

ПОЛИМЕРНЫЕ, БИООРГАНИЧЕСКИЕ
И ГИБРИДНЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ

УДК 54-148+541.18.05/.052

УЛЬТРАЗВУКОВОЕ ДИСПЕРГИРОВАНИЕ И СТАБИЛИЗАЦИЯ
НАНОЧАСТИЦ ГИДРОКСИАПАТИТА В РАСТВОРАХ ГИАЛУРОНАТА
НАТРИЯ И МАТЕРИАЛАХ НА ЕГО ОСНОВЕ

© 2022 г. Е. А. Свидченко^{1,*}, Е. С. Соломатина¹, Т. С. Демина^{1,2},
С. А. Успенский^{1,3}, Н. М. Сурин¹, А. Н. Зеленецкий¹

¹ Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН, Москва, Россия

² Институт регенеративной медицины, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский университет), Москва, Россия

³ Автономная некоммерческая организация “Международный научно-исследовательский центр инновационных технологий МАРТИНЕКС”, Москва, Россия

*E-mail: evgensv@yandex.ru

Поступила в редакцию 31.03.2022 г.

После доработки 20.04.2022 г.

Принята к публикации 20.04.2022 г.

С помощью методов УФ-спектрофотометрии, динамического рассеяния света и вискозиметрии исследован процесс ультразвукового диспергирования наночастиц гидроксиапатита в растворах натриевой соли гиалуроновой кислоты. Определены оптимальные параметры (концентрация наночастиц гидроксиапатита и раствора гиалуроната натрия, соотношение компонентов), обеспечивающие образование стабильных дисперсий. Методом полива получены пленочные материалы, и оценена однородность распределения наполнителя в полимерной матрице с помощью методов УФ-спектрофотометрии и микроскопии.

DOI: 10.56304/S1992722322060139

ВВЕДЕНИЕ

Гидроксиапатит (ГА) – минеральный компонент костной ткани – широко используется при создании материалов для регенеративной медицины [1]. В случае небиodeградируемых имплантов ГА наносят в качестве покрытия для улучшения остеоинтеграции материала, а при формировании биodeградируемых материалов для тканевой инженерии его вводят в качестве наполнителя [2–6]. Наноразмерная форма гидроксиапатита во многих случаях наиболее удобна и с точки зрения формирования материалов, и с точки зрения его биосовместимости [2]. Благодаря широкому спектру методов синтеза ГА можно получать его наночастицы с различной морфологией и размером [7–9].

При создании наноуплотненных биodeградируемых материалов важную роль играет этап диспергирования наноразмерного ГА в полимерной матрице [10]. В качестве полимерной матрицы широко используют сложные полиэфиры (полилактид, поликапролактон и т.д.) [4, 11], природные высокомолекулярные соединения и их модификации – белки (коллаген, фиброин, желатин и т.д.) и полисахариды (хитозан, гиалуроновая кислота, альгинаты и т.д.) [12–16]. В случае наполне-

ния термопластов широко применяют экструзионные технологии [11, 17], в том числе совмещенные с предварительным смешением в мельницах шарового типа [4]. Природные полимеры, как правило, растворяются в водных средах, и наночастицы гидроксиапатита (нГА) диспергируют в них с использованием ультразвуковой (УЗ) обработки [18, 19]. Одним из наиболее интересных биополимеров для применения в регенеративной медицине является гиалуроновая кислота (ГК), которая находится в составе внеклеточного матрикса многих тканей человека [20]. ГК широко используется в косметологии в качестве дермальных филлеров [21], а в медицине в качестве раневых повязок [22] или для получения матриц для тканевой инженерии, т.е. имплантируемых биodeградируемых материалов, которые могут служить в качестве временной подложки для адгезии и роста клеток и замещаться здоровой тканью [20]. Одной из областей применения матриц на ее основе также является стоматология, что обусловлено наличием ГК в пародонтальных тканях и существенной ролью в противовоспалительных процессах [23]. Гидрогели на основе ГК были предложены для регенерации пульпы [24, 25]. Создание гибридных материалов из ГК, на-

полненных нГА, является перспективным для регенерации костных тканей, но требует предварительного исследования процесса диспергирования и стабилизации минеральных наночастиц в полимерной матрице. В [26] предложен метод получения стабильных дисперсий путем синтеза наноразмерного ГА в активной среде гиалуроната.

Целью работы являются исследование процесса УЗ-диспергирования нГА в растворах гиалуроната натрия, изучение стабильности полученных дисперсий и оценка эффективности диспергирования при получении материалов на их основе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Натриевую соль ГК бактериального происхождения с молекулярной массой (ММ) 1×10^6 (Shiseido Co., Ltd Kakegawa Factory, Япония) и нГА (Aldrich 677418, размер частиц <200 нм) использовали без дополнительной очистки.

