

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«БАЙКАЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ»
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи



Буинов Александр Станиславович

**ПОЛУЧЕНИЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ ЭЛЕКТРОПРОВОДЯЩИХ
МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ МАЛОСЛОЙНОГО ГРАФЕНА,
ПОЛИЛАКТИДА, КОЛЛАГЕНА И ХИТОЗАНА**

1.4.7. Высокомолекулярные соединения

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук, доцент
Бурдуковский Виталий Федорович

Улан-Удэ – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	11
1.1 Полимерные биокomпозиты	11
1.1.1 Биокomпозиты на основе синтетических полимеров	12
1.1.2 Биокomпозиты на основе полимеров природного происхождения	18
1.2 Биокomпозиты с графеном	29
ВЫВОДЫ ПО ЛИТЕРАТУРНОМУ ОБЗОРУ.....	39
ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	41
2.1 Характеристика исходных веществ.....	41
2.2.1 Получение дисперсий графена в МП	43
2.2.2 Получение водной дисперсий графена,	43
стабилизированной ПВП или ПЛУ	43
2.3 Получение нанокомполитных пленок	43
2.3.1 Получение пленок полилактида	43
2.3.2 Получение пленок полилактид-графен.....	43
2.3.3 Получение пленок коллагена	44
2.3.4 Получение пленок коллаген-ПВП.....	44
2.3.5 Получение пленок коллаген-ПВП-графен.....	44
2.3.6 Получение пленок хитозана	45
2.3.7 Получение пленок хитозан-ПВП, хитозан-ПЛУ.....	45
2.3.8 Получение пленок хитозан-ПВП-графен, хитозан-ПЛУ-графен.....	45
2.4 Методы исследования.....	46
2.4.1 Атомно-силовая микроскопия (АСМ)	46
2.4.2 Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ)	46
2.4.3 Исследование дисперсий графена методом электронной спектроскопии	46
2.4.4 Динамическое светорассеяние.....	46
2.4.5 Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)	47
2.4.7 Физико-механические испытания	47
2.4.8 Исследование электронной объемной проводимости	47
нанокомполитных пленок.....	47
2.4.10 Исследование температурных зависимостей электросопротивления нанокомполитных пленок.....	48

2.4.11 Термогравиметрический анализ (ТГА).....	48
2.4.12 Динамический механический анализ (ДМА).....	49
2.4.14 Конфокальная микроскопия.....	49
2.4.17 Иммунофлуоресцентный анализ	51
2.4.18 ПЦР-тест.....	52
ГЛАВА 3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	53
3.1 Получение и свойства графенсодержащих нанокомпозитов	56
на основе ПЛА	56
3.2 Получение водных дисперсий графена, стабилизированных ПВП и ПЛУ	63
3.3 Получение и свойства графенсодержащих нанокомпозитов	70
на основе КГ.....	70
3.4 Получение и свойства графенсодержащих нанокомпозитов на основе ХЗ.....	75
3.4.1 Получение нанокомпозитов	75
3.4.2 Анализ свойств нанокомпозитов	80
3.4.3 Анализ биосовместимости нанокомпозитов	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	98
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	100

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

АСМ – атомно-силовая микроскопия

ВОГ – восстановленный оксид графена

ГФ – графен

ДМА – динамический механический анализ

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамид

ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия

МК – молочная кислота

ММ – молекулярная масса

ММТ – монтмориллонит

МП – N-Метил-2-пирролидон

МСГ – малослойный графит

ОГ – оксид графена

ПАВ – поверхностно-активные вещества

ПВС – поливиниловый спирт

ПВП – поливинилпирролидон

ПКЛ – поликапролактон

ПЛА – полилактид

ПЛУ – Pluronic F108

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия

РФА – рентгенофазовый анализ

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ТГА – термогравиметрический анализ

ТФУ – трифторуксусная кислота

УК – уксусная кислота

ХЗ – хитозан

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень проработанности темы исследования.

За последние десятилетия было получено и подробно изучено огромное количество разнообразных полимеров, использование которых способствовало современному развитию человечества. Но, несмотря на это, развитие технологий задает все новые требования, стимулируя тем самым поиск новых полимерных материалов. Одним из способов решения, позволяющим более полно раскрыть потенциал полимеров и значительно улучшить их эксплуатационные характеристики, а иногда и придать новые, является комбинирование полимерной матрицы с различными наполнителями. Очевидно, что выбор используемой полимерной матрицы, наполнителя и способа их совмещения будет главным образом определять свойства, конкурентоспособность и область применения изготавливаемых композитов. В связи с этим, широкое применение получили нанотехнологические приемы, базирующиеся на использовании, в частности, перспективного нанонаполнителя с биосовместимым и биоразлагаемым полимером для получения функциональных нанобиокомпозитов.

Одними из наиболее широко исследуемых и перспективных наночастиц являются углеродные наночастицы, среди которых в последнее время значительное внимание уделяется графену (ГФ). Так, использование биосовместимых биоразлагаемых полимерных матриц в сочетании с ним позволяет улучшить не только механические, термические характеристики, регулировать гидрофильно-гидрофобный баланс, но и придать электропроводность таким композитам. Более того, добавление графена к биополимерам в большинстве случаев позволяет улучшить пролиферацию и жизнеспособность клеток, что в целом предопределяет возможность использования таких композитов для получения электрохимических биосенсоров и электропроводящих тканеинженерных конструкций для нужд регенеративной медицины.

Однако при получении таких материалов огромное внимание уделяется выбору способа получения графена, определяющего его строение

и характеристики, а также решению проблемы, связанной со склонностью графена к агломерации, которая нивелирует весь комплекс практически ценных свойств и возможность их применения. Поэтому поиск подходящего предшественника графена, способа его расслоения и разработка эффективных способов получения биосовместимых электропроводящих нанокомпозитов с равномерно распределенным графеном с низкой степенью агломерации в полимерной матрице является актуальной проблемой.

В этой связи в качестве предшественника графена в настоящей работе использовали расширенный малослойный графит (МСГ), полученный в Институте неорганической химии им. А.В. Николаева СО РАН в результате термодеструкции интеркалированных соединений фторированного графита $C_2F \cdot xClF_3$. Такой МСГ, с количеством слоев от 10 до 15 по своим основным характеристикам превосходит многие известные расширенные графиты [1]. А в качестве полимерных матриц использовали хорошо известные биополимеры различного строения, такие как хитозан (ХЗ), полилактид (ПЛА) и коллаген (КГ).

Целью настоящей работы является разработка биосовместимых электропроводящих графенсодержащих нанокомпозитов на основе расширенного МСГ, ХЗ, ПЛА, КГ и изучение их физико-механических и биомедицинских свойств.

Достижение поставленной цели требовало решения следующих задач:

- установить закономерности образования высококонцентрированных дисперсий графена методом жидкофазной эксфолиации расширенного МСГ под воздействием ультразвука в N-метил-2-пирролидоне (МП), а также в водной среде при использовании поверхностно-активных стабилизаторов поливинилпирролидона (ПВП) и Pluronic F108 (ПЛУ);
- определить условия получения электропроводящих пленок и изделий методом Fused Deposition Modeling (FDM) 3D-печати из нанокомпозита, полученного на основе дисперсии графена в МП и ПЛА;
- разработать способы получения нанокомпозитов на основе КГ, ХЗ используя высококонцентрированные дисперсии графена;

– установить влияние содержания графена на структурные особенности нанокомпозитов и их электропроводящие, механические и термические характеристики;

– изучить биосовместимость полученных материалов, а также возможность их использования в регенеративной медицине в качестве биомиметических тканеинженерных конструкций и тензочувствительных биодатчиков.

Объектами исследования явились ХЗ (ММ = 200 кДа, степень деацилирования = 91%, «Биопрогресс»), ПЛА (ММ = 170 кДа, «Sigma Aldrich»), КГ (I типа, получен в Первом МГМУ им. И.М. Сеченова из шкур КРС), ПЛУ (ММ = 14,6 кДа «Sigma Aldrich»), ПВП (ММ = 40 кДа «Sigma Aldrich»), расширенный МСГ и коллоидные дисперсии на его основе в МП, водных растворах, стабилизированных ПВП или ПЛУ; нанокомпозитные пленки и нити для FDM 3D-печати, полученные на основе графеновых дисперсий в МП с ПЛА; нанокомпозитные пленки на основе дисперсий графена, стабилизированных ПВП с КГ, а также полученные смешением ХЗ с ПВП или ПЛУ-стабилизированных дисперсий графена.

Методы и методология исследования. Методология работы заключается в изучении особенностей формирования графеновых пленок с различными биосовместимыми полимерами, определении влияния условий ультразвукового воздействия на образование стабильных высококонцентрированных графеновых дисперсий, установлении влияния графенового наполнителя, а также используемых стабилизаторов на электрическую проводимость, термические и прочностные характеристики получаемых нанобиокомпозитов. Используемые методы базируются на работах зарубежных и российских исследователей в области получения и изучения свойств композитов на основе ПЛА, КГ, ХЗ. Для оценки физико-химических свойств разработанных нанобиокомпозитов были использованы ИК-и УФ-спектроскопия, рентгенофазовый анализ, атомно-силовая, сканирующая и просвечивающая электронные микроскопии, термогравиметрия, дифференциально сканирующая калориметрия, динамический

механический анализ, комплекс методов по определению цитотоксических и механических характеристик разработанных нанобиоккомпозитов.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов подтверждена использованием стандартизованных и современных физико-химических методов исследования, воспроизводимостью экспериментальных данных в пределах заданной точности измерений, корректностью математических расчетов и согласованием результатов эксперимента и расчета с известными литературными данными.

Научная новизна работы. Впервые для получения биосовместимых электропроводящих наноккомпозитов показана возможность использования в качестве предшественника графена предварительно полученного расширенного МСГ на основе интеркалированных соединений фторированного графита типа $C_2F \cdot xClF_3$. Это позволило значительно уменьшить интенсивность ультразвукового воздействия для получения графеновых частиц при жидкофазной эксфолиации и обеспечить возможность введения в полимерную матрицу ХЗ, ПЛА, КГ графена с количеством слоев от 1 до 4 и латеральными размерами до 2 мкм.

Теоретическая значимость работы. Показана возможность увеличения электронной проводимости, механических свойств графеновых пленочных наноккомпозитов путем использования расширенного МСГ, обусловленная его способностью быстро расслаиваться на графеновые частицы с малым количеством слоев большого размера.

Практическая значимость работы. На примере использования в качестве полимерной матрицы ПЛА продемонстрирована возможность применения графеновых дисперсий в МП для получения электропроводящих нитей для FDM 3D-печати изделий заданной сложной геометрической формы и пленок со сравнительно высокой электрической проводимостью – 0.9 См/см.

Показана возможность стабилизации в воде графеновых частиц, образующихся при ультразвуковой эксфолиации малослойного графена, поверхностно-активными ПЛУ и ПВП. Размерные характеристики наночастиц обеспечивают получение наноккомпозитных пленок на основе ХЗ и КГ

со значительно улучшенными механической прочностью и модулем упругости, а также электропроводностью до 0.43 См/см. Разработанные материалы демонстрируют отличную биосовместимость и перспективность использования в качестве тензочувствительных биодатчиков и электропроводящих материалов для задач биомедицины и тканевой инженерии.

Положения, выносимые на защиту:

- Данные о вкладе графенового наполнителя в биосовместимость, прочностные и электропроводящие характеристики пленочных материалов на основе ПЛА, КГ, ХЗ.
- Подходы к формированию высококонцентрированных дисперсий с использованием стабилизирующих ПВП и ПЛУ.
- Подходы к формированию гомогенных пленочных композитов и регулированию структурных и эксплуатационных свойств получаемых нанобиоматериалов.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на Российских и Международных конференциях: Всероссийской научной конференции с международным участием «III Байкальский материаловедческий форум» (Улан-Удэ, 2018); III Всероссийской молодежной научной конференции с международным участием «Экологобезопасные и ресурсосберегающие технологии и материалы» (Улан-Удэ, 2017); IX, X школах-семинарах молодых ученых России (Улан-Удэ, 2019, 2023); XXII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера (Томск 2021); XV Международной конференции молодых ученых, студентов и аспирантов «Синтез и исследование свойств, модификация и переработка высокомолекулярных соединений» (Казань, 2021); XVII, XIX Международных научно-практических конференциях «Новые полимерные композиционные материалы» (Нальчик 2021, 2023); X Молодежной конференции ИОХ РАН к 300-летию Российской академии наук и 90-летию Института органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН (Москва, 2023).

Работа выполнена в лаборатории химии полимеров БИП СО РАН рамках бюджетного проекта и при финансовой поддержке РФФИ грант № 20-33-90189 Аспиранты «Композиционные электропроводящие материалы биомедицинского назначения на основе графена и биополимеров».

Публикации. Основное содержание диссертации изложено в 23 научных публикациях, в том числе 5 статьях, индексируемых в системе WoS (Q4 – 4, , Q1 – 1), 4 статьях, рекомендованных ВАК для размещения материалов диссертаций и 15 тезисов докладов в сборниках Российских и Международных научных конференций.

Соответствие паспорту специальности. Выполненная диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения (п. 9. Целенаправленная разработка полимерных материалов с новыми функциями и интеллектуальных структур с их применением, обладающих характеристиками, определяющими области их использования в заинтересованных отраслях науки и техники).

Личный вклад автора состоял в проведении поиска и анализа литературных данных по теме диссертационного исследования, проведении теоретических и экспериментальных исследований, обработке полученных результатов и подготовке публикаций совместно с соавторами.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 125 страницах и содержит 37 рисунков, 3 таблицы и 244 источника литературы. Диссертация включает введение, обзор литературы (глава 1), экспериментальную часть (глава 2), обсуждение результатов (глава 3), выводы и список использованной литературы.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Полимерные биокomпозиты

На сегодняшний день одними из наиболее перспективных и быстроразвивающихся направлений современного полимерного материаловедения является разработка функционально востребованных биосовместимых, биорезорбируемых композиционных материалов на основе самых разнообразных высокомолекулярных соединений. Высокая востребованность подобных материалов обуславливается биоразлагаемостью полимерной матрицы, позволяющей значительно снизить антропогенную нагрузку на окружающую среду, в отличие от самых распространенных в промышленности полимеров (полиэтилен, полипропилен, поливинилхлорид, полистирол, полиэтилентерефталат и др.) [2], которые разлагаются в течение очень длительного времени и вызывают тем самым известные экологические проблемы [3, 4]. Столь очевидное преимущество становится причиной их все большего практического использования в производстве экологичных упаковочных материалов, одноразовой посуды и т.п. [5]. Также отмечается высокий спрос со стороны строительной индустрии, автомобилестроения [6] и, конечно, медицины [7]. Особую ценность биокomпозиты представляют в тканевой инженерии и регенеративной медицине, так как принципы, заложенные в их основу, требуют использования биоразлагаемых, биосовместимых, немутагенных и неиммуногенных материалов [8]. Наряду с этим, они должны обеспечивать соответствующую механическую прочность, требуемую адгезию, пролиферацию и дифференциацию клеток [9]. Более подробное описание многообразия, химической структуры, применения и свойств биосовместимых полимеров изложены в литературных обзорах [10-12], но наиболее яркие примеры представлены ниже.

1.1.1 Биоккомпозиты на основе синтетических полимеров

Синтетические биополимеры представляют собой «копии» биополимеров, полученные абиотическими химическими методами [13]. Основными представителями являются полигликолевая кислота, полимолочная кислота, поликапролактон, полиэтилентерефталат, полибутиленсукцинат, поливиниловый спирт, полиамиды и др. [14].

Полигликолевая кислота (полигликолид) представляет собой жесткий термопластичный полимер с высокой степенью кристалличности (46-50%), нерастворимый в большинстве органических растворителей [15] с общей формулой, представленной ниже.

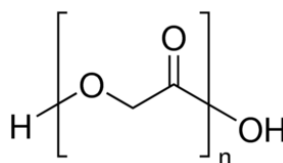


Рисунок – 1.1 Структурная формула полигликолевой кислоты

Для получения полигликолевой кислоты с высокой молекулярной массой предварительно проводят поликонденсацию гликолевой кислоты при катализе оксидом сурьмы (180 °С, 5 мм.рт.ст.) с дальнейшей циклизацией олигомера (255-270 °С, 0,1-0,2 мм.рт.ст.) и получением циклического гликолида [16]. Затем кольцо полученного гликолида «раскрывают» и получают полигликолевую кислоту [15].

Температуры стеклования и плавления высокомолекулярной полигликолевой кислоты составляют, соответственно, порядка 36 и 225 °С и колеблются в зависимости от молекулярной массы и содержания остаточной воды в полимере. Основным продуктом деструкции полигликолида является гликолевая кислота, которая в организме переходит не в воду и углекислый газ, а в глиоксиловую или щавелевую кислоты, что в больших концентрациях может вызвать воспаление окружающих тканей. Еще одним существенным недостатком полигликолевой кислоты является плохая растворимость в большинстве органических растворителей. Ввиду наличия сложноэфирной связи

в его основной цепи полигликолид является гидролитически нестабильным полимером, что приводит к его деградации, время которой составляет около 21 суток, что существенно ограничивает ее применение.

Тем не менее, благодаря своим хорошим механическим и барьерным свойствам полигликолевая кислота может быть легко использована в многослойных растягивающихся выдувных изделиях, биаксиально-ориентированных пленках и при изготовлении пленок методом раздува, т.е. для получения шовных материалов для хирургии, стентов, а также стержней, штифтов, пластин и винтов [17]. В тканевой инженерии обычно используют сополимер полилактида и полигликолида – полилактогликолид, который является довольно привлекательным материалом, ввиду наличия биосовместимости и возможности контроля скорости разложения полимера [18].

Полимолочная кислота (полилактид, ПЛА) – термопластичный сложный полифир, который получают поликонденсацией молочной кислоты или полимеризацией лактида. Благодаря тому, что молочная кислота и лактид существуют в виде двух L- и D- форм, становится возможным варьирование содержания оптических изомеров в полилактиде [19]. В зависимости от типа изомера изменяются многие свойства полимера, в особенности степень кристалличности и растворимость в различных средах [20]. Так, например, полилактид, полученный из L-лактида имеет высокую степень стереорегулярности, что придает ему кристалличность, а полилактид, состоящий из L- и D- форм является аморфным.

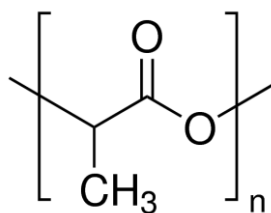


Рисунок – 1.2 Общая формула полимолочной кислоты

Полилактид нерастворим в полярных растворителях: воде, этаноле и метаноле, но способен растворяться в неполярных, таких как ацетон, диоксан, этилацетат, бензол и др. [21]. Биодеструкция приводит к образованию молочной

кислоты, которая затем превращается в легко удаляемые из живого организма воду и углекислый газ [22]. Главными достоинствами полилактида являются низкая токсичность, контролируемая скорость деградации [23]. Благодаря своим механическим характеристикам ПЛА вполне может составить конкуренцию другим, более распространенным синтетическим полимерам, но его более широкому распространению препятствуют недостатки, среди которых выделить низкую температуру стеклования, гидрофобность которая приводит к снижению адгезии клеток [24], а также «закисление» тканей, которое вызвано продуктами деструкции полимера в местах имплантации [25]. Несмотря на сравнительно высокую механическую прочность ПЛА является хрупким полимером с малым удлинением при разрыве и низкой термостойкостью, что ограничивает его использование в приложениях, где требуется пластическая деформация при более высоких уровнях напряжения. ПЛА также легко гидролизуеться и требует особых условий хранения. Тем не менее, термопластичные свойства полимера и сравнительная простота обработки ПЛА позволяет использовать его для получения волокон, упаковки, электроники, медицинских имплантантов в виде винтов, стержней, ортопедических приспособлений, полупроницаемых капсул [26].

На сегодняшний день известно большое количество работ, посвященных получению и исследованию свойств нанокмпозиционных материалов с использованием ПЛА в качестве полимерной матрицы. Так, например, в работе [27] авторы изучили возможность 3D-печати композитов ПЛА с наночастицами гидроксиапатита при содержании последнего 10, 20, 30, 40, 50 масс. %. Полученные результаты продемонстрировали, что напечатанные композиты сохраняют целостность структуры при содержании наполнителя до 30 масс. %, а при увеличении концентрации наполнителя в композите образец становится хрупким и не восстанавливает форму после испытаний на сжатие. Кроме того, с последовательным увеличением содержания наночастиц уменьшалась и механическая прочность материалов. Тем не менее, результаты гистологического исследования показали, что напечатанные композиты

не оказывают токсичного воздействия на клеточную активность, а рост костной ткани при имплантации в бедренную кость кроликов композита с 30 масс. % содержанием гидроксиапатита превосходил рост ткани в случае имплантации материала без наполнителя.

В работе [28] были получены композитные пленки ПЛА с наночастицами оксида магния до 5 масс. % смешением в расплаве при помощи двухшнекового экструдера. Показано, что добавление наночастиц оксида магния до 2 масс. % к полимеру улучшило относительную прочность при разрыве на 22 % и удлинение при разрыве на 26 % по сравнению с пленками из ПЛА. Кроме того, армирование пленок наночастицами оксида магния при содержании 1 масс. % позволило улучшить проницаемость водяного пара примерно на 57 % по сравнению с пленками из чистого полимера и придать антибактериальные свойства по отношению к *E. Coli*.

Поликапролактон (ПКЛ) – это алифатический сложный полиэфир, имеющий линейно-разветвленную структуру, получаемый преимущественно поликонденсацией 6-гидроксигексановой кислоты или полимеризацией с раскрытием цикла капролактона.

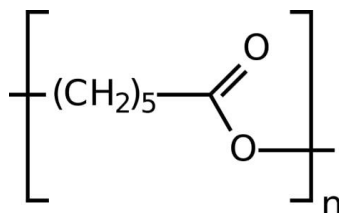


Рисунок – 1.3 Общая формула поликапролактона

Полукристаллический полимер, степень кристалличности которого уменьшается с увеличением молекулярной массы [29]. ПКЛ хорошо растворим в дихлорметане, хлороформе, ацетоне и этаноле, а также обладает хорошими механическими характеристиками, низкой цитотоксичностью и биodeградацией, полное разложение которого может достигать до 2-4 лет. Полимер легок в обработке, обладает хорошими адгезивными и пролиферативными свойствами по отношению к мезенхимальным стволовым клеткам, однако ярко выраженные гидрофобные свойства значительно препятствуют широкому заселению клеток

на его поверхности, что обуславливает проведение химических модификаций полимера или совмещение с другими полимерами [30]. Поскольку химическая структура ПКЛ позволяет комбинировать его с полимерами, то, очевидно, что за последние годы получены гибридные материалы на его основе, обладающие улучшенными свойствами [31]. ПКЛ совместим с природными полимерами, такими как ХЗ, крахмал, полиоксиалканоаты и с синтетическими – полиэтиленгликолем, полиэтиленоксидом, поливиниловым спиртом, ПЛА и гликолевой кислотой, тем самым позволяя изготавливать прочные и эластичные нити, волокна и пленки, искусственные сосуды, чем и обусловлен интерес к этому полимеру [32, 33].

В работе [34] нанокompозитные мембраны на основе полимерной матрицы ПКЛ и наночастиц TiO_2 были получены с использованием растворителей: уксусной кислоты и смеси CHCl_3 с ДМФА. Согласно экспериментальным данным, композиты, приготовленные в смеси CHCl_3 с ДМФА обладали лучшей гомогенностью поверхности, чем композиты, приготовленные в уксусной кислоте. Кроме того, включение наночастиц TiO_2 в значительной степени улучшает прочность, пластичность, шероховатость поверхности. Добавление наночастиц ZrO_2 до 2 масс. % к полимерной смеси ПКЛ и целлюлозы в работе [35] позволило увеличить гидрофобность поверхности, термостойкость композита, а также придать ему антибактериальные и противогрибковые свойства.

Поливиниловый спирт (ПВС) – это водорастворимый, термопластичный полимер, который является биосовместимым, но не биodeградируемым. В отличие от упомянутых ранее полимеров ПВС не может быть получен из мономера, поскольку кето-форма ацетальдегида гораздо устойчивее енольной формы винилового спирта. Поэтому ПВС чаще всего получают путем полимераналогичных превращений, например, омылением сложных

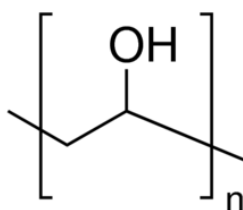


Рисунок – 1.4 Общая формула поливинилового спирта

поливиниловых эфиров. В действительности, ПВС представляет собой сополимер, состоящий из гидроксильных и ацетильных звеньев, оставшихся после неполного гидролиза полиэфира. Поэтому полимеры с более чем 50% содержанием гидроксильных групп принято считать ПВС, с менее-поливинилацетатами [36]. Очевидно, что степень гидролиза ПВС в значительной степени влияет на растворимость полимера: полностью гидролизированный ПВС в воде растворяется хуже, чем низкогидролизированный. Полимер также растворим в полярных растворителях, таких как ДМСО, формамид, ДМФА, глицерин, но не растворяется в низших спиртах, тетрагидрофуране, кетонах, сложных эфирах, карбоновых кислотах. Также для данного полимера характерна высокая разрывная прочность и гибкость, которые зависят от влажности воздуха, поскольку ПВС поглощает воду, которая оказывает пластифицирующее действие.

Стоит отметить, что физические свойства полимера, например, электросопротивление, растворимость, проницаемость газов зависят от степени кристалличности и молекулярной массы полимера. Температуры стеклования полимера находится в пределах 65–85 °С, а разложения составляет 220–250 °С. Хорошая стабильность, отличное пленкообразование, биосовместимость, высокая гидрофильность, полупроницаемость для кислорода и питательных веществ [37], а также простые возможности изготовления композитов делают ПВС одним из ценнейших материалов для разнообразных применений [38]. Однако неспособность к деградации является серьезным препятствием для масштабного применения ПВС в биомедицинских целях [39]. Кроме того, он считается достаточно дорогим, что предопределяет необходимость комбинации ПВС с более дешевыми наполнителями и полимерами. Известно, что несмотря на способность ПВС взаимодействовать с тканями организма, его длительное

воздействие в физиологических жидкостях может приводить к кальцификации, что негативно влияет на его функциональность в качестве искусственного суставного хряща и др. [40, 41]. Также ПВС является высокогидрофильным полимером, что плохо сказывается на устойчивости гидрогелей ПВС в воде.

Поэтому для улучшения эксплуатационных свойств материалов на его основе было получено множество композитов. Так, с целью улучшения механической прочности Kiro и соавторы [42] получили композит на основе серицина и ПВС, в который были импрегнированы наночастицы ZnO. Значения твердости по Виккерсу составили около 16, 17, 18, и 20 кг/мм² при варьировании количества наночастиц ZnO до 200, 250, 300 и 350 мг соответственно. В работе [43] авторы изучали влияние трифторуксусной кислоты на ПВС и композит состава ПВС-целлюлоза. Пленка из ПВС демонстрировала модуль Юнга 2,75 ГПа при удлинении 57%, тогда как пленка ПВС-трифторуксусная кислота обладала модулем Юнга 25 МПа при удлинении 693%. Интересна работа [44], в которой получили композит на основе ПВС, в котором в качестве армирующего материала использовались нанокристаллы целлюлозы и нанокремнезем. Механические испытания пленки на основе ПВС показали, что Модуль Юнга увеличивается с увеличением содержания наночастиц кремнезема с 15,45 до 57,30 МПа при 15 масс. % содержании наночастиц кремнезема.

1.1.2 Биокompозиты на основе полимеров природного происхождения

Природные биополимеры – класс полимеров, которые находятся в природе в составе живых организмов и получают главным образом из сельскохозяйственных продуктов или на основе материалов животного происхождения. В последние годы наблюдается увеличение темпов роста объемов использования биополимеров в связи с поиском альтернативы традиционным синтетическим полимерам, которые вызывают серьезные проблемы, влияющие на изменение климата и истощение природных ресурсов [45]. По этой причине активно разрабатываются новые биокompозиты на основе коллагена [46], фиброина [47], эластина [48], полигидроксиалканоатов [49],

фибронектина, ХЗ [50], альгината [51] и других биополимеров. Природные биополимеры имеют преимущество перед синтетическими полимерами в том, что все они являются биоразлагаемыми и возобновляемыми. Экологичность биополимеров обуславливает их потенциальное применение в получении упаковочных материалов, сепараторов, электролитов, батарей, гибких сенсорных и энергетических устройств [52-56], а биосовместимость, биоразлагаемость, антимикробные и антиоксидантные свойства являются основными достоинствами, определяющими их применения в медицине и фармацевтике [57, 58]. Биополимеры можно разделить на две основные группы – белки (коллаген, эластин) и полисахариды (целлюлоза, крахмал, хитин/хитозан).

Коллаген (КГ) – основной белок соединительной ткани животного происхождения составляет около 30% всех белков организмов млекопитающих. В нерастворимой волокнистой форме он присутствует в сухожилиях, хрящах и костях животных, которые служат основным и доступным источником его получения [59]. Структура КГ представлена в виде трех α -полипептидных цепей, каждая из которых состоит из триад аминокислот, среди которых третья аминокислота – глицин, вторая – лизин или пролин, а первая – любая другая, за исключением упомянутых. В свою очередь α -полипептидные цепи образуюттропоколлаген, а тропоколлагены, объединяясь, образуют микрофибриллы и фибриллы цилиндрической формы (диаметром 20-500 нм) с характерными поперечными полосами, повторяющимися через каждые 64-67 нм. На сегодняшний день известно 28 типов КГ, из которых первые три составляют около 80-90% всего КГ в организме человека [60]. Остальные же типы, присутствуют в малых количествах, но, тем не менее, играют жизненно важную роль.

КГ обладает значительными преимуществами, такими как биосовместимость, способность к адгезии, биоразлагаемость которые позволяют создать биоконпозиты на его основе. Также для этих целей нередко используется и денатурированная форма КГ – желатин. Благодаря своей высокой водопоглощающей способности КГ используется для текстурирования, загущения

и гелеобразования. Кроме того, КГ является хорошим поверхностно-активным веществом, обладающим способностью проникать через свободные от липидов поверхности [61]. КГ способен подвергаться обработке, что позволяет получать его в различных формах, начиная от пористых губок и заканчивая волокнистыми решетками. К основным недостаткам можно отнести очень высокую скорость разложения, низкую термическую стабильность и плохие механические свойства [62], устранить которые позволяют модификации или поперечное сшивание цепей КГ [63]. КГ широко применяется в медицине, включая заживление ран, доставку лекарственных средств, пищевую промышленность, косметологию, а также в тканевой инженерии [64-66].

Широко известно, что комбинирование КГ с различными неорганическими биоактивными материалами, такими как гидроксиапатит, фосфат кальция, биоактивные стекла позволяет образовать центры адгезии клеток, которые, в свою очередь, при имплантации композита способствуют интеграции с окружающей костной тканью, образуя промежуточный слой гидроксиапатита [67]. Так, кремнезем (SiO_2) можно использовать в качестве костнозамещающего материала, поскольку он является биосовместимым и остеокондуктивным материалом. Было показано, что SiO_2 играет важную роль в формировании костей и минерализации композитов на основе SiO_2 и КГ [68]. Высокая плотность поверхностных силанольных групп (Si-OH), присутствующих на поверхности аморфного кремнезема, может способствовать образованию биологически активного костеподобного апатита, повышающего биоактивность биополимерных нанокомпозитов на основе кремнезема. Кроме того, введение неорганических наполнителей оказывает влияние и на механические свойства композита, улучшая, в частности показатели прочности и жесткости. Так, введение гидроксиапатита в полимерную матрицу КГ приводило к увеличению модуля сжатия на целый порядок по сравнению с коллагеновыми пористыми каркасами [69]. Биокompозиты состава КГ-гидроксиапатит демонстрировали повышенную цитосовместимость по сравнению с каркасами из чистого коллагена, что подтверждено исследованиями *in vitro*, демонстрирующими улучшенное

прикрепление и пролиферацию различных клеточных линий, таких как клетки остеосаркомы MG63, предшественники остеобластов MC3T3, остеобласты человека и фибробласты L-929 при воздействии различного содержания гидроксиапатита в биокompозитах [70, 71]. Композиты, состоящие из КГ и гидроксиапатита также обладают улучшенными модулем упругости при сжатии и прочностью при скручивании [72, 73]. Композиты на основе КГ и гидроксиапатита, импрегнированные мезенхимальными стволовыми клетками человека индуцировали их дифференцировку без необходимости использования каких-либо специфических факторов роста, что характеризует биокompозиты хорошим средством для доставки биомолекул, лекарств и факторов роста [74].

Фибронектин – гликопротеин внеклеточного матрикса, представленный в виде гомодимера, состоящего из двух высокомолекулярных гликопротеинов (около 440 кДа), которые ковалентно связаны между собой дисульфидными связями вблизи их концевой части [75]. Фибронектин способен синтезироваться многими клетками, исключая некоторые виды нервных. В организме подавляющего числа млекопитающих существует в виде растворимой формы, которая является основным компонентом плазмы крови, синтезируемая гепатоцитами, и нерастворимой, которая образует внеклеточный матрикс, синтезируемой фибробластами [76]. Фибронектин может связывать КГ, протеогликаны, гиалуроновую кислоту, а также способен усиливать адгезию клеток благодаря способности связываться с трансмембранными интегринами [77]. Он играет ключевую роль в поведении клеток, таком как адгезия, миграция и дифференцировка, а также в морфогенезе и заживлении ран. Возможность контроля скорости деструкции, биосовместимость, отсутствие воспалительных реакций обуславливают его применение в тканевой инженерии [78].

В литературе приводятся примеры получения композитных материалов на основе фибронектина и наночастиц золота [79]. Согласно исследованиям биомеханических свойств, добавление наночастиц золота позволило существенно увеличить модуль Юнга с 0,028 до 45,65 МПа композитов, а также

их гидрофильность до 11,2°. В работе [80] показано, что добавление наночастиц серебра к фибронектину позволяет оптимизировать поверхность композита, наделяя ее шероховатостью, тем самым, стимулируя прикрепление, пролиферацию и миграцию мезенхимальных стволовых клеток. Кроме того, внедрение наночастиц серебра ослабляло воспалительную реакцию биоматериала.

Целлюлоза – это самый распространенный, возобновляемый линейный полисахарид, состоящий из остатков D-глюкозы, соединенных β -(1–4)-гликозидными связями. Полисахарид не имеет вкуса и запаха, нерастворим в воде и большинстве растворителей. Полимер получают в основном из древесины, коры и хлопка, также известна целлюлоза, получаемая из бактерий. Три гидроксильные группы при 2, 3 и 6 атомах углерода позволяют образовывать прочные межмолекулярные водородные связи, обуславливая ее полукристалличность, жесткость и нерастворимость в воде [81].

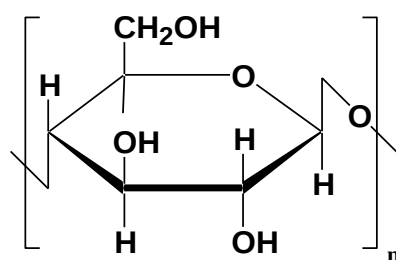


Рисунок – 1.5 Структурная формула целлюлозы

Основными достоинствами целлюлозы являются хорошая биосовместимость, разлагаемость в окружающей среде, экологичность, низкая стоимость, способность к клеточной адгезии, гидрофильность и легкость в обработке [82]. Материалы, полученные из целлюлозы, находят широкое применение в пищевой, упаковочной, текстильной, бумажной промышленности. Однако, несмотря на простоту получения и достоинства, целлюлоза обладает недостатками, среди которых особенно важными являются плохая растворимость, неспособность к деградации, ввиду отсутствия у человека ферментов для ее расщепления, высокая плотность нанофибрилл. Тем не менее, было показано, что модификация полимера позволяет улучшить растворимость целлюлозы и другие физические свойства [83, 84]. Наличие гидроксильных групп

позволяет получать различные производные, например, сульфатированную целлюлозу, нитроцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу и др., которые значительно расширяют практическое использование полимера [85].

