УДК 544.723 *DOI: 10.15407/Surface.2025.17.305*

КОМПОЗИТНІ КРІОГЕЛІ, НАПОВНЕНІ НАНОСТРУКТУРОВАНИМИ МАТЕРІАЛАМИ: ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ

Є. В. Діхтярук

Інститут хімії поверхні імені О.О. Чуйка Національної академії наук України, вул. Олега Мудрака, 17, Київ, 03164, Україна, e-пошта: eugenchemlab@gmail.com

Представлено огляд сучасного стану у галузі синтезу та застосування композитних кріогелів, отриманих методом кріоструктурування із вмістом наноструктурованих матеріалів. Основну увагу зосереджено на полівініловому спирті (ПВС) і хітозані як ключових біосумісних полімерних матрицях. Проаналізовано фундаментальні принципи кріоструктурування – заморожування та чинники, що впливають на формування макропористої структури кріогелів: температура і швидкість охолодження, кількість циклів заморожування-відтавання, склад розчину, тип зшивання, присутність електролітів та низькомолекулярних добавок. Наведено особливості синтезу фізичних і хімічно зшитих гідрогелів, описано механізми пороутворення, явища кріоконцентрування, фазового розділення та формування міжмолекулярних зв'язків. Розглянуто сучасні підходи до створення композитних кріогелів, зокрема методи in situ та ex situ введення нанонаповнювачів (вуглецеві нанотрубки, оксиди металів, глини, тощо), їх вплив на морфологію, механічні властивості та біоактивність. Особливу увагу приділено застосуванню таких матеріалів у медицині: для адресної доставки лікарських засобів, імплантатів, тканинних каркасів, антибактеріальних та гемостатичних покриттів. Обговорено in vitro та in vivo властивості, включно з біодеградацією, контролем вивільнення, цитосумісністю та механічною стабільністю. Показано, що поєднання ПВС з хітозаном у композиційних кріогелях забезпечує оптимальний баланс між еластичністю, біологічною активністю та сорбційною здатністю. Стаття систематизує літературні дані останніх двох десятиліть та визначає перспективні напрями розвитку, зокрема проєктування «розумних» кріогелів з інтегрованими функціями для біомедичних застосувань.

Ключові слова: *кріогель, кріоструктурування, нанокомпозит, полівініловий спирт, хітозан.*

ВСТУП

Створення нових видів матеріалів, спрямованих на збереження життя людини, вирішення проблем її реабілітації і навколишнього середовища, є актуальним напрямком хімії. В останні десятиліття інтенсивно розвиваються дослідження в області створення гідрогелів – сильно набухаючих полімерних тіл. Унікальні властивості гідрогелів дозволяють розробляти на їх основі нові сорбційні і біомедичні (тканинна інженерія) матеріали. Різноманітні полімерні, білкові та змішані полімерно-білкові системи із високим вмістом води в нативному стані називають «гідрогелями» [1–8, 11, 18, 33]. Якщо їх синтез проводять за від'ємних температур, такі матеріали доцільно називати «кріогелями» [9, 10, 12–17, 19–31]. Вони можуть бути чисто полімерними або наповненими твердими нано-/мікродисперсними частинками [8, 31]. Завдяки високій біосумісності та еластичності, близькій до м'яких біологічних тканин, кріогелі знаходять численні біомедичні, косметичні й фармацевтичні застосування [2–4, 7–9, 11, 16–20,

23, 30]. Макропористі гідрогелі з діаметром пор d > 1 мкм широко використовують як тканинні каркаси, матриці для розділення, у біореакторах та в інших напрямах [25, 27, 28, 31–33, 37].