Растворы ГК в дистиллированной воде готовили перемешиванием на магнитной мешалке при комнатной температуре в течение 2–4 ч. Суспензии нГА в растворе ГК получали добавлением в раствор навески ГА с последующим перемешиванием на магнитной мешалке при комнатной температуре в течение 1–1.5 ч. Затем суспензию диспергировали с помощью УЗ в течение 15 мин. Взвесь нГА в чистой воде также диспергировали с помощью УЗ в течение 15 мин.

Для УЗ-обработки применяли УЗ-ванну производства ПСБ-Галс (г. Москва) модели ПСБ-4035-05 (частота 35 кГц). Измерение размера частиц методом динамического рассеяния света (ДРС) проводили на приборе Zetatrac (Microtrac, США) при угле рассеяния 180° с использованием программы MicrotracV 10.5.3.

Динамическую вязкость растворов измеряли на вибрационном вискозиметре SV-10A производства AND (Япония) в открытой ячейке при заданной температуре. Перед измерениями вискозиметр был откалиброван по воде при 25.0°C , точность измерений – 0.1 мПа · с. Представленные величины рассчитаны путем усреднения данных трех независимых экспериментов, величина отклонения не превышала $\pm 10\%$.

Спектральное распределение коэффициента ослабления измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV 2501 PC в кварцевой кювете с длиной оптического пути 1 см и 2 мм. Для обработки полученных результатов из спектров поглощения растворов вычитали спектр поглощения растворителя – дистиллированной воды. При анализе проб с нГА на седиментацию раствор между измерениями оставался в кювете и не перемешивался.

Пленки из ГК, в том числе наполненные нГА в концентрациях 1, 5 и 10 мас. %, получали из водных растворов натриевой соли ГК с concentra-

цией 1 мас. % методом полива на чашки Петри из полистирола. Все суспензии предварительно обрабатывали в УЗ-ванне в течение 15 мин. Пленки сушили в беспылевом шкафу до полного испарения растворителя. Толщина пленок составляла ~ 50 мкм. Распределение нГА в пленочных образцах исследовали с помощью оптической микроскопии (Leica Microsystems, Германия) и УФ-спектрофотометрии.

Исследование морфологии и химической структуры поверхности пленок из ГК, наполненных нГА в разных соотношениях, проводили с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и энергодисперсионной спектроскопии (ЭДС) с использованием Phenom ProX (Thermo Fisher Scientific, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние УЗ-обработки на вязкость растворов гиалуроната натрия. Для равномерного распределения нГА в растворе ГК использовали УЗ-обработку, которая согласно данным [27] также может приводить к частичной деструкции ГК. Влияние УЗ-обработки на характеристики ненаполненного раствора ГК с концентрацией 0.25 мас. % исследовали вискозиметрически. Как видно из рис. 1, величина вязкости η снижается практически линейно до восьми минут обработки, а затем изменяется незначительно, понижаясь примерно в 1.5 раза по сравнению с исходным значением. В [27] снижение ММ полимера тоже происходило в первые минуты обработки, и это связывают с тем, что молекулы с большей ММ сильнее подвержены деструкции цепей полимера при УЗ-обработке, чем молекулы меньшего размера. В этой же работе отмечена предельная ММ гиалуроновой кислоты (около 50 кДа), при достижении которой дальнейшая деструкция практически не протекает даже при длительном озвучивании. В настоящей работе для получения воспроизводимых результатов выбрано время УЗ-обработки 15 мин.

Влияние концентрации растворов гиалуроната натрия на стабильность суспензии нГА. Гидроксипатит в воде образует неустойчивую суспензию, которая быстро оседает. Спектральное распределение коэффициента ослабления света указывает на рассеяние света крупными частицами (рис. 2). В диапазоне длин волн 300–700 нм интенсивность рассеяния хорошо описывается зависимостью $I \sim 1/\lambda^p$, где $p = 1.3–1.5$. Такая величина показателя степени характерна для крупных частиц диаметром 0.5–1 мкм [28]. Средний диаметр частиц по данным ДРС составил 750 ± 300 нм. В [6] при УЗ-обработке такого же ГА в воде было получено широкое полимодальное распределение размеров частиц: от 100 нм до нескольких микрон, причем имелась фракция, близкая по разме-

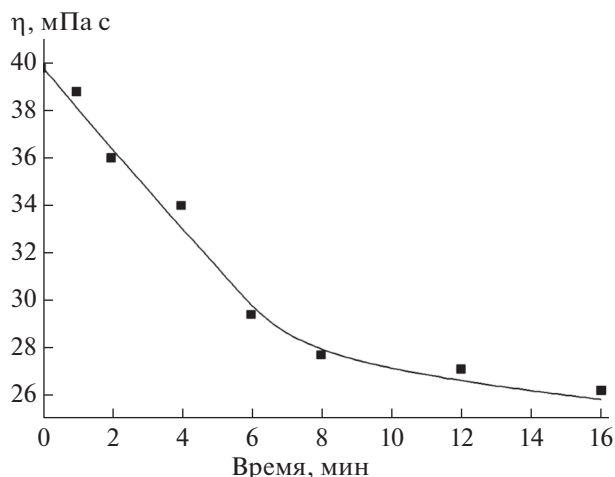


Рис. 1. Изменение вязкости раствора гиалуроната натрия (0.25%) в зависимости от длительности УЗ-обработки.

