сшивки, увеличивающие модуль упругости геля в 5 раз, но и придают ему рН чувствительность, что обеспечивает контролируемое высвобождение антисептика и делает такие гели перспективными для создания «умных» антисептических покрытий.
3. Сшивание карбоксиметилированных нанокристаллов целлюлозы хлоридом кальция приводит к росту модуля накопления на полтора порядка при сохранении способности геля к быстрому восстановлению структуры после воздействия сдвигового напряжения. Методами криоэлектронной микроскопии и криоэлектронной томографии впервые показано, что добавление ионов кальция приводит к росту агрегатов нанокристаллов целлюлозы не только в ширину, но и в длину, что объясняет усиление реологических свойств гелей.
4. Впервые получены и исследованы двойные сетки гибкоцепного полимера и нанокристаллов целлюлозы, сшитых ионами кальция. Включение жесткой сетки нанокристаллов целлюлозы, сшитых ионами кальция, в мягкую сетку ГПГ-МА позволяет одновременно повысить прочность и удлинение при разрыве композитного гидрогеля, а также увеличить энергию разрушения в 6 раз. Методами криоэлектронной микроскопии и криоэлектронной томографии впервые внутри двойных сеток обнаружены фибриллоподобные агрегаты из нанокристаллов целлюлозы, представляющие собой пучки из двух–пяти нанокристаллов, соединённых с соседними пучками своими концами. Впервые предложено объяснение тенденции нанокристаллов связываться друг с другом своими концами. Эти физические контакты наряду со сшивками ионами кальция играют роль жертвенных связей, обеспечивающих эффективную диссипацию энергии при циклических нагрузках и полное восстановление механических свойств после снятия нагрузки.

5. Показано, что суспензии, содержащие фотосшиваемый полимер ГПГ-МА и нанокристаллы целлюлозы, сшитые ионами кальция, являются перспективными чернилами для экструзионной 3D-печати. При экструзии они проявляют выраженное падение вязкости при сдвиге на 4 порядка. После нанесения они быстро восстанавливают высокие значения вязкости, что в сочетании с последующим УФ-облучением позволяет оперативно фиксировать форму изделия. Показано, что точность формы печати возрастает с увеличением концентрации нанокристаллов за счёт подавления растекания материала.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Silva A.C.Q., Silvestre A.J.D., Vilela C., Freire C.S.R. Natural polymers-based materials: A contribution to a greener future // *Molecules*. 2022. V. 27. № 1. P. 94.
2. Li S., Yao F., Liu Q., Tang C., Zhuo Y., Dai M., Lv Q., Zhong X. Natural polysaccharide hydrogels: design, preparation, and tissue engineering applications // *Mater. Des.* 2025. V. 259. P. 114876.
3. Han Y., Cao Y., Lei H. Dynamic covalent hydrogels: strong yet dynamic // *Gels*. 2022. V. 8. № 9. P. 577.
4. Zhao D., Huang J., Zhong Y., Li K., Zhang L., Cai J. High-strength and high-toughness double-cross-linked cellulose hydrogels: a new strategy using sequential chemical and physical cross-linking // *Adv. Funct. Mater.* 2016. V. 26. № 34. P. 6279–6287.
5. Hu Y., Zhang Z., Li Y., Ding X., Li D., Shen C., Xu F.-J. Dual-crosslinked amorphous polysaccharide hydrogels based on chitosan/alginate for wound healing applications // *Macromol. Rapid Commun.* 2018. V. 39. № 20. P. 1800069.
6. Glassman M.J., Chan J., Olsen B.D. Reinforcement of shear thinning protein hydrogels by responsive block copolymer self-assembly // *Adv. Funct. Mater.* 2013. V. 23. № 9. P. 1182–1193.
7. Sigen A., Xu Q., Johnson M., Creagh-Flynn J., Venet M., Zhou D., Lara-Sáez I., Tai H., Wang W. An injectable multi-responsive hydrogel as self-healable and on-demand dissolution tissue adhesive // *Appl. Mater. Today*. 2021. V. 22. P. 100967.
8. Berlangieri C., Poggi G., Murgia S., Monduzzi M., Dei L., Carretti E. Structural, rheological and dynamics insights of hydroxypropyl guar gel-like systems // *Colloids Surf. B*. 2018. V. 168. P. 178–186.
9. Rodell C.B., MacArthur J.W., Dorsey S.M., Wade R.J., Wang L.L., Woo Y.J., Burdick J.A. Shear thinning supramolecular hydrogels with secondary autonomous covalent crosslinking to modulate viscoelastic properties in vivo // *Adv. Funct. Mater.* 2015. V. 25, №. 4. P. 636–644.

10. Li X., Gong J.P. Design principles for strong and tough hydrogels // *Nat. Rev. Mater.* 2024. V. 9, P. 380–398.
11. Milne C., Song R., Johnson M., Zhao C., Santoro Ferrer F., A S., Lyu J., Wang W. Dual-modified hyaluronic acid for tunable double cross-linked hydrogel adhesives // *Biomacromolecules*. 2024. V. 25. № 4. P. 2645–2655.
12. Gong J.P., Katsuyama Y., Kurokawa T., Osada Y. Double-network hydrogels with extremely high mechanical strength // *Adv. Mater.* 2003. V. 15. № 14. P. 1155–1158.
13. Li J., Illeperuma W.R.K., Suo Z., Vlassak J.J. Hybrid Hydrogels with extremely high stiffness and toughness // *ACS Macro Lett.* 2014. V. 3. № 6. P. 520–523.
14. Tsukeshiba H., Huang M., Na Y.H., Kurokawa T., Kuwabara R., Tanaka Y., Furukawa H., Osada Y., Gong J. Effect of polymer entanglement on the toughening of double network hydrogels // *J. Phys. Chem. B*. 2005. V. 109. № 34. P. 16304–16309.
15. Haque M.A., Kurokawa T., Gong J. Super tough double network hydrogels and their application as biomaterials // *Polymer*. 2012. V. 53. № 9. P. 1805–1822.
16. Oveissi F., Naficy S., Le T.Y.L., Fletcher D.F., Dehghani F. Tough hydrophilic polyurethane-based hydrogels with mechanical properties similar to human soft tissues // *J. Mater. Chem. B*. 2019. V. 7. № 22. P. 3512–3519.
17. Hong B.M., Hong G.L., Gwak M.A., Kim K.H., Jeong J.E., Jung J.Y., Park S.A., Park W.H. Self-crosslinked hyaluronate-based hydrogels as a soft tissue filler // *Int. J. Biol. Macromol.* 2021. V. 185. P. 98–110.
18. Gong J.P. Why are double network hydrogels so tough? // *Soft Matter*. 2010. V. 6. № 12. P. 2583–2590.
19. Zhao X. Multi-scale multi-mechanism design of tough hydrogels: building dissipation into stretchy networks // *Soft Matter*. 2014. V. 10. № 5. P. 672–687.