Отримані в процесі кріотропного гелеутворення (кріоструктурування) матеріали являють собою макропористі гідрогелі з добре розвиненою системою взаємопов'язаних пор і пам'яттю форми. Останнім часом відбулися значні успіхи розуміння процесу кріоструктурування, а також оптимізація співвідношення між компонентами, їх структурою та застосуванням кріогелів. Кріотропні полімерні матеріали, або кріогелі, – це наноструктуровані макропористі гетерофазні гелі, що формуються шляхом послідовних операцій заморожування, витримування у замороженому стані та відтавання концентрованих розчинів полімерів або колоїдно-дисперсних систем, у яких існують передумови для гелеутворення. [9, 10, 12–17, 19–31]. Головною умовою одержання гідрогелів методом кріоструктурування є заморожування й утворення полікристалів основної маси низькомолекулярної рідини (розчинника – пороутворювача) [9, 10, 12–17, 19–31]. Після її розморожування в об’ємі зразка залишаються порожнини (пори), заповнені відталим розчинником, причому безперервна полімерна сітка утворює стінки пор. Таким чином одержують гетерогенні гелеутворені полімерні продукти – кріогелі або кріоструктурати – із системою сполучених макропор. Залежно від типу системи, у якій відбувається кріотропне гелеутворення, кріогелі можуть бути отримані з таких вихідних систем [13, 16, 30]: (i) хімічно зшиті гелі, що утворюються в результаті полімеризації розчинів низько- або високомолекулярних мономерів у присутності ініціатора; (ii) з розчинів низькомолекулярних мономерів, здатних формувати ковалентно зшиті полімерні сітки шляхом поліконденсації; (iii) з розчинів, що містять систему полімерів і зшивальний хімічний агент(и), або за рахунок формування гелевої матриці під опроміненням (УФ, γ-випромінювання, фотоліз); (iv) з розчинів поліелектролітів і зшивальних протийонів; у результаті заморожування такої системи формується тривимірна сітка, вузли якої утворені завдяки слабодисоціюючим іонним або іонно-координаційним зв’язкам між ланцюгами поліелектроліту; v) з розчинів полімерних попередників, здатних до золь-гель переходу, індукованого охолодженням, з утворенням фізично зшитої тривимірної полімерної сітки; та vi) з колоїдних дисперсій, заморожування яких призводить до гелеутворення [13, 16].

Залежно від природи взаємодій, під час формування вузлів просторової сітки у кріогелях, як і в звичайних гелях, виділяють кілька типів гелеутворення: ковалентно зшиті (хімічно зшиті матеріали), координаційно-іонні (іонотропні системи), нековалентні (термозворотні, «фізичні» кріогелі), а також поєднання зазначених типів міжмолекулярних зв’язків [12, 13, 15].

Оскільки кріогелі належать до найбільш перспективних гідрогельних біоматеріалів і ця галузь швидко розвивається, у цьому огляді зосереджено увагу на конструюванні біорозкладних кріогелів як сучасних матеріалів для доставки лікарських засобів і тканинної інженерії.

Англійське слово *gel* (гель) з’явилося в XIX столітті завдяки шотландському хіміку Томасу Ґрему як скорочення від *gelatin* (желатин) і спершу позначало гелеподібну напівтверду речовину, утворену з колоїдного розчину [34]. Етимологічно це слово пов’язане з латинським *gelu* – «мороз», «лід», від якого також походить *gelātus* – «заморожений». Той самий корінь присутній і в сучасній італійській мові у слові *gelato,* яким називають морозиво. З хімічної точки зору морозиво є складною багатофазною колоїдною гетерогенною дисперсною системою з сильно розвиненою поверхнею розділу фаз. Хоча морозиво не є класичним гелем у науковому розумінні, його кремоподібна текстура частково нагадує драглі [36].

Термін *«кріогель»* утворено з двох частин: «кріо-» (від грец. *κρύος* [kryos] – «мороз, холод») та «-гель» (від лат. *gelu* – «лід» або англ. *gel* – «гель») [37]. Цим терміном

позначають макропористі гелеподібні матеріали, що формуються внаслідок кріотропного гелеутворення – зазвичай шляхом заморожування водного розчину мономерів або полімерів із подальшим утворенням полімерної сітки та наступним відтаванням системи [37]. Відповідно, впорядкування дисперсної колоїдної системи методом кріотропного гелеутворення можна назвати *кріоструктуруванням*. Це слово утворене з грецького *kryos* – «мороз» і латинського *structūra* – «будова, структура» і позначає процес формування внутрішньої просторової структури матеріалу під дією низьких температур.