В настоящее время, наряду с работами направленными на получение производных целлюлозы, известно большое количество работ, посвященных получению и исследованию свойств нанокомпозиционных материалов с использованием полимера. Так, с целью улучшения механических характеристик были получены нанокомпозиты с использованием в качестве наполнителя нанотрубок галлуазита до 8 масс. %, добавление которых к целлюлозе позволило увеличить прочность на разрыв в 2,3 раза, модуль Юнга в 1,7 раза [86]. Кроме того, при содержании нанотрубок галлуазита в количестве 2 масс. % термостойкость композита, соответствующая 20 % потери массы, была увеличена на 20 °С по сравнению с исходным полимером. С целью получения биосовместимого материала, обладающего антимикробными свойствами, были получены нанокомпозиты целлюлозы с наночастицами серебра от 1 до 5 масс. %. Было установлено, что пленка из целлюлозы не проявляла противомикробной активности против грамотрицательных бактерий *E. Coli* и грамположительных *S. Aureus* [87]. Однако нанокомпозиты, содержащие серебро, демонстрировали ярковыраженную антимикробную активность по мере увеличения концентрации наполнителя в композите по отношению как к грамположительным, так и грамотрицательным бактериям. Включение неорганических наполнителей также позволяет придать целлюлозным материалам и адсорбционные свойства. В работе [88] опубликовано исследование, в котором описано получение композитных гидрогелей целлюлозы, наполненных монтмориллонитом. Полученные композиционные гидрогели с содержанием монтмориллонита 20 масс. % продемонстрировали наибольшую адсорбционную емкость до 277 мг/г при исходном содержании красителя метиленового синего в растворе 100 мг/л.

Альгинат – это линейный полисахарид природного происхождения, состоящий из (1-4) -связанной β -D-маннуроновой кислоты с блоками α -1-

гулурановой кислоты [89]. В качестве источника получения альгинатов могут выступать водоросли и бактерии, однако коммерчески доступными являются те, которые вырабатываются из водорослей. При этом клеточная стенка бурых водорослей содержит значительно большее количество полимера по сравнению с красными, зелеными и др. водорослями. Характеристики альгината варьируются от способа получения: выделенные из водорослей обладают широким диапазоном молекулярной массы, а бактериального происхождения характеризуются высокой молекулярной массой [90]. Соотношение блоков маннуроновых и гулурановых кислот также оказывает существенное влияние на свойства альгината. Высокое содержание маннуроновых блоков в полимере оказывает положительное влияние на заживление ран благодаря его способности продуцировать цитокины через моноциты человека [91]. Альгинаты демонстрируют способность к загущению, стабилизации дисперсий, высокую биосовместимость, гелеобразование и возможность контролирования скорости высвобождения лекарственных средств, что позволяет применять его для биомедицинских целей [92].

Несмотря на то, что альгинат отличается рядом уникальных свойств, которые востребованы для медицинских нужд, он обладает существенными недостатками, среди которых низкая скорость деградации и ограниченная клеточная адгезия, что является существенным фактором, препятствующим получению тканеинженерных конструкций на его основе [93].

С целью получения гетерогенных катализаторов восстановления 4-нитрофенола до 4-аминофенола в водной среде был продемонстрирован подход, заключающийся в использовании волокон альгината в качестве матрицы-носителя катализатора восстановления наночастиц серебра [94]. Испытания каталитической активности показали, что 4-нитрофенол может быть полностью восстановлен в течение 15 минут, при этом полученный катализатор легко восстанавливался и повторно использовался в реакциях не менее десяти циклов, подтверждая его превосходную стабильность. Улучшить механические характеристики материалов на основе альгината позволило внедрение в полимерную матрицу кремнезема и гидроксиапатита [95]. Согласно механическим испытаниям было

установлено, что в случае волокна состоящего только из альгината прочность при разрыве составляла 30 МПа, в то время как композиты с использованием кремнезема демонстрировали разрывную прочность от 47,4 МПа. Наилучшими прочностными характеристиками обладали композитные волокна, наполненные гидроксиапатитом, со значением разрывной прочности равной 54,4 МПа. Полученные нанокомпозитные волокна обладают широким потенциалом для использования в биомедицинских целях.

Хитин представляет собой линейный полисахарид, неразветвленные цепи которого состоят из элементарных звеньев 2-ацетида-2-дезоксиглюкозы, соединенных 1,4-β-гликозидной связью. Является вторым по распространенности биополимер встречающийся в природе после целлюлозы. Этот полимер составляет основу панцирей ракообразных, а также придает прочность экзоскелетам клеточных стенкам грибов [96]. В силу того, что хитин не растворим во многих растворителях его применение крайне ограничено и, поэтому чаще используется искусственное производное хитина – хитозан (ХЗ), макромолекулы которого состоят из случайно-связанных β-(1-4) D-глюкозаминовых звеньев и N-ацетил-D-глюкозамина. ХЗ получают удалением ацильной группы хитина, которая придаёт жесткость полимеру.

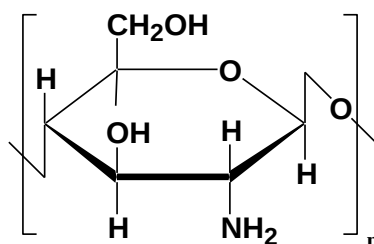


Рисунок – 1.6 Структурная формула хитозана

ХЗ почти нерастворим в воде, что обусловлено прочными межмолекулярными связями, которые гораздо прочнее, чем связи между полимером и водой [97]. Поэтому для его растворения воду обычно подкисляют, например уксусной или соляной кислотой [98]. Однако выбор солубилизирующей кислоты должен быть более тщательным, поскольку в растворах дву- и трикарбоновых кислот, например янтарной, лимонной

и щавелевой, ХЗ не растворяется, так как эти кислоты образуют межмолекулярные ионные сшивки между аминогруппами соседних макромолекулярных цепей [99].

Молекула ХЗ включает в себя свободные аминогруппы, которые позволяют ему связывать протоны и приобретать положительный заряд, что делает его хорошим катионитом. Также благодаря наличию амино- и гидроксигрупп полимер способен адсорбировать большое количество органических водорастворимых веществ (например, токсины, образующиеся в процессе пищеварения) [100]. Фактически, ХЗ – единственный положительно заряженный полисахарид природного происхождения, обладающий антибактериальной и противогрибковой активностью [101]. Кроме того, ХЗ обладает мукоадгезивными, анальгезирующими, гемостатическими свойствами, биосовместимостью и биодеструкцией, что обуславливает его использование в прикладных областях, таких как создание искусственной кожи, заживление ран, тканевой инженерии и доставки лекарственных средств в организм человека [102-106].

Несмотря на значительный перечень достоинств ХЗ, как и многие другие биополимеры, обладает недостатками, основными из которых являются низкие механические свойства материалов на его основе и ограниченная растворимость особенно неспособность растворяться в физиологическом растворе (рН 7,4) которые препятствуют его более широкому применению в различных областях [107-109]. Поэтому большой интерес вызывают модифицированные ХЗ, которые обладают заметно лучшей растворимостью и широким набором новых функциональных свойств.

В настоящее время получено большое количество хитозановых композитов с другими полимерами, а также с наполнителями как неорганического, так и органического происхождения, среди которых наиболее распространенными являются: керамические наполнители, наночастицы металлов, слоистые силикаты, углеродные наполнители и др. [110-112]. В большинстве случаев ХЗ обеспечивает биосовместимость и биорезорбируемость композита, а наполнители,

в свою очередь, придают материалу оптические, электропроводящие, каталитические и другие свойства [113-117]. Так, композиты на основе ХЗ могут быть использованы для адресной доставки лекарственных средств, получения биосенсоров, сорбентов, ранозаживляющих материалов, скаффолдов и др. [118-120].

Одним из ярких приложений является использование хитозановых композитов с наполнителями – фосфатами или полифосфатами кальция для реконструкции поврежденной костной ткани. Известно, что сочетание ХЗ с фосфатом кальция повышает механическую прочность материала, а также osteoconductive свойства [121].

Для придания антибактериальных и биосенсорных свойств часто в качестве наполнителя используют наночастицы металлов [122-124]. Известно, что композиты ХЗ с серебром обладают более высокой антибактериальной активностью чем без него, как к грамположительным *S. aureus* и *Bacillus subtilis* др., так и к грамотрицательным *E. Coli*, *Salmonella choleraesuis* [125]. *Staphylococcus aureus* и др. [126, 127]. Более того, совмещение наночастиц с биополимером приводит к его стерической стабилизации и снижает потенциальную тенденцию к агрегации, что обеспечивает увеличение эффективной концентрации наночастиц, взаимодействующих с клеточной поверхностью.

Помимо наночастиц серебра для медицинских приложений используют и другие металлы, например, наночастицы золота. Основными областями применения являются диагностика и визуализация при лечении раковых заболеваний, создание материалов доставки лекарств, каркасов для тканевой инженерии. Одним из недостатков использования наночастиц золота можно считать неоднозначность литературных данных, которые не позволяют дать однозначную оценку их биосовместимости. Работы [128-131] сообщают о том, что наночастицы золота являются биосовместимыми. Наряду с этим, существуют и другие экспериментальные данные, подтверждающие цитотоксичность материалов на основе наночастиц золота [132]. Кроме того, следует обратить

внимание на то, что традиционные подходы получения наночастиц золота основанные на использовании токсичных реагентов таких как боргидрид натрия, перекись водорода, щавелевой кислоты и других [133].

Помимо непосредственно самих металлов их оксиды также часто используют в качестве наполнителя для получения композитов. В работе [134] показано, что при получении гемостатических хитозановых губок добавление ZnO улучшает антибактериальную активность по отношению к *S. Aureus*. Использование TiO_2 в качестве наполнителя позволяет получать композиты, обладающие высокой механической прочностью, стойкостью к УФ-облучению, антибактериальной и каталитической активностью. Такие композиты могут найти свое применение в биомедицине и косметологии [135, 136]. Кроме того, известны примеры использования хитозановых композитов с TiO_2 и ZnO в качестве антикоррозионного покрытия [137], а добавление Fe_3O_4 традиционно придает композитам магнитные свойства, которые могут использоваться для очистки сточных вод [138].

Композиты состава полимер/наноглина представляют собой класс материалов с многообещающими физико-химическими свойствами, зависящими от межфазного взаимодействия. Глины гидрофильны по своей природе, что позволяет их смешивать с гидрофильными полимерами, которым и является ХЗ [139]. ХЗ-глиняные композиты демонстрируют хорошие механические, термические, биодеструктивные свойства, которые превосходят обычные композиты. Например, добавление ММТ в полимерную матрицу ХЗ значительно увеличивает прочность на растяжение пленочных материалов, а также увеличивает термическую стабильность композитов [140, 141]. Интеркаляция ММТ в ХЗ возможна благодаря образованию водородных связей и электростатическому взаимодействию между положительнозаряженными аминогруппами ХЗ и отрицательнозаряженными центрами в ММТ, что обеспечивает прочное взаимодействие, которое определяет увеличение прочностных характеристик [142]. В зависимости от количества введенного минерального наполнителя и способа приготовления наночастиц ММТ может

находиться как в интеркалированной, так и в эксфолиированной формах. Аналогичный механизм может реализовываться и для других глинистых минералов, например сапонита, ректорита, волластонита, галлуазита, Mg-Al слоистых двойных гидроксидов и др. [143, 144]. Такие композиты могут применяться в качестве катализаторов, в которых положительнозаряженный ХЗ является промежуточным слоем между отрицательнозаряженными слоистыми соединениями. Объединение свойств ХЗ с цеолитом приводит к улучшенной химической стабильности и увеличению сорбционной активности ионов тяжелых металлов, что обеспечивает возможность применения не только в селективной сорбции и получении разделительных мембран [145, 146], но и в качестве катализаторов, а также в биомедицинских приложениях [147-149].

1.2 Биокompозиты с графеном

Среди широкого разнообразия используемых наполнителей одним из наиболее перспективных является графен, за «новаторские эксперименты» с которым Андрей Гейм и Константин Новоселов были удостоены Нобелевской премии в 2010 году. Уникальное строение графена, представляющее собой плоский слой sp^2 -гибридизованных атомов углерода, образующих гексагональную решетку, характеризуется высокой стабильностью и обуславливает выдающиеся механические свойства [150]. Каждый атом углерода в решетке имеет р-орбиталь, которая способствует образованию делокализации электронов, что придает графену превосходные электропроводящие свойства. Наряду с высокой прочностью и электропроводностью графен обладает целым комплексом полезных свойств: гибкость, эластичность, химическая устойчивость, высокий коэффициент оптического поглощения и др. В последние годы благодаря превосходным характеристикам графена, потенциал его использования привлек огромное внимание в самых различных отраслях науки, начиная от разработки мембран, наноэлектроники, литий-ионных батарей, электродов, суперконденсаторов,

датчиков и заканчивая получением материалов биомедицинского назначения для доставки лекарств и тканевой инженерии [151, 152].

Одним из главных ограничений широкого внедрения графена является агрегация его частиц, происходящая за счет мощных ван-дер-ваальсовых и диполь-дипольных взаимодействий между молекулами, что приводит к изменению физико-механических, электрических и химических свойств. Другим серьезным препятствием является гидрофобность графена, которая затрудняет межфазное взаимодействие между наполнителем и полимерной матрицей. Плохая совместимость может привести к образованию агрегатов графеновых наночастиц или зазорам между компонентами композита, которые действуют как точки концентрации напряжений и, следовательно, вызывают преждевременный выход материалов из строя. Кроме того, не менее важную роль играют геометрические характеристики и соотношение сторон наполнителя. Графен обладает большой площадью поверхности, высоким соотношением сторон и высокой прочностью, что является причиной улучшения свойств его нанокомпозитов. Так, частицы графена с большой площадью поверхности являются более эффективными армирующими агентами, чем аналогичные структуры с меньшим соотношением сторон [153]. Вышеперечисленные недостатки могут быть преодолены посредством модификации графена, как химической, так и нековалентной, которые оказывают огромное влияние на сохранение стабильности дисперсии.

Так, одним из широко используемых способов модификации графена является его обработка сильными окислителями, что приводит к образованию эпоксидных, гидроксильных и карбоксильных групп, в результате чего образуется оксид графена (ОГ). Эти полярные кислородсодержащие функциональные группы придают ОГ гидрофильность. Этот подход позволяет придать графену превосходную диспергируемость во многих полярных растворителях, особенно в воде. Кроме того, кислородсодержащие функциональные группы могут обеспечивать реакционноспособные центры для химической модификации или функционализации ОГ, что, в свою очередь, может быть использовано для разработки новых материалов на основе ОГ. Обычно оксид графена

синтезируют методами Броди, Штауденмайера, Хаммерса или некоторыми вариациями данных методов, каждый из которых основан на окислении графита [154].

Благодаря своей гидрофильности в литературе встречается большое количество работ, посвященных формированию композитов с различными полимерными матрицами. Так, например, нанокомпозиты на основе ХЗ получают преимущественно путем добавления ОГ к подкисленному раствору ХЗ, при этом получаемый раствор композита может быть дополнительно обработан ультразвуком, щелочью или подвергнут сублимационной сушке [155-157]. Стабильность композита достигается преимущественно за счет электростатических взаимодействий аминогрупп ХЗ и отрицательно заряженных листов ОГ. Полученные композиты получают в виде гранул, пленок, губок и т.д. и могут использоваться в качестве сорбентов для удаления загрязнителей (красителей, ионов тяжелых металлов, ароматических соединений, фармацевтических продуктов) из водных сред [158-159]. Известны примеры разработки композитов на основе ХЗ и ОГ для нужд тканевой инженерии. В частности, исследователи [160] получили трехмерный пористый скаффолд с содержанием ОГ до 3 % по массе. Результаты работы показали, что добавление ОГ в полимерную матрицу позволило не только улучшить механические характеристики и порообразование, но и увеличить биоактивность конечного материала, что предопределяет его перспективность для восстановления костной ткани. В работе [161] были получены нановолокна на основе ХЗ, ПВС и ОГ методом электроспиннинга с содержанием графена 0,4 и 0,6%. Результаты показали, что изготовленные высокопрочные нановолокна могут быть пригодны в качестве каркасов для пролиферации клеток, а использование оксида графена привело к улучшению их механических характеристик. Методом лиофильной сушки были получены пористые каркасы с электрической проводимостью до 0,134 См/м и показана их перспективность для регенерации сердечных тканей. В целом, наличие проводимости является обязательным для их восстановления. В работе [162] продемонстрирована возможность регенерации другой

токопроводящей ткани - нервной, используя гидрогель на основе ХЗ и ОГ с содержанием графена до 3 масс. % со значениями 0,1 См/см [163].

Использование природных полимеров в сочетании с графеновыми наполнителями также широко используется в биомедицинских целях из-за присущей им биоразлагаемости и биосовместимости. Кроме того, природные полимеры подавляют распространенные проблемы, часто вызываемые синтетическими полимерами, включая токсичность и хронические воспалительные процессы, а также отсутствие узнавания клетками. Однако одним из основных недостатков природных полимеров является их низкая технологичность по сравнению с синтетическими, что ограничивает их применение. Например, желатин демонстрирует подходящие химико-физические свойства для изготовления биокompозитов, в частности, для инженерии нервной ткани. Желатин склонен к образованию сильных взаимодействий с графеном и ОГ, являющимися результирующими композитами, применяемыми для клеточной визуализации и доставки лекарств [164]. Кроме того, желатин может помочь отслаивать природный графит в водном растворе. Авторы [165] сообщили о получении нанокомпозитов ОГ с желатином методом смешивания раствора и варьированием содержания ОГ. Было обнаружено, что при добавлении 1 масс. % ОГ прочность на разрыв, модуль Юнга и разрывное удлинение желатина увеличиваются на 84, 65 и 158 масс. % соответственно. ОГ не только выступал в качестве эффективного армирующего наполнителя, но также в качестве биологического активатора, обладающего большим потенциалом для биомедицинского применения.

С целью получения материалов перспективных для применения в биомедицинской инженерии, доставки лекарств и создания каркасов для тканевой инженерии в работе [166] получили нанокомпозитные пленки на основе альгината натрия и ОГ и протестировали изменение свойств в зависимости от содержания ОГ. Результаты показали, что водородные связи и высокая межфазная адгезия между ОГ и альгинатом значительно улучшают термическую стабильность и механические свойства нанокомпозита. Прочность

при разрыве и модуль Юнга композитных пленок, содержащих 6 масс. % ОГ, увеличились с 71 и 0,85 ГПа до 113 МПа и 4,18 ГПа соответственно.

В работе [167] были получены каркасы на основе КГ и ОГ, содержащие апатит с улучшенной остеокондуктивностью и биосовместимостью для регенерации кости при дефектах черепа у крыс. Функционализация КГ с помощью ОГ обеспечила множество активных центров для биомиметического процесса минерализации благодаря многочисленным кислородным группам, присутствующим в базальной плоскости. Гомогенное распределение ОГ внутри коллагенового каркаса увеличивало шероховатость и площадь поверхности, что обеспечивало более благоприятную среду для адгезии клеток, а гидрофильные функциональные группы способствовали адсорбции белков, что создавало благоприятные условия для клеточной пролиферации. Более того, благодаря ОГ, процесс биоминерализации поддерживался электростатическими взаимодействиями, которые поддерживали рост кристаллов и отложение апатита.

Известны примеры получения композитов на основе ОГ и ПЛА с целью получения материалов, обладающих антимикробными свойствами и биосовместимостью. Так, в работе [168] показано, что добавление 2 масс. % ОГ позволяет увеличить модуль Юнга при разрыве с 2,1 до 2,4 ГПа, а также разрывное удлинение с 2 до 2,5 %. Антибактериальные свойства композита с 5% масс. содержанием ОГ позволило уничтожить 100% бактерий *S.aureus* и кишечной палочки. Интересна работа [169], в которой получали нановолокна для изготовления биосовместимых каркасов из ПЛА/ОГ для тканевой инженерии. Полученные нанокомпозиты также обладали улучшенными механическими свойствами, хорошей цитосовместимостью, повышенной гидрофильностью и остеобиоактивностью. В работе [170] авторы показали, что внедрение ОГ в количестве 5 масс. % позволило улучшить скорость образования и количество гидроксиапатита на композитах. Кроме того, добавление ОГ позволило увеличить степень водопоглощения с 12,5 до 206,81 %.

Тем не менее, использование ОГ значительно ограничивает практическое использование композитных материалов с его участием ввиду

его диэлектрических свойств. Поэтому с целью придания конечным композитам электропроводности ОГ восстанавливают, тем самым получая восстановленный оксид графена (ВОГ). Для этого часто используют термические методы без доступа воздуха либо реактивы-восстановители. Наиболее распространенными восстановителями являются боргидрид натрия, гидразин, 1,1-диметилгидразин, гидрохинон, которые, к сожалению, являются токсичными и не подходят для биомедицинских нужд [171, 172]. Поэтому в настоящее время разрабатываются различные экологичные методы восстановления ОГ с использованием аскорбиновой кислоты и других «зеленых» восстановителей [173, 174]. Тем не менее, при восстановлении ОГ остаются кислородсодержащие группы, которые влияют на функциональные свойства получаемого композита поэтому, приравнивание ВОГ и «истинного или первородного» графена не является корректным.

Известно, что в идеале электропроводящий графенсодержащий нанокompозит должен иметь хорошую проводящую сеть наполнителя, которая обеспечивает более высокую проводимость при более низкой загрузке графена. Фактически, низкая объемная доля графена в композите является ключевым фактором для технологичности композита, а также снижения стоимости конечных материалов. Это связано с тем, что на электрические свойства композитов графена и полимера главным образом влияют состояние дисперсии, собственная электропроводность, контактное сопротивление и качество взаимосвязанной трехмерной сети. В обзорной статье [175] было показано, что композиты на основе графена более эффективны с точки зрения улучшения электропроводности по сравнению с композитами на основе углеродных нанотрубок благодаря тому, что у графена двумерная структура, наделяющая его более высокой развитой поверхностью в отличие от углеродных нанотрубок, в которых внутренняя поверхность недоступна. Также получение графена более экономично, поскольку его можно легко получить из графита в большом количестве. Это позволяет использовать графеновые нанокompозиты во многих приложениях, где важна электропроводность. В литературе приводится

множество примеров использования графена в качестве проводящего наполнителя для улучшения электропроводящих свойств полимеров. Например, были получены композиты с различным объемным и массовым содержанием ВОГ, такие как полистирол/ВОГ, в которых наблюдалось появление электропроводности до 72,18 См/м при 2,45 об. % ВОГ [176]. Композиты на основе полиуретана и ВОГ были получены и исследованы в работе [177], в которой продемонстрировано увеличение электропроводности до $2,75 \times 10^{-4}$ См/см при содержании ВОГ 6 % масс. Пленочные композиты состава ПЛА/ВОГ были получены раствором способом при помощи ультразвукового диспергирования в ДМФА [178]. Полученные композиты обладали электропроводностью при 0,6 масс. % ВОГ до $3,55 \times 10^{-5}$ См/м, а также улучшенными прочностными характеристиками. В работе [179] удалось получить нанокompозит на основе ПЛА и ВОГ с более высокими значениями электропроводности с $7,16 \times 10^{-14}$ См/м до $1,63 \times 10^{-2}$ См/м с 2 % масс. ВОГ

Нанокompозиты на основе ХЗ и ВОГ были получены растворением ХЗ в водном растворе уксусной кислоты с добавлением 1–7 масс. % модифицированного ВОГ с последующей ультразвуковой обработкой [180]. Модуль Юнга и прочность на разрыв композитной пленки при 6 % масс. содержании ВОГ были в 2,7 и 2,3 раза больше, чем у пленки ХЗ и продемонстрировали увеличение удлинения при разрыве от 1 до 6 %. Листы ВОГ сформировали проводящую сеть внутри непроводящей полимерной матрицы, что позволило увеличить электропроводность на пять порядков до 1,28 См/м для композита с 6 % масс. содержании ВОГ. Интересно, что композит с 7 масс. % содержанием ВОГ показал меньшую проводимость, вероятно, связанную с частичной агломерацией наполнителя.

В работе [181] сообщалось, что композиты ПС/ВОГ с содержанием ВОГ всего 1 об.% имеет электропроводность на 10 порядков больше по сравнению с чистым ПС. В другой работе [182] было показано, что использование графена для струйной печати открывает путь к дешевым и масштабируемым способам внедрения нанокompозитных чернил для получения волокон с высоким

содержанием графена (60 об.% графена и 40% полилактид-согликолида. Напечатанные волокна на основе композитных чернил демонстрировали электропроводность после отжига до 8,75 См/см, при этом композиты с наименьшим содержанием графена 20 об.% показали проводимость практически до 1 См/см.

Несмотря на то, что графен тяжело диспергировать и тяжело совместить с гидрофильными полимерными матрицами в работе [183] получили композиты на основе КГ и графена, которые обладали электропроводностью почти до 0,7 См/м при 32 масс. % содержания графена. Было показано, что полученные композиты демонстрируют улучшенное созревание кардиомиоцитов на их поверхности.

В 2019 году были получены нити для 3D-печати, которые обладали электропроводностью около 1×10^{-3} См/см и пределом разрывной прочности около 35 МПа при этом содержание графена составляло 5 масс. % [184].

В последнее время большое внимание уделяется нековалентной функционализации графена для получения его стабильных водных дисперсий. Этот подход заключается в использовании поверхностно-активных веществ (ПАВ), обладающих полярной и неполярной частью, последняя из которых адсорбируется на поверхности графена, тем самым стабилизируя его [185]. Использование амфифильных ПАВ позволило получать стабильные дисперсии гидрофобного графена в водных средах. Влияние концентрации ПАВ, начальной концентрации графита, времени обработки ультразвуком и молекулярной структуры ПАВ на концентрацию графена в растворе подробно были изучены в работах [186-188].

Основными типами ПАВ являются катионные, анионные и неионогенные ПАВ, механизм стабилизации графеновых частиц отличается. Наиболее распространенным является додецилсульфат натрия – анионное ПАВ с гидрофобным хвостом и полярной головной группой. Например, авторы в работе [189] изучали дисперсию графена, стабилизированного додецилсульфатом натрия, для установления оптимальных концентраций

стабилизатора. Было показано, что при его концентрации более 40 микромоль образуются стабильные коллоидные дисперсии графена в водной среде при концентрации графена 0,1 г/мл. Также в работе [189] продемонстрирована возможность получения графеновых дисперсий в водной среде с использованием катионного бромида гексадецилтриметиламмония. Показано, что при концентрации стабилизатора 0,1 мг/мл возможно образование дисперсий графена до 35 мкг/мл. В дополнение к предыдущим работам амфифильные блок-сополимеры плуроника и тетроники использовались для получения дисперсий графена с концентрацией, превышающей 0,07 мг/мл, посредством обработки ультразвуком и дальнейшим центрифугированием [190]. Тем не менее, несмотря на имеющийся массив данных, по сей день сохраняется потребность в поиске новых эффективных стабилизаторов, позволяющих получать высококонцентрированные стабильные дисперсии графена в водной среде, а также разработке способов получения и изучения свойств дисперсий на основе уже известных стабилизаторов с различными графеновыми предшественниками.

Особенного внимания заслуживают интеркалированные соединения графита, которые могут выступать в качестве предшественников графена. Главной отличительной особенностью этих материалов заключается в том, что интеркаляция представляет собой процесс внедрения интеркалянтов (молекул-«гостей») в свободное пространство между графеновыми слоями. Интеркалированные соединения графита относительно трудно получить по сравнению с графитом, имеющим адсорбированные молекулы на его поверхности, однако их структура значительно стабильнее, поскольку введенные молекулы защищены окружающими слоями графена [191]. Интеркалирование, как процесс, реализуется благодаря слабым Ван-дер-Ваальсовым взаимодействиям между слоями графита, что в свою очередь позволяет интеркалирующему агенту проникнуть в межслоевое расстояние. Для этого в большинстве своем природный графит выдерживают в растворе, содержащем интеркалянты, при комнатной температуре с постоянным перемешиванием и различной продолжительностью обработки.

Затем полученный продукт промывают водой и удаляют остатки влаги. Далее полученный интеркалированный графит подвергают термическому расширению при воздействии температур от 700 до 1000 °С, в результате чего образуется расширенный графит [192]. Приведенная схема отличается простотой реализации, относительно низкой стоимостью, что является ее основным преимуществом. Кроме того, изменяя температуру и продолжительность проведения реакции можно в значительной степени варьировать и свойства получаемого продукта. Очевидно, что помимо продолжительности и температуры определяющее значение будет иметь и природа используемых интеркалянтов, которые можно разделить на 2 группы: донорного типа, к которым относятся щелочные и щелочно-земельные металлы и акцепторного типа – галогены, галогениды металлов или сильные окислители.

В качестве интеркалянтов акцепторного типа широко известна серная кислота, приводящая к образованию бисульфата графита, которое получило широкое применение. Бисульфат графита может быть использован для получения оксида графита, пенографита, на основе композиций которого могут быть получены, например, огнеупорные материалы [193]. В работе [194] подробно описан способ получения интеркалированного графита при использовании серной кислоты и изучены температурные условия получения продукта расширенного графита на его основе. Установлено, что при термическом расширении ниже 650°С отслаивание листов графита протекает с образованием червеобразных частиц, в результате чего объем отслоения увеличивается. Выше 650°С увеличение объема отслоения, т.е. уменьшение объемной плотности, становилось более быстрым, но порообразование внутри частиц было ограниченным. Выше 800°С скорость увеличения объема отслоения замедлялась, но изменение объемной плотности было незначительным, но увеличился размер пор. Авторы [195] получили термически расширенный графит из графита интеркалированного FeCl_3 . Образующийся продукт был characterized значениями насыпной плотности около 0,6 г/см³, площадью поверхности 11 м²/г и общим объемом пор 0,29 мл/г.

Ярким примером интеркалянтов донорного типа являются частицы металлов. Отличительной особенностью таких интеркалянтов являются улучшенные проводящие свойства, вследствие изменения их электронной структуры. Так, в работе [196] описан способ получения интеркалированного Са двухслойного графена C_6CaC_6 , в котором атомы Са расположены между двумя слоями графена. Также в литературе приведены примеры интеркалирования Li в структуру двухслойного графена [197]. Следует отметить, что изготовление такого интеркалированного графена донорного типа является сложной задачей, поскольку 2D-структура очень не устойчива, а интеркалированное производное легко деинтеркалируется.

Таким образом, использование графеновых материалов с биополимерами открывает большие перспективы перед исследователями в широком спектре различных приложений. Однако, известные на данный момент работы с внедрением «первородного» неокисленного графена в биополимер немногочисленны, поскольку совмещение гидрофобного графена с гидрофильной полимерной матрицей – процесс крайне затруднительный [198, 199]. Кроме того, образование стабильной высококонцентрированной дисперсии графена в водной среде также представляется тяжелоосуществимым. Выбор графенового предшественника, свойства которого будут в значительной степени определять успех формирования графеновых дисперсий и композитов на их основе является наиважнейшим фактором. В связи с этим получение композиционных материалов на основе биополимеров и графена является чрезвычайно актуальной и важной задачей.

ВЫВОДЫ ПО ЛИТЕРАТУРНОМУ ОБЗОРУ

На сегодняшний день опубликовано довольно большое количество работ, посвященных разработке и исследованию свойств нанокomпозиционных материалов на основе биосовместимых и биоразлагаемых полимеров. Но, несмотря на это, не всегда удается получать материалы, удовлетворяющие все растущие требования областей их практического использования. Так, по-

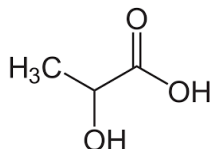
прежнему остается актуальной разработка биосовместимых электропроводящих нанокомпозитов для использования в различных приложениях, поскольку известные электропроводящие полимеры (полианилин, политиофен и др.) не являются биосовместимыми и биоразлагаемыми, а известные биосовместимые полимеры (полилактид, коллаген, хитозан и др.) не обладают электропроводностью. Поэтому разработка таких материалов связана прежде всего с использованием электропроводящих наполнителей, среди которых наиболее перспективным является графен. Наличие последнего в полимерной матрице даже в небольших количествах приводит к фактически появлению электропроводящей способности материала, к повышению прочностных характеристик, а также к появлению и/или улучшению многих других свойств, характерных для графена.

Другая актуальная задача, определяющая саму возможность формирования графеносодержащих композитов, заключается в разработке оптимальной методики совмещения графена и полимера, а также выборе предшественника графена. Последнее является наиболее важным поскольку будет определять особенности строения графенового листа (размеры, количество слоев, наличие дефектов, функциональных групп и пр.), которые и предопределяют свойства материала. Поэтому поиск оптимального предшественника и разработка эффективного метода его превращения в графен являются важнейшими задачами, которые необходимо решить для получения материала с востребованными свойствами.

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

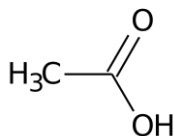
2.1 Характеристика исходных веществ

1. Молочная кислота (МК)



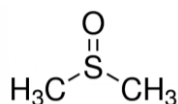
ГОСТ 490-2006, ММ = 90,08 г/моль, $T_{пл} = 18\text{ }^{\circ}\text{C}$ $T_{кип} = 122\text{ }^{\circ}\text{C}$. Бесцветная жидкость.

2. Уксусная кислота (УК)



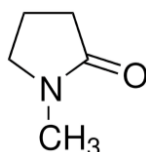
ГОСТ 19814-74, ММ = 60,05 г/моль, $T_{пл} = 16,75\text{ }^{\circ}\text{C}$ $T_{кип} = 118,1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Бесцветная жидкость.

3. Диметилсульфоксид (ДМСО)



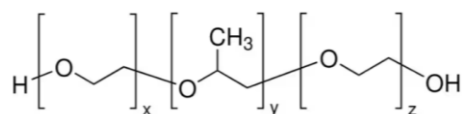
ТУ 2635-114-44493179-08, ММ = 78,13 г/моль, $T_{пл} = 18,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{кип} = 189\text{ }^{\circ}\text{C}$. Бесцветная жидкость.

4. N-Метил-2-пирролидон (N-МП)



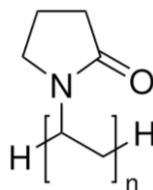
ТУ 20.59.52-235-44493179-2017, ММ = 78,13 г/моль, $T_{пл} = -24\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{кип} = 202\text{ }^{\circ}\text{C}$. Бесцветная жидкость.

5. Pluronic F108 (ПЛУ)



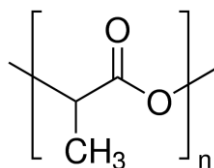
ММ = 14,6 кДа, $x+z = 82-86$ масс. % полиоксиэтиленовых, $y = 14-16$ масс. % полиоксипропиленовых блоков. Порошок белого цвета. «Sigma Aldrich»

6. Поливинилпирролидон (ПВП)



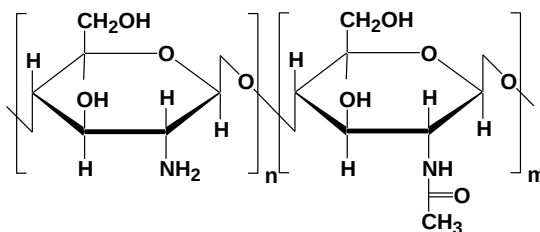
ММ = 40 кДа, $n = 360$. Порошок белого цвета. «Sigma Aldrich»

7. Полилактид (ПЛА)



ММ = 170 кДа. $T_{пл} = 170-180$ °С, $T_{ст} = 54-58$ °С. Порошок белого цвета. «Sigma Aldrich»

8. Хитозан (ХЗ)



ММ = 200 кДа, $n = 91\%$ $m = 9\%$, степень деацетилирования 91%. «Биопрогресс»

9. Коллаген (КГ) I типа был выделен из шкур крупного рогатого скота в Первом Московском государственном медицинском университете имени И.М. Сеченова, по методикам хорошо описанным в работах [200, 201].

10. Расширенный малослойный графит (МСГ) с количеством слоев 10-15, межплоскостным расстоянием до 3.49 Å и размерами в латеральной плоскости 200-300 мкм был получен посредством «термоудара» интеркалированных соединений $C_2F \cdot xClF_3$ в Институте неорганической химии имени А.В. Николаева СО РАН, по методике хорошо описанной в работе [1].

2.2 Получение дисперсий

2.2.1 Получение дисперсий графена в МП

Для получения дисперсий графена с заданными концентрациями необходимые навески расширенного МСГ (6 мг, 18 мг) смешивали с 50 мл МП и обрабатывали ультразвуком в ванне «Сапфир» УЗВ-2.8 (мощность 100 Вт, частота 35 кГц) в течение 1 и 2 ч, соответственно.