20. Means A.K., Shrode C.S., Whitney L.V., Ehrhardt D.A., Grunlan M.A. Double network hydrogels that mimic the modulus, strength, and lubricity of cartilage // *Biomacromolecules*. 2019. V. 20. № 5. P. 2034–2042.
21. Zhao Y., Nakajima T., Yang J.J., Kurokawa T., Liu J., Lu J., Mizumoto S., Sugahara K., Kitamura N., Yasuda K., Daniels A.U., Gong J.P. Proteoglycans and glycosaminoglycans improve toughness of biocompatible double network hydrogels // *Adv. Mater.* 2014. V. 26. № 3. P. 436–442.
22. Li Z., Su Y., Xie B., Liu X., Gao X., Wang D. A novel biocompatible double network hydrogel consisting of konjac glucomannan with high mechanical strength and ability to be freely shaped // *J. Mater. Chem. B*. 2015. V. 3. № 9. P. 1769–1778.
23. Yuk H., Lin S., Ma C., Takaffoli M., Fang N.X., Zhao X. Hydraulic hydrogel actuators and robots optically and sonically camouflaged in water // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. Art. 14230.
24. King D.R., Takahashi R., Ikai T., Fukao K., Kurokawa T., Gong J.P. Anisotropic double-network hydrogels via controlled orientation of a physical sacrificial network // *ACS Appl. Polym. Mater.* 2020. V. 2. № 6. P. 2350–2358.
25. Tang L., Wu S., Xu Y., Cui T., Li Y., et al. High toughness fully physical cross-linked double network organohydrogels for strain sensors with anti-freezing and anti-fatigue properties // *Mater. Adv.* 2021. V. 2. № 20. P. 6655–6664.
26. Wang Z., Jia J., Zhu M., Li X., Liu J., Wang Y., Zhong H. Double network hydrogel embedded with quantum dots: Enhanced visual performance for holographic 3D display // *Synth. Met.* 2016. V. 222. P. 132–136.
27. Kunwar P., Xiong Z., Zhu Y., Li H., Yu H., Soman P. Three-dimensional printing of double-network hydrogels: recent progress, challenges, and future outlook // *3D Print. Addit. Manuf.* 2022. V. 9. № 5. P. 435–449.

28. Guo Z., Xia J., Mi S., Sun W. Mussel-inspired naturally derived double-network hydrogels and their application in 3D printing: from soft, injectable bioadhesives to mechanically strong hydrogels // *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2020. V. 6. № 3. P. 1798–1808.
29. Bakarich S.E., Gorkin III R., in het Panhuis M., Spinks G.M. 4D Printing with mechanically robust, thermally actuating hydrogels // *Macromol. Rapid Commun.* 2015. V. 36. № 12. P. 1211–1217.
30. Aldana A.A., Houben S., Moroni L., Baker M.B., Pitet L.M. Trends in double networks as bioprintable and injectable hydrogel scaffolds for tissue regeneration // *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2021. V. 7. № 9. P. 4077-4101.
31. Torris A., Nair S., K.P. R.M., Sengupta P., Badiger M. Mechanical and microstructural studies in a polysaccharide-acrylate double network hydrogel // *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 2021. V. 124. P. 104839.
32. Huang J., Frauenlob M., Shibata Y., Wang L., Nakajima T., Nonoyama T., Tsuda M., Tanaka S., Kurokawa T., Gong J. Chitin-based double-network hydrogel as potential superficial soft-tissue-repairing materials // *Biomacromolecules.* 2020. V. 21. № 10. P. 4220–4230.
33. Zeng S., Zhang J., Zu G., Huang J. Transparent, flexible, and multifunctional starch-based double-network hydrogels as high-performance wearable electronics // *Carbohydr. Polym.* 2021. V. 267. P. 118198.
34. Sun J.Y., Zhao X.H., Illeperuma W.R.K., Chaudhuri O., Oh K.H., Mooney D.J., Vlassak J.J., Suo Z.G. Highly stretchable and tough hydrogels // *Nature.* 2012. V. 489. № 7414. P. 133–136.
35. Li X., Zhang Y., Shi Z., Wang D., Yang H., Zhang Y., Qin H., Lu W., Chen J., Li Y., Qing G. Water-stable boroxine structure with dynamic covalent bonds // *Nat. Commun.* 2024. V. 15, № 1. Art. 1207.
36. Maeda T., Otsuka H., Takahara A. Dynamic covalent polymers: Reorganizable polymers with dynamic covalent bonds // *Prog. Polym. Sci.* 2009. V. 34, № 7. P. 581–604.

37. Zhu J.J., Guan S., Hu Q.Q., Gao G.H., Xu K., Wang P.X. Tough and pH-sensitive hydroxypropyl guar gum/polyacrylamide hybrid double-network hydrogel // *Chem. Eng. J.* 2016. V. 306. P. 953–960.
38. Zhou Y., Yue Z., Chen Z., Wallace G.G. 3D coaxial printing tough and elastic hydrogels for tissue engineering using a catechol functionalized ink system // *Adv. Health. Mater.* 2020. V. 9. № 24. P. 2001342.
39. Gong Z.Y., Zhang G.P., Zeng X.L., Li J.H., Li G., Huang W.P., Sun R., Wong C.P. High-strength, tough, fatigue resistant and self-healing hydrogel based on dual physically cross-linked network // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2016. V. 8, № 36. P. 24030–24037.
40. Chen Q., Zhu L., Chen H., Yan H.L., Huang L.N., Yang J., Zheng J. A novel design strategy for fully physically linked double network hydrogels with tough, fatigue resistant, and self-healing properties // *Adv. Funct. Mater.* 2015. V. 25, № 10. P. 1598–1607.
41. Thoniyot P., Tan M.J., Karim A.A., Young D.J., Loh X.J. Nanoparticle–hydrogel composites: concept, design, and applications of these promising, multi-functional materials // *Adv. Sci.* 2015. V. 2. № 1. P. 1400010.
42. Choi S., Choi Y.-J., Jang M.-S., Lee J.H., Jeong J.H., Kim J. Supertough hybrid hydrogels consisting of a polymer double-network and mesoporous silica microrods for mechanically stimulated on-demand drug delivery // *Adv. Funct. Mater.* 2017. V. 27. № 42. P. 1703826.
43. Glukhova S.A., Molchanov V.S., Lokshin B.V., Rogachev A.V., Tsarenko A.A., Patsaev T.D., Kamyshevsky R.A., Philippova O.E. Printable alginate hydrogels with embedded network of halloysite nanotubes: effect of polymer cross-linking on rheological properties and microstructure // *Polymers.* 2021. V. 13. № 23. P. 4130.
44. García-Astrain C., Hernández R., Guaresti O., Fruk L., Mijangos C., Eceiza A., Gabilondo N. Click crosslinked chitosan/gold nanocomposite hydrogels // *Macromol. Mater. Eng.* 2016. V. 301. № 11. P. 1295–1300.