Останніми десятиліттями спостерігається активне зростання досліджень, присвячених одержанню та властивостям кріогелів. Вивчення закономірностей кріотропного гелеутворення є фундаментальним завданням кріохімії полімерів. У результаті сформовано уявлення про основні механізми процесів кріоструктурування, специфічні ефекти, характерні лише для цього процесу, а також про вплив різних параметрів кожної зі стадій кріогенної обробки на властивості кінцевих матеріалів [9, 13–16, 22, 25, 29–32]. Згідно публікаційної активності у тематиці кріогелів протягом останніх двох десятиліть, у 2006–2011 рр. щорічний вихід становив ~60–85 статей; у 2012–2015 рр. зріс до 115–151 (фаза помірного зростання). Із 2016 р. спостерігається суттєвий річний приріст публікацій. Після короткочасної корекції 2023 р. (−8.3% відносно 2022), у 2024 р. зафіксовано різкий приріст (+42.8%), а 2025 р. досягнуто локального максимуму – 765 записів (+2.8% р/р). Загалом за 2006–2025 рр. індексовано 6116 статей причому понад половину (~50.6%) припадає на останню п’ятирічку (2021–2025), що вказує на триваючу інтенсифікацію досліджень у галузі полімерних кріогелів. Узагальнено, динаміка відповідає експоненційному тренду із середньорічним компаундним приростом ~14–15%/рік (від 63 публікацій у 2006 р. до 765 у 2025 р.). Дані отримано зі Sciencedirect станом на 01.11.2025; показник 2026 р. (66 записів) є неповним через затримки індексації й у кількісні оцінки не включався.

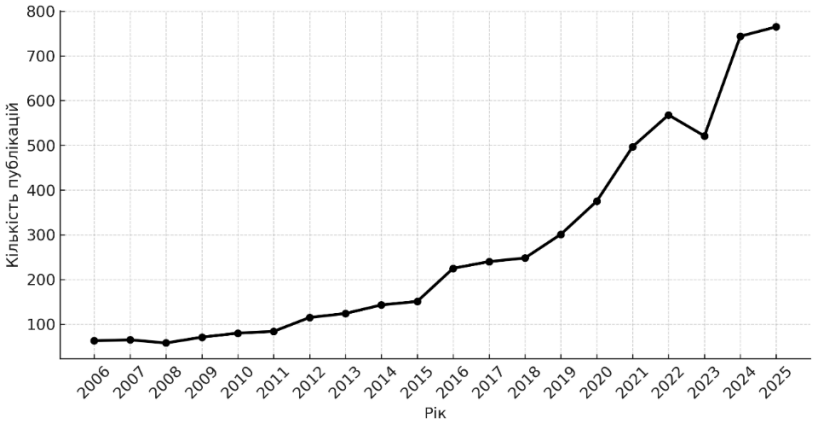

Рис. 1. Діаграма росту кількості публікацій в базі Sciencedirect на запит «cryogel» за останні 20 років

У багатьох випадках важко вказати, яке саме було найпершим повідомленням про якесь експериментально спостережуване явище, особливо якщо воно було виявлено багато років тому в доелектронну епоху, і звіт з'явився в номері, який зараз важко доступний, або якщо він був запатентований на місцевому рівні на мові, яка не є загальновживаною. Хоча окремі приклади виникнення гелеподібних структур після заморажування – відтанення розчинів або дисперсій полімерів відомі досить давно. Так, в Німеччині в 1940-х роках вироблялися губки, сформовані заморожуванням крохмального клейстера [37], відлік історії гідрогелів, сформованих кріоструктуруванням, прийнято рахувати починаючи з піонерських робіт Віхтерле [1, 39]. Повідомлялося [39], що вперше здатність ПВС давати гелі після заморожування-відтанення його розчинів була

