

## ПОЛУЧЕНИЕ И КИНЕТИКА НАБУХАНИЯ В ВОДЕ БИОСОВМЕСТИМЫХ ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ РАЗВЕТВЛЕННОГО ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА

© Я. О. Межуев, М. В. Стенькина, С. В. Осадченко, М. И. Штильман

Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева,  
125047, г. Москва, Миусская пл., д. 9  
E-mail: valsorja@mail.ru

Поступила в Редакцию 30 августа 2019 г.  
После доработки 17 сентября 2019 г.  
Принята к публикации 27 сентября 2019 г.

*Установлена взаимосвязь условий синтеза продуктов разветвления цепи поливинилового спирта под действием эпихлоргидрина в щелочной среде с кинетическими закономерностями набухания пленок на их основе в воде. Показано, что условия, способствующие увеличению плотности разветвления цепи поливинилового спирта, приводят к увеличению равновесной степени набухания в воде. Установлена возможность выращивания клеток линии М-22 на поверхности пленок из разветвленного поливинилового спирта, что свидетельствует об их биосовместимости.*

Ключевые слова: поливиниловый спирт; эпихлоргидрин; набухание; кристаллизация; биосовместимость; разветвление цепи

DOI: 10.31857/S0044461820020036

Поливиниловый спирт (ПВС) является одним из полимеров, традиционно представляющих значительный интерес для формирования биосовместимых гидрогелей [1–4]. Получение гидрогелей поливинилового спирта проводят его химической [5, 6] и радиационной [7, 8] сшивкой или формированием упорядоченных областей в отсутствие сшивающих агентов [9–12]. В последнем случае степень кристалличности материала на основе поливинилового спирта определяет механические свойства получаемых гидрогелей, а также их способность к набуханию [12]. Известно, что с ростом степени кристалличности увеличивается механическая прочность, а способность к набуханию заметно снижается [12].

Альтернативным, менее исследованным, но, по всей видимости, привлекательным в прикладном отношении подходом к получению гидрогелей является разветвление цепи поливинилового спирта под действием эпихлоргидрина и гидроксида натрия [13].

Целью данной работы являлось установление взаимосвязи условий проведения разветвления цепи поливинилового спирта под действием эпихлоргидрина и гидроксида натрия и способности к набуханию в

воде полученных пленок, а также определение их биосовместимости.

### Экспериментальная часть

В работе использовали образцы линейного поливинилового спирта марок VF-08, VF-17 и VF-24 со среднечисленной молекулярной массой 35 000–40 000, 75 000 и 110 000 и степенями гидролиза более 98% (производства ССР, Тайвань), эпихлоргидрин производства Sigma-Aldrich, а также гидроксид натрия х.ч. производства АО «Реахим». В качестве растворителя была использован бидистиллят.

Для разветвления цепи навеску поливинилового спирта заданной марки растворяли в 40 мл дистиллированной воды при нагревании до 70–75°C. Полученный раствор охлаждали до температуры проведения реакции и добавляли заданное количество эпихлоргидрина. Также готовили раствор гидроксида натрия заданной концентрации объемом 10 мл и термостатировали до установления температуры, равной температуре раствора поливинилового спирта, содержащего эпихлоргидрин. Приготовленные растворы

смешивали и проводили реакцию в течение заданного времени при интенсивном перемешивании.

Модификацию BF-17 концентрацией в водном растворе 11 мас% проводили эквимольными количествами эпихлоргидрина и гидроксида натрия концентрациями 0.125, 0.375, 0.5 моль·л<sup>-1</sup> в течение 60 мин при температуре 50°C.

Также варьировали начальную концентрацию раствора гидроксида натрия (0.5, 0.4, 0.375, 0.25, 0.15 моль·л<sup>-1</sup>) при постоянной концентрации эпихлоргидрина (0.375 моль·л<sup>-1</sup>). Концентрация BF-17 в реакционной системе составляла 11 мас%, температура проведения реакции 50°C при длительности 60 мин.

Продукты разветвления цепи поливинилового спирта BF-17 (11 мас%) получали при действии эпихлоргидрина и гидроксида натрия с концентрациями в реакционной системе 0.5 и 0.4 моль·л<sup>-1</sup> соответственно при температуре 50°C после модификации в течение 30, 60, 90 и 150 мин соответственно.