рам к представленной на рис. 2. Различие заключается в использовании в [6] УЗ-диспергатора погружного типа, в котором получаемая на единицу объема мощность превышает аналогичный показатель использованной нами УЗ-ванны.

Влияние концентрации ГК на стабильность суспензии ГА исследовали при постоянной концентрации нГА (0.01 мас. %), варьируя концентрацию ГК (0–0.25 мас. %). Верхний концентрационный предел для гиалуроната натрия связан с высокой вязкостью раствора полимера данной ММ даже после УЗ-обработки. Стабильность су-

спензии оценивали по спектру ослабления света, который по форме близок к показанному на рис. 2, при этом поглощение исходного гиалуроната натрия находится в области длин волн короче 300 нм, а рассеяние практически отсутствует. Для анализа стабильности суспензий нГА была выбрана область спектра 350–650 нм, в которой наблюдается только рассеяние света.

В процессе осаждения нГА из суспензий спектр ослабления света “проседает”. С целью повышения точности наблюдений ослабление света измеряли не в одной точке, а во всем выбранном диапазоне, т.е.

$$S_t = \int_{350}^{650} D(\lambda) d\lambda,$$

где S_t – интегральное рассеяние света в момент времени t , $D(\lambda)$ – оптическая плотность по длине волны λ .

Затем рассчитывали относительное интегральное рассеяние света k :

$$k = \frac{S_t}{S_0},$$

где S_0 – интегральное рассеяние света в момент времени $t = 0$.

На рис. 3 представлено изменение относительного интегрального рассеяния света для суспензий нГА с разным содержанием ГК.

В растворах с концентрацией ГК 0.01 и 0.05 мас. % нГА лучше удерживается в объеме по сравнению с дистиллированной водой (рис. 3).

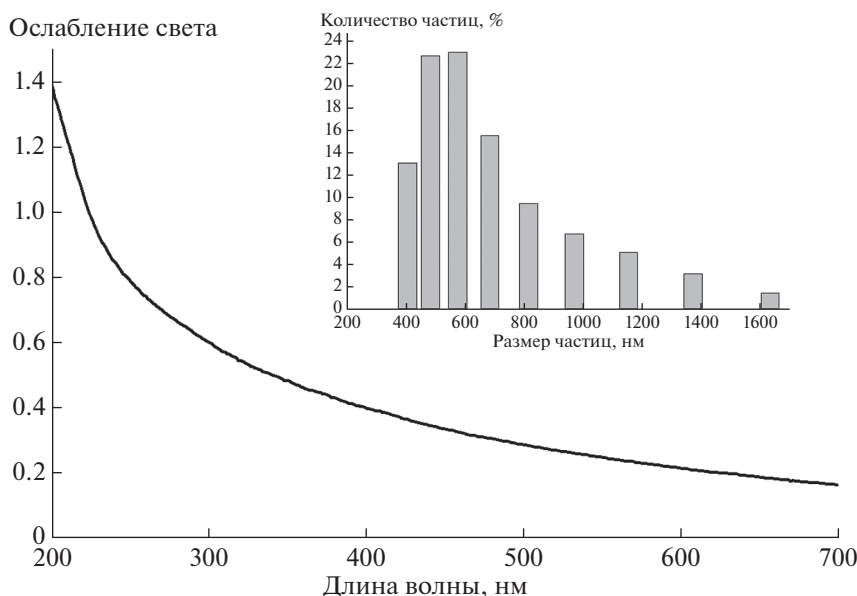


Рис. 2. Спектр ослабления света 0.01%-ной суспензии ГА в воде. Толщина кюветы 1 см. На вставке – распределение частиц по размерам по данным ДРС.

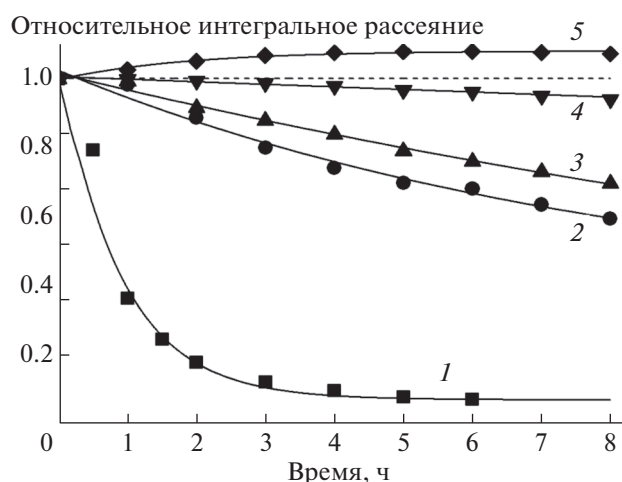


Рис. 3. Изменение относительного интегрального рассеяния света для суспензий ГА (0.01%) в растворах гиалуроната натрия с концентрацией, %: 0 (1), 0.01 (2), 0.05 (3), 0.1 (4), 0.25 (5). Толщина кюветы 1 см. Штриховой линией отмечена величина, равная единице.