встановлена Іноуе [40–41]. Автор описав приготування риболовних гелевих приманок із суміші розчину ПВС з наповнювачами та ароматизаторами. Для отримання гелю, вихідну суспензію, залиту у відповідну форму, спочатку заморажували при температурі нижче -5°C протягом кількох десятків годин, а потім розморожували. У літературі було зроблено пряму вказівку на подібне гелеутворення в статті Кухарчик [42]. Автором відзначено, що у випадку розчинів ПВС (ММ = 80 кДа) з концентрацією >3% циклічне заморожування-відтанення (заморажування протягом 2 хв при температурі -78°C і відтанення при 25°C протягом 15 хв) призводять не тільки до підвищення в'язкості розчину, але і до його гелеутворення. Слід згадати також роботи польських авторів, [43] які методом світлорозсіювання виявили стимулюючу дію кріообробки на асоціацію макромолекул ПВС у водних середовищах, і кілька більш пізніх робіт Пеппаса по кріоструктуруванню водних розчинів ПВС [2, 4, 5, 10, 24, 44].

Нинішня коротка історична інформація, безумовно, не претендує на звання вичерпного огляду всіх піонерських публікацій про кріогенно отримані гелеві матриці та композити на їх основі.

Кріоструктурування як інструмент створення макропористих каркасів. У літературі описано різні матеріали, які називають «кріогелями», проте універсального визначення немає. Принаймні чотири групи отримували таку назву [12, 30]: (i) желеподібний осад, що утворюється під час кріопреципітації (наприклад, обробка плазми крові при ~4°C); (ii) заморожені полімерні чи інші гідрогелі як антипіретики або акумулятори тепла; (iii) полімерні та неорганічні кріогелі, отримані золь-гель синтезом із подальшим ліофілізуванням (індивідуальні й змішані оксиди, полімери, гібриди, композити, а також вуглецеві кріогелі шляхом карбонізації полімерних кріогелів); (iv) синтетичні й природні полімерні або білкові кріогелі, синтезовані у замороженому розчиннику (зазвичай воді) методом кріотропного гелеутворення – саме ця група є фокусом огляду.

Різниця між структурою одного й того самого зволоженого матеріалу, отриманого за швидкого та повільного заморожування, є суттєвою. Очевидно, швидке заморожування приводить до меншої руйнації матеріалів [30]. Просте пояснення ґрунтується на поширеному уявленні: під час швидкого або повільного заморожування води утворюються відповідно менші (менш упорядковані) або більші (більш упорядковані) кристаліти льоду. Відповідно, структура заморожених гідратованих матеріалів залежить і від кількості води, і від швидкості охолодження. Чим повільніше заморожування, тим більші кристаліти льоду утворюються, і тим сильніше вони можуть руйнувати стінки пор, клітинні мембрани та навіть цілі клітини. Причини цього такі: лід має більший питомий об’єм, ніж вода; до того ж водні домени та краплі через свою майже сферичну форму є більш компактними порівняно з несферичними кристалітами льоду. Додається й ефект кріоконцентрування, коли під час заморожування розчину розчинені сполуки витісняються у залишкову рідинну фазу. Кристаліти льоду значно менш компактні, ніж початкові водні мікродомени, що сприяє механічним напруженням і руйнуванню стінок пор. Точка замерзання концентрованого залишкового розчину знижується як унаслідок колігативних властивостей, так і через ефект обмеженого простору, зумовлений кристалітами льоду та/або іншими твердими поверхнями, що оточують краплі чи тонкі шари цього розчину. Ці ефекти використовують для синтезу органічних та неорганічних матеріалів у водних середовищах (або інших рідинах) за температур нижчих за точку замерзання чистого розчинника. Процес починається із заморожування початкового розчину, витримування його у замороженому стані певний час для утворення пор за рахунок кріоконцентрування прекурсора у залишкових рідких шарах під впливом мікрокристалітів замороженого розчинника, з подальшим фізичним або хімічним зшиванням сполук, що формують стінки макропор, і завершальним розморожуванням