Начальную концентрацию BF-17 в реакционной системе варьировали от 4 до 11 мас% при его модификации эпихлоргидрином (0.375 моль·л<sup>-1</sup>) и гидроксидом натрия (0.375 моль·л<sup>-1</sup>) в течение 60 мин. В аналогичных условиях проводили разветвление цепи BF-08, BF-17 и BF-24 при их концентрации 11 мас% в реакционной системе.

Также получали образцы продуктов разветвления цепи после модификации BF-17 (11 мас%) эпихлоргидрином (0.3 моль·л<sup>-1</sup>) и гидроксидом натрия (0.4 моль·л<sup>-1</sup>) при температуре 30, 50 и 70°C в течение 60 мин.

Пленки из разветвленного поливинилового спирта получали испарением воды при температуре 90°C с последующим кипячением в 96%-ном этаноле в течение 40 мин. Пленки сушили при 100°C в течение 60 мин.

Степень набухания определяли взвешиванием исходного образца пленки 2 × 2 см, а также пленок, которые набухали в 100 мл бидистиллята в течение заданного времени.

Также исследовали высвобождение хлорида натрия в результате диффузии через стенки диализных пакетов, сформированных из пленок на основе продуктов разветвления BF-17 в водном растворе концентрацией 11 мас%, выделенных через 60 мин модификации при температуре 50°C под действием эквимольных количеств эпихлоргидрина и гидроксида натрия при концентрациях 0.125, 0.375 и 0.5 моль·л<sup>-1</sup>. Скорость диффузии определяли из значений электрической проводимости (TDS/ES MeterCOM-80), измеренных через заданные проме-

жутки времени при температуре 35°C в условиях диализа против бидистиллята объемом 3 л. Начальная концентрация раствора хлорида натрия, помещенного в диализный пакет, составляла 0.15 моль·л<sup>-1</sup>.

Биосовместимость пленок определяли по отношению к диплоидным клеткам человека линии M-22, используя в качестве материала сравнения коллаген. Пленки для выращивания клеток линии M-22 были получены из продуктов разветвления BF-17 при его концентрации 11 мас% под действием эквимольных количеств эпихлоргидрина и гидроксида натрия в водном растворе концентрацией 0.375 моль·л<sup>-1</sup> (длительность 60 мин, температура 50°C).

### Обсуждение результатов

Следует ожидать, что скорость набухания пленок на основе продуктов разветвления цепи поливинилового спирта должна возрастать с уменьшением доли упорядоченных областей. Увеличение молекулярной массы поливинилового спирта при его взаимодействии с эпихлоргидрином и гидроксидом натрия, связанное с увеличением плотности разветвления цепи, препятствует образованию упорядоченных областей. Об уменьшении доли упорядоченных областей с увеличением молекулярной массы поливинилового спирта даже в отсутствие разветвлений цепи и сшивки свидетельствует снижение его прочности с увеличением молекулярной массы, описанное в работе [14]. При этом для аморфных полимеров увеличение молекулярной массы должно приводить к уменьшению скорости набухания и равновесной степени набухания. Таким образом, для кристаллизующихся полимеров увеличение молекулярной массы вследствие прироста плотности разветвления цепи в общем случае может приводить как к увеличению, так и к уменьшению скорости набухания и равновесной степени набухания. При разветвлении цепи поливинилового спирта под действием эпихлоргидрина и гидроксида натрия формирование упорядоченных областей может быть осложнено не только вследствие прироста молекулярной массы и наличия разветвлений, но и в результате введения глицидильных групп и продуктов их гидролиза [15]. О влиянии концентраций и соотношения реагентов на скорость разветвления цепи поливинилового спирта можно качественно судить из ранее установленных кинетических закономерностей для процесса введения глицидильных групп [15].