45. Gang F., Yan H., Ma C., Jiang L., Gu Y., Liu Z., Zhao L., Wang X., Zhang J., Sun X. Robust magnetic double-network hydrogels with self-healing, MR imaging, cytocompatibility and 3D printability // *Chem. Commun.* 2019. V. 55. № 69. P. 9801–9804.
46. Oh Y., Yang Y., Park H., Lee Y.S., Li Y., Lee H., Kim J.W., Kim Y.H., Kim M.J., Lee J. Preformed Nanoporous Carbon Nanotube Scaffold-Based Multifunctional Polymer Composites // *ACS Nano*. 2015. V. 9. № 4. P. 4103–4110.
47. Liu M., Huang J., Luo B., Zhou C. Tough and highly stretchable polyacrylamide nanocomposite hydrogels with chitin nanocrystals // *Int. J. Biol. Macromol.* 2015. V. 78. P. 23–31.
48. Heinze T. Cellulose: Structure and properties // *Cellulose Chemistry and Properties: Fibers, Nanocelluloses and Advanced Materials*. Rojas O.J. Eds.; Cham: Springer International, 2016. P. 1-52.
49. Trache D., Tarchoun A.F., Derradji M., Hamidon T.S., Masruchin N., Brosse N., Hussin M.H. Nanocellulose: From fundamentals to advanced applications // *Front. Chem.* 2020. V. 8. P. 392.
50. Mohammed N., Grishkewich N., Berry R.M., Tam K.C. Cellulose nanocrystal–alginate hydrogel beads as novel adsorbents for organic dyes in aqueous solutions // *Cellulose*. 2015. V. 22. P. 3725–3738.
51. Aarstad O., Heggset E.B., Pedersen I.S., Bjørnøy S.H., Syverud K., Strand B.L. Mechanical properties of composite hydrogels of alginate and cellulose nanofibrils // *Polymers*. 2017. V. 9. № 8. P. 378.
52. Bastiaens L., Soetemans L., D'Hondt E., Elst Kathy. Sources of chitin and chitosan and their Isolation // *Chitin and chitosan: Properties and applications*. Van den Broek L.A.M., Boeriu C.G. Eds.; West Sussex: Wiley, 2019. P. 1–34.
53. Bogdanova O.I., Istomina A.P., Glushkova N.A., Belousov S.I., Kuznetsov N.M., Polyakov D.K., Malakhov S.N., Krashenninnikov S.V., Bakirov A.V., Kamyshinsky R.A., Vasiliev A.L., Streltsov D.R., Chvalun S.N. Effect of exfoliating agent on rheological behavior of β -chitin fibrils in

- aqueous suspensions and on mechanical properties of poly(acrylic acid)/ β -chitin composites // *Int. J. Biol. Macromol.* 2019. V. 139. P. 161–169.
54. Li Z., Soto M.A., Drummond J.G., Martinez D.M., Hamad W.Y., MacLachlan M.J. Cellulose nanocrystal gels with tunable mechanical properties from hybrid thermal strategies // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2023. V. 15. № 6. P. 8406–8414.
 55. Moon R.J., Martini A., Nairn J., Simonsen J., Youngblood J. Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites // *Chem. Soc. Rev.* 2011. V. 40. P. 3941–3994.
 56. Naz S., Ali J.S., Zia M. Nanocellulose isolation characterization and applications: A journey from non-remedial to biomedical claims // *Biodes. Manuf.* 2019. V. 2. P. 187–212.
 57. Yahya M., Chen Y.W., Lee H.V., Hock C.C., Hassan W.H.W. A new protocol for efficient and high yield preparation of nanocellulose from *Elaeis guineensis* biomass: A response surface methodology (RSM) study // *J. Polym. Environ.* 2019. V. 27. P. 678–702.
 58. Lombardo S., Gencer A., Schutz C., Van Rie J., Eyley S., Thielemans W. Thermodynamic study of ion-driven aggregation of cellulose nanocrystals // *Biomacromolecules*. 2019. V. 20. № 8. P. 3181–3190.
 59. Domingues R.M.A., Gomes M.E., Reis R.L. The potential of cellulose nanocrystals in tissue engineering strategies // *Biomacromolecules*. 2014. V. 15. P. 2327–2346.
 60. Mariano M., El Kissi N., Dufresne A. Cellulose nanocrystals and related nanocomposites: Review of some properties and challenges // *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* 2014. V. 52. № 12. P. 791–806.
 61. Kargarzadeh H., Mariano M., Huang J., Lin N., Ahmad I., Dufresne A., Thomas S. Recent developments on nanocellulose reinforced polymer nanocomposites: A review // *Polymer*. 2017. V. 132. № 6. P. 368–393.
 62. Shojaeiarani J., Bajwa D.S., Chanda S. Cellulose nanocrystal based composites: A review // *Compos. Part C Open*. 2021. V. 5. P. 100164.