(та/або сушінням) зі збереженням пористої структури [10, 13, 16, 22, 24, 25, 31, 32]. Отже, кріоструктурування – це формування гідрогелю в напівзаморожених умовах, коли більша частина розчинника кристалізується, а зшивання/структурування відбувається в невеликих незаморожених мікрооб'ємах навколо кристалів розчинника. Самі кристали розчинника виступають «матрицями» для пор, і після відтавання залишають по собі великі порожнини, заповнені рідиною. Найпоширенішим розчинником є вода [112], проте можуть використовуватися й інші розчинники або їх суміші з температурами замерзання, близькими до 0°C (наприклад, диметилсульфоксид, бензен, циклогексан). Вода вважається оптимальним розчинником-пороутворювачем для створення біосумісних кріогелів для біомедичних застосувань [2–8, 33].

Зазвичай поровий простір таких матеріалів охоплює кілька ієрархічних рівнів, для опису яких зручно використовувати класифікацію [30], адаптовану до біомедичних застосувань: вузькі нанопори (діаметр 0.4–2 нм), середні (2–50 нм) і широкі (50–100 нм) нанопори, мікропори (100 нм–100 мкм) і макропори (d > 100 мкм). Відповідність з термінологією IUPAC така: вузькі, середні й широкі нанопори приблизно відповідають мікро(нано)-, мезо- та макропорам. Це важливо для узгодженого опису розподілів розмірів пор у широкому діапазоні від ~0.4 нм до ~300 мкм. У літературі лише небагато робіт охоплюють увесь цей діапазон; зазвичай аналізують лише мікро/макропористість на рівні d > 1 мкм, часто якісно, за зображеннями мікроскопії без їх кількісної обробки. Схему кріоструктурування наведено на Рис. 2. Пороутворювачами в таких системах слугують замерзлі кристали розчинника [13, 22, 30, 112].

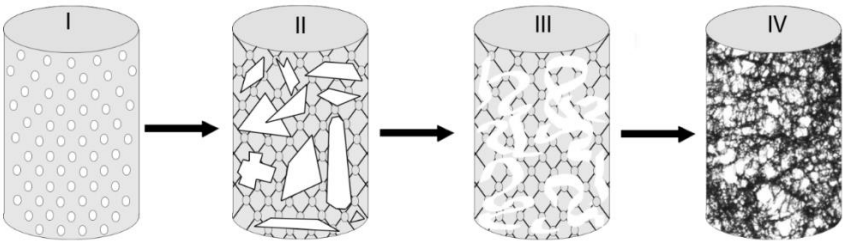

Рис. 2. Схема кріоструктурування: (i) початкова система (розчин прекурсорів охолоджують до температури нижче точки замерзання); (ii) заморожена система (кристали льоду, що утворилися, і розчинені речовини концентруються в незаморожених зонах); (iii) проміжна система (гель утворюється в незамерзлій рідині навколо кристалів льоду); (iv) кріогель утворюється під час розморожування