При кратном увеличении концентрации гидроксида натрия и эпихлоргидрина с сохранением их эквимольного соотношения скорость набухания

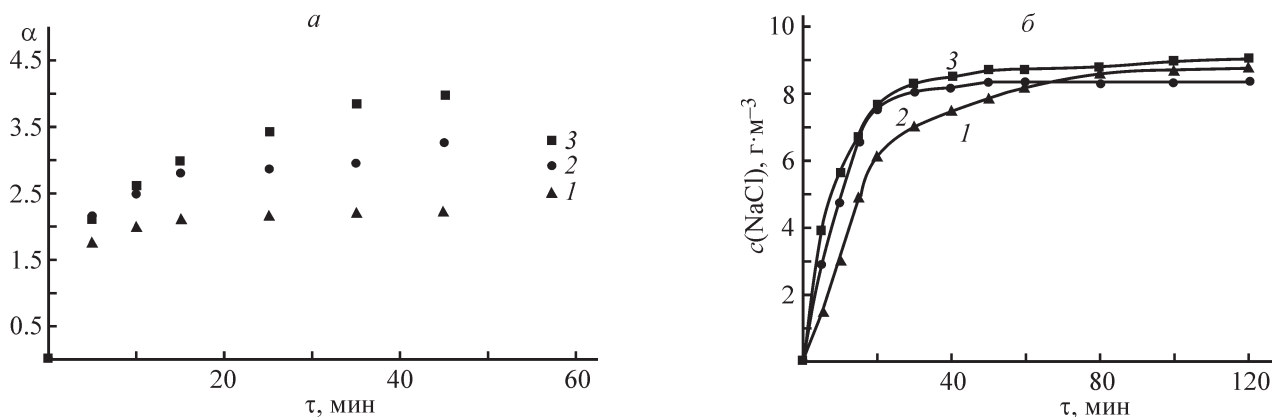


Рис. 1. Зависимости степени набухания пленок на основе продуктов разветвления цепи поливинилового спирта после модификации BF-17 в течение 60 мин эквимольными количествами эпихлоргидрина и гидроксида натрия концентрациями: 1 — 0.125, 2 — 0.375, 3 — 0.5 моль  $\cdot$  л $^{-1}$  (а) — и зависимости концентрации хлорида натрия от времени в процессе диффузии сквозь пленки из разветвленного поливинилового спирта (полученные в условиях, описанных в пункте а) (б).

и предельная степень набухания пленок на основе выделенных продуктов разветвления поливинилового спирта возрастала (рис. 1, а). При этом с увеличением концентрации эпихлоргидрина и гидроксида натрия в реакционной системе увеличивалась проницаемость полученных пленок для хлорида натрия (рис. 1, б).

Увеличение длительности модификации также приводило к увеличению скорости набухания и равновесной степени набухания пленок на основе полученного разветвленного поливинилового спирта (рис. 2).

Также с ростом концентрации поливинилового спирта в водном растворе при постоянной концентрации гидроксида натрия и щелочи наблюдается

уменьшение равновесной степени набухания пленок на основе продуктов разветвления цепи поливинилового спирта (рис. 3).

Равновесная степень набухания пленок на основе разветвленного поливинилового спирта увеличивается с ростом плотности разветвления цепи, которая, очевидно, повышается с ростом скорости реакции ПВС с эпихлоргидрином [15]. Это может быть объяснено нарушением регулярной упаковки цепей в ламели при формировании упорядоченных областей поливинилового спирта вблизи центров разветвления и препятствиями формированию упорядоченных областей, обычно наблюдающимися при увеличении молекулярной массы кристаллизующихся полимеров

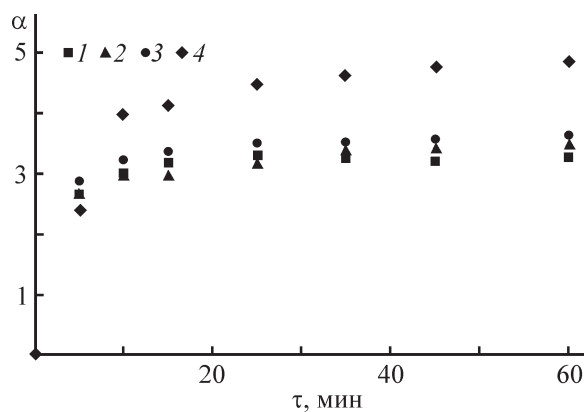


Рис. 2. Зависимость степени набухания пленок на основе продуктов разветвления цепи поливинилового спирта после модификации BF-17 эпихлоргидрином (0.5 моль  $\cdot$  л $^{-1}$ ) и гидроксидом натрия (0.4 моль  $\cdot$  л $^{-1}$ ). Длительность проведения реакции (мин): 1 — 30, 2 — 60, 3 — 90, 4 — 150.