Однако с течением времени наблюдается его седиментация, что сопровождается ростом показателя степени p в зависимости $I \sim 1/\lambda^p$ от 1.4 до 2.1 и указывает на снижение размера частиц ГА, остающихся в растворе. Очевидно, что первыми оседают более крупные частицы/агрегаты.

При увеличении концентрации гиалуроната натрия до 0.1 мас. % также наблюдается небольшое снижение величины относительного интегрального рассеяния, а при использовании раствора ГК с концентрацией 0.25 мас. %, наоборот, отмечается его рост. Вероятнее всего это связано с флуктуациями оптической плотности в образце и возможностью агрегации ГА без его седиментации. О последнем из перечисленных предположений свидетельствует снижение показателя степени p в зависимости $I \sim 1/\lambda^p$ с 1.4 до 1.0. Аналогичный рост интенсивности рассеяния наблюдался ранее на золях $BaSO_4$ при увеличении размеров частиц с сохранением концентрации [28]. В эксперименте

с концентрацией 0.25 мас. % ГК седиментации нГА практически не наблюдается в течение 24 ч.

Увеличение концентрации ГК в растворе ожидается сопровождается увеличением вязкости (табл. 1). После УЗ-обработки вязкость растворов понижается в 1.5–2 раза.

Увеличение вязкости раствора ГК, согласно закону Стокса, приводит к снижению скорости оседания частиц ГА. Также в [26] было показано, что гиалуронат стабилизирует дисперсию нГА путем адсорбции на частицах со связыванием их в трехмерную сетку.

Таким образом, стабильность суспензии нГА в воде повышается при увеличении концентрации ГК.

Определение предельного соотношения гиалуроната натрия и нГА. Описанный выше эксперимент проводили при низком содержании нГА в растворе (0.01 мас. %). Для получения материалов обычно требуются более высоконаполненные суспензии, поэтому необходимо было оценить максимальную концентрацию нГА, который удерживается в растворе ГК.

Для оценки оптимального соотношения компонентов были приготовлены суспензии, содержащие 0.25 мас. % ГК и нГА в концентрации 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 и 0.5 мас. %. Для всех растворов измеряли относительное интегральное рассеяние света (рис. 4), как описано выше. Из данных, приведенных на рис. 4, следует, что седиментация ГА практически не наблюдается в течение 8 ч до его содержания 0.3 мас. %, т.е. до содержания 120% нГА от массы ГК. При содержании ГА 0.5 мас. % (200% от массы ГК) наблюдается седиментация. В суспензиях, содержащих 0.01–0.1 мас. % нГА, показатель степени p в зависимости $I \sim 1/\lambda^p$ с течением времени снижается от 1.3–1.4 до 1, а в содержащих 0.2 и 0.3 мас. % нГА, – остается практически постоянным (1.26 и 1.2 соответственно). Это показывает, что в исследуемых суспензиях происходит агрегация частиц нГА без их седиментации. В суспензии с содержанием 0.5 мас. % нГА определить величину показателя степени p затруднительно.

Вискозиметрические измерения суспензий показали, что присутствие частиц ГА при УЗ-обработке понижает вязкость системы по сравнению с чистой ГК (табл. 2). По-видимому, механические частицы при озвучивании усиливают деструкцию ГК. Вязкость полученных суспензий практически не зависит от содержания нГА.

Таким образом, максимально возможное содержание нГА в 0.25%-ном растворе ГК составляет 120% от массы полимера. Данные суспензии сохраняют стабильность в течение 8 ч, чего достаточно для формования материалов на их основе с использованием различных методов. Исходя из

Таблица 1. Вязкость растворов ГК после УЗ-обработки

Концентрация гиалуроната натрия, %	Вязкость η , мПа · с	
	до озвучивания	после озвучивания
0	0.89	0.89
0.01	2.7	1.9
0.05	10	4.6
0.1	16.2	9.8
0.25	39.9	25.9

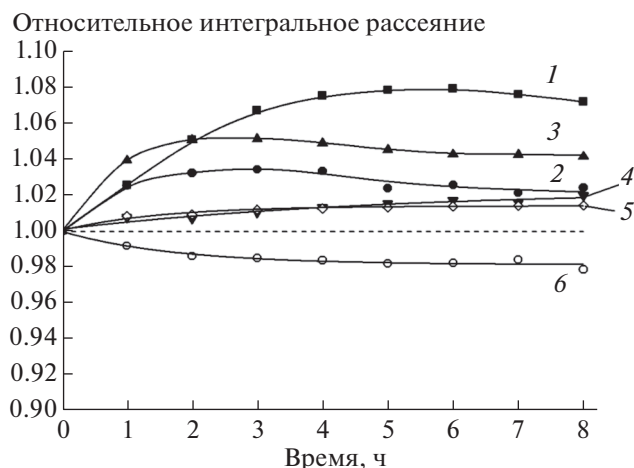


Рис. 4. Изменение относительного интегрального рассеяния света в растворах гиалуроната натрия 0.25% с содержанием ГА, %: 0.01 (1), 0.05 (2), 0.1 (3), 0.2 (4), 0.3 (5), 0.5 (6). Толщина кюветы 1 см (1, 2) и 2 мм (3–6). Штриховой линией отмечена величина, равная единице.