63. Thomas B., Raj M.C., Athira K.B., Rubiyah M.H., Joy J., Moores A., Drisko G.L., Sanchez C. Nanocellulose, a versatile green platform: From biosources to materials and their applications // Chem. Rev. 2018. V. 118. P. № 24. P. 11575–11625.
64. Lewis L., Hatzikiriakos S.G., Hamad W.Y., MacLachlan M.J. Freeze–thaw gelation of cellulose nanocrystals // ACS Macro Lett. 2019. V. 8. № 5. P. 486–491.
65. Shafiei-Sabet S., Hamad W.Y., Hatzikiriakos S.G. Rheology of nanocrystalline cellulose aqueous suspensions // Langmuir. 2012. V. 28. № 49. P. 17124–17133.
66. Chau M., Sriskandha S.E., Pichugin D., Thérien-Aubin H., Nykypanchuk D., Chauve G., Méthot M., Bouchard J., Gang O., Kumacheva E. Ion-mediated gelation of aqueous suspensions of cellulose nanocrystals // Biomacromolecules. 2015. V. 16. № 8. P. 2455–2462.
67. Bertsch P., Isabettini S., Fischer P. Ion-induced hydrogel formation and nematic ordering of nanocrystalline cellulose suspensions // Biomacromolecules. 2017. V. 18. № 12. P. 4060–4066.
68. Kalashnikova I., Bizot H., Cathala B., Capron I. Modulation of cellulose nanocrystals amphiphilic properties to stabilize oil/water interface // Biomacromolecules. 2011. V. 13. № 1. P. 267–275.
69. Glukhova S.A., Molchanov V.S., Chesnokov Y.M., Lokshin B.V., Kharitonova E.P., Philippova O.E. Green nanocomposite gels based on binary network of sodium alginate and percolating halloysite clay nanotubes for 3D printing // Carbohydr. Polym. 2022. V. 282. № 15. P. 119106.
70. Филиппова О.Е., Хохлов А.Р. "Умные" полимеры для нефтедобычи // Ж. Нефтехим. 2010. Т. 50. № 4. С. 279–283.
71. Shibaev A.V., Osiptsov A.A., Philippova O.E. Novel trends in the development of surfactant-based hydraulic fracturing fluids: A review // Gels. 2021. V. 7, № 4. Art. 258.
72. Yu A.C., Lian H., Kong X., Hernandez H.L., Qin J., Appel E.A. Physical networks from entropy-driven non-covalent interactions // Nat. Commun. 2021. V. 12. ArN. 746.

73. Mudgil D., Barak S., Khatkar B.S. Guar gum: Processing, properties and food applications – A review // *J. Food Sci. Technol.* 2011. V. 51. P. 409–418.
74. Risica D., Barbetta A., Vischetti L., Cametti C., Dentini M. Rheological properties of guar and its methyl, hydroxypropyl and hydroxypropyl-methyl derivatives in semidilute and concentrated aqueous solutions // *Polymer.* 2010. V. 51. № 9. P. 1972–1982.
75. Cheng Y., Brown K.M., Prud'homme R.K. Characterization and intermolecular interactions of hydroxypropyl guar solutions // *Biomacromolecules.* 2002. V. 3. № 3. P. 456–461.
76. Hart-Cooper W.M., Kalla N., Klameczynski A., Torres L., Glenn G.M., Cunneffe J., Johnson K., Orts W.J. Predicting environmental biodegradability using initial rates: mineralization of cellulose, guar and their semisynthetic derivatives in wastewater and soil // *Frontiers in Materials.* 2024. V. 10. Art. 1331308.
77. Pezron E., Ricard A., Leibler L. Rheology of galactomannan-borax gels // *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.* 1990. V. 28. № 13. P. 2445–2461.
78. Kesavan S., Prud'homme R.K. Rheology of guar and (hydroxypropyl) guar crosslinked by borate // *Macromolecules.* 1992. V. 25. № 7. P. 2026–2032.
79. Bishop M., Shahid N., Yang J., Barron A.R. Determination of the mode and efficacy of the cross-linking of guar by borate using MAS ^{11}B NMR of borate cross-linked guar in combination with solution ^{11}B NMR of model systems // *Dalton Trans.* 2004. № 7. 17. P. 2621–2634.
80. Furikado Y., Nagahata T., Okamoto T., Sugaya T., Iwatsuki S., Inamo M., Takagi H.D., Odani A., Ishihara K. Universal reaction mechanism of boronic acids with diols in aqueous solution: Kinetics and the basic concept of a conditional formation constant // *Chem. A Eur. J.* 2014. V. 20. № 41. P. 13194–13202.
81. Jasinski R., Redwine D., Rose G. Boron equilibria with high molecular weight guar: An NMR study // *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* 1996. V. 34. № 8. P. 1477–1488.

82. Al-Muntasheri G.A. A critical review of hydraulic-fracturing fluids for moderate to ultralow permeability formations over the last decade // *SPE Production & Operations*. 2014. V. 29. №. 4. P. 243–260.
83. Kaur M., Srivastava A.K. Photopolymerization: A review // *J. Macromol. Sci. Part C*. 2002. V. 42. P. 481–512.
84. Moon S.H., Hwang H.J., Jeon H.R., Park S.J., Bae I.S., Yang Y.J. Photocrosslinkable natural polymers in tissue engineering // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2023. V. 11. Art. 1127757.
85. Tiwari A., Grailer J.J., Pilla S., Steeber D.A., Gong S. Biodegradable hydrogels based on novel photopolymerizable guar gum–methacrylate macromonomers for in situ fabrication of tissue engineering scaffolds // *Acta Biomater.* 2009. V. 5. № 9. P. 3441–3452.
86. Wang W., Wang A. Synthesis, swelling behaviors, and slow-release characteristics of a guar gum-g-poly(sodium acrylate)/sodium humate superabsorbent // *J. Appl. Polym. Sci.* 2009. V. 112. № 4. P. 2102–2111.
87. Chandrika K.S.V.P., Singh A., Rathore A., Kumar A. Novel cross linked guar gum-g-poly(acrylate) porous superabsorbent hydrogels: Characterization and swelling behaviour in different environments // *Carbohydr. Polym.* 2016. V. 149. № 20. P. 175–185.
88. Ioannidis K., Danalatos R.I., Champeris Tsaniras S., Kaplani K., Lokka G., Kanellou A., Papachristou D.J., Bokias G., Lygerou Z., Taraviras S. A custom ultra-low-cost 3D bioprinter supports cell growth and differentiation // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2020. V. 8. Art. 580889.
89. Suntornnond R., An J., Chua C.K. Bioprinting of thermoresponsive hydrogels for next generation tissue engineering: a review // *Macromol. Mater. Eng.* 2017. V. 302. № 1. P. 1600266.
90. Cheng Y., Shi X., Jiang X., Wang X., Qin H. Printability of a cellulose derivative for extrusion-based 3D printing: the application on a biodegradable support material // *Front. Mater.* 2020. V. 7. Art. 00086.