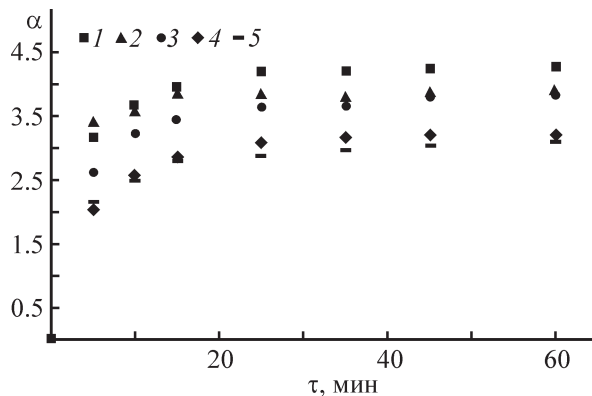


Рис. 3. Зависимость степени набухания пленок на основе продуктов разветвления цепи поливинилового спирта после модификации BF-17 эпихлоргидрином (0.375 моль  $\cdot$  л $^{-1}$ ) и гидроксидом натрия (0.375 моль  $\cdot$  л $^{-1}$ ) в течение 60 мин.

Начальная концентрация поливинилового спирта (мас%): 1 — 4, 2 — 6, 3 — 8, 4 — 9.6, 5 — 11.

[14]. В то же время ранее в работе [13] отмечалась обратная тенденция — с ростом глубины модификации поливинилового спирта эпихлоргидрином в щелочном водном растворе степень набухания не увеличивалась, а уменьшалась. Вероятно, это связано с тем, что выделение продуктов разветвления цепи поливинилового спирта осуществлялось их осаждением в этанол с последующим использованием этанола в качестве дегидратирующего агента. По всей видимости, этого было недостаточно для полного удаления воды. В данной работе после обработки этанолом следовала сушка при температуре 100°C в течение 60 мин.

Однако с увеличением молекулярной массы исходного поливинилового спирта равновесная степень набухания и скорость набухания пленок на основе разветвленного поливинилового спирта убывает (рис. 4), что находится в кажущемся противоречии с результатами работы [14], причем если для разветвленного поливинилового спирта, полученного модификацией BF-17 и BF-24 с молекулярными массами 75 000 и 110 000, кинетические кривые набухания практически идентичны, то при разветвлении цепи BF-08 с относительно невысокой начальной молекулярной массой 35 000–40 000 равновесная степень набухания и скорость набухания пленок оказываются существенно большими.

По всей видимости, наблюдаемый эффект увеличения равновесной степени набухания с уменьшением молекулярной массы исходного ПВС связан с увеличением скорости разветвления цепи поли-

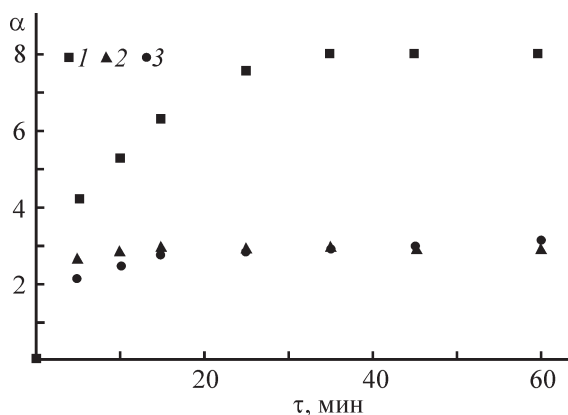


Рис. 4. Зависимость степени набухания пленок на основе продуктов разветвления цепи поливинилового спирта (11 мас%) после модификации эпихлоргидрином (0.375 моль·л<sup>-1</sup>) и гидроксидом натрия (0.375 моль·л<sup>-1</sup>) в течение 60 мин.

Начальная молекулярная масса поливинилового спирта: 1 — 35 000–40 000, 2 — 75 000, 3 — 110 000.