полученных результатов концентрация ГК в растворе может быть увеличена при сохранении соотношения нГА/ГК 1–1.2. Максимальная концентрация суспензий в данном случае будет определяться визуальной однородностью полученных образцов, поскольку использовать оптические методы для контроля уже невозможно.

Материалы из гиалуроната натрия, наполненные нГА. Получение дисперсии нГА в растворе ГК во многих случаях является только промежуточным этапом при формировании нанонаполненных материалов на основе ГК. Однородность распределения нГА в объемных материалах исследовать затруднительно, это требует более сложных в аппаратном оформлении методов по сравнению с методом спектрофотометрии. Поэтому для оценки поведения нГА в гиалуронате натрия при удалении растворителя в настоящей работе исследовали однородность распределения нГА в пленках, сформированных методом полива дисперсии нГА в 1 мас. %-ном водном растворе ГК. Концентрацию нГА варьировали от 1 до 10 мас. % по отношению к сухому полимеру, т.е. она не превышала соотношения нГА/ГК, обеспечивающего стабильность наночастиц в растворе полимера. Для

Таблица 2. Вязкость суспензий гидроксиапатита в 0.25%-ном растворе гиалуроната натрия (после УЗ-обработки)

Концентрация нГА, %	0	0.01	0.02	0.05	0.1	0.2	0.3	0.5
Вязкость, η	25.9	18.8	19.6	23.0	18.4	22.3	18.1	18.4

полного испарения растворителя и отверждения пленок потребовалось ~72 ч.

На рис. 5 представлены спектры ослабления света в пленках, сформированных из ненаполненного гиалуроната натрия и содержащего нГА. Для полученных пленок характерно рассеяние в исследуемой области, аналогичное рассеянию в растворе нГА в воде (рис. 2). Интегральное рассеяние света в области 350–650 нм, рассчитанное по описанной выше методике, практически линейно зависит от концентрации нГА в пленках (рис. 5, вставка). Это указывает на сохранение заданного соотношения нГА/ГК при испарении растворителя и достаточно высокую однородность полученных пленочных материалов.

Исследование морфологии пленок методом оптической микроскопии показало (рис. 6), что в пленках, содержащих 1 мас. % нГА, присутствуют в основном отдельные частицы размером 1–1.5 мкм, что близко к данным, полученным для суспензий нГА в растворах ГК. При увеличении концентрации нГА в наполненных пленках наблюдаются агрегаты, количество и размеры которых также увеличиваются с увеличением степени наполнения. В пленочном образце, содержащем 10 мас. % нГА, размер агрегатов достигает 10–15 мкм.

Изучение морфологии поверхности пленок из ГК, наполненных нГА в разных соотношениях, показало, что часть агрегатов выходит на поверхность материала, но в этом случае видно, что они состоят из отдельных частиц (рис. 7). Из данных ЭДС следует, что химический состав поверхности содержит все элементы, характерные для гиалуроната натрия (С, О, N, Na) и ГА (Са, Р, О). СЭМ также показала увеличение числа и размеров агрегатов нГА при увеличении концентрации ГА в полимерной пленке.

Формование пленок методом полива из суспензий является частным случаем с точки зрения проверки устойчивости суспензий. Многие методы получения объемных материалов из ГК (в том числе лиофильная сушка, лазерная стереолитография, электроформование, технология лазерно-индуцированного переноса вещества и т.д.) требуют стабильности в течение ограниченного времени [29–33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что устойчивость суспензий нГА в водном растворе гиалуроната натрия ожидаемо повышается с увеличением концентрации полимера. УЗ-обработка на использованном оборудовании способствует деструкции гиалуроната и не позволяет получить частицы ГА размером менее 0.5–1 мкм. Минимальная концентрация гиалуроната натрия