91. Xu Y., Atrens A.D., Stokes J.R. Rheology and microstructure of aqueous suspensions of microcrystalline cellulose rods // *J. Colloid Interface Sci.* 2017. V. 496. P. 130–140.
92. Li J., Wu C., Chu P.K., Gelinsky M. 3D printing of hydrogels: Rational design strategies and emerging biomedical applications // *Mater. Sci. Eng. R Rep.* 2020. V. 140. P. 100543.
93. Calvert B.P. Hydrogels for soft machines // *Adv. Mater.* 2009. V. 21. № 7. P. 743–756.
94. Nadernezhad A., Caliskan O.S., Topuz F., Afghah F., Erman B., Koc B. Nanocomposite bioinks based on agarose and 2D nanosilicates with tunable flow properties and bioactivity for 3D bioprinting // *ACS Appl. Bio Mater.* 2019. V. 2. № 2. P. 796–806.
95. Almgren M., Edwards K., Karlsson G. Cryo transmission electron microscopy of liposomes and related structures // *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 2000. V. 174. № 1–2. P. 3–21.
96. Tegunov D., Cramer P. Real-time cryo-electron microscopy data preprocessing with Warp // *Nat. Methods.* 2019. V. 16. № 11. P. 1146–1152.
97. Mastronarde D.N. Advanced data acquisition from electron microscopes with SerialEM // *Microsc. Microanal.* 2018. V. 24. № S1. P. 864–865.
98. Kremer J.R., Mastronarde D.N., McIntosh J.R. Computer visualization of three-dimensional image data using IMOD // *J. Struct. Biol.* 1996. V. 116. № 1. P. 71–76.
99. Liu Y.T., Zhang H., Wang H., Tao C.L., Bi G.Q., Zhou Z.H. Isotropic reconstruction for electron tomography with deep learning // *Nat. Commun.* 2022. V. 13. Art. 6482.
100. Turk M., Baumeister W. The promise and the challenges of cryo-electron tomography // *FEBS Letters.* 2020. V. 594. № 20. P. 3243–3261.
101. Kuklin A.I., Balssoiu M., Kutuzov S.A., Kovalev Y.S., Rogachev A.V., Erhan R.V., Smirnov A.A., Kirilov A.S., Ivankov O.I., Soloviov D.V., Kapper W., Stancu N., Cios A., Gordeliy V.I. Magnetic system for small angle neutron scattering investigations of nanomaterials at YuMO-SANS instrument // *J. Phys. Conf.* 2012. V. 351. № 1. Art. 012022.

102. Kuklin A.I., Islamov A.K., Gordeliy V.I. Scientific reviews: Two-detector system for small-angle neutron scattering instrument // *Neutron News*. 2005. V. 16. № 3. P. 16–18.
103. Свергун Д. И., Фейгин Л. А. «Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние» / М.: Наука. 1986. С. 280.
104. Herrera I., Winnik M.A. Differential binding models for isothermal titration calorimetry: Moving beyond the Wiseman isotherm // *J. Phys. Chem. B*. 2013. V. 117. № 29. P. 8659–8672.
105. Poon G. Explicit formulation of titration models for isothermal titration calorimetry // *Anal. Biochem*. 2010. V. 400. № 2. P. 229–236.
106. Molchanov V.S., Shibaev A.V., Karamov E.V., Larichev V.F., Kornilaeva G.V., Fedyakina I.T., Turgiev A.S., Philippova O.E., Khokhlov A.R. Antiseptic polymer–surfactant complexes with long-lasting activity against SARS-CoV-2 // *Polymers*. 2022. V. 14. № 12. P. 2444.
107. Philippova O.E., Chtcheglova L.A., Karybians N.S., Khokhlov A.R. Two mechanisms of gel/surfactant binding // *Polym. Gels Netw*. 1998. V. 6. № 5. P. 409–421.
108. Samokhin A.S. Syringe pump created using 3D printing technology and arduino platform // *J. Anal. Chem*. 2020. V. 75. P. 416–421.
109. Ribeiro A., Blokzijl M.M., Levato R., Visser C.W., Castilho M., Hennink W.E., Vermonden T., Malda J. Assessing bioink shape fidelity to aid material development in 3D bioprinting // *Biofabrication*. 2017. V. 10. № 1. P. 014102.
110. Roland S., Miquelard-Garnier G., Shibaev A.V., Aleshina A.L., Chennevière A., Matsarskaia O., Sollogoub C., Philippova OE. Dual transient networks of polymer and micellar chains: Structure and viscoelastic synergy // *Polymers*. 2021. V. 13. № 23. Art. 4255.
111. Morris G., Patel T.R., Picout D.R., Ross-Murphy S.B., Ortega A., Garcia de la Torre J., Harding S.E. Global hydrodynamic analysis of the molecular flexibility of galactomannans // *Carbohydr. Polym*. 2008. V. 72. № 2. P. 356–360.

112. Smeds K.A., Grinstaff M.W. Photocrosslinkable polysaccharides for in situ hydrogel formation // J. Biomed. Mater. Res. 2000. V. 54. № 1. P. 115–121.
113. Maiz-Fernández S., Pérez-Álvarez L., Silván U., Vilas-Vilela J.L., Lanceros-Mendez S. Photocrosslinkable and self-healable hydrogels of chitosan and hyaluronic acid // Int. J. Biol. Macromol. 2022. V. 216. P. 291–302.
114. Crescenzi V., Dentini M., Risica D., Spadoni S., Skjåk-Bræk G., Capitani D., Mannina L., Viel S. C(6)-Oxidation followed by C(5)-epimerization of guar gum studied by high field NMR // Biomacromolecules. 2004. V. 5. № 2. P. 537–546.
115. Muthukumar M., Freed K.F. Huggins coefficient for polymer solutions with excluded volume // Macromolecules. 1977. V. 10. № 5. P. 899–906.
116. Benedikt S., Wang J., Markovic M., Moszner N., Dietliker K., Ovsianikov A., Grützmacher H., Liska R. Highly efficient water-soluble visible light photoinitiators // J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem. 2016. V. 54. № 4. P. 473–479.
117. Bencherif S.A., Srinivasan A., Horkay F., Hollinger J.O., Matyjaszewski K., Washburn N.R. Influence of the degree of methacrylation on hyaluronic acid hydrogels properties // Biomaterials. 2008. V. 29. № 12. P. 1739–1749.
118. Jeon O., Bouhadir K.H., Mansour J.M., Alsberg E. Photocrosslinked alginate hydrogels with tunable biodegradation rates and mechanical properties // Biomaterials. 2009. V. 30. № 14. P. 2724–2734.
119. Li Q., Williams C.G., Sun D.D.N., Wang J., Leong K., Elisseeff J.H. Photocrosslinkable polysaccharides based on chondroitin sulfate // J. Biomed. Mater. Res. A. 2004. V. 68A. № 1. P. 28–33.
120. Peppas N.A., Bures P., Leobandung W., Ichikawa H. Hydrogels in pharmaceutical formulations // Eur. J. Pharm. Biopharm. 2000. V. 50. № 1. P. 27–46.