винилового спирта с уменьшением его молекулярной массы. Уменьшение скорости взаимодействия эпихлоргидрина с ростом молекулярной массы поливинилового спирта отмечалось ранее [15]. Используя данные, приведенные в работе [15], можно показать наличие обратно пропорциональной зависимости между эффективной константой скорости взаимодействия поливинилового спирта с эпихлоргидрином ( $k_{\text{eff}}$ ) и среднечисленной молекулярной массой исходного поливинилового спирта ( $M_n$ ):

$$k_{\text{eff}} = 2.7 \cdot 10^{-3} + \frac{57}{M_n}. \quad (1)$$

Таким образом, скорость разветвления цепи поливинилового спирта быстро убывает с ростом молекулярной массы и при высоких значениях молекулярной массы практически перестает зависеть от нее. Кинетические кривые набухания (рис. 4) качественно согласуются с зависимостью (1), если принять во внимание, что увеличение числа разветвлений цепи приводит к увеличению доли аморфных областей. К уменьшению доли упорядоченных областей в пленках на основе разветвленного поливинилового спирта в общем случае может приводить наличие как глицидильных групп и продуктов их последующего гидролиза, так и разветвлений, являющихся следствием нуклеофильной атаки алколят-ионов поливинилового спирта на иммобилизованные глицидильные группы. Приведенные выше результаты согласуются с тем, что увеличение молекулярной массы поливинилового спирта в результате разветвления цепи не имеет решающего значения, а скорость набухания определяется главным образом наличием упорядоченных областей. Увеличение степени набухания с ростом плотности сшивки, препятствующей образованию упорядоченных областей, также отмечается для трехмерных сеток поливинилового спирта [16].

Для получения трехмерных сеток на основе поливинилового спирта рекомендовано мольное соотношение эпихлоргидрина и гидроксида натрия около 1:2 [17], которое способствует достижению максимальной плотности разветвления цепи. Установленные кинетические кривые набухания пленок на основе разветвленного поливинилового спирта, полученных при различных мольных соотношениях гидроксида натрия и эпихлоргидрина, показали (рис. 5), что введение гидроксида натрия сверх эквимольного количества по отношению к эпихлоргидрину приводит к значительному увеличению скорости набухания и равновесной степени набухания. Напротив, избыток эпихлоргидрина по отношению к гидроксиду натрия приводит лишь к небольшому уменьшению скорости



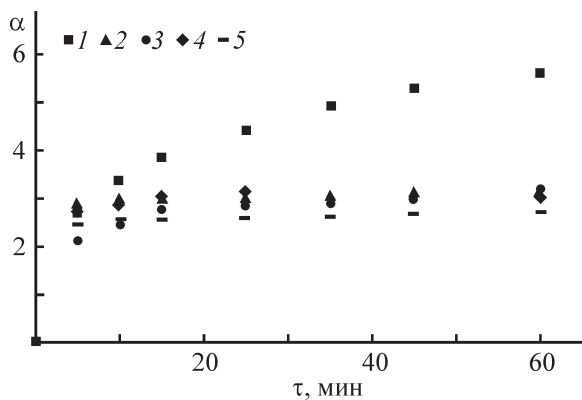


Рис. 5. Зависимость степени набухания пленок на основе продуктов разветвления цепи поливинилового спирта после модификации BF-17 эпихлоргидрином ( $0.375 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$ ) в растворах с различной концентрацией гидроксида натрия.

Концентрация NaOH ( $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$ ): 1 — 0.5, 2 — 0.4, 3 — 0.375, 4 — 0.25, 5 — 0.15 в течение 60 мин.

набухания и степени набухания. Эти наблюдения позволяют предположить, что основные препятствия формированию упорядоченных областей в пленках из разветвленного поливинилового спирта создают не глицидильные остатки в боковой цепи, а продукты их вторичных превращений, включая щелочной гидролиз и разветвление цепи.

Имеются сообщения о выращивании различных клеточных линий на поверхностях физических и химических гелей поливинилового спирта, иммобилизации микроорганизмов, а также возможности применения в генной инженерии [2, 18–20]. Однако до настоящего времени возможности использования продуктов разветвления цепи поливинилового спирта в качестве биосовместимых материалов, в том числе подложек для выращивания клеток, исследованы не столь широко.

Ранее было показано, что пленки на основе разветвленного поливинилового спирта проявляют высокую



Рис. 6. Клетки линии М-22 на поверхности пленки на основе разветвленного поливинилового спирта.