2.2.2 Получение водной дисперсий графена, стабилизированной ПВП или ПЛУ

Навеску стабилизатора ПВП или ПЛУ (200 мг) растворяли в 20 мл дистиллированной воды, затем к полученному раствору добавляли расширенный МСГ различной массы (6 мг, 12 мг, 18 мг, 24 мг, 30 мг) и диспергировали в ультразвуковой ванне «Сапфир» УЗВ-2.8 (мощность 100 Вт, частота 35 кГц). Продолжительность ультразвуковой эксфолиации составляла 1-4 часа для получения ПВП-стабилизированной дисперсии и 1-2 ч при использовании ПЛУ в качестве стабилизатора.

2.3 Получение нанокompозитных пленок

2.3.1 Получение пленок полилактида

Навеску ПЛА (600 мг) растворяли в 20 мл хлороформа при постоянном перемешивании. После полного растворения ПЛА полученный раствор отфильтровывали, выливали на горизонтальную поверхность чашки Петри и сушили при комнатной температуре до постоянной массы в течение 2 суток.

2.3.2 Получение пленок полилактид-графен

Навеску расширенного МСГ (6 мг, 18 мг) добавляли к N-МП и обрабатывали ультразвуком (мощность 100 Вт, частота 35 кГц) в течение 1-2 часов. Затем к полученной дисперсии добавляли навески ПЛА (594 мг, 582 мг) и перемешивали до полного его растворения. Далее полученные растворы

выливали в дистиллированную воду до полного осаждения композитов. Выпавшие осадки отфильтровывали, промывали многократно водой и сушили в вакууме при постепенном подъеме температуры от 20 до 50°C. Далее полученные графенсодержащие композиты растворяли в 20 мл хлороформа при постоянном перемешивании, отфильтровывали, выливали на горизонтальную поверхность чашки Петри и сушили при комнатной температуре до постоянной массы в течение 2 суток.

2.3.3 Получение пленок коллагена

Для получения пленок КГ (600 мг) растворяли в 20 мл 3%-ной УК при интенсивном перемешивании в течение 24 ч. Затем раствор отфильтровывали на стеклянной воронке с пористым дном, выливали на горизонтальную поверхность чашки Петри и сушили при комнатной температуре в течение 3 суток. Далее пленки снимали с чашки и сушили в вакууме при 40 °C до постоянной массы.

2.3.4 Получение пленок коллаген-ПВП

Навеску ПВП (200 мг) растворяли в 20 мл дистиллированной воды. Далее к полученному раствору добавляли предварительно приготовленный раствор КГ (400 мг в 20 мл воды) в 3%-ной УК и перемешивали до полной гомогенизации. Затем раствор отфильтровывали на стеклянной воронке с пористым дном, выливали на горизонтальную поверхность чашки Петри и сушили 3 суток при комнатной температуре. После этого плёнки снимали с чашки Петри и сушили в вакуумном шкафу в течение суток при 40⁰C до постоянной массы.

2.3.5 Получение пленок коллаген-ПВП-графен

Коллаген (388 мг, 382 мг, 376 мг) предварительно растворяли в 20 мл 3%-ной УК при интенсивном перемешивании в течение 24 ч. Затем к образовавшимся растворам добавляли соответствующие ПВП-стабилизированные графеновые дисперсии с концентрацией графена 0,6 мг/мл, 0,9 мг/мл и 1,2 мг/мл, перемешивали до полной гомогенизации и дополнительно обрабатывали

ультразвуком в течение 1 часа. Полученные композитные растворы отфильтровывали на воронке со стеклянным пористым дном, выливали на горизонтальную поверхность чашки Петри и сушили при комнатной температуре в течение 3 суток. Затем пленку снимали с чашки и сушили в вакууме при 40 °С до постоянной массы.

2.3.6 Получение пленок хитозана

Навеску ХЗ (600 мг) растворяли в 20 мл дистиллированной воды при интенсивном перемешивании с добавлением УК или МК в течение часа. После перемешивания полученный раствор отфильтровывали на воронке со стеклянным пористым дном. Затем раствор выливали на горизонтальную поверхность чашки Петри и сушили 24 часа при комнатной температуре до постоянной массы. После этого плёнки снимали с чашки Петри и сушили в вакуумном шкафу в течение суток при 50 °С до постоянной массы.

2.3.7 Получение пленок хитозан-ПВП, хитозан-ПЛУ

Навеску стабилизатора – ПВП или ПЛУ (200 мг) растворяли в 20 мл дистиллированной воды. Затем к полученному раствору добавляли ХЗ (400 мг) и перемешивали в течение часа с добавлением УК или МК. Когда полученный раствор достигал полной гомогенизации, отфильтровывали на стеклянной воронке с пористым дном. Затем раствор выливали на горизонтальную поверхность чашки Петри и сушили 24 часа при комнатной температуре до постоянной массы. После этого плёнки снимали с чашки Петри и сушили в вакуумном шкафу в течение суток при 50 °С до постоянной массы.

2.3.8 Получение пленок хитозан-ПВП-графен, хитозан-ПЛУ-графен

К графеновым дисперсиям в растворе стабилизаторов ПВП или ПЛУ с концентрацией графена 0,3 мг/мл, 0,6 мг/мл, 0,9 мг/мл, 1,2 мг/мл и (1,5 мг/мл в случае с ПЛУ) добавляли ХЗ (394 мг, 388 мг, 382 мг, 376 мг, 370 мг), УК или МК и перемешивали до полной гомогенизации. Полученные растворы

композитов отфильтровывали на воронке со стеклянным пористым дном, затем выливали на горизонтальную поверхность чашки Петри и сушили в течение 3 суток при комнатной температуре до постоянной массы.

2.4 Методы исследования

2.4.1 Атомно-силовая микроскопия (АСМ)

Для исследования толщины и латеральных размеров получали АСМ-изображения на сканирующем зондовом микроскопе «Solver PRO P47» в полуконтактной моде зондом «NSG 11 (NT-MDT)» с частотой сканирования не более 2 Гц и скоростью сканирования не более 10 мкм/с.

2.4.2 Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ)

Для исследования латеральных размеров графеновых частиц был использован аппаратный комплекс просвечивающей электронной микроскопии «JEM-2200FS (JEOL)». ПЭМ работает при ускоряющем напряжении 200 кВ с разрешением 0,1 нм. Диапазон увеличения составляет 50.0 х.

2.4.3 Исследование дисперсий графена методом электронной спектроскопии

УФ-спектры водных графеновых дисперсий получали на спектрофотометре «UV-Vis Agilent 8453» при температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$ в диапазоне длин волн 240-400 нм с использованием кварцевой кюветы с толщиной 1 см. В качестве растворов сравнения использовали водные растворы ПВП или ПЛУ.

2.4.4 Динамическое светорассеяние

Размеры частиц в водной среде регистрировали на фотонном корреляционном спектрометре динамического рассеяния света «Malvern ZetaSizerNano». Источником лазерного излучения служил He-Ne-газовый лазер мощностью 4 мВт и длиной волны 633 нм. Угол рассеяния света составлял 173° . Измерения проводились при 25°C в кюветах толщиной 1 см.

2.4.5 Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

Для исследования морфологии поверхности и сечений образцов был использован настольный сканирующий электронный микроскоп «Hitachi TM3000». Рабочая энергия первичного электронного излучения составляла 5 кВ, диапазон увеличения 15-30000 х, пространственное разрешение 30 нм, глубина резкости: 0,5 мм. Высокочувствительный полупроводниковый детектор обратно рассеянных электронов. Источником электронов служил предварительно сфокусированный вольфрамовый катод. Пленки площадью 0,4×0,4 см² предварительно кондиционировали в эксикаторах с P₂O₅ (25°C) в течение 3 недель. Сечения получали посредством заморозки пленок в жидком азоте с последующим сломом пленок.

2.4.6 Рентгенофазовый анализ (РФА)

Дифрактограммы полученных нанокompозитов и МСГ получали на рентгеновском дифрактометре «D8 Advance Bruker AXS» с Cu-K α -излучением в диапазоне 2 θ от 10 до 70°.

2.4.7 Физико-механические испытания

Физико-механические характеристики материалов на одноосное растяжение устанавливали в соответствии с ГОСТ 11262-80 на образцах типа 3 на разрывной машине «Instron 4465». Образцы испытывались не менее чем через 24 часа после их использования и предварительно кондиционировались при комнатной температуре и влажности около 50%. Скорость движения зажимов разрывной машины составляла 2 мм/мин, а размеры образцов составляли 40 × 5 × 0.16 мм³.

2.4.8 Исследование электронной объемной проводимости нанокompозитных пленок

Электропроводность композитных пленок определяли четырехэлектродным методом Ван дер Пау с использованием мультиметра «ABM-455». Электрические

контакты изготавливались из серебряной пасты, выводные провода из меди. Микрометром измеряли толщину пленок, которая варьировалась от 100 до 150 мкм. Для изготовления экспериментальных образцов пленки разрезали на квадраты площадью около 1 см². Удельную электропроводность (σ_v) вычисляли по уравнению:

$$\sigma_{уд} = \frac{l}{R_{э} \cdot S},$$

Где $R_{э}$ – объемное электрическое сопротивление; l – длина композита; S – площадь его поперечного сечения. За результат принимали среднее значение, полученное в результате трех измерений.

2.4.9 Исследование тензорезистивных свойств нанокompозитных пленок

Тензорезистивные характеристики изучали на образцах размером 10×2 мм², приклеенных к балкам равного сопротивления изгибу, путем деформации балок и регистрации изменения электрического сопротивления во времени.

2.4.10 Исследование температурных зависимостей электросопротивления нанокompозитных пленок

Температурные зависимости электросопротивления измеряли от комнатной температуры до криогенных температур в атмосфере гелия путем погружения держателей в транспортный сосуд Дьюара. Для измерений температурных зависимостей были использованы мультиметр «Keithley 2000» и источник питания «Keysight E36312A».

2.4.11 Термогравиметрический анализ (ТГА)

Термостойкость образцов исследовали в атмосфере аргона при скорости нагрева 10 °С/мин в температурном диапазоне 30-400 °С при использовании термоанализатора «STA 449 F3».

2.4.12 Динамический механический анализ (ДМА)

Кривые ДМА композитных пленок получали на динамическом механическом анализаторе DMA 242 С фирмы «Netzsch». Соответствие силы и напряжения было откалибровано с использованием стандартной массы. Толщина образца 120 мкм. Вязкоупругие свойства измеряли в атмосфере аргона. Образцы нагревали от 30 до 250 °С со скоростью нагрева 3 °С/мин и частотой 1 Гц. Тангенс угла механических потерь был определен как отношение модуля вязкости (E'') к модулю упругости (E').

2.4.13 МТТ-тест

МТТ-тест проводили следующим образом: образцы материала (по три фрагмента с суммарной площадью 6 см² из каждой группы образцов) инкубировали в 1 мл питательной среды 24 ч при 37° С. К субконфлюэнтному монослою мышинных фибробластов линии 3Т3 в 96-луночной планшете были последовательно добавлены серийные разведения вытяжек в питательной среде «DMEM/F12» с добавлением 100 Ед/мл стрептомицина, 100 г/мл пенициллина, 1% «GlutaMAX», 10% эмбриональной телячьей сыворотки «HyClone», положительный контроль (додецилсульфат натрия) и отрицательный контроль (питательная среда) в трех повторностях (100 мкл). Планшеты инкубировали еще 24 часа при 37 ° С в атмосфере, содержащей 5% CO₂. Далее контрольную среду заменяли 100 мкл раствора МТТ (0,5 мг/мл в среде без добавок) и инкубировали в CO₂-инкубаторе при 37 ° С в течение 3 часов. После удаления МТТ во все лунки добавляли аликвоты ДМСО по 100 мкл и перемешивали. Жизнеспособность клеток определяли количественно путем измерения оптической плотности раствора при длинах волн 567 нм и 630 нм на спектрофотометре «Multiscan FC».

2.4.14 Конфокальная микроскопия

Конфлюэнтность и жизнеспособность клеток исследовали с помощью дифференциального окрашивания живых и погибших клеток набором красителей «Calcein-AM» / «EthD-1» (LIVE/DEAD Viability/Cytotoxicity Kit, «Invitrogen»).

Мышиные фибробласты линии 3T3 окрашивали через 76 ч культивирования на поверхности пленок. Для визуализации зеленых живых и красных мертвых клеток использовали сканирующий лазерный конфокальный микроскоп «LSM 880 Airyscan», оснащенный модулем «AiryScan» и детектором «GaAsP». Z-сканы были получены с помощью объектива «EC Plan-Neofluar» и лазеров с длинами волн 488 и 561 нм.

2.4.15 Подкожная имплантация

Подкожную имплантацию проводили следующим образом: к крысам-самцам линии Wistar (возраст 6 недель, средний вес 180-200 г). Животные были разделены на пять групп ($n = 5$). Все процедуры и эксперименты «in vivo» проводили в соответствии с рекомендациями по уходу за животными и одобрены локальным этическим комитетом Сеченовского университета №82 от 07.02.2022 г.). Акклиматизация в помещении и подготовка животных к оперативным вмешательствам проводилась в течение 14 дней до операции. После того, как крысы были анестезированы (смесью золетила и ксилазина внутримышечно) в предварительно выстриженной межлопаточной области в асептических условиях скальпелем производили разрез кожи до 2 см длиной. Подкожно-жировую клетчатку рассекали тупым путем по направлению к правой и левой лопаткам, симметрично создавая два кармана критического размера (глубина = 2 см). Образовавшуюся полость промывали водным раствором хлоргексидина. В каждый карман помещали стерильный образец композита размером $1.0 \times 0.5 \text{ см}^2$. Операционную рану ушивали наглухо с захватом мышечного слоя. С целью профилактики гнойно-септических осложнений после операции проводили антибиотикотерапию энрофлоксацином в течение 7 дней. Оценивали в динамике общее состояние животных, температуру тела, состояние кожных покровов над областью имплантации. Через 4 недели после имплантации животных умерщвляли путем ингаляции углекислого газа. Два имплантата каждой крысы вместе с образовавшимися вокруг них капсулами с захватом мышечной ткани и прилежащими участками кожи толщиной 0,5 см

отсепаровывали. Фрагменты тканей с экспериментальным образцом отмывали в физиологическом растворе и фиксировали в расплавленном виде в 10% забуференном формалине.

2.4.16 Гистологические исследования

Образцы тканей дегидратировали и заливали в парафиновые блоки по стандартной методике. Из всех образцов изготавливали поперечные серийные микротомные срезы толщиной 4–5 мкм (по 8 срезов на блок). Депарафинированные срезы обезживали в батарее спиртов нарастающей концентрации и окрашивали гематоксилином и эозином. После заключения в синтетическую среду «Shandonmount TM» образцы изучали при помощи световой фазово-контрастной, темнопольной и поляризационной микроскопий. Исследование, анализ и фотографирование гистологических препаратов проводили с использованием микроскопа «LEICA DM4000 B LED», оснащенного 45-цифровой видеокамерой «LEICA DFC7000 T» и программного обеспечения «LAS V4.8».

2.4.17 Иммунофлуоресцентный анализ

Для профилирования лейкоцитарных инфильтратов применяли иммунофлуоресцентное исследование. Из парафиновых блоков с фиксированными в них образцами тканей изготавливали серийные срезы толщиной 3-микрометра. Сначала образцы депарафинировали и регидратировали, последовательно погружая предметные стекла в ксилол, 100%, 95%, 70%, 50% этанол, деионизированную воду. Срезы высушивали в термостате при 45 °С. Затем срезы инкубировали с первичными моноклональными антителами к CD4⁺ для CD4⁺ Т-лимфоцитов («Sigma-Aldrich», США) с метками красного цвета, CD8⁺ для CD8⁺ Т-лимфоцитов «Sigma-Aldrich», с метками зеленого цвета, CD68 для макрофагов «Sigma-Aldrich», с метками розового цвета, CD20 для В-лимфоцитов («Sigma-Aldrich», США) с метками оранжевого цвета и CD138 для плазматических клеток «Sigma-Aldrich», с метками голубого цвета, разведенными в 1% фосфатно-буферном растворе при

комнатной температуре, в течение 1 – 2 часов. Затем образцы в течение ночи инкубировали при 4°C во влажной камере. После этого срезы дважды промывали с 1% раствором фосфатного буфера/Tween-20 в течение 10 минут. Далее добавляли флуоресцентную метку конъюгированного вторичного антитела, разведенного в 1% фосфатно-буферном растворе, и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 – 2 часов. Далее срезы дважды промывали с 1% фосфатного буфера/ Tween-20 в течение 10 минут. Затем наносили краситель DAPI. После инкубации с красителем, слайды промывали один раз в течение 10 минут в фосфатно-буферном растворе. Препараты оцифровывались с использованием сканера стекол «Aperio VERSA» во флуоресцентном режиме. Для сравнения средних значений количества различных видов клеток применялся U-критерий Манна-Уитни. Различия считались значимыми при $p < 0.05$.

2.4.18 ПЦР-тест

Суммарную РНК выделяли из полученной ткани с помощью набора «RNeasy Mini Kit». Анализ экспрессии генов CD4, CD8 и CD19 проводили с использованием метода определения порогового цикла (DCt) и расчета относительной экспрессии генов по протоколу. Нормирование и внутренний контроль проводили для домашнего гена GAPDH. Статистический контроль проводили относительно контрольной группы. Подбор праймеров осуществлялся на основе общедоступных материалов о последовательностях ДНК и мРНК генов в базе данных NCBI с использованием программы «Primer-BLAST». Для CD4 прямым праймером был 5'-CCTCCTGCTTTTCATTGGGCTAG-3', а обратным праймером был 5'-TGAGGACACTGGCAGGTCTTCT-3', для CD8 прямым праймером был 5'-CCGTTGACCCGCTTTCTGT-3', а обратным праймером был 5'-GGCGTCCATTTTCTTTGGAA-3', для CD19 прямым праймером был 5'-GGTACCGCCACCATGGCACCTCCTCGC CTCCTCTTC-3', а обратным праймером был 5'-AAGCTTG CACCTGAGGATCACCTGGTGTC-3', для GAPDH прямым праймером был 5'-GTGCCAGCCTCGTCCCGTAG-3', а обратным праймером был 5'-TTGCCGTGAGTGGAGTCATAC-3'.

ГЛАВА 3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Получение нанокомпозитов на основе различных полимеров, содержащих графеновые наполнители, в настоящее время является одним из самых бурно развивающихся направлений современного материаловедения. Внедрение графена, обладающего целым рядом превосходных характеристик такие как: высокие механические, термические и электропроводящие свойства открывают возможность использования композитов на его основе в различных отраслях, начиная от электротехнических устройств и заканчивая применением в биомедицине. Тем не менее, несмотря на всю уникальность графена существуют серьезные проблемы получения нанокомпозитов с его участием [202]. Среди наиболее распространенных следует выделить склонность частиц графена к агломерации, возникающую вследствие нестабильности коллоидных систем. Агломерация происходит из-за большого отношения площади поверхности листов графена к их толщине, что приводит к сильному взаимодействию между отдельными листами графена за счет Ван-дер-Ваальсовых сил [203]. Второй важной проблемой является сложность достижения равномерного распределения графеновых частиц, поскольку графен ввиду своей гидрофобной природы плохо совместим со многими полимерами. Поэтому на передний план выступают вопросы совмещения полимерного связующего и графенового наполнителя. Очевидным простым путем получения композитов является смешение графена с расплавом полимера за счет высоких сдвиговых сил [175]. Неоспоримым преимуществом такого подхода является отсутствие необходимости использования растворителя. В качестве полимерного связующего можно использовать как гидрофобные, так и гидрофильные термопластичные полимеры с не высокой вязкостью расплава. Однако высокие сдвиговые нагрузки способны вызывать деформирование и даже уменьшение размеров графеновых пластин, что неблагоприятно сказывается на механических свойствах и электропроводности изготавливаемых композитов [204].

Еще одним известным удобным методом получения таких композитных материалов является метод *in situ*, при котором графен диспергируют в растворе

мономеров с последующим осуществлением химических превращений, приводящих к образованию полимера. Зачастую эти превращения протекают по полимеризационному механизму. Основное преимущество этого метода заключается в том, что мономер проникает в межслоевое пространство графена и затем превращается в полимер, что приводит к дополнительному расслоению графена на наноуровне. Данный подход позволяет достичь высокой степени диспергирования и гомогенного распределения наполнителя в полимерной матрице, а также улучшить взаимодействие между наполнителем и полимером в готовом композиционном материале. Этот способ очень востребован особенно для получения нерастворимых и термически неустойчивых полимеров, которые не могут быть переработаны компаундированием в растворе или расплаве. Из недостатков можно выделить то, что полимерообразование приводит к увеличению вязкости, что, в свою очередь, ограничивает степень наполнения и равномерное распределение наполнителя [205]. Существенным ограничением данного метода является его непригодность для формирования композитов на основе биополимеров и других полимерных матриц, которые невозможно получить *in situ*.

Другим широко применяемым методом совмещения графенового наполнителя и полимерного связующего является растворный способ, который требует, чтобы графен и полимер были диспергированы в растворителях, совместимых как с наполнителем, так и со связующим. Фактически этот процесс реализуется путем смешивания либо заранее приготовленных коллоидных дисперсий графена с раствором желаемого полимера, либо раствора полимера с графеном и последующим его диспергированием. Вполне очевидным недостатком предыдущего и этого метода является то, что для дальнейшего использования композитов, необходимо удалять растворитель, что требует дополнительных манипуляций. Но, тем не менее, данный подход является эффективным методом изготовления благодаря низкой вязкости получаемого композитного раствора, что обеспечивает отличное гомогенное распределение графена в объеме. Справедливости ради, необходимо отметить,

что при достаточно высоких концентрациях полимера, известны случаи образования гелей [206]. Также метод отличается простотой реализации, не требующая сложного технологического оборудования, которая предопределена, в том числе, простотой обработки графена во многих органических растворителях.

С учетом поставленной цели – получения биосовместимых графенсодержащих биосовместимых композитов, в том числе на основе природных (КГ) и искусственных полимеров (ХЗ), которые в принципе невозможно получить в условиях метода *in situ* в работе использовали растворный метод получения полимерных композитов.

Вполне очевидно, что помимо выбора эффективного способа совмещения полимерного связующего и графена на функциональные свойства получаемых композитов значительное влияние будет оказывать природа предшественника графена. Так известно, что прочность, электропроводность, биосовместимость графена уменьшается по мере увеличения слоев, следовательно, для получения качественного композита необходимо подобрать исходный графен с наибольшими латеральными размерами и с минимальным количеством слоев [207, 208]. Также важно чтобы графен не содержал различных дефектов и остаточных функциональных групп, образующихся при химических и физических манипуляциях с ним. Среди достаточно большого разнообразия предшественников графена, таких как графит, различные ковалентные соединения графита (окисленный графит, восстановленный оксид графена и др.) хорошо зарекомендовали себя интеркалированные соединения графита. Очевидным преимуществом их использования является строение графитовых листов в этих соединениях. Так, в ковалентных соединениях графита листы принимают изогнутую форму, а в интеркалированных соединениях листы сохраняют плоскую структуру, а также наблюдается увеличение межслоевого расстояния, которое определяется размерами интеркалята [209]. Кроме того, при нагреве интеркалированных соединений графита в режиме «термоудара» (до 700-1200°C) молекулы интеркалята переходят в газообразное состояние,

тем самым создают повышенное давление в межслоевом пространстве, которое приводит к дополнительному расслаиванию листов графита, образуя расширенный графит [210]. Изменяя скорость нагрева, размеры исходного графита, а также используемых интеркалянтов появляется возможность контролируемого расщепления и, как следствие, получению продукта с требуемым набором свойств. В настоящее время расширенный графит часто получают из бисульфата или нитрата графита, толщина графеновых стопок которого составляет 30-100 нм, что соответствует сотням графеновых плоскостей [211]. В данной работе в качестве предшественника графена был использован МСГ, полученный термоударом интеркалированных соединений $C_2F \cdot xClF_3$ при температуре 700-900 °С [211-213]. По сравнению с графитом и обычными расширенными графитами данный предшественник обладает сравнительно большими размерами в латеральной плоскости - 200-300 мкм, уширенным межплоскостным расстоянием до 3.49 Å, а также относительно небольшим количеством графеновых слоев - 10-15, что в значительной степени позволяет облегчить процесс получения стабильных графеновых дисперсий и композитов с его участием.

3.1 Получение и свойства графенсодержащих нанокомпозитов на основе ПЛА

Среди огромного количества синтетических полимеров широкое распространение получил ПЛА, обладающий биосовместимостью, способностью деструкции под влиянием различных факторов, хорошими термомеханическими характеристиками, которые обуславливают его применение в основном в различных биомедицинских приложениях. Однако существует ряд проблем, связанных с получением композитов на его основе, такие как: невозможность их формирования в высокополярных растворителях, а также хрупкость изготовленных материалов. Известно, что графен ввиду своей гидрофобной природы также не способен образовывать стабильные дисперсии в гидрофильных средах [214]. Поэтому необходимо подобрать растворитель совместимый с ПЛА

и чтобы энергия поверхностного взаимодействия между графеном и им была сопоставима с энергией, соответствующей взаимодействию между графеновыми слоями. Также известно, что амидные растворители, такие как МП, ДМФА, а также ДМСО являются наиболее подходящими для диспергирования графена и углеродных нанотрубок [215]. Поэтому для получения композитов ПЛА-ГФ готовили графеновые дисперсии с использованием жидкофазного расслоения расширенного МСГ в вышеперечисленных растворителях в результате ультразвуковой обработки. Воздействие на расширенный МСГ акустическим излучением в килогерцовом диапазоне позволяет уменьшить энергию взаимодействия между слоями, что приводит к увеличению расстояния между слоями и, как следствие, более легкому проникновению молекул растворителя в межслоевое пространство, приводящему к разделению слоев [216].

Для установления оптимальных условий формирования стабильных графеновых дисперсий были получены дисперсии с различной концентрацией графена и продолжительностью жидкофазной эксфолиации с применением ультразвуковой ванны «Сапфир» мощностью 100 Вт и частотой 35 кГц. Было установлено, что наибольшие концентрации и стабильность дисперсий из всех протестированных растворителей (ДМСО, ДМФА, МП) достигаются при использовании МП, что хорошо согласуется с работой [217]. Так для формирования устойчивых в течение длительного времени дисперсий с максимальной концентрацией графена 1 мг/мл потребовалось до 2 часов ультразвукового диспергирования. При этом важно отметить, что на концентрацию графена в образующейся дисперсии влияет исходное содержание расширенного МСГ, определяющее продолжительность эксфолиации и, как следствие, размер графеновых слоев. Полученные таким образом графеновые частицы по результатам АСМ (рис. 3.1) состоят в среднем из 1-4 слоев, а величина их латерального размера, установленная ПЭМ (рис. 3.2), зависит от продолжительности ультразвуковой обработки и составляет от 200 нм до 2 мкм [218].

В результате проделанных экспериментов определено влияние ультразвуковой эксфолиации на особенности формирования графеновых частиц, позволяющее правильно выбрать условия обработки для получения графеновых частиц с требуемыми характеристиками. Необходимо отметить, что все характеристики (концентрация графена, количество слоев и их размеры) отлично воспроизводятся, а дисперсии стабильны в течение не менее 2 недель. Также важно то, что использование такого прекурсора как расширенный МСГ позволяет при относительно небольшой продолжительности эксфолиации получать высококачественные дисперсии, которые перспективны для создания разнообразных высоконаполненных графеном полимерных композитов.

Поскольку высокое содержание графена в дисперсии требует большую продолжительность ультразвуковой обработки, которая приводит к уменьшению латеральных размеров графеновых пластин, для получения пленочных нанокомпозитов на основе ПЛА использовали дисперсии с концентрациями графена 0,12 и 0,36 мг/мл (продолжительность ультразвуковой обработки 1 час), что позволило получить нанокомпозиты с большими латеральными размерами, обеспечивающими улучшенные эксплуатационные свойства.

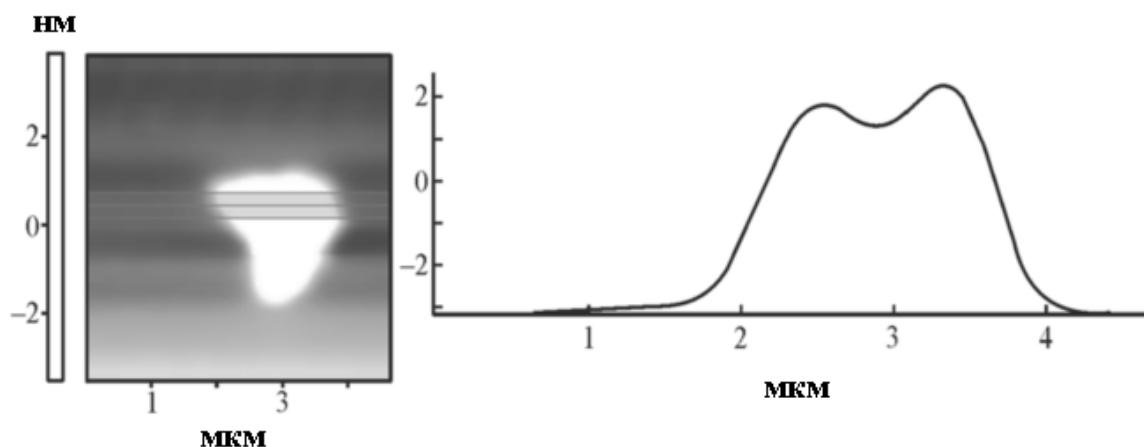


Рисунок 3.1 – АСМ-изображение графеновых слоев, полученных ультразвуковой обработкой расширенного МСГ в МП и анализ их профиля

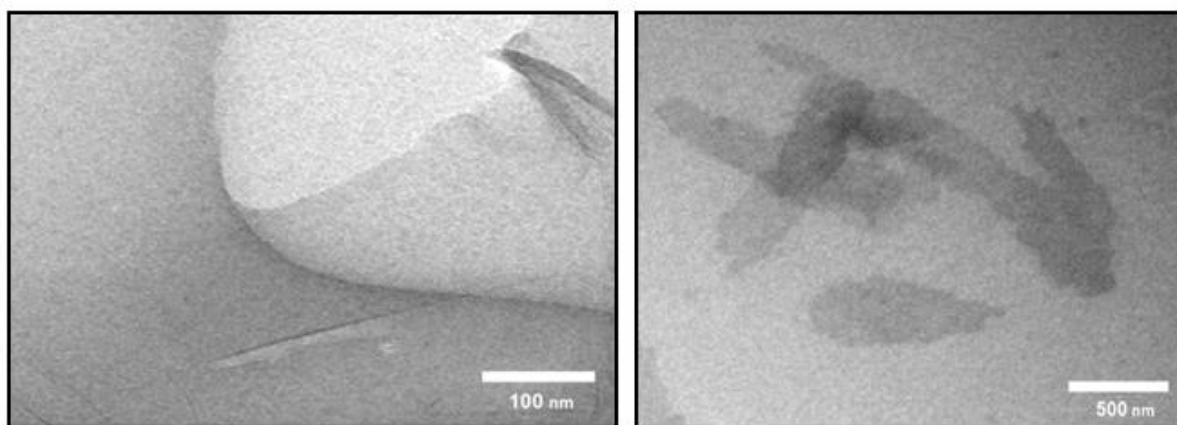


Рисунок 3.2 – ПЭМ-изображения графеновых слоев, полученных ультразвуковой обработкой расширенного МСГ в МП

Для получения нанокомпозитных пленок в приготовленных дисперсиях графена в среде МП растворяли ПЛА при интенсивном перемешивании. Затем полученный раствор высаживали в дистиллированную воду. Выпавший нанокомпозит ПЛА, содержащий внедренные графеновые частицы отфильтровывали, промывали многократно водой и сушили в вакууме при постепенном подъеме температуры от 20 до 50°C. Далее полученный нанокомпозит диспергировали в хлороформе при постоянном перемешивании в течение часа и выливали на горизонтальную поверхность, на которой сушили до постоянной массы. В результате были получены пленки с содержанием графена не более 3 масс. %. Полученные эластичные композитные пленки черного цвета использовались для дальнейшей характеристики.

Согласно данным РФА (рис. 3.3) пленки не содержат кристаллической фазы, т.е. аморфны. Дифрактограммы ПЛА и композитов на его основе характеризуются широким гало при 16,6°, что характерно для ПЛА орторомбической формы, содержащего 20 звеньев в кристаллической ячейке [219]. В дифрактограммах не наблюдается характеристического для расширенного МСГ рефлекса при 26.0–26.5°, что подтверждает его расщепление, а также свидетельствует о том, что в процессе формирования композитов не происходит агломерация отдельных графеновых слоев.

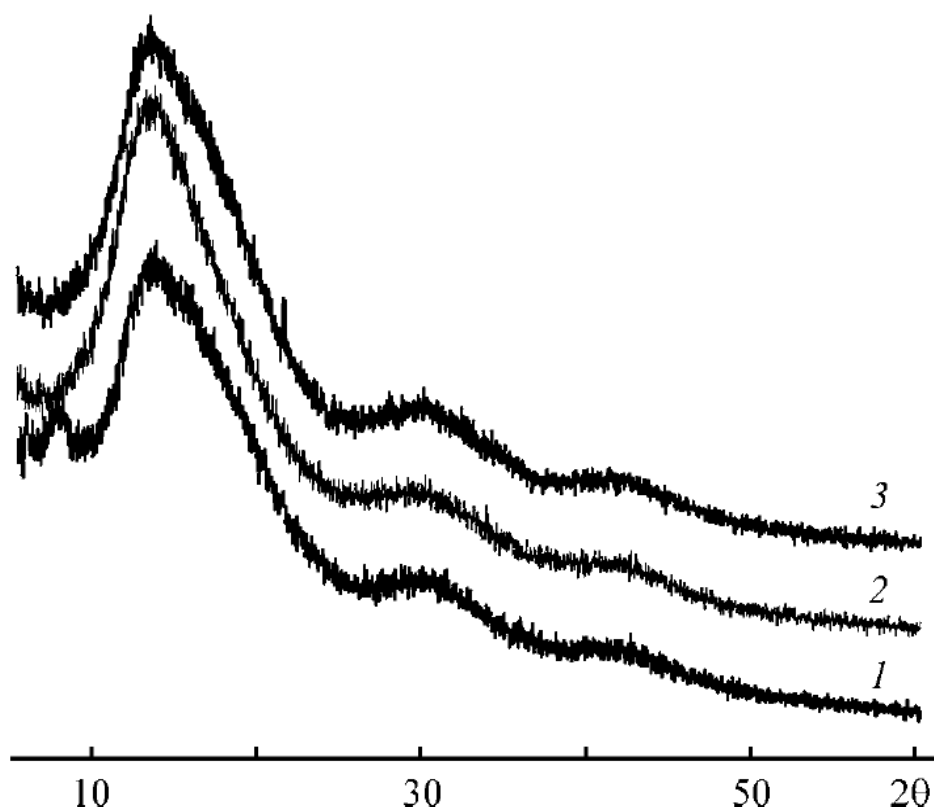


Рисунок 3.3 – Дифрактограммы ПЛА (1), ПЛА-ГФ-1% (2), ПЛА-ГФ-3% (3); 2θ — угол Брэгга (град.)

Исследованы физико-механические характеристики полученных композитов (рис. 3.4). Для исходного ПЛА величина разрывной прочности составляет 38.3 ± 2.5 МПа при разрывном удлинении $3.2 \pm 0.6\%$. Последовательное увеличение содержания графена в композите до 3 масс. % приводит к росту разрывной прочности до 66.3 ± 5.4 МПа и уменьшению удлинения при разрыве до $1.8 \pm 0.3\%$. Наблюдаемое улучшение прочностных характеристик материалов объясняется собственной высокой механической прочностью графена и его большой площадью поверхности. Кроме того, увеличение разрывной прочности, а также небольшой разброс значений в параллельных измерениях косвенно свидетельствуют о гомогенном распределении наполнителя в полимерной матрице и о хорошей совместимости компонентов.