121. MacKintosh F.C., Käs J., Janmey P.A. Elasticity of semiflexible biopolymer networks // *Phys. Rev. Lett.* 1995. V. 75. № 24. P. 4425–4428.
122. Mason M.N., Metters A.T., Bowman C.N., Anseth K.S. Predicting controlled-release behavior of degradable PLA-b-PEG-b-PLA hydrogels // *Macromolecules*. 2001. V. 34. № 13. P. 4630–4635.
123. Maikovych O., Nosova N., Bukarty N., Fihurka N., Ostapiv D., Samaryk V., Pasetto P., Varvarenko S. Gelatin-based hydrogel with antiseptic properties: synthesis and properties // *Appl. Nanosci.* 2023. V. 13. P. 7611–7623.
124. Holland T.A., Tabata Y., Mikos A.G. In vitro release of transforming growth factor- β 1 from gelatin microparticles encapsulated in biodegradable, injectable oligo(poly(ethylene glycol) fumarate) hydrogels // *J. Controlled Release*. 2003. V. 91. № 3. P. 299–313.
125. Pandit A.H., Mazumdar N., Imtiyaz K., Rizvi M.M.A., Ahmad S. Periodate-modified gum arabic cross-linked PVA hydrogels: a promising approach toward photoprotection and sustained delivery of folic acid // *ACS Omega*. 2019. V. 4. № 14. P. 16026–16036.
126. Zhao J., Yu P., Dong S. The influence of crosslink density on the failure behavior in amorphous polymers by molecular dynamics simulations // *Materials*. 2016. V. 9. № 4. P. 234.
127. Schultz R.K., Myers R.R. The chemorheology of poly(vinyl alcohol)-borate gels // *Macromolecules*. 1969. V. 2. № 3. P. 281–285.
128. Lin H.-L., Yu T.L., Cheng C.-H. Reentrant behavior of poly(vinyl alcohol)–borax semidilute aqueous solutions // *Colloid Polym. Sci.* 2000. V. 278. P. 187–194.
129. Shibaev A.V., Kuklin A.I., Torochesnikov V.N., Orekhov A.S., Roland S., Miquelard-Garnier G., Matsarskaia O., Iliopoulos I., Philippova O.E. Double dynamic hydrogels formed by wormlike surfactant micelles and cross-linked polymer // *J. Colloid Interface Sci.* 2022. V. 611. P. 46–60.

130. Bocchinfuso G., Mazzuca C., Sandolo C., Margheritelli S., Alhaique F., Coviello T., Palleschi A. Guar gum and scleroglucan interactions with borax: Experimental and theoretical studies of an unexpected similarity // *J. Phys. Chem. B*. 2010. V. 114. № 41. P. 13059–13068.
131. Wang S., Tang H., Guo J., Wang K. Effect of pH on the rheological properties of borate crosslinked hydroxypropyl guar gum hydrogel and hydroxypropyl guar gum // *Carbohydr. Polym.* 2016. V. 147. P. 455–463.
132. Philippova O.E., Khokhlov A.R. Polymer gels // *Polym. Sci.* 2012. V. 1. P. 339–366.
133. Springsteen G., Wang B. A detailed examination of boronic acid–diol complexation // *Tetrahedron*. 2002. V. 58. № 26. P. 5291–5300.
134. Piculell L., Sjöström J., Lynch I. Swelling isotherms of surfactant-responsive polymer gels // *Progr. Colloid Polym. Sci.* 2003. V. 122. P. 103–112.
135. Ritger P.L., Peppas N.A. A simple equation for description of solute release. II. Fickian and anomalous release from swellable devices // *J. Controlled Release*. 1987. V. 5. № 1. P. 37–42.
136. Druvari D., Koromilas N.D., Lainioti G.C., Bokias G., Vasilopoulos G., Vantarakis A., Baras I., Dourala N., Kallitsis J.K. Polymeric quaternary ammonium-containing coatings with potential dual contact-based and release-based antimicrobial activity // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2016. V. 8. № 51. P. 35593–35605.
137. Kozhunova E.Y., Komarova G.A., Vyshivannaya O.V., Nasimova I.R., Kuvarina A.E., Sadykova V.S. Antiseptic materials on the base of polymer interpenetrating networks microgels and benzalkonium chloride // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 8. P. 4394.
138. Klemm D., Kramer F., Moritz S., Lindström T., Ankerfors M., Gray D., Dorris A. Nanocelluloses: A new family of nature-based materials // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011. V. 50. № 24. P. 5438–5466.
139. Habibi Y., Lucia L.A., Rojas O.J. Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications // *Chem. Rev.* 2010. V. 110. № 6. P. 3479–3500.

140. De France K.J., Hoare T., Cranston E.D. Review of hydrogels and aerogels containing nanocellulose // *Chem. Mater.* 2017. V. 29. № 11. P. 4609–4631.
141. Vidakis N., Petousis M., David C., Sagris D., Mountakis N., Moutsopoulou A. Optimization of cellulose nanocrystal (CNC) concentration in polycaprolactone bio-composites for bio-plotting: a robust interpretation of the reinforcement mechanisms // *Cellulose*. 2024. V. 31. P. 3657–3680.
142. Miao C., Hamad W.Y. Critical insights into the reinforcement potential of cellulose nanocrystals in polymer nanocomposites // *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* 2019. V. 23. № 4. P. 100761.
143. Redondo A., Mortensen N., Djeghdi K., Jang D., Ortuso R.D., Weder C., Korley L.T.J., Steiner U., Gunkel I. Comparing percolation and alignment of cellulose nanocrystals for the reinforcement of polyurethane nanocomposites // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2022. V. 14. № 5. P. 7270–7282.
144. Tamo A.K. Nanocellulose-based hydrogels as versatile materials with interesting functional properties for tissue engineering applications // *J. Mater. Chem. B*. 2024. V. 12. № 32. P. 7692–7759.
145. Foster E.J., Moon R.J., Agarwal U.P., Bortner M.J., Bras J., Camarero-Espinosa S., Chan K.J., Clift M.J.D., Cranston E.D., Eichhorn S.J., et al. Current characterization methods for cellulose nanomaterials // *Chem. Soc. Rev.* 2018. V. 47. P. 2609–2679.
146. Antoniow J.M., Hallman M.T., Kiriakou M.V., Morse T., Cranston E.D. Colloidal stability window for carboxylated cellulose nanocrystals: Considerations for handling, characterization, and formulation // *Langmuir*. 2023. V. 39. № 30. P. 10321–10334.
147. Spaic M., Small D.P., Cook J.R., Wan W. Characterization of anionic and cationic functionalized bacterial cellulose nanofibers for controlled release applications // *Cellulose*. 2014. V. 21. P. 1529–1540.
148. Mewis J., Wagner N.J. *Colloidal Suspension Rheology*. New York: Cambridge University Press, 2012.