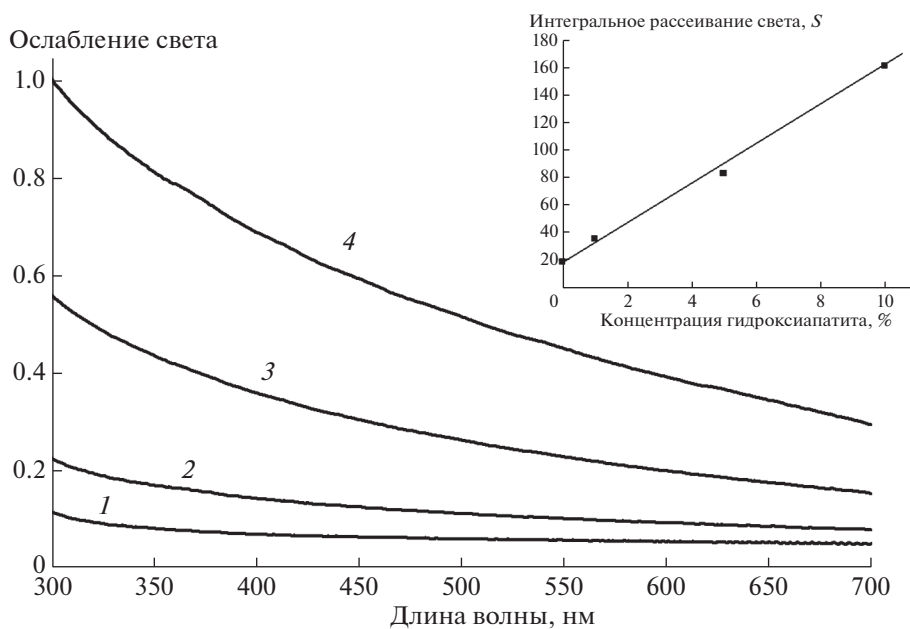


Рис. 5. Спектры ослабления света пленок из гиалуроната натрия, наполненных нГА в концентрации: 0 (1), 1 (2), 5 (3), 10 мас. % (4). На вставке – интегральное рассеивание света в пленках в зависимости от концентрации нГА.

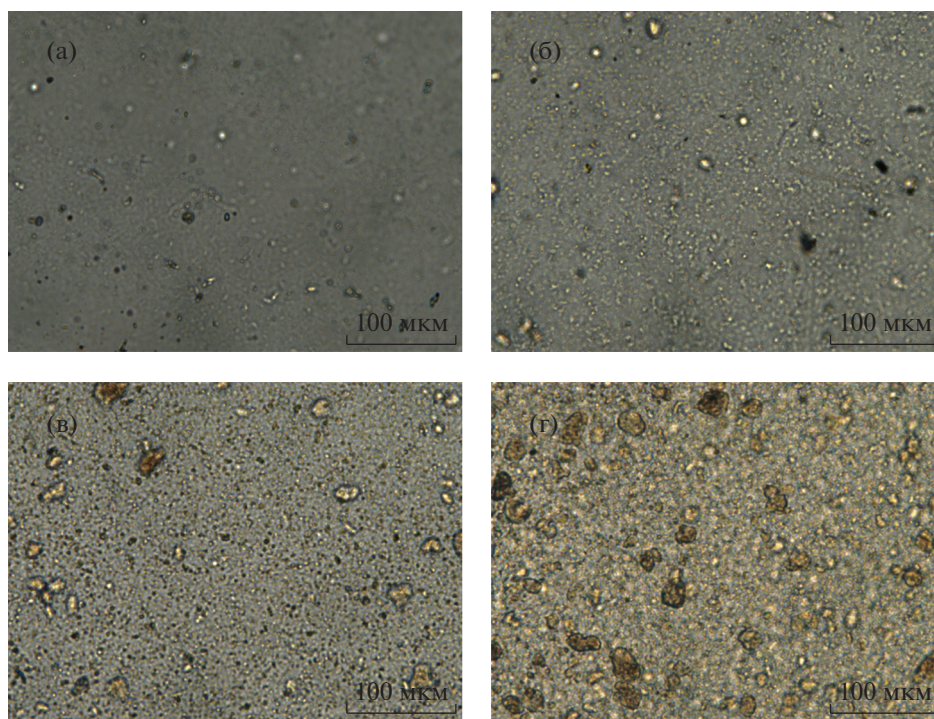


Рис. 6. Микрофотографии пленок из гиалуроната натрия без добавления нГА (а) и содержащих 1 (б), 5 (в) и 10 мас. % (г) нГА.

в растворе, необходимая для получения стабильных суспензий ГА, составляет 0.25 мас. %, а максимальное содержание ГА при этом составляет 120% от массы полимера. Суспензии данного состава стабильны минимум в течение 8 ч, что обес-

печивает однородность распределения нГА при получении материалов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (номер темы FFSM-2021-0006) с использованием