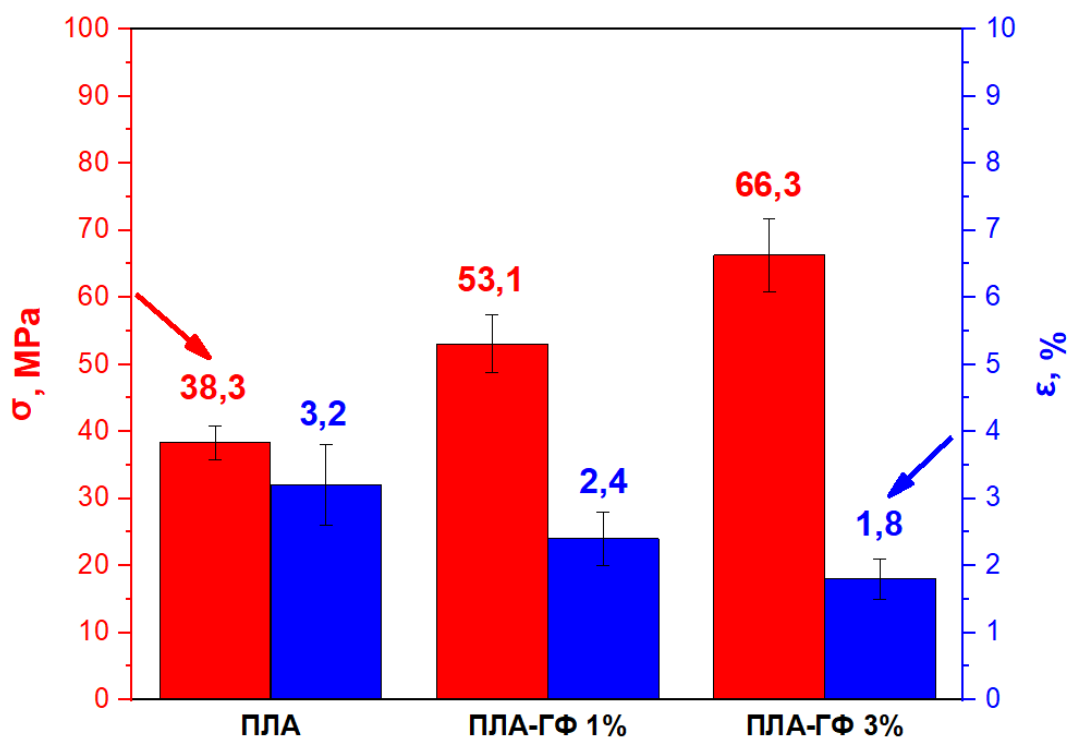


Рисунок 3.4 – Изменение предельной прочности (σ), относительного удлинения при разрыве (ϵ) при различном содержании графена в композитах на основе полилактида

Электропроводимость нанокмпозиционных пленок определяли четырехзондовым методом Ван дер Пау (рис. 3.5). Так установлено, что с увеличением содержания наполнителя в композите удельная объемная проводимость возрастает, достигая значения 0.9 См/см для ПЛА-ГФ 3%. Необходимо отметить, что исходный ПЛА обладает низкой проводимостью около 1×10^{-16} См/см [220]. Достижимые значения электропроводимости одни из самых высоких, полученных для подобных материалов. Например, коммерчески доступный композит на основе ПЛА и графена, выпускаемый компанией Black Magic 3D (США), имеет электропроводимость 1.7 См/см, однако такая проводимость достигается за счет введения достаточно большого количества наполнителя (26 масс. %) [221]. Полученные в данной работе материалы характеризуются меньшей проводимостью: практически в два раза, но при этом содержание наполнителя более чем в 8 раз меньше.

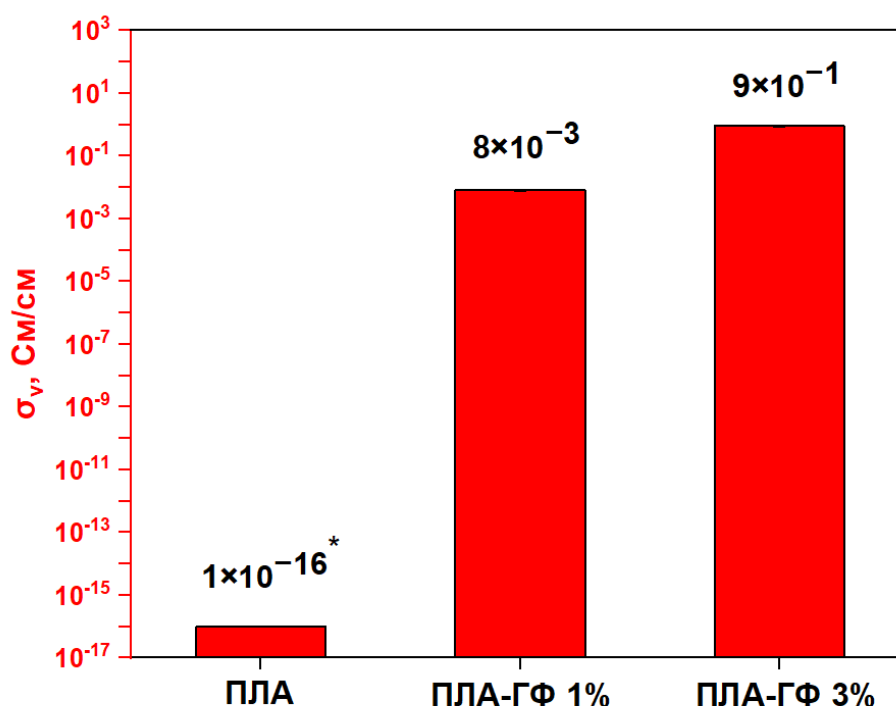


Рисунок 3.5 – Изменение удельной объемной электропроводности (σ_v) при различном содержании графена в композитах на основе полилактида

Поскольку ПЛА является одним из самых распространенных полимеров, применяемых в FDM 3D-печати, мы изучили возможность получения трехмерных электропроводящих изделий на основе разработанных нанокомпозитов. Для этого первоначально экструдированием нанокомпозита ПЛА-ГФ 3% получали однородную нить с диаметром 1.5 мм с использованием экструдера «Welzoom» при 190-200 °С. Трехмерные объекты формировали на коммерческом 3D-принтере «ZMorph» при температуре экструзионной головки 195-200 °С и температуре платформы 50-55 °С. В результате было напечатано изделие (рис. 3.6), которое практически полностью соответствует заданной компьютерной модели. Усадка изделия после печати не зависит от присутствия графенового наполнителя и составляет во всех измерениях не более 2 %. Полученное изделие обладает электропроводностью, но в сравнении с пленкой меньше практически на два порядка, что, вероятно, связано с частичной незначительной агломерацией графена при экструдировании.

* По данным работы [220]

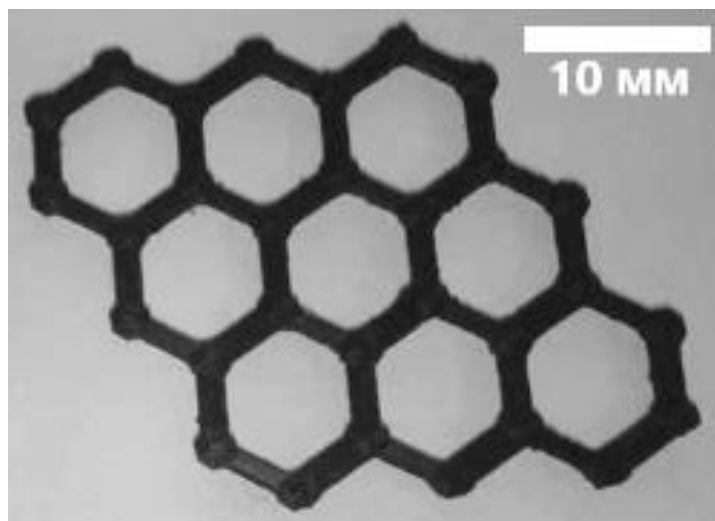


Рисунок 3.6 – Изделие, напечатанное из нанокompозита полилактида с содержанием графена 3 масс. %

Таким образом, благодаря введению графена в матрицу ПЛА были получены 3D-изделия и композитные пленки, характеризующиеся улучшенной прочностью при разрыве, составляющей до 66.3 ± 5.4 МПа и сравнительно высокой удельной объемной электропроводностью достигающей 0.9 См/см.

3.2 Получение водных дисперсий графена, стабилизированных ПВП и ПЛУ

Несмотря на то, что МП является хорошей дисперсной средой для графеновых наполнителей, его использование имеет свои недостатки, среди которых можно выделить относительную дороговизну, трудности его удаления вследствие высокой температуры кипения, что осложняет формирование композитов и его регенерацию для последующего использования. Как обсуждалось ранее, стабильные дисперсии графена могут быть получены только в том случае, если энергии поверхностного натяжения растворителя и графена будут сопоставимы друг с другом. Одним из альтернативных способов их получения, обеспечивающим высокую стабильность графеновых пластин, является добавление поверхностно-активных веществ (ПАВ) амфифильного строения – стабилизаторов, позволяющих использовать не самую близкую по природе диспергирующую среду для графена, например, воду, что очень практично. Поскольку ПАВы имеют как гидрофобные, так и гидрофильные

фрагменты, механизм стабилизации является следующим: гидрофобная часть стабилизатора адсорбируется на графеном листе, а гидрофильная часть простирается в воду. Когда два покрытых ПАВом листа графена приближаются друг к другу, выступающие гидрофильные группы начинают взаимодействовать, в результате чего между чешуйками возникает осмотическое отталкивание, обеспечивающее равномерное распределение графена в дисперсии и относительную стабильность.

Данный способ в совокупности с дополнительной ультразвуковой обработкой отличается своей простотой и возможностью масштабирования [222]. Поэтому в работе для получения водных графеновых дисперсий использовали амфифильный стабилизатор ПВП, состоящий из гидрофобного углеводородного полимерного звена и гидрофильного бокового пирролидинового цикла, а также водорастворимые блок-сополимеры гидрофильного полиоксиэтилена и гидрофобного полиоксипропилена известные как плуроники [190]. Первоначально использовали плуроники F127, F108, F77, L62, P104, среди которых наиболее высокую стабилизирующую способность продемонстрировал F127. Изучая научные работы было отмечено, что действительно этот вид плуроника является лучшим стабилизатором и поэтому имеет значительное распространение. В связи с этим в работе использовали наименее изученный, но обладающий сравнительно хорошей стабилизирующей способностью плуроник F108. Как известно, названия плуроников начинаются с буквы, обозначающей их состояние при комнатной температуре (хлопья, паста или жидкость). Последняя цифра умноженная на 10 обозначает содержание полиоксиэтиленового блока в масс. %, а предыдущие цифры приблизительную среднюю молекулярную массу блока. Таким образом, ПЛУ используемый в работе представляет собой хлопья с молекулярной массой 14,6 кДа и на 82-86 масс. % состоящий из полиоксиэтиленовых блоков. Важно отметить, что используемые в работе стабилизаторы являются биосовместимыми, биорезорбируемыми материалами, которые совместимы с широким кругом различных полимеров и широко применяются в медицине [223].

Для оценки эффективности диспергирования изучали спектры поглощения дисперсий графена в УФ-области при различной продолжительности ультразвуковой эксфолиации и концентрации стабилизатора. На рисунке 3.7 представлены зависимости изменения максимальной концентрации графена в дисперсии от концентрации ПВП и ПЛУ. Как видно из рисунка 3.7, увеличение концентрации стабилизаторов как в случае использования ПВП, так и ПЛУ, приводит к увеличению содержания графена в дисперсиях, достигая насыщения графеном, т.е. максимального содержания графена при определенной концентрации стабилизатора, при 10 мг/мл. Похожая закономерность была отмечена ранее для ПВП с ММ равной 10 кДа, которая в четыре раза меньше, чем в данной работе [224], что может указывать на отсутствие влияния ММ стабилизатора в интервале 10-40 кДа. Дальнейшее увеличение концентрации стабилизаторов не приводило к существенному увеличению содержания графена в дисперсии. В этой связи, в работе для получения графеновых дисперсий готовили водные растворы стабилизаторов с концентрацией 10 мг/мл.

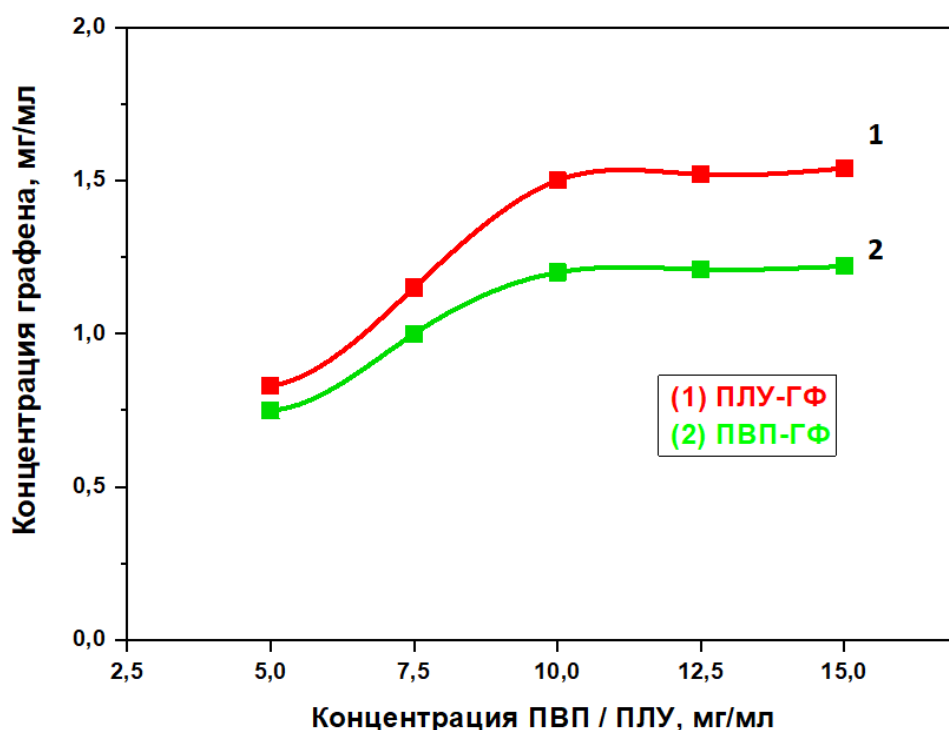


Рисунок – 3.7 Зависимости изменения концентрации графена в водных дисперсиях от концентрации ПЛУ или ПВП

Из рисунка 3.8 видно, что при увеличении времени обработки дисперсий с концентрацией графена 0.5 мг/мл происходит постепенное возрастание интенсивности π - π плазмонного резонанса при 265 нм, характерного графеновым материалам, что обусловлено возрастанием концентрации графена в дисперсии вследствие эксфолиации расширенного МСГ. Аналогичная закономерность наблюдалась и для дисперсий, используемых в работе с концентрациями до 1.2 мг/мл для дисперсий, стабилизированных ПВП и до 1.5 мг/мл для ПЛУ-стабилизированных дисперсий.

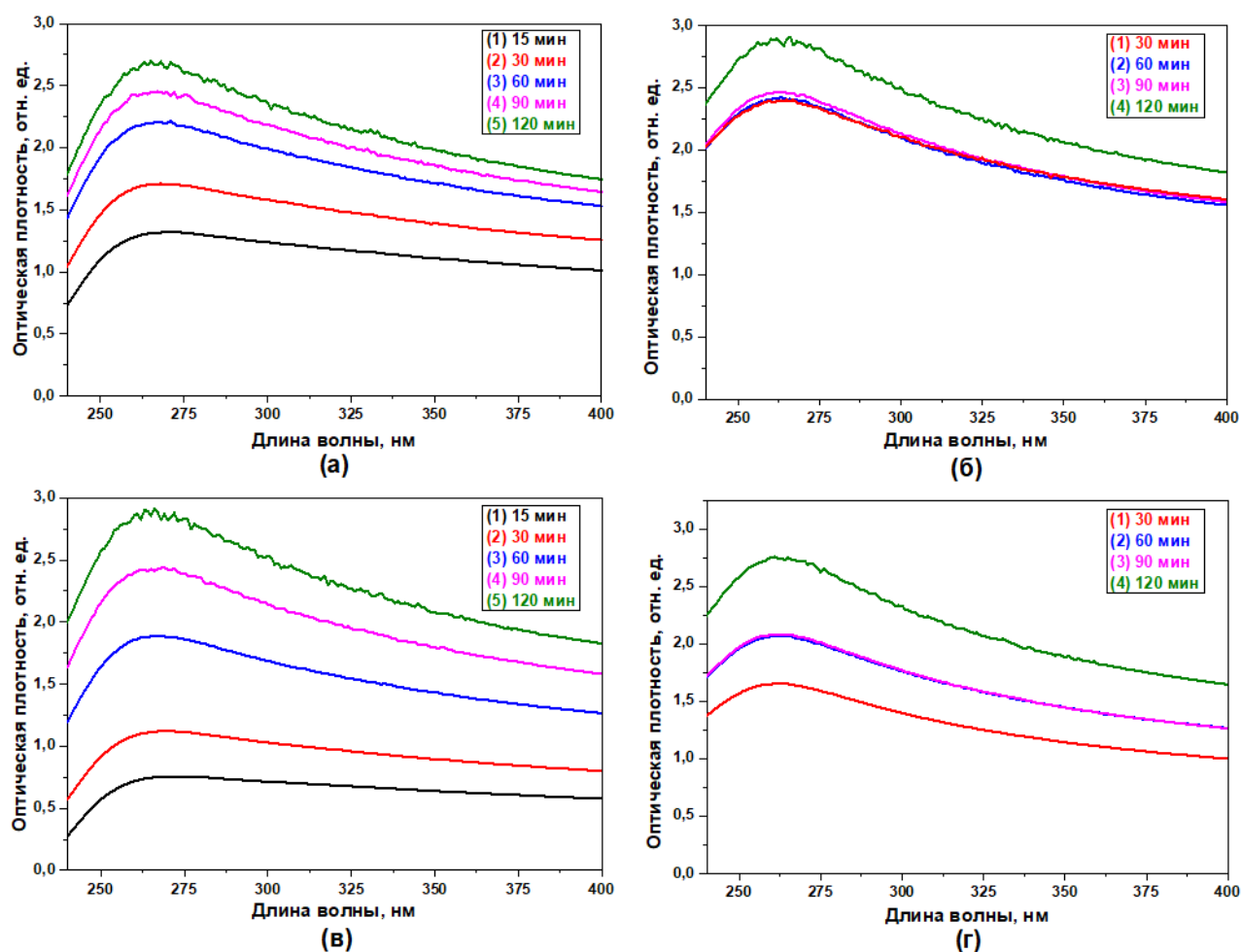


Рисунок 3.8 – УФ-спектры поглощения дисперсий графена, полученных при различной продолжительности ультразвуковой обработки, и, стабилизированных ПВП после получения (а), спустя 2 недели (в); стабилизированных ПЛУ после получения (б) и спустя 2 недели (г)

Однако, увеличение продолжительности ультразвуковой обработки приводит к уменьшению латеральных размеров графеновых слоев в три-четыре раза (рис. 3.9), что подтверждается данными методом динамического светорассеяния и ПЭМ (рис. 3.10). Из рисунков видно, что размер графеновых частиц в латеральной плоскости для дисперсий на основе ПЛУ (150-100 нм) больше размеров частиц дисперсии на основе ПВП (50-400 нм), что является преимуществом их использования, поскольку чем больше площадь графеновых листов и меньше межлистовое контактное сопротивление, тем выше электропроводность получаемых композитов [225, 226]. На ПЭМ-изображениях поверхностей графеновых частиц (рис. 3.10) отчетливо наблюдаются агрегаты макромолекул ПЛУ, что указывает на наличие гидрофобных взаимодействий между графеном и пропиленоксидными фрагментами ПЛУ. Количество слоев по данным АСМ (рис. 3.11, табл. 3.1.) составляет 1-4 слоев (1 слой ≈ 0.7 -0.8 нм).

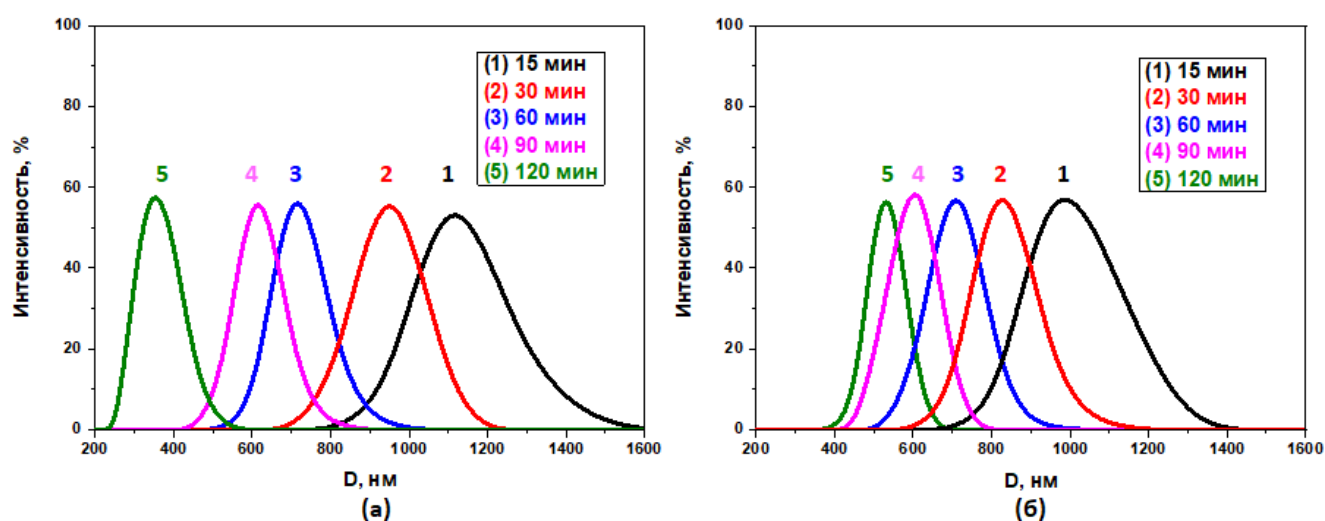


Рисунок 3.9 – УФ-спектры поглощения и результаты динамического рассеяния света распределения частиц, при различной продолжительности ультразвуковой обработки дисперсий графена, стабилизированных ПВП (а), и ПЛУ (б)

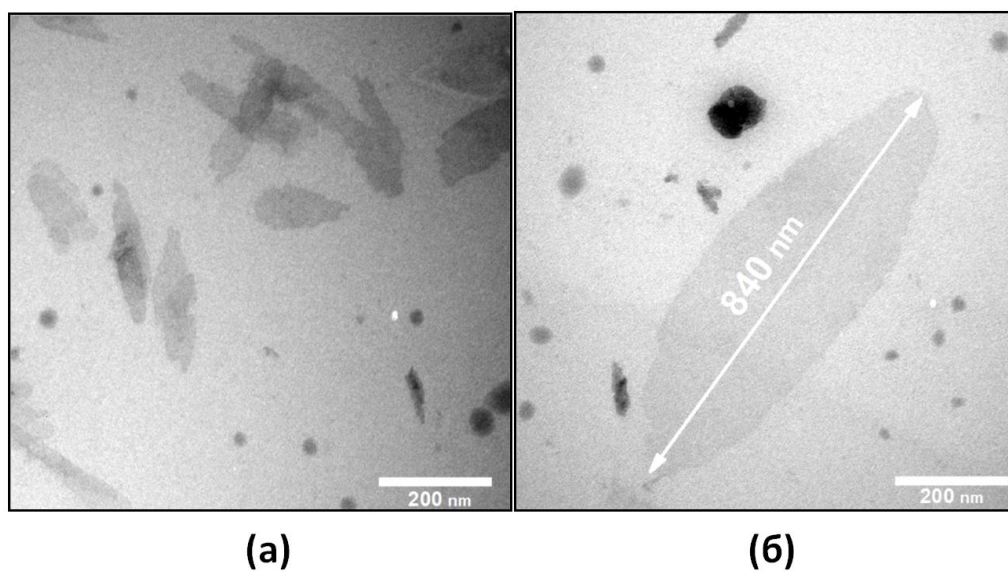


Рисунок 3.10 – ПЭМ-изображения графеновых частиц, полученных в водном растворе ПВП **(а)**, ПЛУ **(б)**

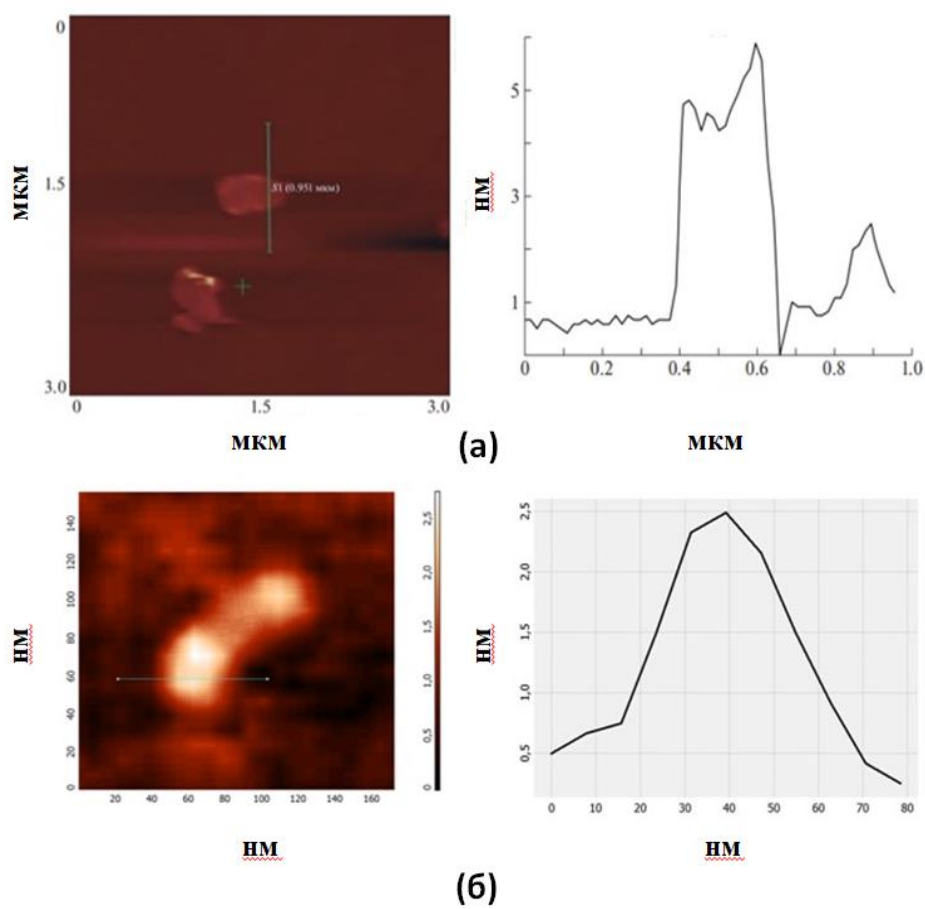


Рисунок 3.11 – АСМ-изображения графеновых пластин, стабилизированных ПВП **(а)** , ПЛУ **(б)** и анализ их профилей

Таблица 3.1 Сравнительные характеристики графеновых дисперсий

	Водная дисперсия графена, стабилизированная		Дисперсия графена в N-МП
	ПВП	ПЛУ	
продолжительность ультразвуковой обработки, мин	120-240	60-120	60-120
количество слоев графена	1-4		
латеральные размеры слоя, нм	50-400	150-1000	200-2000
максимальная концентрация графена, мг/мл	1.2	1.5	1.0

Таким образом, увеличение продолжительности ультразвуковой эксфолиации повышает содержание отдельных графеновых частиц в дисперсии, но, с другой стороны, приводит к уменьшению их латеральных размеров и образованию структурных дефектов графеновых слоев, что может являться причиной ухудшения электропроводящих свойств графена. Поэтому необходимо сбалансировано выбирать время обработки, которое в случае использования ПВП составляло 120-240, а для ПЛУ – 60-120 минут, в зависимости от концентрации графена в дисперсии. Поскольку в случае использования ПЛУ требовалось практически в два раза меньше времени ультразвукового воздействия, а также максимальная концентрация дисперсии и латеральные размеры были больше в сравнении с ПВП можно полагать, что стабилизирующий эффект более выражен у ПЛУ чем у ПВП. Судя по тому, что интенсивность плазмонного резонанса была постоянной для дисперсии в течение не менее двух недель, можно утверждать об отсутствии агрегации графена, т.е. стабильности в этот период.

3.3 Получение и свойства графенсодержащих нанокомпозитов на основе КГ

Среди известных природных биополимеров КГ – один из наиболее распространенных, основная функция которого – структурная, т.е., он создает каркас и «сцепляет» все компоненты соединительной ткани между собой, а также служит главным компонентом в составе кожи, мышц, костей и сухожилий, обеспечивая тем самым механическую стабильность, прочность и эластичность. [227-229], Это обстоятельство, естественно, обуславливает его использование для получения биомиметических материалов, в частности, скаффолдов. Но скаффолды из чистого КГ нельзя использовать непосредственно *in vivo*, поскольку КГ после выделения и очистки теряет многие свои свойства, в первую очередь механические, которые становятся недостаточными для создания несущего полимерного каркаса [230]. Что, вполне очевидно, предопределяет необходимость в улучшении механических характеристик материалов на его основе. Использование графена в качестве армирующего наполнителя позволяет значительно улучшить механическую прочность материалов на основе КГ, а также придать композитам электропроводность. Возможность передачи электрических сигналов расширяет функциональные свойства композитов, в частности, позволяет улучшить рост электрически чувствительных тканей, таких как сердечная, нервная и скелетно-мышечная [231, 232]. Однако, основной проблемой является то, что большинство материалов с проводимостью, например, сопоставимой с нативной проводимостью сердца, не являются биосовместимыми и могут привести к гибели клеток и/или отторжению их организмом [233]. Поэтому получение биосовместимых и биоразлагаемых композитов с удовлетворительной электропроводностью является очень востребованной и актуальной задачей.

Для получения нанокомпозитных пленок состава, представленного в таблице 3.2, навеску КГ предварительно растворяли в 20 мл 3%-ной УК в течение 24 ч при интенсивном перемешивании. Затем к образовавшимся растворам добавляли ПВП-стабилизированные графеновые дисперсии,

перемешивали до полной гомогенизации и дополнительно обрабатывали ультразвуком в течение 1 часа. Полученные композитные растворы отфильтровывали на воронке со стеклянным пористым дном, выливали на горизонтальную поверхность чашки Петри и сушили при комнатной температуре в течение 3 суток. Затем пленки снимали с чашки и сушили в вакууме при 40 °С до постоянной массы, содержание наполнителя при этом составляло 2-4 масс. % [234].

Таблица 3.2 Состав нанокомпозитных плёнок на основе коллагена и ПВП-стабилизированного графена, масс. %

№	Графен	Коллаген	ПВП
1	0	100	0
2	0	66,67	33,33
3	2	64,67	33,33
4	3	63,67	33,33
5	4	62,67	33,33

О сохранении эксфолиированного состояния графена в полученных композитах свидетельствуют данные рентгенофазового анализа, согласно которым (рис. 3.12), все полученные композиционные материалы являются аморфными, а главное то что, в дифрактограммах композитов отсутствует рефлекс, характерный для исходного расширенного МСГ, что подтверждает его расщепление, а также указывает на то, что в процессе формирования композитов не происходит агломерация отдельных графеновых слоев.

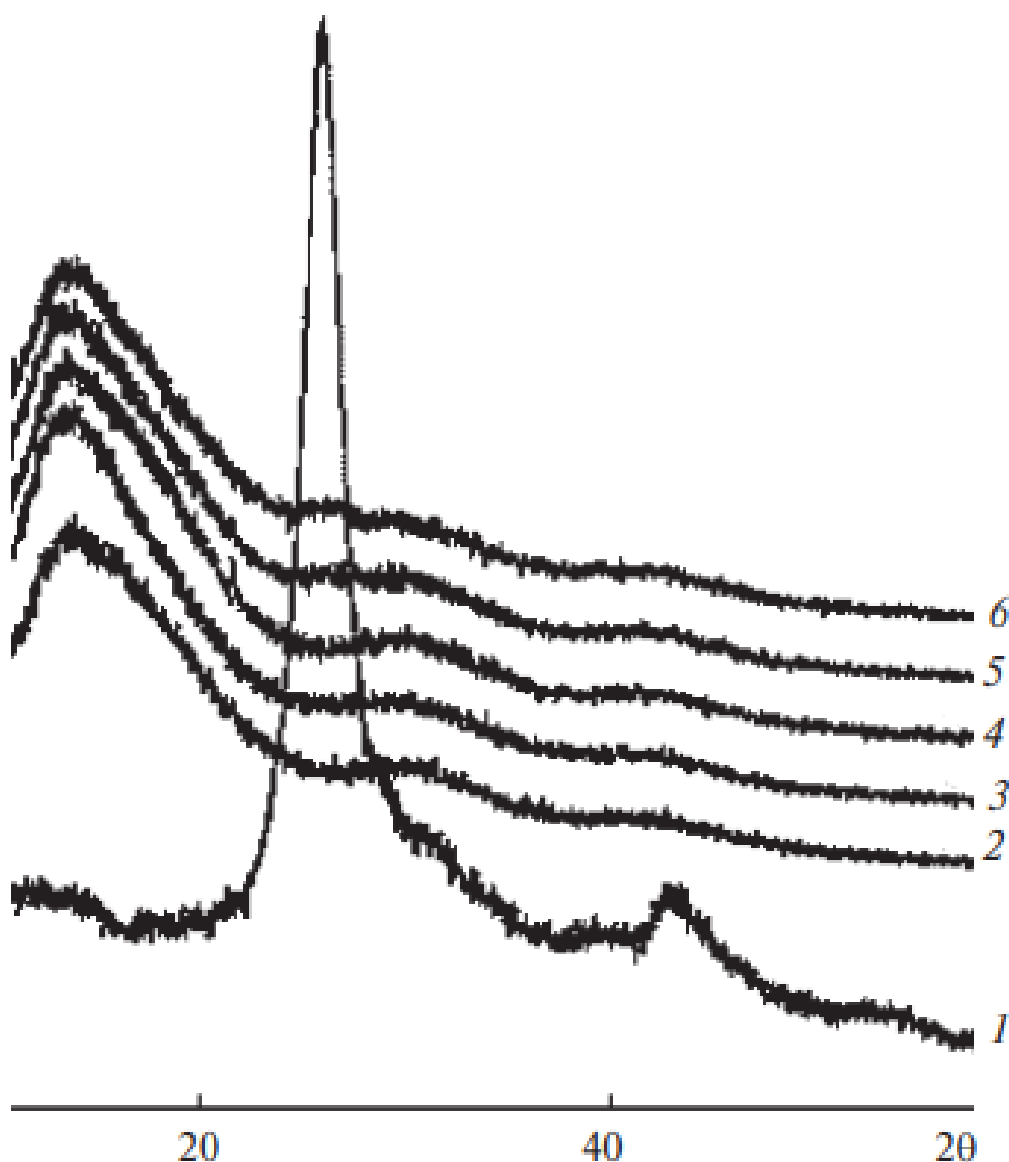
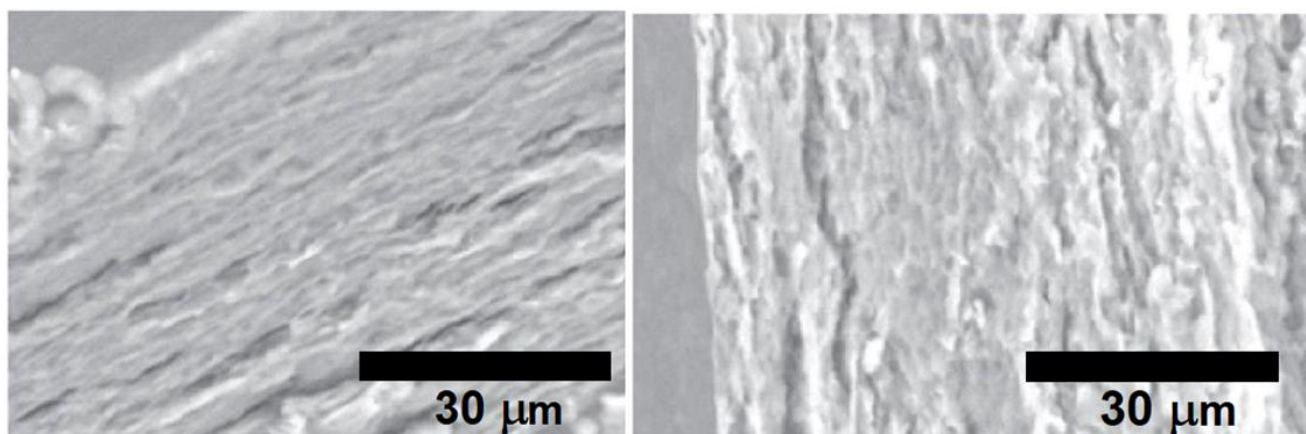


Рисунок 3.12 – Дифрактограммы расширенного МСГ (1), КГ (2), КГ-ПВП (3), КГ-ПВП-ГФ 2% (4), КГ-ПВП-ГФ 3% (5), КГ-ПВП-ГФ 4% (6).