гемосовместимость и могут представлять интерес для использования в качестве материалов, способных находиться в длительном контакте с кровью [13]. В данной работе показано, что диплоидные клетки человека линии М-22 на пленках из разветвленного поливинилового спирта образуют равномерный слой (рис. 6), время формирования которого не отличается от определенного при выращивании этих клеток на коллагене. Последнее обстоятельство свидетельствует о биосовместимости пленок на основе разветвленного поливинилового спирта.

## Выводы

Увеличение скорости разветвления цепи и плотности разветвления цепи поливинилового спирта способствует увеличению равновесной степени набухания пленок, что является результатом уменьшения доли упорядоченных областей образующегося разветвленного поливинилового спирта. Уменьшение доли упорядоченных областей разветвленного поливинилового спирта, предположительно является преимущественно результатом введения не самих глицидильных групп, а продуктов их вторичных превращений в щелочной среде. При этом наблюдается качественная корреляция изменения скорости и равновесной степени набухания продуктов разветвления цепи поливинилового спирта различных начальных молекулярных масс с изменением констант скоростей введения глицидильных групп. Обнаружена возможность культивации диплоидных клеток человека линии М-22 на поверхности пленок из разветвленного поливинилового спирта, что свидетельствует о биосовместимости.

## Финансирование работы

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского химико-технологического университета им. Д. И. Менделеева в рамках внутреннего инициативного гранта № 006.

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

## Информация об авторах

Межуев Ярослав Олегович, д.х.н., проф. кафедры биоматериалов РХТУ им. Д. И. Менделеева, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3075-9010>

Стенькина Маргарита Вячеславовна, аспирант кафедры биоматериалов РХТУ им. Д. И. Менделеева, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1914-6398>

Осадченко Сергей Владимирович, к.х.н., главный специалист кафедры биоматериалов РХТУ им. Д. И. Менделеева, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3722-7199>

Штильман Михаил Исаакович, д.х.н., заведующий кафедрой биоматериалов РХТУ им. Д. И. Менделеева, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9219-5746>