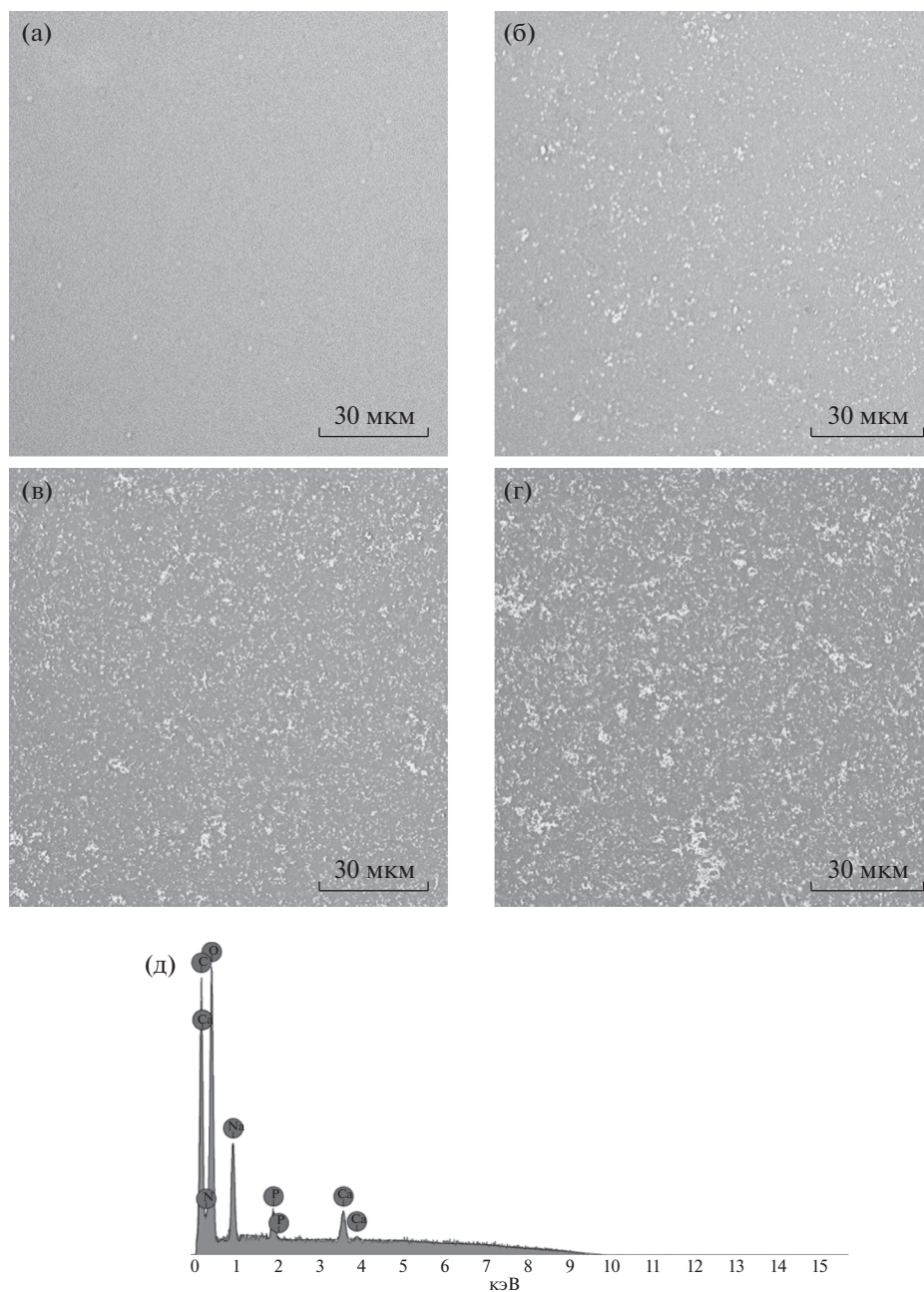


Рис. 7. СЭМ-изображения поверхности пленок из гиалуроната натрия без добавления нГА (а) и содержащих 1 (б), 5 (в) и 10 мас. % (г) нГА; д – ЭДС-спектр поверхности пленки из ГК, содержащей 10 мас. % нГА.

научного оборудования ЦКП “Центр исследования полимеров” ИСПМ РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Haider A., Haider S., Han S.S., Kang I.-K.K. // RSC Adv. Royal Soc. Chem. 2017. V. 7. № 13. P. 7442. <https://doi.org/10.1039/C6RA26124H>
2. Venkatesan J., Kim S.-K. // J. Biomed. Nanotechnol. 2014. V. 10. № 10. P. 3124. <https://doi.org/10.1166/jbn.2014.1893>
3. Popkov A.V., Popkov D.A., Kononovich N.A. et al. // J. Tissue Eng. Regen. Med. 2018. V. 12. № 12. P. 2248. <https://doi.org/10.1002/term.2756>
4. Dubinenko G., Zinoviev A., Bolbasov E. et al. // J. Appl. Polym. Sci. 2021. V. 138. № 2. P. 1. <https://doi.org/10.1002/app.49662>
5. Ramesh N., Moratti S.C., Dias G.J. // J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater. 2018. V. 106. № 5. P. 2046. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33950>
6. Черненко Т.В., Киляшова Л.А., Исраилова Н.Н. и др. // Российские нанотехнологии. 2021. Т. 16 № 4.