Из СЭМ-изображений (рис. 3.13) поперечных сечений нанокomпозиционных пленок видно, что введение ПВП-стабилизированного графена в матрицу КГ приводит к существенному изменению морфологии пленок. В отличие от пленки КГ сечение композита КГ-ПВП-ГФ 3% более грубое, что указывает на межмолекулярное взаимодействие компонентов, которое обусловлено образованием межмолекулярных водородных связей между КГ и ПВП, а также гидрофобными взаимодействиями ПВП и графена.



(a)

(б)

Рисунок 3.13 – СЭМ-изображения поперечных сечений плёнок коллагена с ПВП (а), коллагена, содержащего 3 масс. % графена, стабилизированного ПВП (б)

Наличие подобных межфазовых взаимодействий оказывает существенное влияние на физико-механические характеристики композитов (рис. 3.14). Для КГ величина предельной разрывной прочности составляет 13.2 ± 1.3 МПа при относительном удлинении при разрыве $3.1 \pm 0.6\%$. Пленочные материалы на основе смеси КГ и ПВП в массовом соотношении 2:1 характеризуются более низкими значениями предельной прочности и большим относительным удлинением при разрыве (8.2 ± 0.9 МПа и $5.1 \pm 0.4\%$ соответственно), что, очевидно, обусловлено пластифицирующим действием ПВП. Последовательное увеличение содержания графенового наполнителя в композите до 4 масс. % приводит к росту предельной прочности до 24.3 ± 2.6 МПа и уменьшению относительного удлинения при разрыве до $2.2 \pm 0.3\%$.

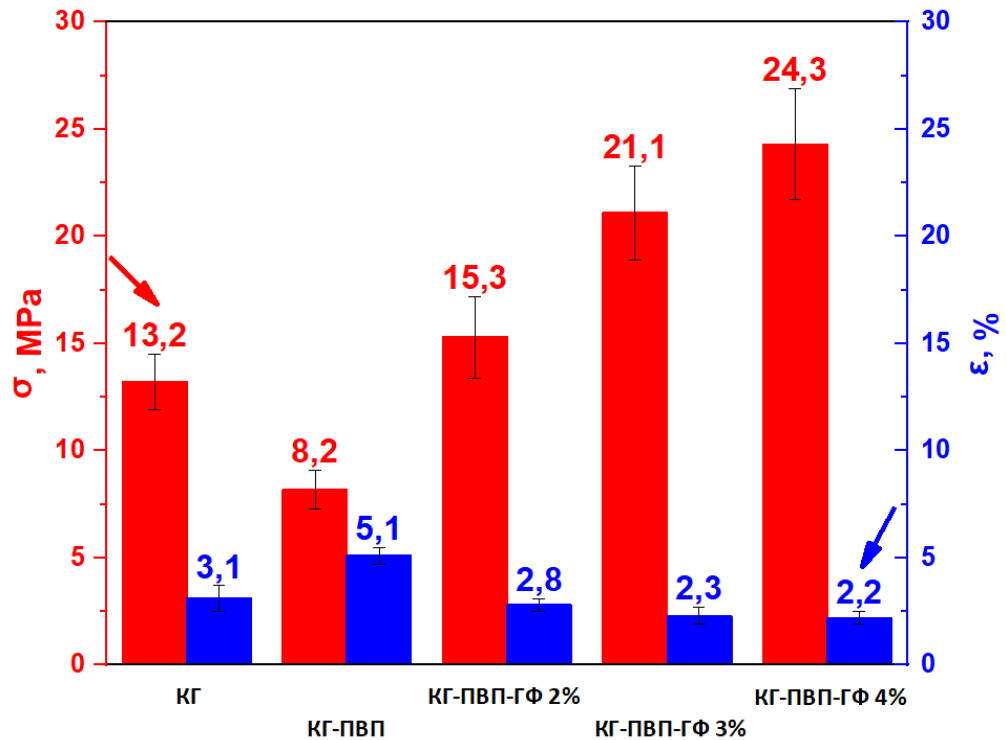


Рисунок 3.14 – Изменение предельной прочности (σ), относительного удлинения при разрыве (ϵ) при различном содержании графена в композитах на основе коллагена и ПВП

Таким образом, введение графена в полимерную матрицу приводит почти к трехкратному увеличению прочностных характеристик материалов на основе смеси коллагена и ПВП. Совокупность всех представленных данных указывает на гомогенное распределение графенового наполнителя в полимерной матрице и на сильное межмолекулярное взаимодействие компонентов.

Введение в матрицу КГ ПВП-стабилизированного графена приводит к существенному увеличению удельной объемной электропроводности, достигающей значений 6.1×10^{-4} См/см для КГ-ПВП-ГФ 4% (рис. 3.15). Необходимо отметить, что КГ и ПВП не обладают проводимостью [235]. Следовательно, основной вклад в электропроводность материала вносят графеновые частицы, образующие сеть проводящих каналов в диэлектрической полимерной матрице.

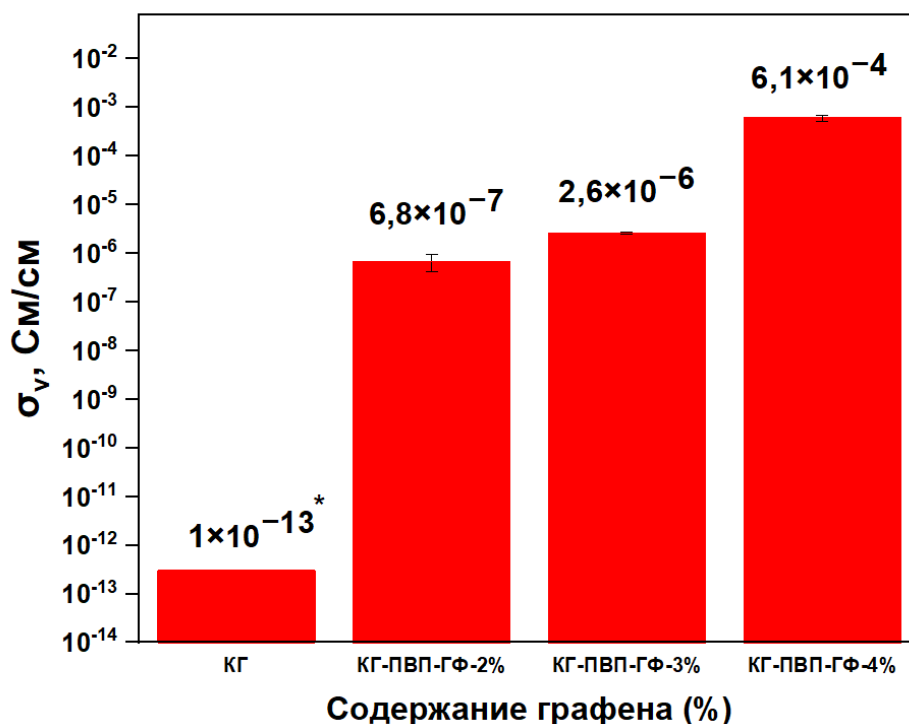


Рисунок 3.15 – Изменение удельной объемной электропроводности (σ_v) при различном содержании графена в композитах на основе коллагена и ПВП

Таким образом, были получены нанокомпозитные пленки состава КГ-ПВП-ГФ с содержанием графена до 4 масс. %, которые обладали удельной объемной электропроводностью до 6.1×10^{-4} См/см и являются перспективными для создания тканеинженерных конструкций.

3.4 Получение и свойства графенсодержащих нанокомпозитов на основе ХЗ

3.4.1 Получение нанокомпозитов

На протяжении многих лет ХЗ привлекает внимание исследователей благодаря своей биосовместимости, биоразлагаемости противомикробной активности, гемостатическим свойствам, возможности проведения химической модификации благодаря наличию функциональных групп, образованию полиэлектролитных комплексов и др. [236]. Но несмотря на внушительный перечень достоинств ХЗ, по сравнению с другими искусственными полимерами и не только, серьезной проблемой его широкого использования являются низкие

* По данным работы [235]

механические свойства материалов на его основе. В то же время графен, который обладает превосходными прочностными характеристиками, позволяет не только восполнить недостатки ХЗ, но и придать электропроводность материалам, значительно расширяя эксплуатационные возможности композитов.

Хитозановые пленки нанокompозитов состава, представленного в таблице 3.3, на основе водных дисперсий графена, стабилизированных ПВП или ПЛУ изготавливали лаковым методом. Для этого к готовым ПВП/ПЛУ-стабилизированным дисперсиям графена добавляли ХЗ и МК в качестве солюбилизатора и тщательно перемешивали. Полученный раствор выливали на горизонтальную поверхность и высушивали до полного удаления растворителя. В результате получены визуально однородные, непрозрачные, эластичные пленки с массовым содержанием графена от 1 до 5% [237, 238].

Таблица 3.3 Состав композитных плёнок на основе хитозана и ПВП/ПЛУ-стабилизированного графена, масс. %

№	Графен	Хитозан	ПВП/ПЛУ
1	0	100	0
2	0	66,67	33,33
3	1	65,67	33,33
4	2	64,67	33,33
5	3	63,67	33,33
6	4	62,67	33,33
7*	5	61,67	33,33

*Применимо только для пленок, стабилизированных ПЛУ

Согласно СЭМ на поверхностях полученных пленок (рис. 3.16) не наблюдается наличия агломератов и неоднородностей, что подтверждает данные РФА о том, что МСГ в процессе ультразвуковой эксфолиации был расщеплен до графена. Из изображений поперечных сечений (рис. 3.17) видно, что введение в полимерную матрицу графена приводит к изменению морфологии композитов. Очевидно, что поперечные сечения композитных пленок с графеном выглядят более грубыми чем у пленок из чистого ХЗ, что, вероятно, связано с образованием водородных связей между ХЗ и стабилизаторами, а также гидрофобными взаимодействиями между стабилизаторами и графеном.

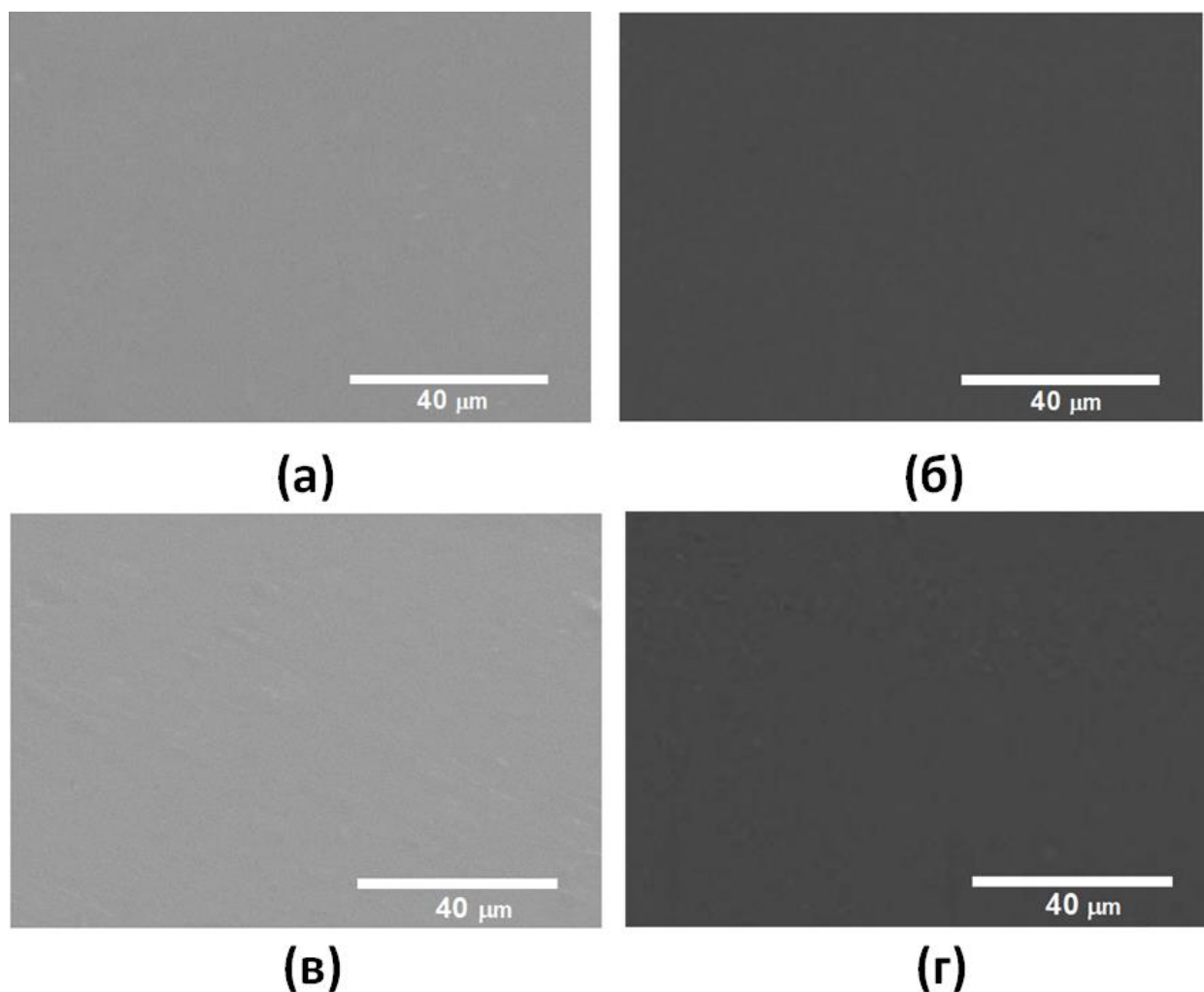


Рисунок 3.16 – СЭМ-изображения поверхностей плёнок: ХЗ-ПВП (а), ХЗ-ПВП-ГФ 1% (б), ХЗ-ПЛУ (в), ХЗ-ПЛУ-ГФ 1% (г)

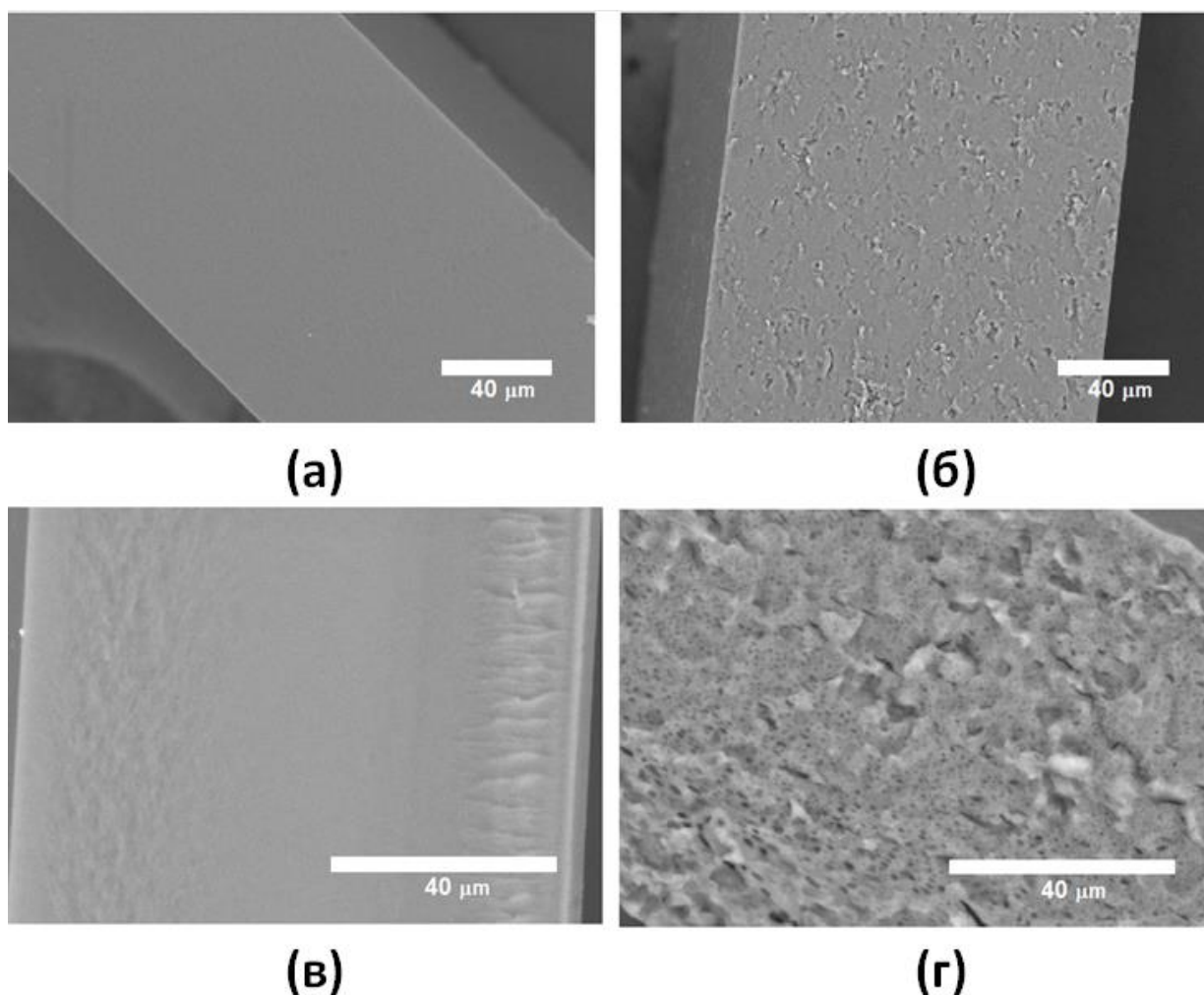


Рисунок 3.17 – СЭМ-изображения поперечных сечений плёнок: ХЗ-ПВП (а), ХЗ-ПВП-ГФ 1% (б), ХЗ-ПЛУ (в), ХЗ-ПЛУ-ГФ 1% (г)

Согласно данным РФА. на дифрактограммах (рис. 3.18) нанокомпозитных пленок состава ХЗ-ПВП-ГФ наблюдается гало при $2\theta = 21^\circ$, характерное для ХЗ, а также при $2\theta = 13^\circ$, принадлежащее ПВП [239]. На дифрактограммах композитов, стабилизированных ПЛУ (рис. 3.19) наблюдается уменьшение интенсивности аморфного гало при $2\theta = 21^\circ$, что может быть связано с уменьшением степени кристалличности ХЗ, ввиду высокой степени разупорядоченности ПЛУ. В целом, для нанокомпозитных пленок характерно отсутствие рефлекса на угле $2\theta = 27^\circ$, характерного для расширенного МСГ, что указывает на его расщепление до графена при УЗ-обработке и отсутствии агломерации графена в процессе формования пленок. Таким образом, можно сделать вывод о сохранении расщепленного состояния графена в полученных композитах.

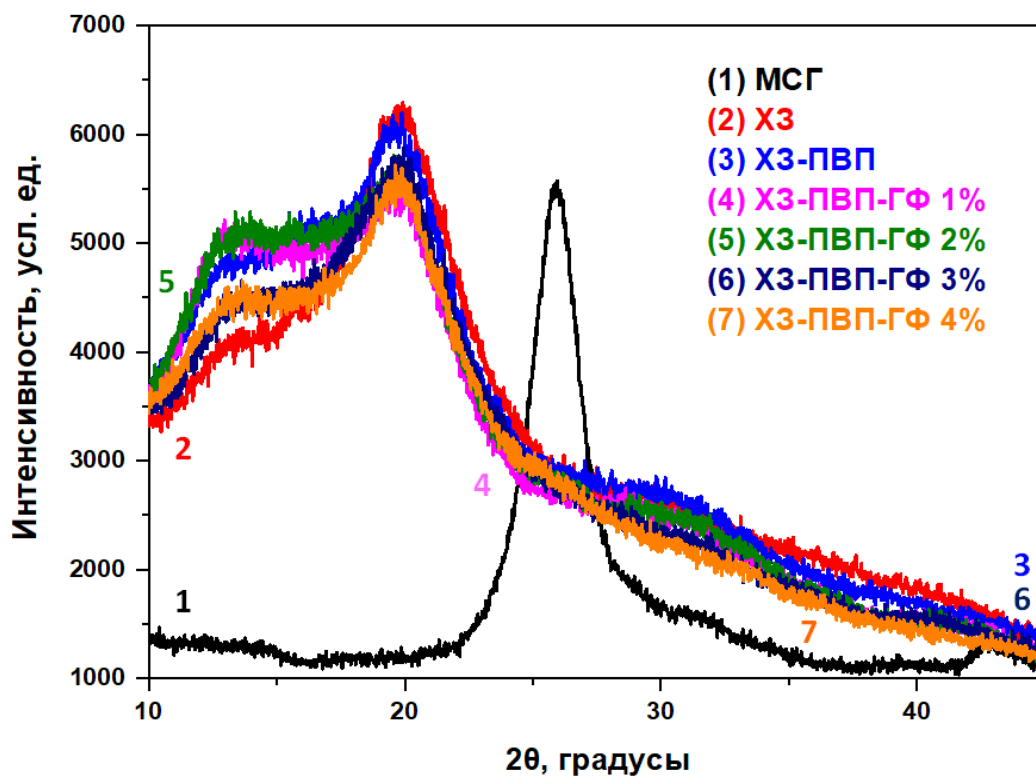


Рисунок 3.18 – Дифрактограммы расширенного МСГ и композитов хитозана с графеном, стабилизированных ПВП

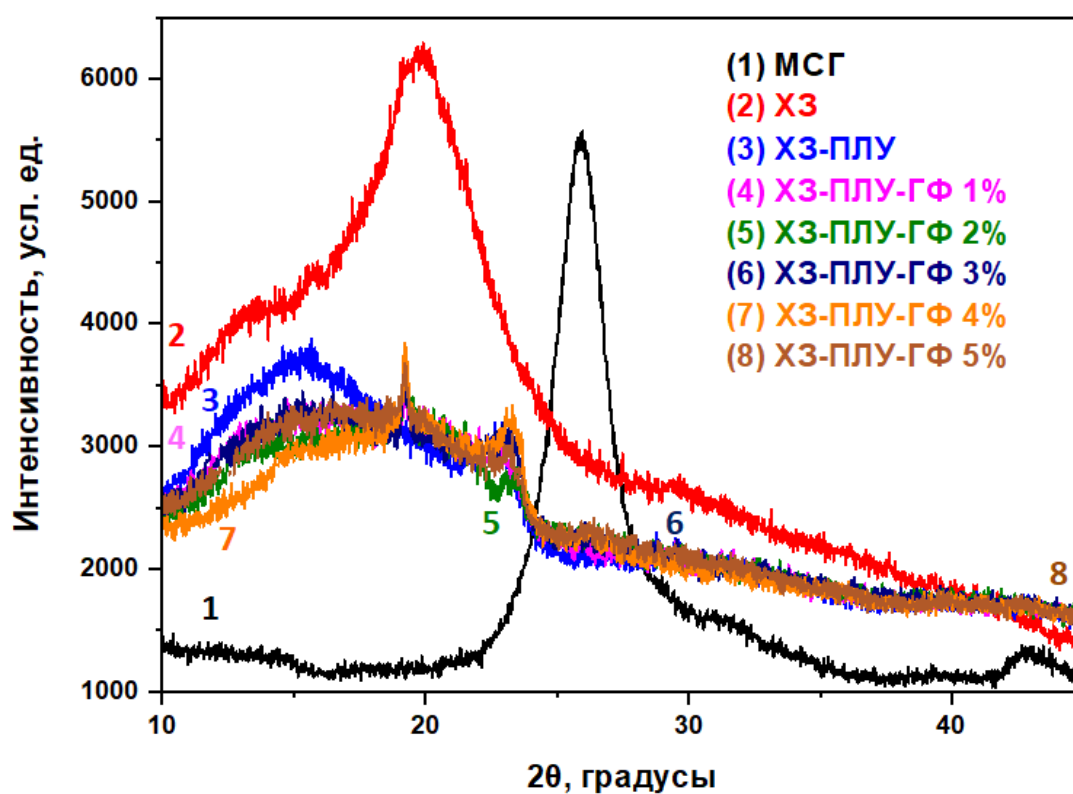


Рисунок 3.19 – Дифрактограммы расширенного МСГ и нанокompозитных пленок хитозана с графеном, стабилизированных ПЛУ

3.4.2 Анализ свойств нанокompозитов

Влияние частиц наполнителя на механические свойства материалов в большинстве своем определяется собственной прочностью частиц наполнителя, их адгезией к поверхности полимера, а также их дисперсностью. Пленки с использованием в качестве полимерной матрицы ХЗ и ПВП/ПЛУ показали различные зависимости изменения механических свойств (рис. 3.20, 3.21). Смешение ХЗ и ПВП в массовом соотношении 2:1 приводит к уменьшению предельной прочности при разрыве с 74.1 ± 3.0 до 65.1 ± 1.7 МПа и уменьшению разрывного удлинения с 40.2 ± 2.4 до 35.3 ± 1.2 . Добавление ПЛУ к ХЗ напротив: пленки характеризуются большим удлинением при разрыве (74.8 ± 1.3 %) и меньшей механической прочностью (42.1 ± 1.3 МПа), что связано с пластифицирующим действием ПЛУ. Добавление графена как к смесям состава ХЗ/ПВП, так и ХЗ/ПЛУ приводит к увеличению предельной разрывной прочности до 97.1 ± 1.6 МПа для ХЗ-ПВП-ГФ 4% и 74.3 ± 1.4 МПа для ХЗ-ПЛУ-ГФ 5%.

Из полученных данных можно сделать вывод, что добавление графена к используемым полимерам приводит к увеличению предельной прочности и уменьшению разрывного удлинения при разрыве всех полученных композитов. Наблюдаемое улучшение механических свойств композиционных пленок объясняется собственной высокой механической прочностью графена и его большой площадью поверхности.

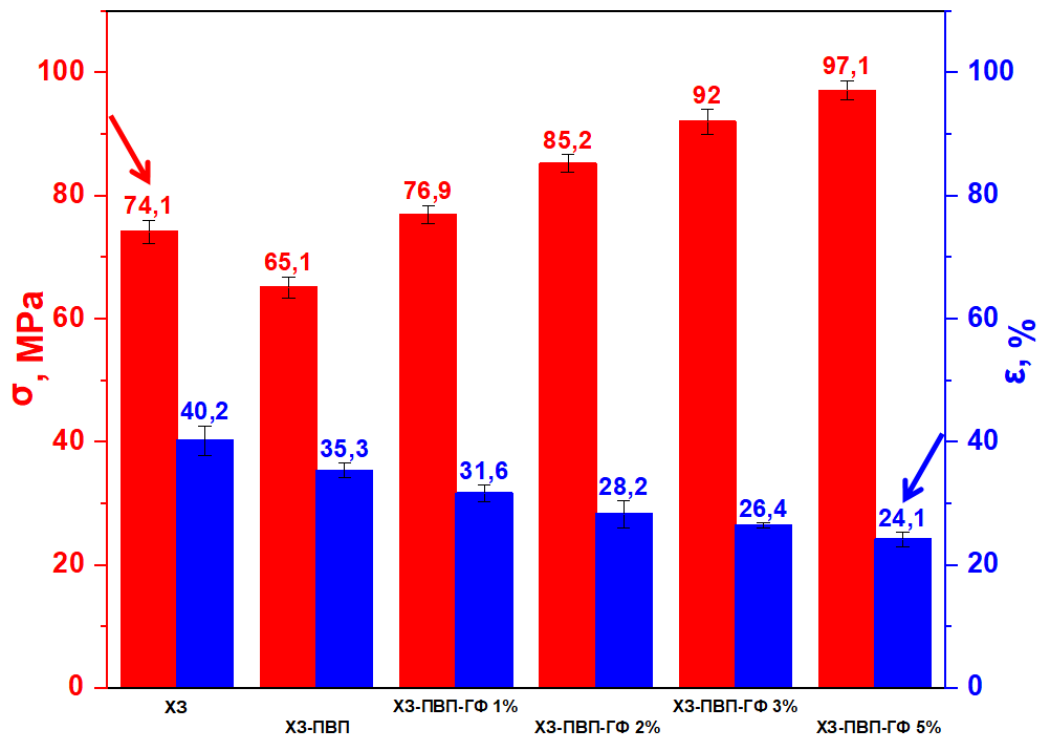


Рисунок 3.20 – Изменение предельной прочности (σ) и относительного удлинения при разрыве (ϵ) для графеновых композитов хитозана, стабилизированных ПВП

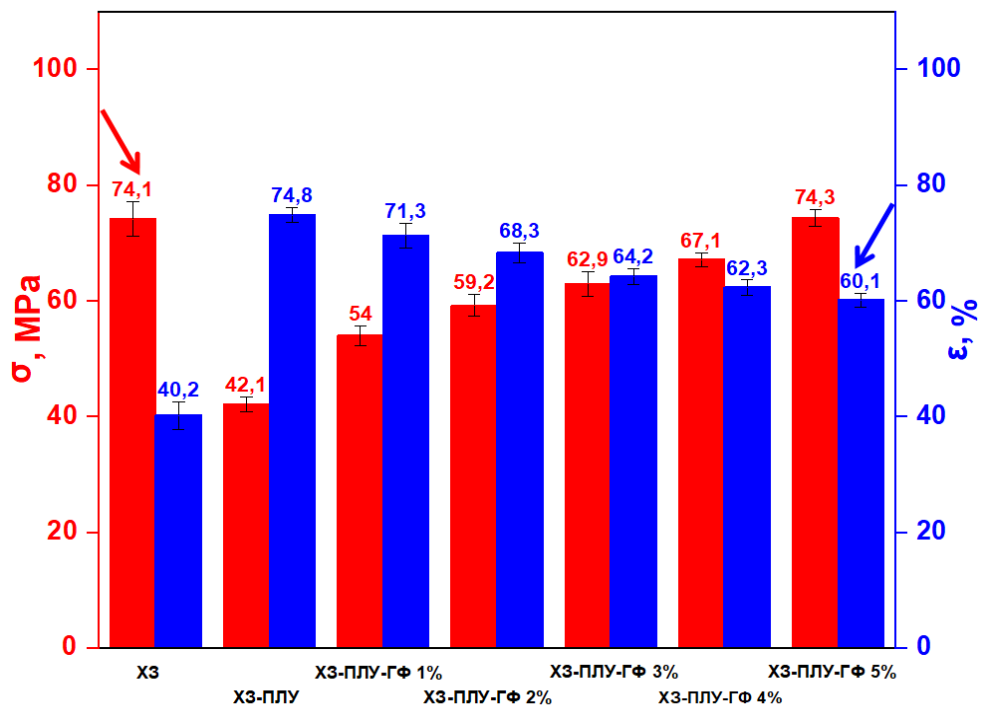


Рисунок 3.21 – Изменение предельной прочности (σ) и относительного удлинения при разрыве (ϵ) для графеновых композитов хитозана, стабилизированных ПЛУ

Данные полученные в результате анализа проводимости показывают, что плёночные материалы с содержанием графена обладают удельной объемной электропроводностью (рис. 3.20). При этом наблюдается увеличение электропроводности прямо пропорциональное увеличению концентрации графена в композите. Так, наибольшим значением удельной объемной электропроводности равной 1.9×10^{-2} См/см среди композитов, стабилизированных ПВП, обладает пленка с содержанием графена 4 масс. %. Пленочный композит, стабилизированный ПЛУ при аналогичном массовом содержании наполнителя продемонстрировал увеличение электропроводности до 4.0×10^{-1} См/см. Стабилизация графена в водной среде ПЛУ по сравнению с ПВП приводит к образованию более концентрированных дисперсий, что позволяет получать композит с максимальным содержанием графена 5 масс. % с электропроводностью до 4.3×10^{-1} См/см. Кроме того, полученные композиты характеризуются достаточно низким порогом перколяции: введение графена даже с 1 масс. % приводит к увеличению проводимости на несколько порядков по сравнению с исходным полимером, а максимальная разница в показателях электропроводности пленки с содержанием графена и чистого ХЗ достигает 8-9 порядков [240]. Также стоит отметить, что нанокompозитные пленки на основе ПЛУ по сравнению с ПВП демонстрировали более высокие значения удельной объемной электропроводности при одинаковом содержании графена, что, вероятно, объясняется большими размерами графеновых частиц, вследствие менее продолжительной ультразвуковой обработкой при получении графеновых дисперсий.

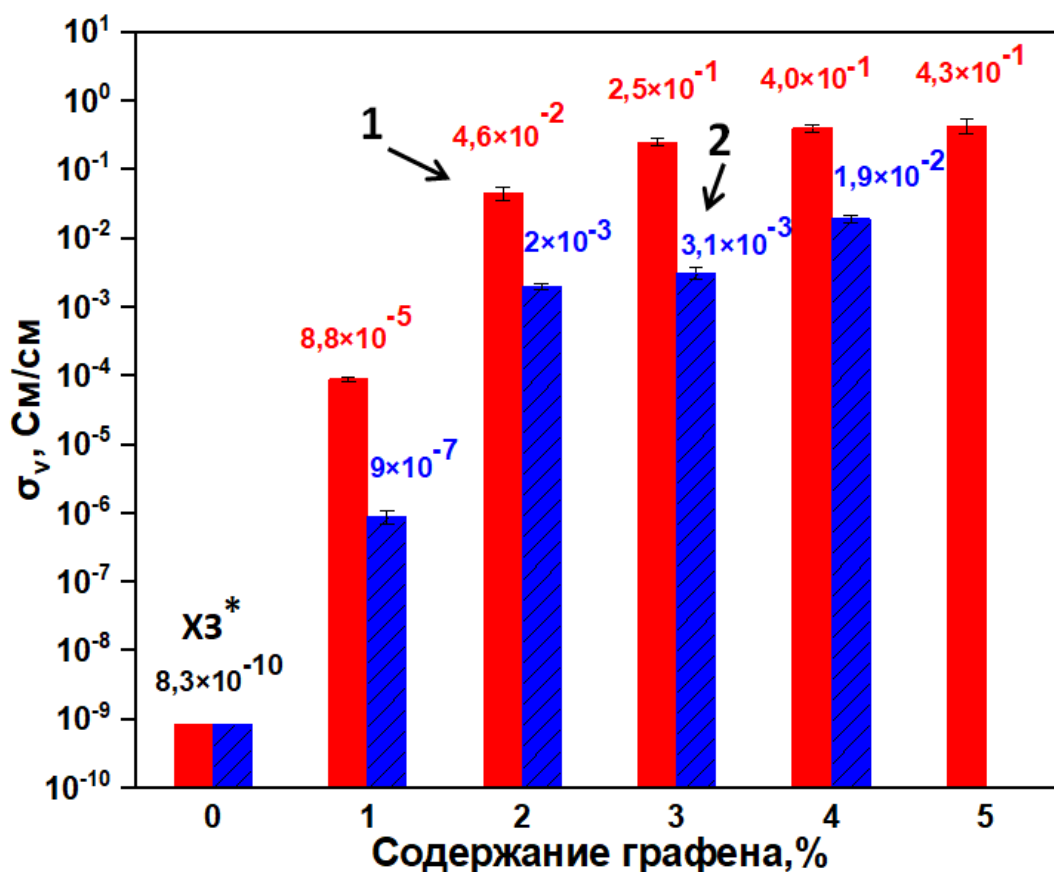


Рисунок 3.20 – Изменение удельной объемной электропроводности (σ_v) нанокompозитных пленок на основе ХЗ с использованием стабилизаторов ПЛУ (1) и ПВП (2) при различном содержании графена

Полученные данные по проводимости схожи с зависимостями, характерными для систем, где имеются перколяционные пути протекания тока через образцы, то есть систем, где частицы наполнителя имеют непосредственный контакт друг с другом. В полимерных композитах в путях протекания между частицами наполнителя могут находиться диэлектрические прослойки, что будет отражаться на температурных зависимостях электросопротивления [241]. На примере более перспективных образцов композитов ХЗ-ПВП-ГФ и ХЗ-ПЛУ-ГФ была проанализирована температурная зависимость электросопротивления и тензорезистивные свойства. Полученные данные электросопротивления от температуры приведены в координатах Аррениуса на рисунке 3.21 видно, что характер полученных зависимостей при увеличении содержания графена в композитах стремится к зависимости, полученной для объемного образца

* По данным работы [240]

спрессованного порошка расширенного МСГ, то есть образца, заведомо состоящего только из частиц наполнителя. Немонотонное изменение наклона полученных зависимостей характерно для прыжкового механизма проводимости, который может наблюдаться в случае наличия диэлектрических прослоек между частицами проводящей фазы и в случае, если частицы проводящей фазы являются сильно дефектными. Наличие или отсутствие полимерных прослоек может также отражаться и на характере изменения электросопротивления образцов при их деформации. Действительно, на рисунке 3.22 представлена зависимость величины отклика электросопротивления на деформацию образцов. При этом величина отклика образца композита ХЗ-ПЛУ-ГФ 5% меньше, чем отклик на деформацию металлов, в которых изменение электросопротивления связано только с изменением геометрических размеров образца при растяжении или сжатии, и не связано с изменением удельного электросопротивления. Отклик характеризуется коэффициентом тензочувствительности, отношением относительного изменения электросопротивления к деформации, вызвавшей это изменение. Для металлов коэффициент равен 2, для образца ХЗ-ПЛУ-ГФ 5% порядка 1.3 (табл. 3.4). Вероятно, что морфология композита ХЗ-ПЛУ-ГФ 5% представлена в виде графеновых частиц имеющих друг с другом контакты в путях протекания тока через образец. Это обуславливает меньший отклик электросопротивления на деформацию, чем у металлов. В этом случае при растяжении или сжатии графеновые частицы скользят друг относительно друга в местах контактов, и электросопротивление таких контактов изменяется несущественно. Напротив, в случае композитов с меньшим содержанием графена и композитов с графеном, стабилизированных ПВП, величина отклика больше (ХЗ-ПВП-ГФ 3% – 5,7), чем в металлах, что может быть объяснено наличием туннельных контактов между частицами в путях протекания тока. Таким образом, можно сделать вывод, что существует обратно пропорциональная зависимость изменения амплитуды электросопротивления и коэффициента тензочувствительности от уменьшения содержания графена в нанокompозитах с одинаковой полимерной матрицей.