Після розчинення у воді (або іншому розчиннику) вихідних компонентів реакційну систему охолоджують, щоб знизити швидкість реакції між початковими компонентами; далі в реакційне середовище додають зшивальний агент або ініціатор, необхідні для запуску процесу гелеутворення. Потім вихідну рідку систему заморожують і інкубують заданий проміжок часу за потрібної від'ємної температури. При заморожуванні розчинника відбувається його кристалізація й концентрування полімеру та реагентів у незамерзлій фазі; саме там і проходить реакція зшивання/полімеризації. Розмір і морфологія пор у кріогелі визначаються розміром і формою кристалів розчинника, що залежать від (i) швидкості охолодження, (ii) мінімальної температури, (iii) часу витримки в замороженому стані, (iv) складу розчину (тип та концентрація полімеру, зшивача, солей/кріопротекторів, добавок-модифікаторів) і (v) умов відтавання [13, 16, 22, 30]. Як правило, швидке охолодження формує численні дрібні кристали та дрібнопористу структуру; повільне – більші кристали та макропори з товстішими стінками Зі збільшенням концентрації полімеру зменшується середній розмір пор і збільшує товщину стінок, посилюючи механічні характеристики, але знижуючи проникність. Далі ми більш детально розглянемо кожен із факторів, які впливають на формування макропористої

структури кріогелю при кріоструктуруванні. Узагальнена схема процесу кріоструктурування на прикладі хімічно зшитих глутаровим альдегідом водних розчинів хітозану та ПВС наведена на Рис. 3.

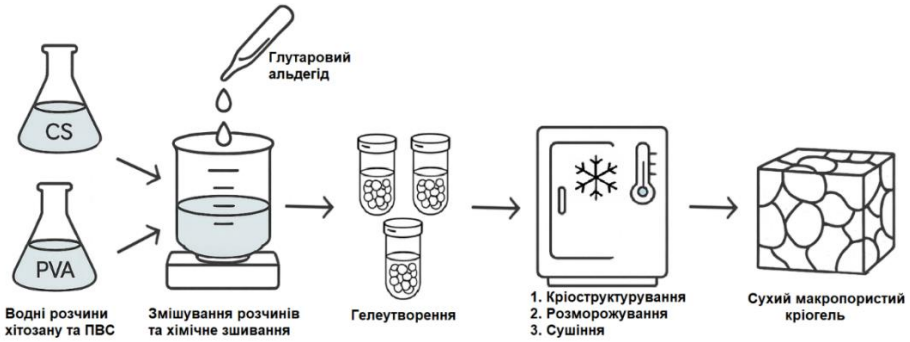

Рис. 3. Узагальнена схема кріоструктурування на прикладі водних розчинів хітозану та ПВС, хімічно зшитих глутаровим альдегідом (ГА)

На мікроскопічному рівні помірно заморожені молекулярні або колоїдні розчини є гетерофазними системами, що містять як тверді речовини (тобто полікристали замороженого розчинника), так і деяку незаморожену фракцію. Така заморожена система є двофазною: одна фаза – це кристали замерзлого розчинника, які виконують роль порогену; інша – незамерзла рідка мікрофаза (НРМФ), у якій відбуваються реакції між попередниками з утворенням полімерної фази кріогелю [13, 15, 22]. Гелеутворення в помірно замороженій системі в певному інтервалі від'ємних температур відбувається швидше, ніж у незамороженій. Об'єм НРМФ у зразку є значно меншим порівняно з фазою виморожeного розчинника. Вільний розчинник замерзає, утворюючи кристали льоду, що ростуть і формують з іншими кристалами взаємопов'язану систему. Залежно від умов кріогенної обробки можна отримати матеріали з різним діаметром пор і ступенем їх взаємопов'язаності [22, 29, 30]. Після завершення кріоструктурування, заморожену систему розморожують; унаслідок цього в об'ємі кріогелю формуються макропори, переважно округлої форми. Після подальшого відтавання замороженого зразка утворюється макропористий кріогель, який складається з полімерної сітки гелевої фази гетерофазного кріогелю, макропор і розчинника. Полікристали замерзлого розчинника під час плавлення залишають порожнини, що були заповнені розчинником, а макропори набувають округлої форми під дією сил поверхневого натягу гелевої фази. Оскільки формування такого гелю відбувається за високих концентрацій прекурсорів, утворювана полімерна фаза являє собою густу сітку мікропористої структури. У сформованому кріогелі макропори зазвичай є сполученими, оскільки під час замерзання кожен кристал розчинника, як правило, росте до зіткнення з гранню іншого кристала. Додатково діє явище кріоконцентрування: розчинені речовини витісняються в залишкову рідку воду під час заморожування розчину, оскільки кристаліти льоду значно чистіші та однорідніші за вихідний розчин. Наприклад, морський лід не є солоним – солоні незамерзлі краплі залишаються в кишенях між кристалами льоду. Концентрування залишкового сольового розчину між кристалітами льоду знижує його температуру замерзання за рахунок колігативних властивостей; цим і пояснюється «виштовхування» розчинених компонентів у рідку фазу при поступовому зниженні температури замерзання. Домішки (органічні речовини, солі та інші розчинені сполуки) мають низьку розчинність у льоді порівняно з об'ємним водним розчином, тож на межі «розчин–лід» виникає градієнт концентрації [30].