- C. 553.
<https://doi.org/10.1134/S1992722321040038>
7. *Chen F., Zhu Y., Wu J. et al.* // *Nano*. 2012. V. 4 № 1. P. 41.
<https://doi.org/10.5101/nbe.v4i1.p41-49>
 8. *Bulina N.V., Chaikina M.V., Prosanov I.Y., Dudina D.V.* // *Mater. Sci. Eng. B*. 2020. V. 262. P. 114719.
<https://doi.org/10.1016/j.mseb.2020.114719>
 9. *Stojanović Z.S., Ignjatović N., Wu V. et al.* // *Mater. Sci. Eng. C*. 2016. V. 68. P. 746.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.06.047>
 10. *Šupová M.* // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2009. V. 20. № 6. P. 1201.
<https://doi.org/10.1007/s10856-009-3696-2>
 11. *Esposito Corcione C., Gervaso F., Scalera F. et al.* // *Ceram. Int.* 2019. V. 45. № 2. P. 2803.
<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.07.297>
 12. *Swetha M., Sahithi K., Moorthi A. et al.* // *Int. J. Biol. Macromol.* 2010. V. 47. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.03.015>
 13. *Pighinelli L., Kucharska M.* // *Carbohydr. Polym.* 2013. V. 93. № 1. P. 256.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.004>
 14. *Kumar A., Kargozar S., Baino F., Han S.S.* // *Front. Mater.* 2019. V. 6. P. 1.
<https://doi.org/10.3389/fmats.2019.00313>
 15. *Wang M.O., Bracaglia L., Thompson J.A., Fisher J.P.* // *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2016. V. 104. № 9. P. 2325.
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.35768>
 16. *Sathiyavimal S., Vasantharaj S., LewisOscar F. et al.* // *Prog. Org. Coatings*. 2020. V. 147. P. 105858.
<https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2020.105858>
 17. *Delabarde C., Plummer C.J.G., Bourban P.E., Manson J.A.E.* // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2012. V. 23. № 6. P. 1371.
<https://doi.org/10.1007/s10856-012-4619-1>
 18. *Huang Y., Zhang X., Wu A., Xu H.* // *RSC Adv*. 2016. V. 6. № 40. P. 33529.
<https://doi.org/10.1039/c5ra26160k>
 19. *Fomby P., Cherlin A.J., Hadjizadeh A. et al.* // *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2010. V. 12. № 3. P. 181.
<https://doi.org/10.1002/term>
 20. *Collins M.N., Birkinshaw C.* // *Carbohydr. Polym.* 2013. V. 92. № 2. P. 1262.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.10.028>
 21. *Beasley K.L., Weiss M.A., Weiss R.A.* // *Facial Plast. Surg.* 2009. V. 25. № 2. P. 86.
<https://doi.org/10.1055/s-0029-1220647>
 22. *Graça M.F.P., Miguel S.P., Cabral C.S.D., Correia I.J.* // *Carbohydr. Polym.* 2020. V. 241. P. 116364.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116364>
 23. *Casale M., Moffa A., Vella P. et al.* // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2016. V. 29. № 4. P. 572.
<https://doi.org/10.1177/0394632016652906>
 24. *Kitamura C., Nishihara T., Terashita M. et al.* // *Polymers*. 2011. V. 3. № 4. P. 1776.
<https://doi.org/10.3390/polym3041776>
 25. *Coimbra P., Alves P., Valente T.A.M. et al.* // *Int. J. Biol. Macromol.* 2011. V. 49. № 4. P. 573.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.06.011>
 26. *Калмыкова Т.П., Костина Ю.В., Ильин С.О. и др.* // *Высокомолекулярные соединения. Б*. 2020. Т. 62. № 1. С. 68.
<https://doi.org/10.31857/S2308113920010040>
 27. *Miyazaki T., Yomota C., Okada S.* // *Polym. Degrad. Stab.* 2001. V. 74. № 1. P. 77.
[https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(01\)00104-5](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(01)00104-5)
 28. *Шишиловский А.А.* *Прикладная физическая оптика*. М.: Физматгиз, 1961. 822 с.
 29. *Suri S., Han L.H., Zhang W. et al.* // *Biomed. Microdevices*. 2011. V. 13. № 6. P. 983.
<https://doi.org/10.1007/s10544-011-9568-9>
 30. *Chantre C.O., Gonzalez G.M., Ahn S. et al.* // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2019. V. 11. № 49. P. 45498.
<https://doi.org/10.1021/acsami.9b17322>
 31. *Yusupov V., Churbanov S., Churbanova E. et al.* // *Int. J. Bioprinting*. 2020. V. 6. № 3.
<https://doi.org/10.18063/ijb.v6i3.271>
 32. *Castro K.C., Campos M.G.N., Mei L.H.I.* // *Int. J. Biol. Macromol.* 2021. V. 173. P. 251.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.100>
 33. *Кильдеева Н.Р., Касаткина М.А., Дроздова М.Г. и др.* // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2016. Т. 52. № 5. С. 504.
<https://doi.org/10.7868/S0555109916050093>