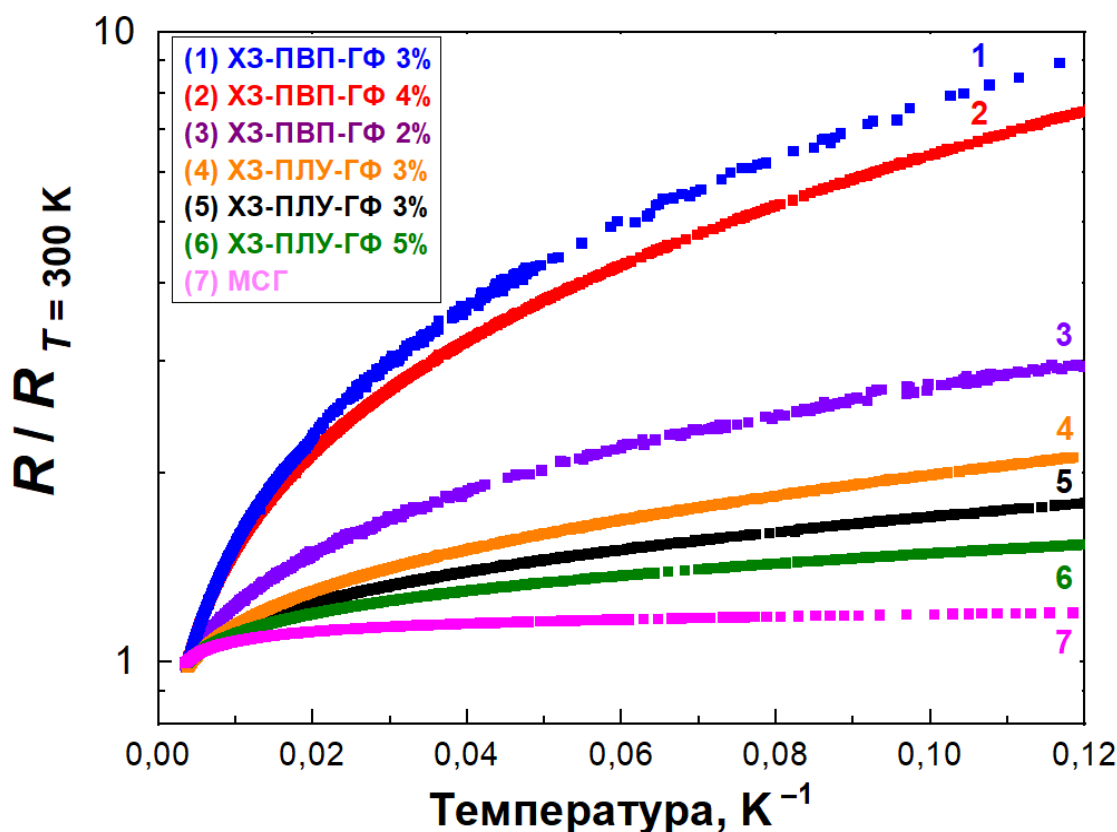


Рисунок 3.21 – Температурные зависимости электросопротивления композитов, нормированных на электросопротивление при комнатной температуре

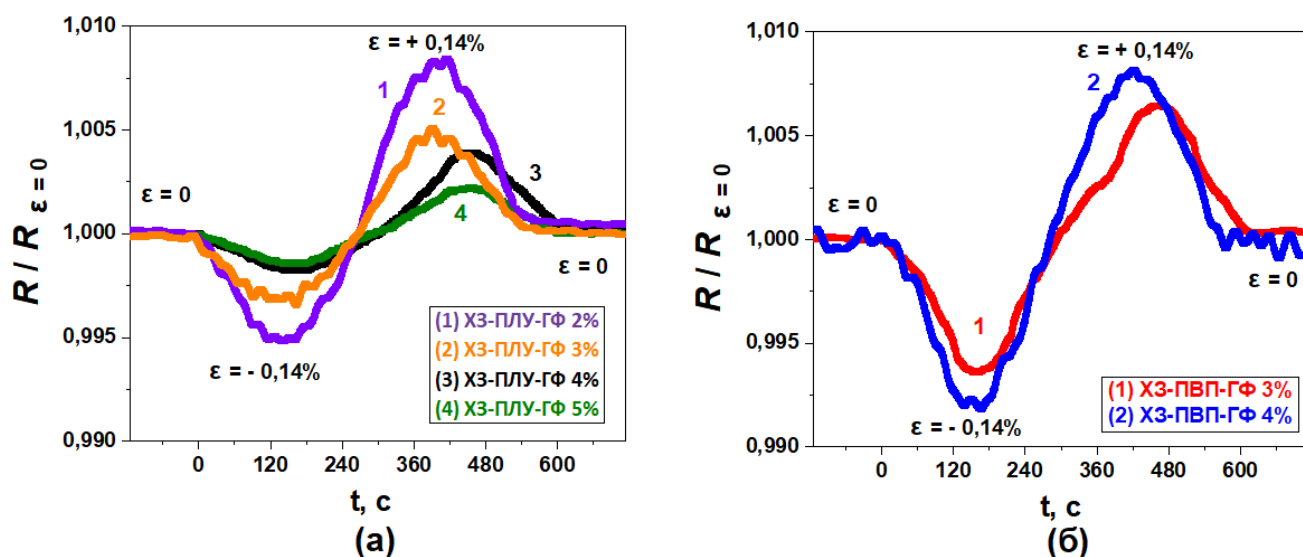


Рисунок 3.22 – Изменение электросопротивления нанокompозитов с течением времени в процессе деформации образцов (а, б). Момент равный 0 секунд соответствует началу 10-минутного цикла последовательного сжатия и растяжения образцов до деформации -0,14% и +0,14% соответственно

Таблица 3.4 – Изменение коэффициента тензочувствительности при различном содержании графена и вида используемого стабилизатора

Содержание графена, масс. %	Стабилизатор	Коэффициент тензочувствительности
3	ПВП	5.7
4		4.7
2	ПЛУ	4.7
3		2.8
4		2.0
5		1.3

Полученные результаты термогравиметрического анализа представлены на рисунках 3.23а, 3.24а, из которых видно, что все композиты при нагревании начинают сразу терять массу, очевидно, адсорбированную воду до температуры 150 °С. Затем скорость деструкции заметно увеличивается вплоть до 230 °С и сопровождается значительным эндотермическим эффектом (рис. 3.23в, 3.24в), что вызвано удалением МК, используемой в качестве солубилизатора, протонирующего NH_2 -группу ХЗ, переводя его в солевую форму. Следующая стадия деструкции, начинающаяся при 250 °С, уже вызвана разложением ХЗ. На кривых ДСК при этом наблюдаются экзо-эффекты. Согласно результатам ДСК, композитные пленки, стабилизированные ПЛУ, содержащие МК, демонстрировали эндотермический эффект при 55-60 °С, соответствующий плавлению ПЛУ (рис. 3.24в), однако в аналогичных пленках после удаления молочной кислоты путем их экспонирования в концентрированном растворе NH_3 в течение 24 часов данного эффекта не наблюдается (рис. 3.24г.). Кроме того, на термограммах (рис. 3.24б) этих нанокомпозитных пленок, стабилизированных ПЛУ, отсутствует потеря массы в диапазоне 350-400 °С, которая наблюдалась в пленках, содержащих кислоту (рис. 3.24а), что также указывает на удаление ПЛУ вместе с молочной кислотой. Судя по отсутствию потери масс при 150 °С и отсутствию соответствующего эндо-эффекта, нам удалось полностью

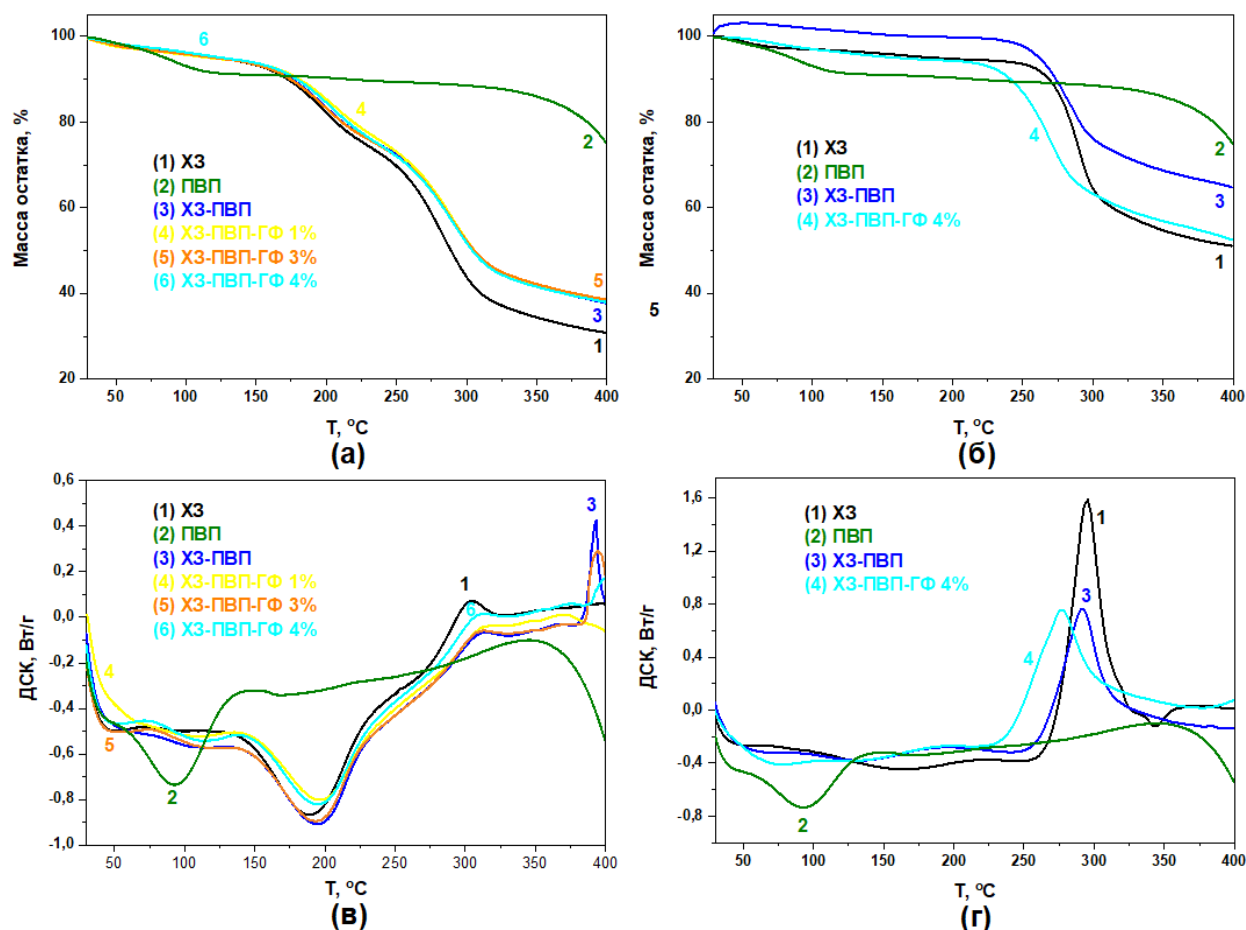


Рисунок 3.23 – Кривые ТГА (а, б) и ДСК (в, г) графенсодержащих нанокомпозитов на основе хитозана, стабилизированных ПВП с молочной кислотой (а, в) и после ее удаления (б, г), полученные в атмосфере аргона, при скорости нагрева 10 °С/мин

удалить кислоту. Интересно то, что деструкция композитов как с кислотой, так и без нее начинается практически при одинаковых температурах, что указывает на отсутствие инициирования МК различных процессов, приводящих к снижению термостойкости полимеров в композите. Однако использование МК в качестве солубилизатора придает гибкость пленкам, удаление которой приводит к значительному уменьшению эластичности композитов. В целом, судя по кривым ТГА и ДСК, полученные композиты по термостойкости очень близки к исходному ХЗ, а влияние графена на ожидаемое увеличение термической стабильности не наблюдается.

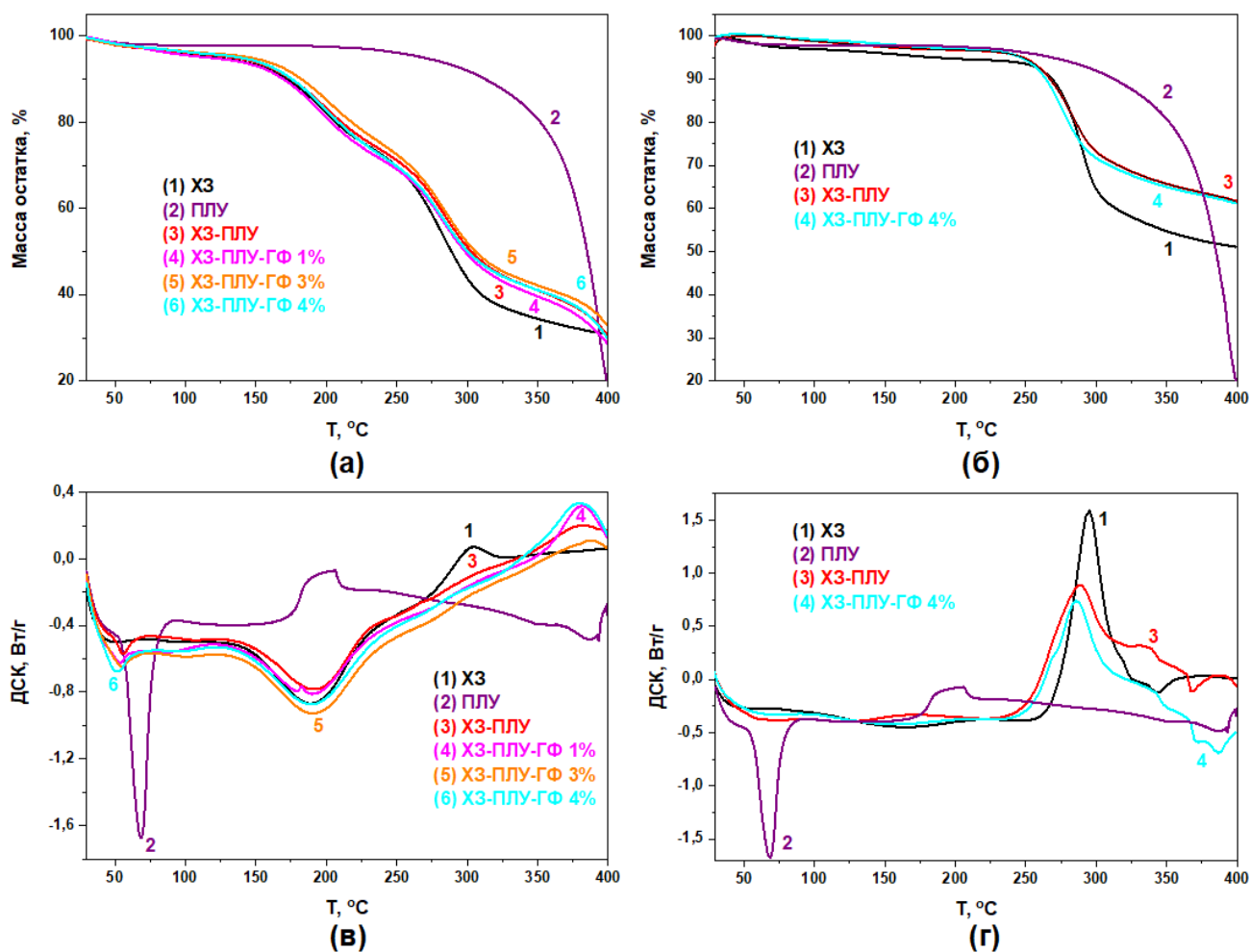


Рисунок 3.24 – Кривые ТГА (а, б) и ДСК (в, г) графенсодержащих нанокомпозитов на основе хитозана, стабилизированных ПВП с молочной кислотой (а, в) и после ее удаления (б, г), полученные в атмосфере аргона, при скорости нагрева $10\text{ }^\circ\text{C/мин}$

Модуль упругости пленки ХЗ при комнатной температуре равен 3.18 ГПа (рис. 3.25а, 3.26а) который до начала термической деструкции постепенно снижается практически в два раза. Добавление к ХЗ стабилизирующих добавок алифатического строения – ПЛУ и ПВП, обладающих пластифицирующими свойствами, приводит к уменьшению модуля упругости до 2.88 и 1.8 ГПа, соответственно, что обуславливается их меньшими прочностными характеристиками. Полученные результаты хорошо согласуются с данными разрывной прочности, в которых наблюдалась аналогичная тенденция уменьшения прочности материалов с добавлением стабилизаторов. Добавление графена в количестве 4 масс. % к полимерным смесям на основе ХЗ и ПВП/ПЛУ приводит к значительному

увеличению модуля упругости системы, что связано с армирующей способностью графена. Включение графена повышает модуль накопления нанокompозитов благодаря усиливающему эффекту равномерно распределенного по всей полимерной матрице мелкодисперсного наполнителя, что затрудняет развитие молекулярной подвижности полимеров. Тангенс угла механических потерь является важным параметром, характеризующим полимеры и композиты на их основе, позволяющий оценить меру жесткости полимера.

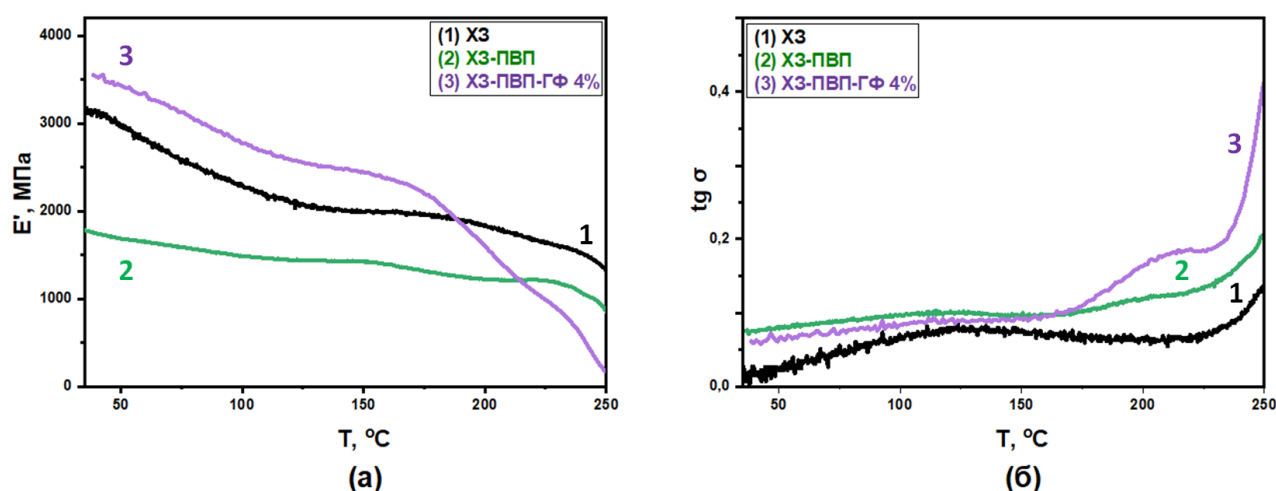


Рисунок 3.25 – Температурные зависимости модуля упругости (а) и тангенса угла механических потерь (б) графенсодержащих нанокompозитов на основе хитозана и ПВП

Судя по рисункам 3.25б, 3.26б, образцы не имеют ярко выраженных релаксационных переходов в интервале температур 30-230°C, что дополнительно подтверждает предположение о вымывании стабилизаторов в процессе удаления МК. Дальнейшее увеличение температуры приводит к росту тангенса угла механических потерь, сопровождающееся резкой потерей массы, что соответствует температурам стеклования и разложения ХЗ, значения которых близки [242].

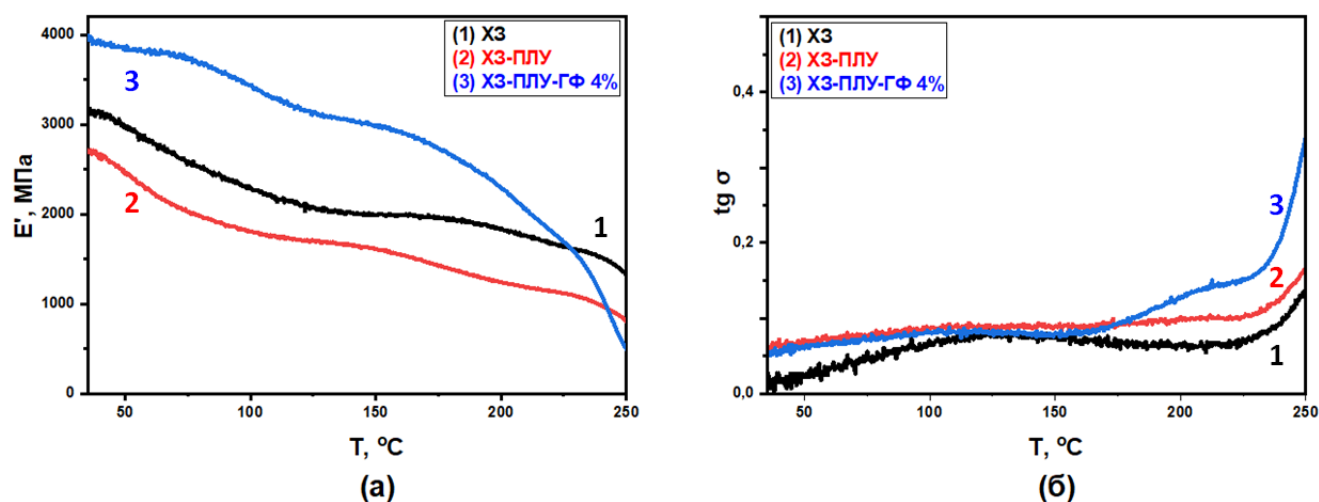


Рисунок 3.26 – Температурные зависимости модуля упругости (а) и тангенса угла механических потерь (б) графенсодержащих нанокомпозитов на основе хитозана и ПЛУ

3.4.3 Анализ биосовместимости нанокомпозитов

Для оценки биосовместимости композитных пленок на основе ХЗ с ПВП и ПЛУ были проведены испытания *in vitro* и *in vivo*. Важно отметить, что материалы на основе графена могут быть как биосовместимыми, так и токсичными для живых клеток. Реакция клеток на эти наноматериалы зависит от различных факторов, включая количество и латеральные размеры графеновых слоев, их концентрацию, чистоту, особенности поверхности и гидрофобность [243]. Согласно ISO 10993-5-2011: «Изделия медицинские. Биологическая оценка медицинских изделий, часть 5», биоматериал считается нецитотоксичным, если жизнеспособность клеток составляет $\geq 70\%$ от контрольного показателя додецилсульфата натрия (ДСН), используемого в качестве положительного контроля, который вызывает значительную гибель клеток ($IC_{50} \sim 0,05$ мг/мл) (рис. 3.27). Выживаемость мышинных фибробластов линии 3Т3 в экстрактах, полученных нанокомпозитных пленок, согласно результатам МТТ-теста составляла выше 80%, что позволяет их отнести к биосовместимым материалам.

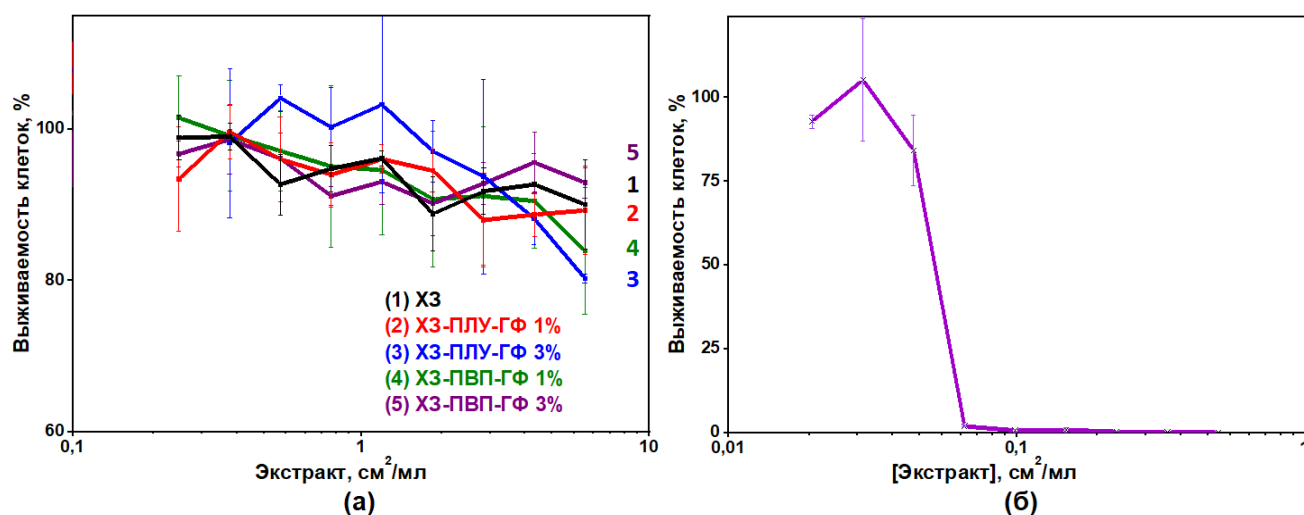


Рисунок 3.27 – Дозозависимая цитотоксичность растворимых компонентов пленок (экстрактов). Из графиков видно, что пленки **(а)** не выделяют цитотоксические компоненты в среду культивирования клеток по сравнению с SDS **(б)**

Чтобы определить конфлюэнтность, жизнеспособность и морфологию мышинных фибробластов на поверхности пленки проводилось окрашивание клеток кальцеином-АМ (зеленый, окрашивание живых клеток) и гомодимером этидия (красный, окрашивание мертвых клеток). Через 72 часа культивирования на пленках наблюдалось подавляющее количество живых клеток с очень небольшим количеством мертвых включений (рис. 3.28). Результаты конфокальной микроскопии продемонстрировали, что все полимерные матрицы обеспечивают удовлетворительную адгезию и пролиферацию клеток, при этом общая гибель клеток не превышает 1% [244]. Однако наблюдалась умеренная тенденция к округлению клеток. Использование стабилизированного графена принесло положительный эффект, наиболее выраженный при ПВП: клетки принимали физиологическую веретенообразную конфигурацию, а также равномерно распределялись с типичной фибробластической организацией концентрических структур.

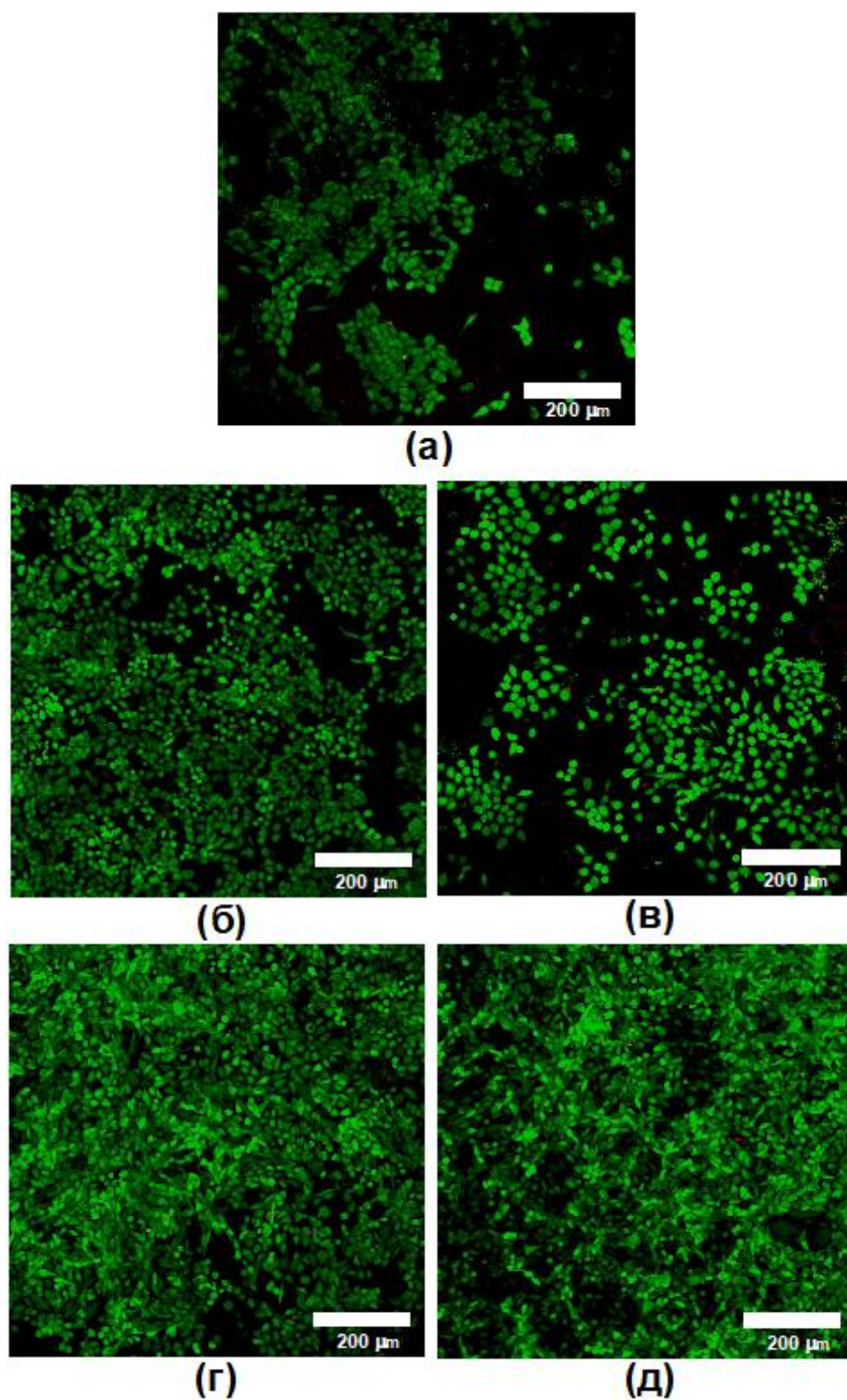


Рисунок 3.28 – Распределение и морфология стволовых клеток на поверхности пленок: X3 (а), X3-ПЛУ-ГФ 1% (б), X3-ПЛУ-ГФ 3% (в), X3-ПВП-ГФ 1% (г), X3-ПВП-ГФ 3% (д)

Микроскопия гистологических срезов инкапсулированных имплантатов – нанокompозитных графенсодержащих пленок (рис. 3.29а-д) показала схожую картину после 30 дней подкожной имплантации: под слоем подкожной жировой клетчатки находился имплантат, окруженный соединительнотканной капсулой. Клеточный состав окружающих тканей характеризовался преобладанием клеточных элементов преимущественно фибробластного ряда. Ближе к имплантату с внутренней поверхности выявляются гигантские клетки инородных тел – макрофаги, которые, в целом, характерны для естественной биодеградации материалов, имплантированных в организм реципиента. Имплантация большинства пленок вызывала умеренную лейкоцитарную инфильтрацию, выраженную в местах наибольшей сегментации материала (рис. 3.30а-д). Развитие воспалительной реакции в данном случае, вероятно, является следствием прижизненной травматизации мягких тканей вследствие имплантации пленок. Установлено, что пленка из чистого ХЗ обладала высокой хрупкостью, что приводило к травматизации окружающих тканей и, как следствие, воспалительной реакции. Напротив, присутствие стабилизирующих добавок ПВП и ПЛУ в композитных пленках увеличивало эластичность композитов, что способствовало некоторому снижению миграции лейкоцитов в области имплантации с небольшими участками скопления лейкоцитов.