### Список литературы

- [1] Slaughter B. V., Khurshid S. S., Fisher O. Z., Khademhosseini A., Peppas N. A. Hydrogels in regenerative medicine // *Adv. Mater.* 2009. V. 21. P. 3307–3329. <https://doi.org/10.1002/adma.200802106>
- [2] Peppas N. A., Zach Hilt J., Khademhosseini A., Langer R. Hydrogels in biology and medicine: From molecular principles to bionanotechnology // *Adv. Mater.* 2006. V. 18. P. 1345–1360. <https://doi.org/10.1002/adma.200501612>
- [3] Jiang S., Liu S., Feng W. PVA hydrogel properties for biomedical application // *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 2011 V. 4. N 7. P. 1228–1233. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.04.005>
- [4] Chaouat M., Le Visage C., Baille W. E., Escoubet B., Chaubet F., Mateescu M. A., Letourneur D. A novel cross-linked poly(vinyl alcohol) (PVA) for Vascular Grafts // *Adv. Funct. Mater.* 2008. V. 18. P. 2855–2861. <https://doi.org/10.1002/adfm.200701261>
- [5] Marin E., Rojas J., Ciro Y. Polyvinyl alcohol derivatives: Promising materials for pharmaceutical and biomedical applications // *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 2014. V. 8. N 24. P. 674–684.
- [6] Marin E., Rojas J. Preparation and characterization of crosslinked poly(vinyl) alcohol films with waterproof properties // *Int. J. Pharm. Pharmac. Sci.* 2015. V. 7. N 3. P. 242–248.
- [7] Wu M., Bao B., Yoshii F., Makuuchi K. Irradiation of crosslinked, poly(vinyl alcohol) blended hydrogel for wound dressing // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2001. V. 250. N 2. P. 391–395. <https://doi.org/10.1023/A:1017988822121>
- [8] Saito O. Effects of gamma rays on aqueous solution of polyvinyl alcohol // *J. Phys. Soc. Jpn.* 1959. V. 14. P. 792. <https://doi.org/10.1143/JPSJ.14.792>
- [9] Otsuka E., Suzuki A. Swelling properties of physically cross-linked PVA gels prepared by a cast-drying method // *Prog. Coll. Pol. Sci. S.* 2009. V. 136. P. 121–126. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-00865-8\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-642-00865-8_17)
- [10] Noh T., Bando Y., Ota K., Sasaki S., Suzuki A. Tear force of physically crosslinked poly(vinyl alcohol) gels with different submicrometer-scale network structures // *J. Appl. Polym. Sci.* 2015. V. 136. N 4. P. 121–126. <https://doi.org/10.1002/app.41356>
- [11] Otsuka E., Suzuki A. A simple method to obtain a swollen PVA gel crosslinked by hydrogen bonds // *J. Appl. Polym. Sci.* 2009. V. 114. P. 10–16. <https://doi.org/10.1002/app.30546>
- [12] Hassan C. M., Peppas N. A. Structure and applications of poly(vinyl alcohol) hydrogels produced by conventional crosslinking or by freezing/thawing methods // *Biopolymers · PVA hydrogels, anionic polymerisation nanocomposites* // *Adv. Polym. Sci.* 2000. V. 153. P. 37–65. [https://doi.org/10.1007/3-540-46414-X\\_2](https://doi.org/10.1007/3-540-46414-X_2)
- [13] Семенова М. В., Осадченко С. В., Межуев Я. О., Штильман М. И., Семенова И. Н. Синтез гемосовместимых материалов на основе разветвленного поливинилового спирта // *ЖПХ.* 2016. Т. 89. № 8. С. 1037–1042 [Semenova M. V., Osadchenko S. V., Mezhuев Ya. O., Shtil'man M. I., Semenova I. N. Synthesis of hemocompatible materials based on branched polyvinyl alcohol // *Russ. J. Appl. Chem.* 2016. V. 89. N 8. P. 1286–1291. <https://doi.org/10.1134/S1070427216080115>].
- [14] Abd El-Kader K. A., Abdel Hamied S., Mansour A., El-Lawindy A. M., El-Tantaway F. Effect of the molecular weights on the optical and mechanical properties of poly(vinyl alcohol) films // *Polym. Test.* 2002. V. 21. N 7. P. 847–850. [https://doi.org/10.1016/s0142-9418\(02\)00020-x](https://doi.org/10.1016/s0142-9418(02)00020-x)
- [15] Семенова М. В., Межуев Я. О., Осадченко С. В., Штильман М. И. Кинетические закономерности реакции поливинилового спирта с эпихлоргидрином в щелочной среде // *ЖОХ.* 2017. Т. 87. № 5. С. 860–865 [Semenova M. V., Mezhuев Ya. O., Osadchenko S. V., Shtil'man M. I. Kinetic features of the reaction of polyvinyl alcohol with epichlorohydrin in an alkaline medium // *Russ. J. Gen. Chem.* 2017. V. 87. N 5. P. 1047–1052. <https://doi.org/10.1134/S1070363217050255>].
- [16] Bo J. Study on PVA hydrogel crosslinked by epichlorohydrin // *J. Appl. Polym. Sci.* 1992. V. 46. N 5. P. 783–786. <https://doi.org/10.1002/app.1992.070460505>
- [17] Wan Y., Huang W., Wang Z., Zhu X. X. Preparation and characterization of high loading porous crosslinked poly(vinyl alcohol) resins // *Polymer.* 2004. V. 45. N 1. P. 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2003.10.075>
- [18] Gupta S., Webster T. J., Sinha A. Evolution of PVA gels prepared without crosslinking agents as a cell adhesive surface // *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* 2011. V. 22. N 7. P. 1763–1772. <https://doi.org/10.1007/s10856-011-4343-2>
- [19] Bai X., Ye Z., Li Y., Ma Y. Macroporous poly(vinyl alcohol) foam crosslinked with epichlorohydrin for

- microorganism immobilization // J. Appl. Polym. Sci. 2010. V. 117. N 5. P. 2732–2739.  
<https://doi.org/10.1002/app.31420>
- [20] *Garnica-Palafox I. M., Sánchez-Arévalo F. M., Velasquillo C., García-Carvajal Z. Y., García-López J., Ortega-Sánchez C., Ibarra C., Luna-Bárcenas G., Solís-Arrieta L.* Mechanical and structural response of a hybrid hydrogel based on chitosan and poly(vinyl alcohol) cross-linked with epichlorohydrin for potential use in tissue engineering // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 2013. V. 25. N 1. P. 32 – 50.  
<https://doi.org/10.1080/09205063.2013.833441>
-