149. De Souza Lima M.M., Borsali R. Rodlike cellulose microcrystals: Structure, properties, and applications // *Macromol. Rapid Commun.* 2004. V. 25. № 7. P. 771–787.
150. Walker L., Wagner N. Rheology of region I flow in a lyotropic liquid-crystal polymer: the effects of defect texture // *J. Rheol.* 1994. V. 38. № 5. P. 1525–1547.
151. Pignon F., Challamel M., de Geyer A., Elchamaa M., Semeraro E.F., Hengl N., Jean B., Putaux J.-L., Gicquel E., Bras J., Prevost S., Sztucki M., Narayanan T., Djeridi H. Breakdown and buildup mechanisms of cellulose nanocrystal suspensions under shear and upon relaxation probed by SAXS and SALS // *Carbohydr. Polym.* 2021. V. 260. P. 117751.
152. Doi M., Edwards S.F. Dynamics of rod-like macromolecules in concentrated solution. Part 2 // *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2.* 1978. V. 74. P. 918–932.
153. Boluk Y., Lahiji R., Zhao L., McDermott M.T. Suspension viscosities and shape parameter of cellulose nanocrystals (CNC) // *Colloids Surf. A.* 2011. V. 377. № 1-3. P. 297–303.
154. Enomoto H., Einaga Y., Teramoto A. Viscosity of concentrated solutions of rodlike polymers // *Macromolecules.* 1985. V. 18. №. 12. P. 2695–2702.
155. Doi M., Edwards S.F. *The Theory of Polymer Dynamics.* Oxford: Oxford University Press, 1986. Ch. 9.
156. Hao W., Molchanov V.S., Chesnokov Y.M., Istomina A.P., Kharitonova E.P., Philippova O.E. Self-assembled double networks of chitin nanocrystals and wormlike surfactant micelles exhibiting heat-induced viscosity and elasticity enhancement // *J. Mol. Liq.* 2025. V. 426. Art. 127318.
157. Wu Q., Meng Y., Wang S., Li Y., Fu S., Ma L., Harper D. Rheological behavior of cellulose nanocrystal suspension: influence of concentration and aspect ratio // *J. Appl. Polym. Sci.* 2014. V. 131. № 15. Art. 40525.
158. Malkin A.Y., Derkach S.R., Kulichikhin V.G. Rheology of gels and yielding liquids // *Gels.* 2023. V. 9. № 9. P. 715.

159. Youssry M., Guyomard D., Lestriez B. Suspensions of carbon nanofibers in organic medium: rheo-electrical properties // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2015. V. 17. № 48. P. 32316–32327.
160. Doustdar F., Olad A., Ghorbani M. Effect of glutaraldehyde and calcium chloride as different crosslinking agents on the characteristics of chitosan/cellulose nanocrystals scaffold // *Int. J. Biol. Macromol.* 2022. V. 208. P. 912–924.
161. Pezron E., Leibler L., Ricard A., Audebert R. Reversible gel formation induced by ion complexation. 2. Phase diagrams // *Macromolecules.* 1988. V. 21. № 4. P. 1126–1131.
162. Dong H., Snyder J.F., Williams K.S., Andzelm J.W. Cation-induced hydrogels of cellulose nanofibrils with tunable moduli // *Biomacromolecules.* 2013. V. 14. № 9. P. 3338–3345.
163. Liu Y., Sui Y., Liu C., Liu C., Wu M., Li B., Li Y. A physically crosslinked polydopamine/nanocellulose hydrogel as potential versatile vehicles for drug delivery and wound healing // *Carbohydr. Polym.* 2018. V. 188. P. 27–36.
164. Дерягин Б.В., Ландау Л.Д. Теория устойчивости сильно заряженных лиофобных золь и слипания сильно заряженных частиц в растворах электролитов // *Ж. экспериментальной и теоретической физики.* 1941. Т. 11. С. 802–821.
165. Verwey E.J.W., Overbeek J.Th.G. *Theory of the stability of lyophobic colloids.* Elsevier, Amsterdam, 1948.
166. Geng L., Naderi A., Mao Y., Zhan C., Sharma P., Peng X., Hsiao B. Rheological properties of jute-based cellulose nanofibers under different ionic conditions // *ACS Symposium Series.* 2017. V. 1251. P. 113–132.
167. Monfared M., Mawad D., Rnjak-Kovacina J., Stenzel M.H. 3D bioprinting of dual-crosslinked nanocellulose hydrogels for tissue engineering applications // *J. Mater. Chem. B.* 2021. V. 9. P. 6163–6175.
168. Iwamoto S., Lee S.-H., Endo T. Relationship between aspect ratio and suspension viscosity of wood cellulose nanofibers // *Polym. J.* 2014. V. 46. P. 73–76.

169. Hubbe M.A., Tayeb P., Joyce M., Tyagi P., Kehoe M., Dimic-Misic K., Pal L. Rheology of nanocellulose-rich aqueous suspensions: A review // *BioResources*. 2017. V. 12. P. 9556–9661.
170. Callies O., Hernandez Daranas A. Application of isothermal titration calorimetry as a tool to study natural product interactions // *Nat. Prod. Rep.* 2016. V. 33. P. 881–904.
171. Siddiqui S., Ameen F., Rehman S., Sarwar T., Tabish M. Studying the interaction of drug/ligand with serum albumin // *J. Mol. Liq.* 2021. V. 336. Art. 116200.
172. Lin Z., Scriven L.E., Davis H.T. Cryogenic electron microscopy of rodlike or wormlike micelles in aqueous solutions of nonionic surfactant hexaethylene glycol monohexadecyl ether // *Langmuir*. 1992. V. 8. № 9. P. 2200–2205.
173. Schmitt J., Lindhoud S., Calabrese V., da Silva M.A., Alfredsson V., Scott J.L., Edler K.J. TEMPO-oxidised cellulose nanofibrils; probing the mechanisms of gelation via small angle X-ray scattering // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2018. V. 20. P. 16012–16020.
174. Dai L., Wang B., Long Z., Chen L., Zhang D., Guo S. Properties of hydroxypropyl guar/TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils composite films // *Cellulose*. 2015. V. 22. P. 3117–3126.
175. Oguzlu H., Danumah C., Boluk Y. The role of dilute and semi-dilute cellulose nanocrystal (CNC) suspensions on the rheology of carboxymethyl cellulose (CMC) solutions // *Can. J. Chem. Eng.* 2016. V. 94. № 10. P. 1841–1847.
176. Boluk Y., Zhao L., Incani V. Dispersions of nanocrystalline cellulose in aqueous polymer solutions: structure formation of colloidal rods // *Langmuir*. 2012. V. 28. № 14. P. 6114–6123.
177. Oguzlu H., Danumah C., Boluk Y. Colloidal behavior of aqueous cellulose nanocrystal suspensions // *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 2017. V. 29. P. 46–56.
178. Tuinier R., Rieger J., de Kruif C.G. Depletion-induced phase separation in colloid-polymer mixtures // *Adv. Colloid Interface Sci.* 2003. V. 103. № 1. P. 1–31.