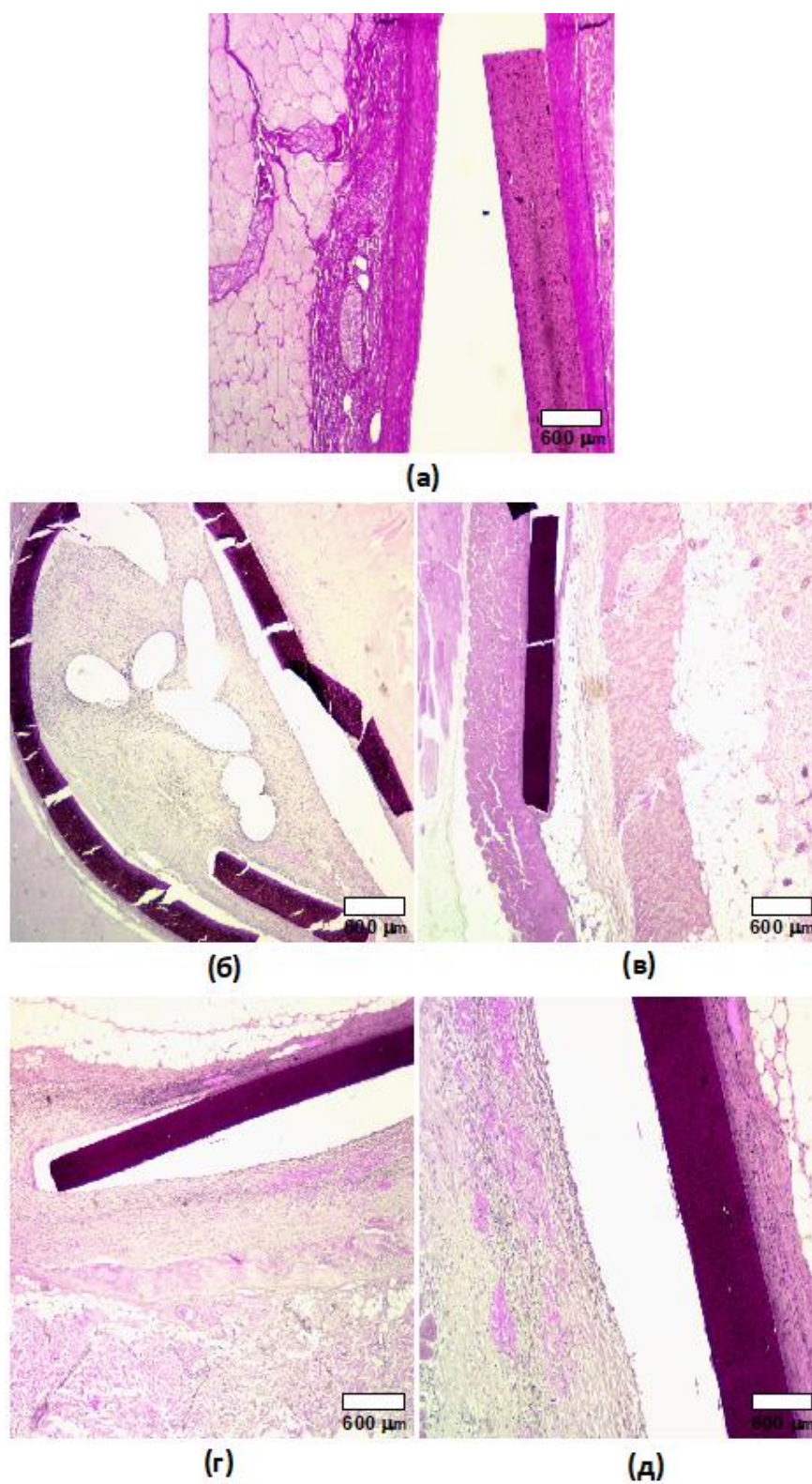


Рисунок 3.29 – Результаты гистологического анализа после 30-дневной подкожной имплантации крысам: X3 (а); X3-ПЛУ-ГФ 1% (б); X3-ПЛУ-ГФ 3% (в); X3-ПВП-ГФ 1% (г); X3-ПВП-ГФ 3% (д)

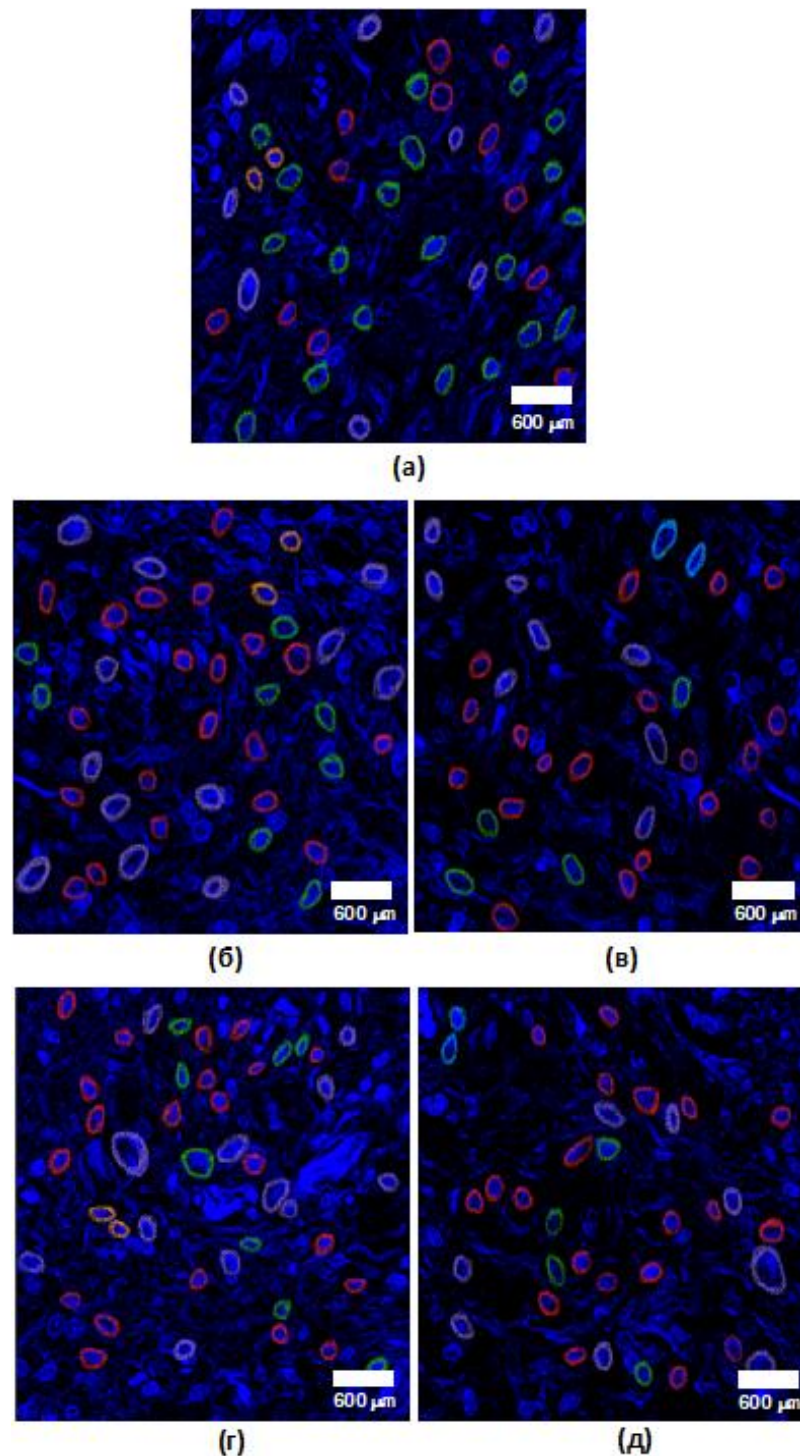


Рисунок 3.30 – Результаты иммунофлуоресцентного исследования экспрессии маркера CD4+ для CD4+ Т-лимфоцитов (красный), CD8+ для CD8+ Т-лимфоцитов (зеленый), CD68 для макрофагов (розовый), CD20 для В-лимфоцитов (оранжевый) и CD138 для плазматических клеток (синий) после 30-дневной подкожной имплантации крысам: X3 (а); X3-ПЛУ-ГФ 1% (б); X3-ПЛУ-ГФ 3% (в); X3-ПВП-ГФ 1% (г); X3-ПВП-ГФ 3% (д)

Важно отметить, что наибольшее количество лейкоцитарных скоплений было зафиксировано в зоне сегментации имплантированного материала. Для типирования популяций лейкоцитов и общей оценки характера иммунного ответа проводили иммунофлуоресцентное исследование с использованием маркеров CD4⁺ Т-лимфоцитов, CD8⁺ Т-лимфоцитов, макрофагов, В-лимфоцитов и плазматических клеток, а также ПЦР. Установлено, что в лейкоцитарных инфильтратах пленки из ХЗ обнаружено значительно больше клеток, чем в инфильтратах композитных пленок (рис. 3.31). При рассмотрении внутригрупповой неоднородности лейкоцитарных инфильтратов установлено, что в группе ХЗ достоверно преобладают CD8⁺ Т-лимфоциты, составляя около $34,28 \pm 2,48$ % клеточной популяции, в то время как в группы с образцами, стабилизированными ПВП и ПЛУ, в клеточных популяциях преобладали CD4⁺ Т-лимфоциты с $32,26 \pm 2,38\%$ и $32,38 \pm 4,18\%$ соответственно). Содержание В-лимфоцитов и плазматических клеток было крайне низким во всех группах, при этом в нанокompозитных пленках наблюдались макрофаги, что является нормальной реакцией на инородное тело. В пленке ХЗ соотношение CD4⁺/CD8⁺

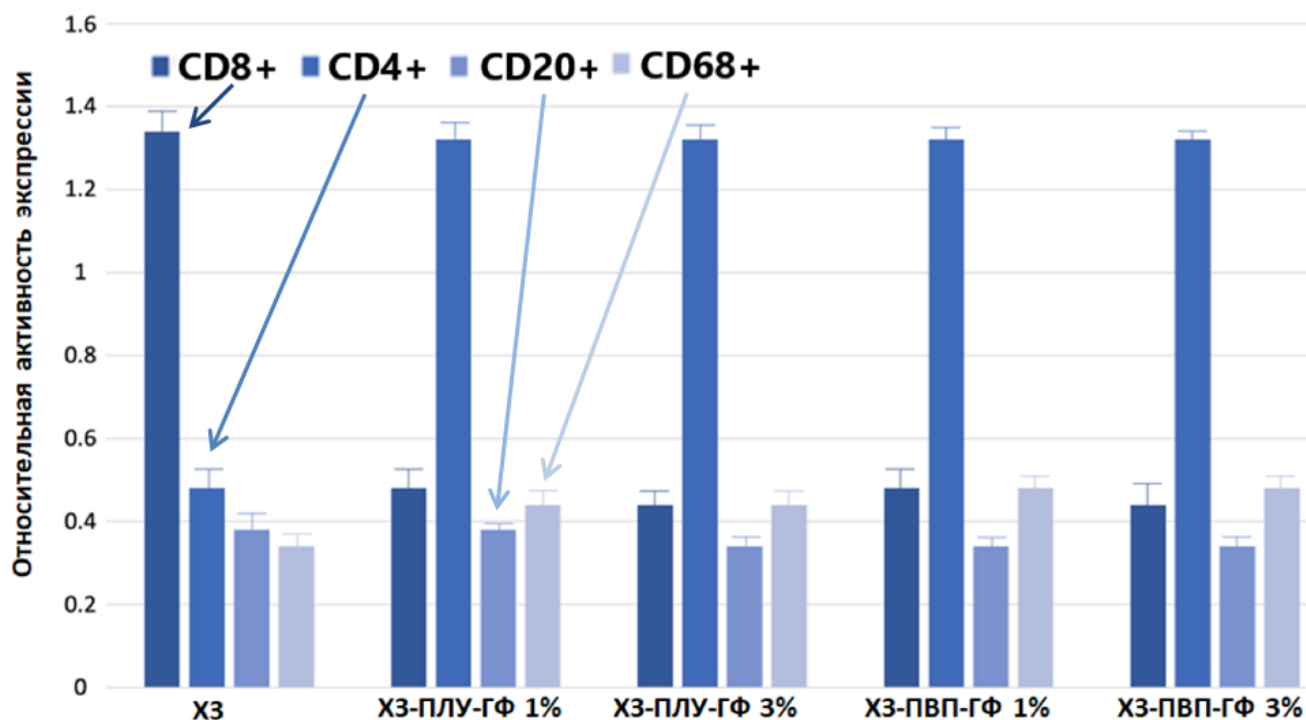


Рисунок 3.31 – Результаты полимеразной цепной реакции для определения экспрессионной активности маркеров CD8⁺, CD4⁺, CD20⁺ и CD68⁺

Т-лимфоцитов является низким, в то время как во всех композитных пленках оно увеличивается в среднем в 6 раз, что указывает на значительное уменьшение воспалительной реакции. Таким образом, разработанные графенсодержащие композиты демонстрируют высокую биосовместимость, причем значительно лучше, чем у ХЗ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные и практические результаты работы заключаются в следующем:

1. Разработаны методы получения новых функциональных графенсодержащих нанокомпозитов на основе хитозана, полилактида и коллагена различного состава и исследованы их основные физико-химические свойства.

2. Установлена возможность получения высококонцентрированных водных дисперсий 1-4 слойного графена с латеральными размерами 50-400 нм в случае применения в качестве амфифильного стабилизатора поливинилпирролидона и 150-1000 нм при использовании Pluronic F108 в результате непродолжительного ультразвукового воздействия на расширенный малослойный графит.

3. Показано, что пленочные материалы, полученные с использованием дисперсии графена в МП и полилактида, обладают удельной объемной электропроводностью, достигающей значения 0.9 См/см^{-1} .

4. На основе нанокомпозитов полилактида и графена продемонстрирована возможность получения нитей для FDM 3D-печати, обеспечивающих практически точное воспроизведение компьютерной модели и наличие электропроводности напечатанных изделий.

5. Установлено, что введение графена в полимерную матрицу приводит к достижению удельной объемной электропроводности нанокомпозитных пленок на основе коллагена до $6.1 \times 10^{-4} \text{ См/см}$, а на основе хитозана до 0.43 См/см и тензочувствительности с коэффициентом от 1.3 до 5.7.

6. Показано, что введение стабилизированных графеновых частиц в матрицу хитозана и коллагена приводит к значительному увеличению механической прочности при разрыве и модуля упругости, тогда как стойкость к термическому воздействию практически не изменяется.

7. Полученные графенсодержащие нанокомпозиты не оказывают токсичного воздействия на клетки, при этом их адгезия к поверхности возрастает с увеличением содержания графена.

Перспективным направлением дальнейших работ является использование разработанных биосовместимых электропроводящих материалов на основе графена в качестве тканеинженерных конструкций для реконструкции тканей и органов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. The synthesis and properties of highly exfoliated graphites from fluorinated graphite intercalation compounds / V. G. Makotchenko, E. D. Grayfer, A. S. Nazarov et al. // Carbon. – 2011. – Vol. 49, № 10. – P. 3233-3241.
2. Degradation of polyvinyl chloride microplastics via an electro-Fenton-like system with a TiO₂/graphite cathode / F. Miao, Y. Liu, M. Gao et al. // Journal of Hazardous Materials. – 2020. – Vol. 399. – P. 123023.
3. Amaral-Zettler, L. A. Ecology of the plastisphere / L. A. Amaral-Zettler, E. R. Zettler, T. J. Mincer // Nature Reviews Microbiology. – 2020. – Vol. 18, № 3. – P. 139-151.
4. A mini-review: current advances in polyethylene biodegradation / D. K. R. Bardají, J. A. S. Moretto, J. P. R. Furlan, E. G. Stehling // World Journal of Microbiology and Biotechnology. – 2020. – Vol. 36, № 2. – P. 1-10.
5. Bio-based packaging: Materials, modifications, industrial applications and sustainability / C. L. Reichert, E. Bugnicourt, M. B. Coltelli et al. // Polymers. – 2020. – Vol. 12, №7. – P. 1558.
6. Sreenivas, H. T. A comprehensive review on light weight kenaf fiber for automobiles / H. T. Sreenivas, N. Krishnamurthy, G. R. Arpitha // International Journal of Lightweight Materials and Manufacture. – 2020. – Vol. 3, № 4. – P. 328-337.
7. Nanosheets-incorporated bio-composites containing natural and synthetic polymers/ceramics for bone tissue engineering / S. P. Adithya, D. S. Sidharthan, R. Abhinandan et al. // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – Vol. 164. – P. 1960-1972.
8. CeO₂ nanoparticle-containing polymers for biomedical applications: A review / A. B. Shcherbakov, V. V. Reukov, A. V. Yakimansky et al. // Polymers. – 2021. – Vol. 13, № 6. – P. 924.
9. Biocomposites reinforced by fibers or tubes as scaffolds for tissue engineering or regenerative medicine / X. Li, Y. Yang, Y. Fan et al. // Journal of Biomedical

Materials Research – Part A. – 2014. – Vol. 102, № 5. – P. 1580-1594.

10. Antioxidant and antimicrobial applications of biopolymers: A review / S. Sivakanthan, S. Rajendran, A. Gamage et al. // Food Research International. – 2020. – Vol. 136. – P. 109327.
11. A comprehensive review on chemical properties and applications of biopolymers and their composites / A. George, M. R. Sanjay, R. Srisuk et al. // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – Vol. 154. – P. 329-338.
12. Biswal, T. Biopolymers for tissue engineering applications: A review / T. Biswal // Materials Today: Proceedings. – 2019. – Vol. 41, № 2. – P. 397-402.
13. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012) / M. Vert, Y. Doi, K. Hellwich et al. // Pure Appl. Chem. – 2012. – Vol. 34, № 3. – P. 377-410.
14. Synthetic biology / A. Glieder, C. P. Kubicek, D. Mattanovich et al. // Synthetic Biology. – 2015. – P. 307-335.
15. Gunatillake, P. A. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering / P. A. Gunatillake, R. Adhikari, N. Gadegaard // European Cells and Materials. – 2003. – Vol. 5. – P. 1-16.
16. Gilding, D. K. Biodegradable polymers for use in surgery-polyglycolic/poly(lactic acid) homo- and copolymers: 1 / D. K. Gilding, A. M. Reed // Polymer. – 1979. – Vol. 20, № 12. – P. 1459-1464.
17. Budak, K. A review on synthesis and biomedical applications of polyglycolic acid / K. Budak, O. Sogut, U. Aydemir Sezer // Journal of Polymer Research. – 2020. – Vol. 27. – P. 208.
18. Willerth, S. M. Combining Stem Cells and Biomaterial Scaffolds for Constructing Tissues and Cell Delivery / S. M. Willerth, S. E. Sakiyama-Elbert // StemJournal. – 2019. – Vol. 1, № 1. – P. 1-25.
19. Shunmugasundaram, M. A review of bio-degradable materials for fused deposition modeling machine / M. Shunmugasundaram, M. A. Ali baig, M. Ajay Kumar // Materials Today: Proceedings. – 2020. – Vol. 27. – P. 1596-1600.
20. Garlotta, D. A Literature Review of Poly (Lactic Acid) / D. Garlotta // Journal of

Polymers and the Environment. – 2019. – Vol. 9, № 2. – P. 63-84.

21. Conti, B. Use of polylactic acid for the preparation of microparticulate drug delivery systems / B. Conti, F. Pavanetto, I. Genta // Journal of Microencapsulation. – 1991. – Vol. 9, № 2. – P. 153-166.
22. Jalil, R. Biodegradable poly(lactic acid) and poly(lactide-co-glycolide) microcapsules: Problems associated with preparative techniques and release properties / R. Jalil, J. R. Nixon // Journal of Microencapsulation. – 1990. – Vol. 7, № 3. – P. 297-325.
23. Chemical modification and foam processing of polylactide (PLA) / T. Standau, C. Zhao, S. M. Castellón et al. // Polymers. – 2019. – Vol. 11, № 2. – P. 306.
24. Chow, W. S. Flame retarded poly(lactic acid): A review / W. S. Chow, E. L. Teoh, J. Karger-Kocsis // Express Polymer Letters. – 2018. – Vol. 12, № 5. – P. 396-417.
25. Garg, T. Scaffold: A Novel Carrier for Cell and Drug Delivery / T. Garg, O. Singh, S. Arora et al. // Industrial and Engineering Chemistry Research. – 2012. – Vol. 29, № 1. – P. 1-63.
26. Constructing multifunctional nanofiller with reactive interface in PLA/CB-g-DOPO composites for simultaneously improving flame retardancy, electrical conductivity and mechanical properties / X. Wen, Z. Liu, Z. Li et al. // Composites Science and Technology. – 2020. – Vol. 188, – P. 107988.
27. 3D printing of PLA/n-HA composite scaffolds with customized mechanical properties and biological functions for bone tissue engineering / W. Wang, B. Zhang, M. Li et al. // Composites Part B: Engineering. – 2021. – Vol. 224. – P. 109192.
28. Swaroop, C. Development of blown polylactic acid-MgO nanocomposite films for food packaging / C. Swaroop, M. Shukla // Composites Part A: Applied Science and Manufacturing. – 2019. – Vol. 124. – P. 105482.
29. Woodruff, M. A. The return of a forgotten polymer - Polycaprolactone in the 21st century / M. A. Woodruff, D. W. Hutmacher // Progress in Polymer Science (Oxford). – 2010. – Vol. 35, № 10. – P. 1217-1256.

30. Three-dimensional poly(ϵ -caprolactone) bioactive scaffolds with controlled structural and surface properties / A. Gloria, F. Causa, T. Russo et al. // *Biomacromolecules*. – 2012. – Vol. 13, № 11. – P. 3510-3521.
31. Kayan, G. Ö. Polycaprolactone Composites/Blends and Their Applications Especially in Water Treatment / G. Ö. Kayan, A. Kayan // *ChemEngineering*. – 2023. – Vol. 7, № 6. – P. 104.
32. Nonwoven polycaprolactone scaffolds for tissue engineering: The choice of the structure and the method of cell seeding / I. V. Arutyunyan, T. K. Tenchurin, E. Y. Kananykhina et al. // *Genes and Cells*. – 2017. – Vol. 12, № 1. – P. 62-71.
33. Использование протезов из поликапролактона для сосудов малого диаметра / Г. Севостьянова В.В., Елгудин Я.А., Глушкова Т.В. Внэк, Т. Любышева, С. Эмансипатор и др. // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2015. – Т. 21, № 1. – С. 44-53.
34. Development, fabrication, and characterization of composite polycaprolactone membranes reinforced with TiO₂ nanoparticles / K. del Ángel-Sánchez, C. I. Borbolla-Torres, L. M. Palacios-Pineda et al. // *Polymers*. – 2019. – Vol. 11, № 12. – P. 1955.
35. Poly (ϵ -Caprolactone)/cellulose nanofiber blend nanocomposites containing ZrO₂ nanoparticles: A new biocompatible wound dressing bandage with antimicrobial activity / S. Khanmohammadi, R. Karimian, M. G. Mehrabani et al. // *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. – 2020. – Vol. 10, № 4. – P. 577-585.
36. Sapalidis, A. A. Porous Polyvinyl alcohol membranes: Preparation methods and applications / A. A. Sapalidis // *Symmetry*. – 2020. – Vol. 12, № 6. – P. 960.
37. Hameed, N. Evaluation of polyvinyl alcohol composite membranes containing collagen and bone particles / N. Hameed, V. Glattauer, J. A. M. Ramshaw // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. – 2015. – Vol. 48. – P. 38-45.
38. The synthesis, mechanisms, and additives for bio-compatible polyvinyl alcohol hydrogels: A review on current advances, trends, and future outlook / M. Yang, Z. Wang, M. Li et al. // *Journal of Vinyl and Additive Technology*. – 2023. – Vol.

- 29, № 6. – P. 939-959.
39. Poly(vinyl alcohol) physical hydrogels: New vista on a long serving biomaterial / M. H. Alves, B. E. B. Jensen, A. A. A. Smith, A. N. Zelikin // *Macromolecular Bioscience*. – 2011. – Vol. 11, № 10. – P. 1293-1313.
 40. Teodorescu, M. Biomaterials of PVA and PVP in medical and pharmaceutical applications: Perspectives and challenges / M. Teodorescu, M. Bercea, S. Morariu // *Biotechnology Advances*. – 2019. – Vol. 37, № 1. – P. 109-131.
 41. Complex relationship between alumina and selenium-doped carbonated hydroxyapatite as the ceramic additives to electrospun polycaprolactone scaffolds for tissue engineering applications / M. K. Ahmed, R. Ramadan, S. I. El-dek, V. Uskoković // *Journal of Alloys and Compounds*. – 2019. – Vol. 801. – P. 70-81.
 42. Kiro, A. Designing of silk and ZnO based antibacterial and noncytotoxic bionanocomposite films and study of their mechanical and UV absorption behavior / A. Kiro, J. Bajpai, A. K. Bajpai // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. – 2017. – Vol. 65. – P. 281-294.
 43. Effect of trifluoroacetic acid on the properties of polyvinyl alcohol and polyvinyl alcohol-cellulose composites / S. Guzman-Puyol, L. Ceseracciu, J. A. Heredia-Guerrero et al. // *Chemical Engineering Journal*. – 2015. – Vol. 277. – P. 242-251.
 44. Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-based composite reinforced with nanocellulose and nanosilica / Y. C. Ching, A. Rahman, K. Y. Ching et al. // *BioResources*. – 2015. – Vol. 10, № 2. – P. 3364-3377.
 45. Hottle, T. A. Biopolymer production and end of life comparisons using life cycle assessment / T. A. Hottle, M. M. Bilec, A. E. Landis // *Resources, Conservation and Recycling*. – 2017. – Vol. 122. – P. 295-306.
 46. Kołodziejska, B. Biologically inspired collagen/apatite composite biomaterials for potential use in bone tissue regeneration-A review / B. Kołodziejska, A. Kaflak, J. Kolmas // *Materials*. – 2020. – Vol. 13, № 7. – P. 1748.
 47. Stability and biodegradation of silk fibroin/hyaluronic acid nerve conduits / Z. Hu, S. K. Das, S. Yan et al. // *Composites Part B: Engineering*. – 2020. – Vol. 200. – P. 108222.

48. Baghaei, B. All-Cellulose Composites: A Review of Recent Studies on Structure, Properties and Applications / B. Baghaei, M. Skrifvars // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25, № 12. – P. 2836.
49. Meereboer, K. W. Review of recent advances in the biodegradability of polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics and their composites / K. W. Meereboer, M. Misra, A. K. Mohanty // *Green Chemistry*. – 2020. – Vol. 22, № 17. – P. 5519-5558.
50. Hydroxybutyl Chitosan Centered Biocomposites for Potential Curative Applications: A Critical Review / M. Sun, T. Wang, J. Pang et al. // *Biomacromolecules*. – 2020. – Vol. 21, № 4. – P. 1351-1367.
51. Thakur, S. An overview on alginate based bio-composite materials for wastewater remedial / S. Thakur // *Materials Today: Proceedings*. – 2020. – Vol. 37. – P. 3305-3309.
52. Biopolymers for Antitumor Implantable Drug Delivery Systems: Recent Advances and Future Outlook / S. Talebian, J. Foroughi, S. J. Wade et al. // *Advanced Materials*. – 2018. – Vol. 30, № 31. – P. 1706665.
53. Biopolymer-based functional composites for medical applications / S. Bin Park, E. Lih, K. S. Park et al. // *Progress in Polymer Science*. – 2017. – Vol. 68. – P. 77-105.
54. Silk Fibroin for Flexible Electronic Devices / B. Zhu, H. Wang, W. R. Leow et al. // *Advanced Materials*. – 2016. – Vol. 28, № 22. – P. 4250-4265.
55. Functional biomaterials towards flexible electronics and sensors / Q. Sun, B. Qian, K. Uto et al. // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2018. – Vol. 119. – P. 237-251.
56. Chen, C. Nanocellulose toward Advanced Energy Storage Devices: Structure and Electrochemistry / C. Chen, L. Hu // *Accounts of Chemical Research*. – 2018. – Vol. 51, № 12. – P. 3154-3165.
57. Antioxidant and antimicrobial applications of biopolymers: A review / S. Sivakanthan, S. Rajendran, A. Gamage et al. // *Food Research International*. – 2020. – Vol. 136. – P. 109327.
58. Seaweed polysaccharides and their potential biomedical applications / J.

- Venkatesan, B. Lowe, S. Anil et al. // *Starch/Starke*. – 2015. – Vol. 67, № 5-6. – P. 381-390.
59. Беляева, Г. В. Коллаген в фармации и медицине / Г. В. Беляева, И. Н. Ахметзянова, Т. В. Беляева // *Фармация*. – 2011. – Т. 4. – С. 52-56.
60. Bielajew, B. J. Collagen: quantification, biomechanics and role of minor subtypes in cartilage / B. J. Bielajew, J. C. Hu, K. A. Athanasiou // *Nature Reviews Materials*. – 2020. – Vol. 5, № 10. – P. 730-747.
61. Marine collagen from alternative and sustainable sources: Extraction, processing and applications / D. Coppola, M. Oliviero, G. A. Vitale et al. // *Marine Drugs*. – 2020. – Vol. 18, № 4. – P. 214.
62. Factors affecting thermal stability of collagen from the aspects of extraction, processing and modification / X. Zhang, S. Xu, L. Shen, G. Li // *Journal of Leather Science and Engineering*. – 2020. – Vol. 2, № 19. – P. 1-29.
63. Adamiak, K. Current methods of collagen cross-linking: Review / K. Adamiak, A. Sionkowska // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2020. – Vol. 161. – P. 550-560.
64. Collagen based biomaterials for tissue engineering applications: A review / S. Radhakrishnan, S. Nagarajan, M. Bechelany et al. – 2020. – P. 3-22.
65. Collagen based materials in cosmetic applications: A review / A. Sionkowska, K. Adamiak, K. Musial, M. Gadomska // *Materials*. – 2020. – Vol. 13, № 19. – P. 4217.
66. Collagen peptides isolated from salmo salar and tilapia nilotica skin accelerate wound healing by altering cutaneous microbiome colonization via upregulated NOD2 and BD14 / F. Mei, J. Liu, J. Wu et al. // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2020. – Vol. 68, № 6. – P. 1621-1633.
67. Collagen/silica nanocomposites and hybrids for bone tissue engineering / B. Sarker, S. Lyer, A. Arkudas, A. R. Boccaccini // *Nanotechnology Reviews*. – 2013. – Vol. 2, № 4. – P. 427-447.
68. A novel biomimetic hybrid material made of silicified collagen: Perspectives for bone replacement / S. Heinemann, C. Heinemann, H. Ehrlich et al. // *Advanced*

- Engineering Materials. – 2007. – Vol. 9, № 12. – P. 1061-1068.
69. Hydroxyapatite reinforced collagen scaffolds with improved architecture and mechanical properties / R. J. Kane, H. E. Weiss-Bilka, M. J. Meagher et al. // *Acta Biomaterialia*. – 2015. – Vol. 17. – P. 16-25.
 70. Flame-Retardancy Properties of Intumescent Ammonium Poly(Phosphate) and Mineral Filler Magnesium Hydroxide in Combination with Graphene / N. M. Barkoula, B. Alcock, N. O. Cabrera, T. Peijs // *Polymers and Polymer Composites*. – 2008. – Vol. 16, № 2. – P. 101-113.
 71. Campos, D. M. In vitro biological evaluation of 3-D hydroxyapatite/collagen (50/50 wt. (%)) scaffolds / D. M. Campos, K. Anselme, G. D. De Almeida Soares // *Materials Research*. – 2012. – Vol. 15, № 1. – P. 151-158.
 72. Collagen-gelatin-genipin-hydroxyapatite composite scaffolds colonized by human primary osteoblasts are suitable for bone tissue engineering applications: In vitro evidences / G. Vozzi, C. Corallo, S. Carta et al. // *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. – 2014. – Vol. 102, № 5. – P. 1415-1421.
 73. Biomechanical evaluation of the rabbit tibia after implantation of porous hydroxyapatite/collagen in a rabbit model / T. Masaoka, T. Yamada, M. Yuasa et al. // *Journal of Orthopaedic Science*. – 2016. – Vol. 21, № 2. – P. 230-236.
 74. Collagen-Hydroxyapatite scaffolds induce human adipose derived stem cells osteogenic differentiation in Vitro / G. Calabrese, R. Giuffrida, C. Fabbi et al. // *PLoS ONE*. – 2016. – Vol. 11, № 3. – P. 151181.
 75. Фибронектин – фактор риска или защиты после интракоронарного стентирования? / Г. А. Березовская, М. А. Карпенко, Н. Н. Петрищев и др. // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2013. – Т. 4, № 48. – С. 12-19.
 76. A glance on the role of fibronectin in controlling cell response at biomaterial interface / L. Parisi, A. Toffoli, B. Ghezzi et al. // *Japanese Dental Science Review*. – 2020. – Vol, № 1. – P. 50-55.
 77. Biocompatible TiN-based novel nanocrystalline films / R. Ebner, J. M. Lackner, W. Waldhauser et al. // *Bulletin of the Polish Academy of Sciences: Technical*

- Sciences. – 2006. – Vol. 54, № 2. – P. 167-173.
78. Smart materials as scaffolds for tissue engineering / F. Rosso, G. Marino, A. Giordano et al. // *Journal of Cellular Physiology*. – 2005. – Vol. 203, № 3. – P. 465-470.
 79. Functional engineered mesenchymal stem cells with fibronectin-gold composite coated catheters for vascular tissue regeneration / Y. W. Chen, S. C. Hsieh, Y. C. Yang et al. // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. – 2018. – Vol. 14, № 3. – P. 699-711.
 80. Anti-Inflammatory Fibronectin-AgNP for Regulation of Biological Performance and Endothelial Differentiation Ability of Mesenchymal Stem Cells / H. S. Hung, K. B. Chang, C. M. Tang et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 17. – P. 9262.
 81. Key advances of carboxymethyl cellulose in tissue engineering & 3D bioprinting applications / A. Zennifer, P. Senthilvelan, S. Sethuraman, D. Sundaramurthi // *Carbohydrate Polymers*. – 2021. – Vol. 256. – 2020. – P. 117561.
 82. Ko, H. F. Novel synthesis strategies for natural polymer and composite biomaterials as potential scaffolds for tissue engineering / H. F. Ko, C. Sfeir, P. N. Kumta // *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. – 2010. – Vol. 368, № 1917. – P. 1981-1997.
 83. Abushammala, H. A Review of the Surface Modification of Cellulose and Nanocellulose Using Aliphatic and Aromatic Mono- and Di- Isocyanates / H. Abushammala, J. Mao // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24. – № 15. – P. 2782.
 84. Commercial application of cellulose nano-composites – A review / A. Sharma, M. Thakur, M. Bhattacharya et al. // *Biotechnology Reports*. – 2019. – Vol. 21. – P. e00316.
 85. Cellulose-based bio- and nanocomposites: A review / S. Kalia, A. Dufresne, B. M. Cherian et al. // *International Journal of Polymer Science*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 837875.
 86. Soheilmoghaddam, M. Development of regenerated cellulose/halloysite nanotube bionanocomposite films with ionic liquid / M. Soheilmoghaddam, M. U. Wahit //

- International Journal of Biological Macromolecules. – 2013. – Vol. 58. – P. 133-139.
87. Cellulose hybrid nanocomposites using Napier grass fibers with in situ generated silver nanoparticles as fillers for antibacterial applications / M. P. Indira Devi, N. Nallamuthu, N. Rajini et al. // International Journal of Biological Macromolecules. – 2018. – Vol. 118. – P. 99-106.
 88. Wang, Q. A green composite hydrogel based on cellulose and clay as efficient absorbent of colored organic effluent / Q. Wang, Y. Wang, L. Chen // Carbohydrate Polymers. – 2019. – Vol. 210. – P. 314-321.
 89. Alginate-based composite materials for wound dressing application: A mini review / K. Varaprasad, T. Jayaramudu, V. Kanikireddy et al. // Carbohydrate Polymers. – 2020. – Vol. 236. – P. 116025.
 90. Pawar, S. N. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications / S. N. Pawar, K. J. Edgar // Biomaterials. – 2012. – Vol. 33, № 11. – P. 3279-3305.
 91. In situ gelling alginate-pectin blend particles loaded with Ac2-26: A new weapon to improve wound care armamentarium / P. Del Gaudio, C. Amante, R. Civalle et al. // Carbohydrate Polymers. – 2020. – Vol. 227. – P. 115305.
 92. Wang, M. Potential applications of alginate oligosaccharides for biomedicine – A mini review / M. Wang, L. Chen, Z. Zhang // Carbohydrate Polymers. – 2021. – Vol. 271. – P. 118408.
 93. Spicer, C. D. Hydrogel scaffolds for tissue engineering: The importance of polymer choice / C. D. Spicer // Polymer Chemistry. – 2020. – Vol. 11, № 2. – P. 184-219.
 94. Alginate fibers embedded with silver nanoparticles as efficient catalysts for reduction of 4-nitrophenol / X. H. Zhao, Q. Li, X. M. Ma et al. // RSC Advances. – 2015. – Vol. 5, № 61. – P. 49534-49540.
 95. Preparation and characterization of nanoparticle reinforced alginate fibers with high porosity for potential wound dressing application / X. Zhang, C. Huang, Y. Zhao, X. Jin // RSC Advances. – 2017. – Vol. 7, № 62. – P. 39349-39358.