Кріоконцентрація та ефекти обмеженого простору призводять до зниження температур замерзання/танення розчину поблизу поверхні льоду (тобто в порах, порожнинах між кристалітами льоду) і можуть зумовлювати формування зон переохолодження [45, 46]. Це, своєю чергою, може спричиняти порушення (розрив)

площинної межі [45], що має суттєве значення для руйнування біологічних об'єктів та інших систем під час циклів заморожування/відтавання. Це явище відоме як нестійкість Маллінса–Секерки [47, 48]:

$$\frac{\dot{\delta}}{\delta} = v\omega\{ -2(\omega^* - y)(Tm\Gamma w^2 + G) + 2mG_c(\omega^* - v/D) \} \left\{ 2G\frac{k_s - k_l}{k_s + k_l}(\omega^* - y) + 2\omega m\, G_c \right\}^{-1} \quad (1)$$

де ω^*=v/2D+[v/2D)^2 + ω^2]$^{1/2}$, ω – частота, m – нахил лінії ліквідусу на фазовій діаграмі, v – швидкість росту, Tm – рівноважна температура плавлення (танення), Г – відношення поверхневої енергії до питомої теплоти плавлення, D – коефіцієнт дифузії, k – коефіцієнт розподілу, G – температурний градієнт, Gc – градієнт концентрації солюту на межі, а ks і kl – теплопровідності фаз льоду та розчину, відповідно. Рівняння (1) можна використовувати для опису кроку (міжвідстані) пор у впорядкованих пористих кріогелях, сформованих методом спрямованого заморожування [48, 49].

Ці співвідношення застосовні, зокрема, для опису міжпорових інтервалів в орієнтовано пористих кріогелях, одержаних спрямованим заморожуванням. Коли вода-розчинник вимерзає, кристаліти льоду (майбутні мікро/макропори розміром ~0.1–300 мкм) витискають прекурсори гелю (мономери, полімер, зшивач і ініціатор) у міжкристалітний простір, де концентрований розчин залишається рідким навіть при −10…−30°C. Полімеризація чи зшивання в цих рідких прошарках формують відносно тонкі нано/мікропористі стінки макропор. Ріст кристалітів льоду тисне на щойно сформовані стінки, тож вони, як правило, тонкі й з невеликою власною нано/мікропористістю. За великого вмісту води пористість може сягати ~99%, а сумарний об'єм пор у нативних кріогелях – 20–40 см³/г; типова товщина стінок – 1–10 мкм (інколи 15–50 мкм), вони можуть містити як нанопори (d < 0.1 мкм), так і мікропори (d > 0.1 мкм) [30].