179. Хохлов А.Р., Дормидонтова Е.Е. Самоорганизация в ион-содержащих полимерных системах // УФН. 1997. Т. 167. С. 113-128.
180. Dreiss C.A. Wormlike micelles: where do we stand? Recent developments, linear rheology and scattering techniques // *Soft Matter*. 2007. V. 3. P. 956–970.
181. Klymenko A., Nicolai T., Benyahia L., Chassenieux C., Colombani O., Nicol E. Multiresponsive hydrogels formed by interpenetrated self-assembled polymer networks // *Macromolecules*. 2014. V. 47. № 23. P. 8386–8393.
182. Bruel C., Tavares J.R., Carreau P.J., Heuzey M.C. The structural amphiphilicity of cellulose nanocrystals characterized from their cohesion parameters // *Carbohydr. Polym.* 2019. V. 205. P. 184–191.
183. Majoinen J., Haataja J.S., Appelhans D., Lederer A., Olszewska A., Seitsonen J., Aseyev V., Kontturi E., Rosilo H., Österberg M., Houbenov N., Ikkala O. Supracolloidal multivalent interactions and wrapping of dendronized glycopolymers on native cellulose nanocrystals // *J. Am. Chem. Soc.* 2014. V. 136. № 3. P. 866–869.
184. Simha N.K., Carlson C.S., Lewis J.L. Evaluation of fracture toughness of cartilage by micropenetration // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2004. V. 15. P. 631–639.
185. Filippidi E., Cristiani T.R., Eisenbach C.D., Waite J.H., Israelachvili J.N., Kollbe Ahn B., Valentine T.M. Toughening elastomers using mussel-inspired iron-catechol complexes // *Science*. 2017. V. 358. № 6362. P. 502–505.
186. Yang J., Han C.-R., Zhang X.-M., Xu F., Sun R.-C. Cellulose nanocrystals mechanical reinforcement in composite hydrogels with multiple cross-links: correlations between dissipation properties and deformation mechanisms // *Macromolecules*. 2014. V. 47. № 12. P. 4077–4086.

187. Liu Y.-J., Cao W.-T., Ma M.-G., Wan P. Ultrasensitive wearable soft strain sensors of conductive, self-healing, and elastic hydrogels with synergistic "soft and hard" hybrid networks // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2017. V. 9. № 30. P. 25559–25570.
188. Chen Q., Zhu L., Huang L., Chen H., Xu K., Tan Y., Wang P., Zheng J. Fracture of the physically cross-linked first network in hybrid double network hydrogels // Macromolecules. 2014. V. 47. № 6. P. 2140–2148.
189. Peak C.W., Stein J., Gold K.A., Gaharwar A.K. Nanoengineered colloidal inks for 3D bioprinting // Langmuir. 2018. V. 34. № 3. P. 917–925.
190. Wei J., Wang B., Li Z., Wu Z., Zhang M., Sheng N., Liang Q., Wang H., Chen S. A 3D-printable TEMPO-oxidized bacterial cellulose/alginate hydrogel with enhanced stability via nanoclay incorporation // Carbohydr. Polym. 2020. V. 238. P. 116207.
191. Therriault D., White S.R., Lewis J.A. Rheological behavior of fugitive organic inks for direct write assembly // Appl. Rheol. 2007. V. 17. № 1. P. 10112-10121.

Публикации по теме диссертации

[A1] Ospennikov A.S. Double photocrosslinked responsive hydrogels based on hydroxypropyl guar / Ospennikov A.S., Shibaev A.V., Philippova O.E. // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, № 24. – P. 17477. Импакт-фактор 4,9 (JIF), вклад автора – 0,7. 1,2 п.л.

[A2] Ospennikov A.S. Nanostructured hydrogels of carboxylated cellulose nanocrystals crosslinked by calcium ions / Ospennikov A.S., Chesnokov Y.M., Shibaev A.V., Lokshin B.V., Philippova O.E. // Gels. – 2024. — Vol. 10, № 12. – P. 777. Импакт-фактор 5,3 (JIF), вклад автора – 0,6. 1,2 п.л.

[A3] Ospennikov A.S. Cellulose Nanofibrils vs Nanocrystals: Rheology of Suspensions and Hydrogels / Ospennikov A.S., Kwiatkowski A.L., Philippova O.E. // Gels. – 2025. – Vol. 11, № 11. – P. 926. Импакт-фактор 5.3 (JIF), вклад автора – 0,7. 1,5 п.л.

[A4] Ospennikov A.S. 3D-printable bio-sourced nanocomposite hydrogels based on two polysaccharide components: hydroxypropyl guar macromolecules and cellulose nanocrystals / Ospennikov A.S., Shibaev A.V., Chesnokov Y.M., Samokhin A.S., Leontiev N.V., Evdokimov P.V., Kuklin A.I., Philippova O.E. // Journal of Colloid and Interface Science. – 2026. – Vol. 702. – Article number 138836. Импакт-фактор 9.7 (JIF), вклад автора – 0,6. 1,8 п.л.

Благодарности

Выражаю огромную благодарность моему научному руководителю профессору Филипповой Ольге Евгеньевне за руководство и организацию научной деятельности, а также за неоценимую поддержку на всех этапах работы, Шibaеву Андрею Владимировичу за помощь в работе и проведении экспериментов, а также плодотворное обсуждение результатов; коллегам по лаборатории ассоциирующих полимеров и коллоидных систем: Молчанову Вячеславу Сергеевичу, Квятковскому Александру, Шишхановой Камилле и Авдееву Михаилу; коллегам, которые помогали в проведении исследований различными методами: Куклину Александру Ивановичу за помощь в проведении экспериментов по малоугловому рассеянию нейтронов и, особенно Чеснокову Юрию за помощь в анализе данных крио-ЭМ и криоэлектронной томографии, сотрудникам кафедры полимеров и кристаллов за постоянную поддержку и доброжелательное отношение, а также коллегам из других институтов.