96. Хитин и хитозан: химия, биологическая активность, применение / А. А. Гришин, Н. В. Зорина, В. И. Луцкий и др. // Известия Вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2014. – Т. 6, № 1. – С. 29-34.
97. Shakeel Ahmed, S. I. Chitosan & its derivatives: A review in recent innovations / S. I. Shakeel Ahmed // International Journal of pharmaceutical Sciences and Research. – 2015. – Vol. 6, № 1. – P. 14-30.
98. Chitosan as A Preservative for Fruits and Vegetables: A Review on Chemistry and Antimicrobial Properties / C. Duan, X. Meng, J. Meng et al. // Journal of Bioresources and Bioproducts. – 2019. – Vol. 4, № 1. – P. 11-21.
99. Application of chitosan-citric acid nanoparticles for removal of chromium (VI) / M. Bagheri, H. Younesi, S. Hajati, S. M. Borghei // International Journal of Biological Macromolecules. – 2015. – Vol. 80. – P. 431-444.
100. Gokmen, M. T. Porous polymer particles - A comprehensive guide to synthesis, characterization, functionalization and applications / M. T. Gokmen, F. E. Du Prez // Progress in Polymer Science (Oxford). – 2012. – Vol. 37, № 3. – P. 365-405.
101. Preparation of chitosan nanocomposites with a macroporous structure by unidirectional freezing and subsequent freeze-drying / I. Aranaz, M. C. Gutiérrez, M. L. Ferrer, F. Del Monte // Marine Drugs. – 2014. – Vol. 12, № 11. – P. 5619-5642.
102. Activity of chitosan and its derivatives against *Leishmania major* and *Leishmania mexicana* in vitro / A. Riezk, J. G. Raynes, V. Yardley et al. // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2020. – Vol. 64, № 3. – P. e01772-19.
103. Effect of chitosan molecular weight and deacetylation degree on hemostasis / J. Yang, F. Tian, Z. Wang et al. // Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials. – 2008. – Vol. 84, № 1. – P. 131-137.
104. Spongy bilayer dressing composed of chitosan–Ag nanoparticles and chitosan–*Bletilla striata* polysaccharide for wound healing applications / L. Ding, X. Shan, X. Zhao et al. // Carbohydrate Polymers. – 2017. – Vol. 157. – P. 1538-1547.
105. New N-(2-carboxybenzyl)chitosan composite scaffolds containing nanoTiO₂ or bioactive glass with enhanced cell proliferation for bone-tissue engineering

- applications / M. C. Nerantzaki, I. G. Koliakou, M. G. Kaloyianni et al. // International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials. – 2017. – Vol. 66, № 2. – P. 71-81.
106. Delivering MC3T3-E1 cells into injectable calcium phosphate cement through alginate-chitosan microcapsules for bone tissue engineering / P. Y. Qiao, F. F. Li, L. M. Dong et al. // Journal of Zhejiang University: Science B. – 2014. – Vol. 15, № 4. – P. 382-392.
 107. Andreica, B. I. Quaternary ammonium salts of chitosan. A critical overview on the synthesis and properties generated by quaternization / B. I. Andreica, X. Cheng, L. Marin // European Polymer Journal. – 2020. – Vol. 139. – June. – P. 110016.
 108. Wahba, M. I. Enhancement of the mechanical properties of chitosan / M. I. Wahba // Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition. – 2020. – Vol. 31, № 3. – P. 350-375.
 109. Chitosan based bioactive materials in tissue engineering applications-A review / M. M. Islam, M. Shahruzzaman, S. Biswas et al. // Bioactive Materials. – 2020. – Vol. 5, № 1. – P. 164-183.
 110. Mallakpour, S. Chitosan/carbon nanotube hybrids: recent progress and achievements for industrial applications / S. Mallakpour, E. Azadi, C. M. Hussain // New Journal of Chemistry. – 2021. – Vol. 45, № 8. – P. 3756-3777.
 111. Review of chitosan composite as a heavy metal adsorbent: Material preparation and properties / S. Begum, N. Y. Yuhana, N. Md Saleh et al. // Carbohydrate Polymers. – 2021. – Vol. 259. – P. 117613.
 112. Review on preparation and adsorption properties of chitosan and chitosan composites / X. Liu, X. Zhao, Y. Liu et al. // Polymer Bulletin. – 2022. Vol. 79, № 4. – P. 2633-2665.
 113. Nanogold-Gallate Chitosan-Targeted Pulmonary Delivery for Treatment of Lung Cancer / S. Komenek, U. Luesakul, S. Ekgasit et al. // AAPS PharmSciTech. – 2017. – Vol. 18, № 4. – P. 1104-1115.
 114. Multi-functionalized chitosan nanoparticles for enhanced chemotherapy in lung cancer / X. Guo, Q. Zhuang, T. Ji et al. // Carbohydrate Polymers. – 2018. – Vol.

195. – P. 311-320.
115. Chitosan-dithiooxamide-grafted rGO sheets decorated with Au nanoparticles: Synthesis, characterization and properties / A. Dhahri, A. Serghei, G. Farzi et al. // *European Polymer Journal*. – 2016. – Vol. 78. – P. 153-162.
 116. Mechanism of Au(III) reduction by chitosan: Comprehensive study with ^{13}C and ^1H NMR analysis of chitosan degradation products / A. Pestov, A. Nazirov, E. Modin et al. // *Carbohydrate Polymers*. – 2015. – Vol. 117. – P. 70-77.
 117. Chitosan nanocomposites based on distinct inorganic fillers for biomedical applications / D. Moura, J. F. Mano, M. C. Paiva, N. M. Alves // *Science and Technology of Advanced Materials*. – 2016. – Vol. 17, № 1. – P. 626-643.
 118. An overview of chitin or chitosan/nano ceramic composite scaffolds for bone tissue engineering / S. Deepthi, J. Venkatesan, S. K. Kim et al. // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2016. – Vol. 93. – P. 1338-1353.
 119. Da Silva, L. F. M. Hybrid Adhesive Joints / L. F. M. da Silva, A. Pirondi, A. Öchsner. – 2011. – 310 P.
 120. Chitin whiskers: An overview / J. B. Zeng, Y. S. He, S. L. Li, Y. Z. Wang // *Biomacromolecules*. – 2012. – Vol. 13, № 1. – P. 1-11.
 121. Preparation of chitosan nanocomposites with a macroporous structure by unidirectional freezing and subsequent freeze-drying / I. Aranaz, M. C. Gutiérrez, M. L. Ferrer, F. Del Monte // *Marine Drugs*. – 2014. – Vol. 12, № 11. – P. 5619-5642.
 122. Gu, C. Preparation of mono-dispersed silver nanoparticles assisted by chitosan-g-poly(ϵ -caprolactone) micelles and their antimicrobial application / C. Gu, H. Zhang, M. Lang // *Applied Surface Science*. – 2014. – Vol. 301. – P. 273-279.
 123. Graphene functionalized porous Au-paper based electrochemiluminescence device for detection of DNA using luminescent silver nanoparticles coated calcium carbonate/carboxymethyl chitosan hybrid microspheres as labels / M. Li, Y. Wang, Y. Zhang et al. // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2014. – Vol. 59. – P. 307-313.
 124. Silver nanoparticle-based nanocomposites for combating infectious pathogens:

- Recent advances and future prospects / M. A. Wahab, L. Li, H. Li, A. Abdala // *Nanomaterials*. – 2021. – Vol. 11, № 3. – P. 581.
125. Chandrasekaran, M. Antibacterial activity of chitosan nanoparticles: A review / M. Chandrasekaran, K. D. Kim, S. C. Chun // *Processes*. – 2020. – Vol. 8, № 9. – P. 1173.
 126. Synergistic antibacterial activity of chitosan-silver nanocomposites on *Staphylococcus aureus* / M. Potara, E. Jakab, A. Damert et al. // *Nanotechnology*. – 2011. – Vol. 22, № 13. – P. 135101.
 127. Jing An, Qingzhi Luo, Xiaoyan Yuan, Desong Wang, X. L. Preparation and Characterization of Silver-Chitosan Nanocomposite Particles with Antimicrobial Activity / X. L. Jing An, Qingzhi Luo, Xiaoyan Yuan, Desong Wang // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2011. – Vol. 120, № 6. – P. 3180-3189.
 128. Thilagam, R. Preparation, characterization and stability assessment of keratin and albumin functionalized gold nanoparticles for biomedical applications / R. Thilagam, A. Gnanamani // *Applied Nanoscience (Switzerland)*. – 2020. – Vol. 10, № 6. – P. 1879-1892.
 129. Biocompatible chitosan oligosaccharide modified gold nanorods as highly effective photothermal agents for ablation of breast cancer cells / P. Manivasagan, S. Bharathiraja, M. S. Moorthy et al. // *Polymers*. – 2018. – Vol. 10, № 3. – P. 232.
 130. Green synthesis of folic acid-conjugated gold nanoparticles with pectin as reducing/stabilizing agent for cancer theranostics† / R. M. Devendiran, S. kumar Chinnaiyan, N. K. Yadav et al. // *RSC Advances*. – 2016. – Vol. 6, № 35. – P. 29757-29768.
 131. Biocompatibility of surface-modified gold nanoparticles towards red blood cells and haemoglobin / S. Kumar, I. Jha, N. K. Mogha, P. Venkatesu // *Applied Surface Science*. – 2020. – Vol. 512. – P. 145573.
 132. Pectin-capped gold nanoparticles synthesis in-situ for producing durable, cytocompatible, and superabsorbent hydrogel composites with chitosan / D. A. de Almeida, R. M. Sabino, P. R. Souza et al. // *International Journal of Biological*

Macromolecules. – 2020. – Vol. 147. – P. 138-149.

133. Phytoproteins in green leaves as building blocks for photosynthesis of gold nanoparticles: An efficient electrocatalyst towards the oxidation of ascorbic acid and the reduction of hydrogen peroxide / S. Megarajan, K. B. Ayaz Ahmed, G. Rajendra Kumar Reddy et al. // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2016. – Vol. 155. – P. 7-12.
134. Sponge-like chitosan-based nanostructured antibacterial material as a topical hemostat / A. Bal-Ozturk, O. Karal-Yilmaz, Z. P. Akguner et al. // Journal of Applied Polymer Science. – 2019. – Vol. 136, № 19. – P. 47522.
135. Effect of TiO₂ nanoparticles on the structural configurations and thermal, mechanical, and optical properties of chitosan/TiO₂ nanoparticle composites / E. M. Hussein, W. M. Desoky, M. F. Hanafy, O. W. Guirguis // Journal of Physics and Chemistry of Solids. – 2021. – Vol. 152. – P. 109983.
136. Mohammad, F. Chitosan-mediated fabrication of metal nanocomposites for enhanced biomedical applications / F. Mohammad, H. A. Al-Lohedan, H. N. Al-Haque // Advanced Materials Letters. – 2017. – Vol. 8, № 2. – P. 89-100.
137. Ashassi-Sorkhabi, H. Chitosan, its derivatives and composites with superior potentials for the corrosion protection of steel alloys: A comprehensive review / H. Ashassi-Sorkhabi, A. Kazempour // Carbohydrate Polymers. – 2020. – Vol. 237. – P. 116110.
138. Facile preparation of polyacrylamide/chitosan/Fe₃O₄ composite hydrogels for effective removal of methylene blue from aqueous solution / C. Zhang, Y. Dai, Y. Wu et al. // Carbohydrate Polymers. – 2020. – Vol. 234. – P. 115882.
139. Epoxy clay nanocomposites - Processing, properties and applications: A review / A. A. Azeez, K. Y. Rhee, S. J. Park, D. Hui // Composites Part B: Engineering. – 2013. – Vol. 45, № 1. – P. 308-320.
140. Characterization of chitosan composites with various clays / K. Lewandowska, A. Sionkowska, B. Kaczmarek, G. Furtos // International Journal of Biological Macromolecules. – 2014. – Vol. 65. – P. 534-541.
141. Kadib, A. El. Chitosan bio-based organic-inorganic hybrid aerogel microspheres /

- A. El Kadib, M. Bousmina // Chemistry - A European Journal. – 2012. – Vol. 18. – № 27. – P. 8264-8277.
142. Counterintuitive effect of molecular strength and role of molecular rigidity on mechanical properties of layer-by-layer assembled nanocomposites / P. Podsiadlo, Z. Tang, B. S. Shim, N. A. Kotov // Nano Letters. – 2007. – Vol. 7, № 5. – P. 1224-1231.
143. Zhao, L. Preparation and characterization of macroporous chitosan/wollastonite composite scaffolds for tissue engineering / L. Zhao, J. Chang // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2004. – Vol. 15. – № 5. – P. 625-629.
144. MgAl layered double hydroxide/chitosan porous scaffolds loaded with PFT α to promote bone regeneration / Y. X. Chen, R. Zhu, Q. F. Ke et al. // Nanoscale. – 2017. – Vol. 9, № 20. – P. 6765-6776.
145. Adsorptive performance of lanthanum encapsulated biopolymer chitosan-kaolin clay hybrid composite for the recovery of nitrate and phosphate from water / H. A. T. Banu, P. Karthikeyan, S. Vigneshwaran, S. Meenakshi // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – Vol. 154. – P. 188-197.
146. Stabilisation of the secondary structure of chitosan gels during the preparation of composites / A. Djelad, A. Morsli, M. Robitzer et al. // Macromolecular Symposia. – 2008. – Vol. 273, № 1. – P. 103-108.
147. Remediating Cd-contaminated soils using natural and chitosan-introduced zeolite, bentonite, and activated carbon / N. Yi, Y. Wu, L. Fan, S. Hu // Polish Journal of Environmental Studies. – 2019. – Vol. 28, № 3. – P. 1461-1468.
148. Adsorption study of methyl orange by chitosan/polyvinyl alcohol/zeolite electrospun composite nanofibrous membrane / U. Habiba, T. A. Siddique, J. J. Li Lee et al. // Carbohydrate Polymers. – 2018. – Vol. 191. – P. 79-85.
149. Zeolite-loaded alginate-chitosan hydrogel beads as a topical hemostat / P. Fathi, M. Sikorski, K. Christodoulides et al. // Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials. – 2018. – Vol. 106, № 5. – P. 1662-1671.
150. Ivanovskii, A. L. Graphene-based and graphene-like materials / A. L. Ivanovskii // Russian Chemical Reviews. – 2012. – Vol. 81, № 7. – P. 571-605.

151. Graphene research and their outputs: Status and prospect / S. K. Tiwari, S. Sahoo, N. Wang, A. Huczko // *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*. – 2020. – Vol. 5, № 1. – P. 10-29.
152. Graphene-based scaffolds for regenerative medicine / P. Bellet, M. Gasparotto, S. Pressi et al. // *Nanomaterials*. – 2021. – Vol. 11, № 2. – P. 1-41.
153. Terzopoulou, Z. Recent advances in nanocomposite materials of graphene derivatives with polysaccharides / Z. Terzopoulou, G. Z. Kyzas, D. N. Bikiaris // *Materials*. – 2015. – Vol. 8, № 2. – P. 652-683.
154. Graphene and graphene oxide: Synthesis, properties, and applications / Y. Zhu, S. Murali, W. Cai et al. // *Advanced Materials*. – 2010. – Vol. 22, № 35. – P. 3906-3924.
155. Removal of 4-nonylphenol from Surface Water and Municipal Wastewater Effluent Using Three-Dimensional Graphene Oxide–Chitosan Aerogel Beads / E. Javadi, M. Baghdadi, L. Taghavi, H. Ahmad Panahi // *International Journal of Environmental Research*. – 2020. – Vol. 14, № 5. – P. 513-526.
156. Utilisation of eco-friendly and low cost 3D graphene-based composite for treatment of aqueous Reactive Black 5 dye: Characterisation, adsorption mechanism and recyclability studies / K. C. Lai, L. Y. Lee, B. Y. Z. Hiew et al. // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. – 2020. – Vol. 114. – P. 57-66.
157. Preparation of Graphene Oxide/Chitosan Pellets and Their Adsorption Properties for Congo Red / Q. Du, Y. Li, J. Li et al. // *International Journal of Nanoscience*. – 2019. – Vol. 18, № 5. – P. 1850030.
158. Mohseni Kafshgari, M. Development of a graphene oxide/chitosan nanocomposite for the removal of picric acid from aqueous solutions: Study of sorption parameters / M. Mohseni Kafshgari, H. Tahermansouri // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2017. – Vol. 160. – P. 671-681.
159. Development of Highly Water Stable Graphene Oxide-Based Composites for the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products / K. Delhiraja, K. Vellingiri, D. W. Boukhvalov, L. Philip // *Industrial and Engineering Chemistry*

- Research. – 2019. – Vol. 58, № 8. – P. 2899-2913.
160. In vitro cytocompatibility evaluation of chitosan/graphene oxide 3D scaffold composites designed for bone tissue engineering / S. Dinescu, M. Ionita, A. M. Pandele et al. // *Bio-Medical Materials and Engineering*. – 2014. – Vol. 24, № 6. – P. 2249-2256.
 161. Fabrication of chitosan/graphene oxide polymer nanofiber and its biocompatibility for cartilage tissue engineering / L. Cao, F. Zhang, Q. Wang, X. Wu // *Materials Science and Engineering C*. – 2017. – Vol. 79. – P. 697-701.
 162. Preparation of an Electrically Conductive Graphene Oxide/Chitosan Scaffold for Cardiac Tissue Engineering / L. Jiang, D. Chen, Z. Wang et al. // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. – 2019. – Vol. 188, № 4. – P. 952-964.
 163. Jafarkhani, M. Preparation and characterization of chitosan/graphene oxide composite hydrogels for nerve tissue Engineering / M. Jafarkhani, Z. Salehi, T. Nematian // *Materials Today: Proceedings*. – 2018. – Vol. 5, № 7. – P. 15620-15628.
 164. Gelatin-assisted fabrication of graphene-based nacre with high strength, toughness, and electrical conductivity / M. Lian, J. Fan, Z. Shi et al. // *Carbon*. – 2015. – Vol. 89. – P. 279-289.
 165. Wan, C. Strong and bioactive gelatin-graphene oxide nanocomposites / C. Wan, M. Frydrych, B. Chen // *Soft Matter*. – 2011. – Vol. 7, № 13. – P. 6159-6166.
 166. Ionita, M. Sodium alginate/graphene oxide composite films with enhanced thermal and mechanical properties / M. Ionita, M. A. Pandele, H. Iovu // *Carbohydrate Polymers*. – 2013. – Vol. 94, № 1. – P. 339-344.
 167. Collagen Functionalized with Graphene Oxide Enhanced Biomimetic Mineralization and in Situ Bone Defect Repair / C. Zhou, S. Liu, J. Li et al. // *ACS Applied Materials and Interfaces*. – 2018. – Vol. 10, № 50. – P. 44080-44091.
 168. Poly (lactic acid) composites based on graphene oxide particles with antibacterial behavior enhanced by electrical stimulus and biocompatibility Laboratorio de polímeros . / P. Arriagada, H. Palza, P. Palma et al. // *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*. – 2015. – Vol. 90, № 9. – P. 1677–1684.

169. Nano-graphene oxide functionalized bioactive poly(lactic acid) and poly(ϵ -caprolactone) nanofibrous scaffolds / D. Wu, A. Samanta, R. K. Srivastava, M. Hakkarainen // *Materials*. – 2018. – Vol. 11, № 4. – P. 566.
170. Preparation and characterization of aspirin-loaded polylactic acid/graphene oxide biomimetic nanofibrous scaffolds / S. Liu, Y. Zheng, Z. Wu et al. // *Polymer*. – 2020. – Vol. 211. – P. 123093.
171. Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide / S. Stankovich, D. A. Dikin, R. D. Piner et al. // *Carbon*. – 2007. – Vol. 45. – № 7. – P. 1558-1565.
172. Direct reduction of graphene oxide films into highly conductive and flexible graphene films by hydrohalic acids / S. Pei, J. Zhao, J. Du et al. // *Carbon*. – 2010. – Vol. 48, № 15. – P. 4466-4474.
173. Synthesis and characterization of chitosan/reduced graphene oxide hybrid composites / K. Kosowska, P. Domalik-Pyzik, M. Krok-Borkowicz, J. Chłopek // *Materials*. – 2019. – Vol. 12, № 13. – P. 2077.
174. Chemical reduction of graphene oxide using green reductants / K. K. H. De Silva, H. H. Huang, R. K. Joshi, M. Yoshimura // *Carbon*. – 2017. – Vol. 119. – P. 190-199.
175. Jinhong Du, H.-M. C. The Fabrication, properties, and uses of graphene/polymer composites / H.-M. C. Jinhong Du // *Macromolecular Chemistry and Physics*. – 2012. – Vol. 213, № 10-11 – P. 1060-1077.
176. Superior conductive polystyrene-chemically converted graphene nanocomposite / V. H. Pham, T. V. Cuong, T. T. Dang et al. // *Journal of Materials Chemistry*. – 2011. – Vol. 21, № 30. – P. 11312-11316.
177. Preparation and physical properties of waterborne polyurethane/ functionalized graphene sheet nanocomposites / A. V. Raghu, Y. R. Lee, H. M. Jeong, C. M. Shin // *Macromolecular Chemistry and Physics*. – 2008. – Vol. 209, № 24. – P. 2487-2493.
178. Comparative assessment of the strain-sensing behaviors of polylactic acid nanocomposites: reduced graphene oxide or carbon nanotubes / C. Hu, Z. Li, Y.

- Wang et al. // Journal of Materials Chemistry C. – 2017. – Vol. 5, № 9. – P. 2318-2328.
179. Yang, J. H. Preparation and characterization of poly(l-lactide)-graphene composites using the in situ ring-opening polymerization of PLLA with graphene as the initiator / J. H. Yang, S. H. Lin, Y. Der Lee // Journal of Materials Chemistry. – 2012. – Vol. 22, № 21. – P. 10805-10815.
 180. Electrically conductive and mechanically strong biomimetic chitosan/reduced graphene oxide composite films / X. Wang, H. Bai, Z. Yao et al. // Journal of Materials Chemistry. – 2010. – Vol. 20, № 41. – P. 9032-9036.
 181. Graphene-based composite materials / S. Stankovich, D. A. Dikin, G. H. B. Dommett et al. // Nature. – 2006. – Vol. 442, № 7100. – P. 282-286.
 182. Three-dimensional printing of high-content graphene scaffolds for electronic and biomedical applications / A. E. Jakus, E. B. Secor, A. L. Rutz et al. // ACS Nano. – 2015. – Vol. 9, № 4. – P. 4636-4648.
 183. Electroconductive Biohybrid Collagen/Pristine Graphene Composite Biomaterials with Enhanced Biological Activity / A. J. Ryan, C. J. Kearney, N. Shen et al. // Advanced Materials. – 2018. – Vol. 30, № 15. – P. 1706442.
 184. Electrically Conducting and Mechanically Strong Graphene-Polylactic Acid Composites for 3D Printing / M. Kim, J. H. Jeong, J. Y. Lee et al. // ACS Applied Materials and Interfaces. – 2019. – Vol. 11., № 12. – P. 11841-11848.
 185. Wang, S. The effect of surfactants and their concentration on the liquid exfoliation of graphene / S. Wang, M. Yi, Z. Shen // RSC Advances. – 2016. – Vol. 6, № 61. – P. 56705-56710.
 186. Rationally designed surfactants for few-layered graphene exfoliation: Ionic groups attached to electron-deficient π -conjugated unit through alkyl spacers / L. Zhang, Z. Zhang, C. He et al. // ACS Nano. – 2014. – Vol. 8, № 7. – P. 6663-6670.
 187. High-concentration, surfactant-stabilized graphene dispersions / M. Lotya, P. J. King, U. Khan et al. // ACS Nano. – 2010. – Vol. 4, № 6. – P. 3155-3162.
 188. High-throughput production of pristine graphene in an aqueous dispersion assisted by non-ionic surfactants / L. Guardia, M. J. Fernández-Merino, J. I. Paredes et al.

- // Carbon. – 2011. – Vol. 49, № 5. – P. 1653-1662.
189. Dispersion stability of functionalized graphene in aqueous sodium dodecyl sulfate solutions / A.G. Hsieh, S. Korkut, I.A. Aksay // Chemistry - A European Journal. – 2013. – Vol. 29, № 48. – P. 14831-14838.
 190. High-concentration aqueous dispersions of graphene using nonionic, biocompatible block copolymers / J. W. T. Seo, A. A. Green, A. L. Antaris, M. C. Hersam // Journal of Physical Chemistry Letters. – 2011. – Vol. 2, № 9. – P. 1004-1008.
 191. Engineering the electronic structure of graphene / D. Zhan, J. Yan, L. Lai et al. // Advanced Materials. – 2012. – Vol. 24, № 30. – P. 4055-4069.
 192. Особенности строения и использования терморасширенного графита / А. М. Ханов, Л. Е. Макарова, А. И. Дегтярев и др. // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Машиностроение, Материаловедение. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 92-106.
 193. Обзор существующих методов получения интеркалированного графита / М.Д. Терещенко, М.И. Ябуров, В.Ю. Лукоянов, Л.Л. Хименко // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Аэрокосмическая техника. – 2022. № 71. – P. 174-181.
 194. Exfoliation process of graphite via intercalation compounds with sulfuric acid / M. Inagaki, R. Tashiro, Y. I. Washino, M. Toyoda // Journal of Physics and Chemistry of Solids. – 2004. – Vol. 65, № 2-3. – P. 133-137.
 195. Hristea, G. Characterization of exfoliated graphite for heavy oil sorption / G. Hristea, P. Budrugaec // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. – 2008. – Vol. 91, № 3. – P. 817-823.
 196. Ca intercalated bilayer graphene as a thinnest limit of superconducting C₆Ca / K. Kanetani, K. Sugawara, T. Sato et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2012. – Vol. 109, № 48. – P. 19610-19613.
 197. Lithium intercalation into bilayer graphene / K. Ji, J. Han, A. Hirata et al. // Nature Communications. – 2019. – Vol. 10, № 1. – P. 1-10.

198. Antibacterial graphene-based hydroxyapatite/chitosan coating with gentamicin for potential applications in bone tissue engineering / M. Stevanović, M. Djošić, A. Janković et al. // *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. – 2020. – Vol. 108, № 11. – P. 2175-2189.
199. Fabrication, mechanical properties, and biocompatibility of graphene-reinforced chitosan composites / H. Fan, L. Wang, K. Zhao et al. // *Biomacromolecules*. – 2010. – Vol. 11, № 9. – P. 2345-2351.
200. Istranova, E. V. Modified collagen: Physicochemical and pharmaceutical properties and applications / E. V. Istranova, L. P. Istranov, E. A. Chaikovskaya // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2006. – Vol. 40, № 2. – P. 93-97.
201. Morphology of collagen matrices for tissue engineering (biocompatibility, biodegradation, tissue response) / A. B. Shekhter, A. E. Guller, L. P. Istranov et al. // *Arkhiv Patologii*. – 2015. – Vol. 77, № 6. – P. 29-38.
202. Atif, R. Reasons and remedies for the agglomeration of multilayered graphene and carbon nanotubes in polymers / R. Atif, F. Inam // *Beilstein Journal of Nanotechnology*. – 2016. – Vol. 7, № 1. – P. 1174-1196.
203. Thermoelectric behaviour of melt processed carbon nanotube/graphite/ poly(lactic acid) conductive biopolymer nanocomposites (CPC) / Z. Antar, J. F. Feller, H. Noël et al. // *Materials Letters*. – 2012. – Vol. 67, № 1. – P. 210-214.
204. Polyolefin/graphene nanocomposites: A review / S. N. Tripathi, G. S. S. Rao, A. B. Mathur, R. Jasra // *RSC Advances*. – 2017. – Vol. 7, № 38. – P. 23615-23632.
205. Norazlina, H. Graphene modifications in polylactic acid nanocomposites: a review / H. Norazlina, Y. Kamal // *Polymer Bulletin* – 2015. – Vol. 72 – P. 931-961.
206. Graphene filled polymer nanocomposites / R. Verdejo, M. M. Bernal, L. J. Romasanta, M. A. Lopez-Manchado // *Journal of Materials Chemistry*. – 2011. – Vol. 21, № 10. – P. 3301-3310.
207. Few layer graphene-polypropylene nanocomposites: The role of flake diameter / C. Vallés, A. M. Abdelkader, R. J. Young, I. A. Kinloch // *Faraday Discussions*. – 2014. – Vol. 173. – P. 379-390.
208. Interfacial stress transfer in a graphene monolayer nanocomposite / L. Gong, I. A.

- Kinloch, R. J. Young et al. // *Advanced Materials*. – 2010. – Vol. 22, № 24. – P. 2694-2697.
209. Губин, С. Графен и материалы на его основе / С. Губин, С. Ткачёв // *Радиоэлектроника. Наносистемы. Информационные Технологии*. – 2010. – Т. 2, № 1-2. – С. 99-137.
210. M. Dresselhaus, G. D. Intercalation compounds of graphite / G. D. M. Dresselhaus // *Advances in Physics*. – 1981. – Vol. 30, № 2. – P. 139-326.
211. Графен: Химические подходы к синтезу и модифицированию / Е.Д. Грайфер, В.Г. Макотченко, Назаров А.С. и др.// *Успехи Химии*. – 2011. – Т. 80, № 8. – С. 784-804.
212. Интеркалированные соединения графита акцепторного типа и новые углеродные материалы на их основе / Н. Е. Сорокина, И. В. Никольская, С. Г. Ионов, В. В. Авдеев. // *Известия академии наук. Серия химическая*. – 2005. – № .8. – P. 1699-1716.
213. Makotchenko, V. G. The ways of use of multilayered graphene in engineering ecology / V. G. Makotchenko, E. V. Makotchenko, D. V. Pinakov // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2017. – Vol. 24, № 3. – P. 2402-2411.
214. Texter, J. Graphene dispersions / J. Texter // *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. – 2014. – Vol. 19, № 2. – P. 163-174.
215. Dispersion of graphene in ethanol using a simple solvent exchange method / X. Zhang, A. C. Coleman, N. Katsonis et al. // *Chemical Communications*. – 2010. – Vol. 46, № 40. – P. 7539-7541.
216. Cravotto, G. Sonication-assisted fabrication and post-synthetic modifications of graphene-like materials / G. Cravotto, P. Cintas // *Chemistry - A European Journal*. – 2010. – Vol. 16, № 18. – P. 5246-5259.
217. Measurement of multicomponent solubility parameters for graphene facilitates solvent discovery / Y. Hernandez, M. Lotya, D. Rickard et al. // *Langmuir*. – 2010. – Vol. 26, № 5. – P. 3208-3213.
218. Functional Composites Based on Polylactide and Graphene / B. C. Kholkhoev, A.

- S. Buinov, M. N. Kozlova et al. // Russian Journal of Applied Chemistry. – 2018. – Vol. 91. – № 3. – P. 392-395.
219. Crosslinked blends of poly(lactic acid) and polyacrylates: AFM, DSC and XRD studies / H. Kaczmarek, M. Nowicki, I. Vuković-Kwiatkowska, S. Nowakowska // Journal of Polymer Research. – 2013. – Vol. 20. – P. 1-12.
220. Kim, I. H. Polylactide/exfoliated graphite nanocomposites with enhanced thermal stability, mechanical modulus, and electrical conductivity / I. H. Kim, Y. G. Jeong // Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics. – 2010. – Vol. 48, № 8. – P. 850-858.
221. 3D printing electronic components and circuits with conductive thermoplastic filament / P. F. Flowers, C. Reyes, S. Ye et al. // Additive Manufacturing. – 2017. – Vol. 18. – P. 156-163.
222. Smith, R. J. The importance of repulsive potential barriers for the dispersion of graphene using surfactants / R. J. Smith, M. Lotya, J. N. Coleman // New Journal of Physics. – 2010. – Vol. 12, № 12. – P. 125008.
223. Liquid-phase exfoliation, functionalization and applications of graphene / X. Cui, C. Zhang, R. Hao, Y. Hou // Nanoscale. – 2011. – Vol. 3, № 5. – P. 2118-2126.
224. Polymer-stabilized graphene dispersions at high concentrations in organic solvents for composite production / A. S. Wajid, S. Das, F. Irin et al. // Carbon. – 2012. – Vol. 50, № 2. – P. 526-534.
225. The effect of graphene flake size on the properties of graphene-based polymer composite films / A. Tarhini, A. Tehrani-Bagha, M. Kazan, B. Grady // Journal of Applied Polymer Science. – 2021. – Vol. 138, № 6. – P. 49821.
226. In vitro toxicity evaluation of graphene oxide on A549 cells / Y. Chang, S. T. Yang, J. H. Liu et al. // Toxicology Letters. – 2011. – Vol. 200, № 3. – P. 201-210.
227. Hierarchical structure and nanomechanics of collagen microfibrils from the atomistic scale up / M. J. Buehler, A. Gautieri, S. Vesentini, A. Redaelli // Nano Letters. – 2011. – Vol. 11. – P. 757-766.
228. Meniscal tissue engineering using aligned collagen fibrous scaffolds: comparison of different human cell sources / J. Baek, S. Sovani, W. Choi et al. // Tissue

- Engineering - Part A. – 2018. – Vol. 24, № 1-2. – P. 81-93.
229. Modeling and measuring visco-elastic properties: From collagen molecules to collagen fibrils / A. Gautieri, S. Vesentini, A. Redaelli, R. Ballarini // *International Journal of Non-Linear Mechanics*. – 2013. – Vol. 56. – P. 25-33.
 230. Multi-layered collagen-based scaffolds for osteochondral defect repair in rabbits / T. J. Levingstone, E. Thompson, A. Matsiko et al. // *Acta Biomaterialia*. – 2016. – Vol. 32. – P. 149-160.
 231. Biocompatible Elastic Conductive Films Significantly Enhanced Myogenic Differentiation of Myoblast for Skeletal Muscle Regeneration / R. Dong, X. Zhao, B. Guo, P. X. Ma // *Biomacromolecules*. – 2017. – Vol. 18, № 9. – P. 2808-2819.
 232. Graphene-Based interfaces do not alter target nerve cells / A. Fabbro, D. Scaini, V. León et al. // *ACS Nano*. – 2016. – Vol. 10, № 1. – P. 615-623.
 233. A conductive polymer hydrogel supports cell electrical signaling and improves cardiac function after implantation into myocardial infarct / A. Mihic, Z. Cui, J. Wu et al. // *Circulation*. – 2015. – Vol. 132, № 8. – P. 772-784.
 234. Electrically conductive composites of collagen and graphene / B. C. Kholkhoev, A. S. Buinov, V. G. Makotchenko et al. // *Russian Chemical Bulletin*. – 2018. – Vol. 67. – № 7. – P. 1316-1318.
 235. Enhanced electrical conductivity of collagen films through long-range aligned iron oxide nanoparticles / V. Bonfrate, D. Manno, A. Serra et al. // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2017. – Vol. 501. – P. 185-191.
 236. Murugesan, S. Chitosan-based nanocomposites for medical applications / S. Murugesan, T. Scheibel // *Journal of Polymer Science*. – 2021. – Vol. 59, № 15. – P. 1610-1642.
 237. Conductive composites based on chitosan and polyvinylpyrrolidone-stabilized graphene / B. C. Kholkhoev, A. S. Buinov, S. A. Bal'zhinov et al. // *Polymer Science - Series A*. – 2017. – Vol. 59. – № 2. – P. 223-227.
 238. Electrically Conductive Composites Based on Chitosan and Graphene Stabilized by Pluronic F-108 / B. C. Kholkhoev, A. S. Buinov, S. A. Bal'zhinov et al. // *Polymer Science - Series A*. – 2018. – Vol. 60. – № 5. – P. 678-682.

239. Vibrational and impedance spectroscopic study on PVP-NH₄SCN based polymer electrolytes / C. S. Ramya, S. Selvasekarapandian, T. Savitha et al. // *Physica B: Condensed Matter*. – 2007. – Vol. 393, № 1-2. – P. 11-17.
240. Synthesis, characterization and ionic conductive properties of phosphorylated chitosan membranes / Y. Wan, K. A. M. Creber, B. Peppley, V. T. Bui // *Macromolecular Chemistry and Physics*. – 2003. – Vol. 204, № 5-6. – P. 850-858.
241. Electron Transport Mechanism in Composites Based on Polybenzimidazole Matrix with Graphite Nanoparticles / V. A. Kuznetsov, A. N. Lavrov, B. C. Kholkhoev et al. // *Journal of Contemporary Physics*. – 2020. – Vol. 55, № 1. – P. 57-62.
242. Термомеханический анализ композитных пленок на основе хитозана и нанофибрилл хитина / В. Е. Смирнова, Е. Н. Дресвянина, К. А. Колбе и др. // *Журнал прикладной химии*. – 2019. – Т. 92, № 11. – С. 1408-1415.
243. Liao, C. Graphene nanomaterials: Synthesis, biocompatibility, and cytotoxicity / C. Liao, Y. Li, S. C. Tjong // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – Vol. 19, № 11. – P. 3564.
244. Fabrication of Conductive Tissue Engineering Nanocomposite Films Based on Chitosan and Surfactant-Stabilized Graphene Dispersions / A. S. Buinov, E. R. Gafarova, E. A. Grebenik et al. // *Polymers*. – 2022. – Vol. 14. – № 18. – P. 3792.