Температура замерзання води (та інших рідин), ув'язненої у вузьких порах, знижується порівняно з об'ємною рідиною – це описується співвідношенням Гіббса–Томсона для депресії точки замерзання в пороув'язнених системах [30, 31]. Причина – дія поверхневих полів від стінок пор на структуру рідини всередині пор, що залежить від розміру й форми пор та від хімії поверхні (полярність, наявність O-вмісних та інших полярних/заряджених груп), яка змінює водневозв'язану мережу й розподіл іонів у приповерхневому шарі. За малого вмісту води (кілька відсотків) вона перебуває у стані «сильно зв'язаної» і кристаліти льоду не утворюються не спостерігається ні екзотермії кристалізації, ні ендотермії плавлення. Отже, кріоструктурування можливе лише в системах із значною часткою незв'язаної рідини. Варіювання складу (вода/співрозчинники, іонна сила, pH), швидкості охолодження, температурних і концентраційних градієнтів та інших умов полімеризації/зшивання дозволяє тонко керувати розподілами розмірів пор і товщиною стінок, а також іншими властивостями матеріалів. Типово кріогелі є мікро/макропористими матеріалами з d ~ 1–300 мкм і товщиною стінок у кілька мікрометрів; для таких систем доречні «біологічні» межі класифікації пор (нанопори d < 0.1 мкм; мікропори 0.1 < d < 100 мкм; макропори d > 100 мкм), що краще відповідає природі кріогелів, ніж класифікація IUPAC [30].

На Рис. 4 показано узагальнену термограму системи на всіх стадіях кріотропного гелеутворення, тобто під час заморожування, витримування у замороженому стані та відтавання [15]. Ділянка A–B відповідає охолодженню зразка від початкової температури до температури початку кристалізації розчинника (для розчинів полімерів часто спостерігається переохолодження до Tu). На ділянці C–D за рахунок виділення прихованої теплоти кристалізації льоду зазвичай реєструється «плато кристалізації», однак за високих

швидкостей охолодження (vc > 40°C/хв) це плато може не спостерігатися в реальному масштабі часу [15, 51]. Між точками D та E відбувається подальше зниження температури до заданого експериментатором значення (*Ts*).

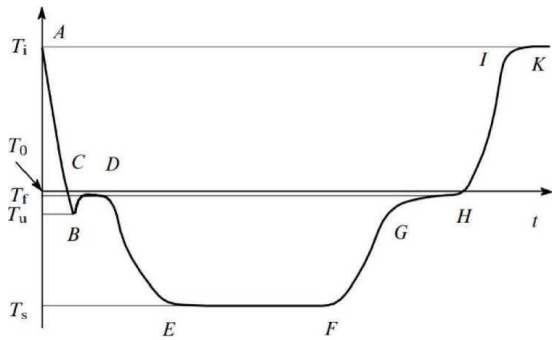

Рис. 4. Узагальнена термограма процесу кріотропного гелеутворення. *Ti* – початкова температура системи, T_0 – температура заморожування чистого розчинника, *Tr* – температура заморожування системи, *Tu* – найнижча температура переохолодження, *Ts* – температура витримування зразка у замороженому стані

Ділянка E–F відповідає витримуванню системи в замороженому стані. Після точки F починається процес відтавання зразків. Між точками G та H відбувається фазовий перехід – плавлення кристалів замерзлого розчинника; після точки H відтавання триває до досягнення заданої додатної температури системи. Дослідниками встановлено, що для 5–10% водних розчинів ПВС депресія температури кристалізації системи (T_0–*Tr*) не перевищує 0.3–0.8°C [15]. Із підвищенням концентрації ПВС у вихідному розчині значення температури переохолодження (*Tu*) знижується, при цьому швидкість кристалізації розчинника зростає. Чим вища швидкість кристалізації, тим, як правило, дрібнішими є полікристали замерзаючої низькомолекулярної рідини [30, 52].

Кріостуктурування привернуло значну увагу, адже дає змогу отримувати мікро/макропористі матеріали практично з будь-яких органічних чи неорганічних прекурсорів без використання токсичних органічних розчинників і з контрольованими текстурними, структурними й адсорбційними характеристиками. Кріогелі як макропористі матеріали привабливі для тканинних матриць і мембран: вони забезпечують вільну дифузію не лише малих молекул, а й макромолекул і клітин завдяки зв’язаній мережі макропор і губчасто-еластичній морфології. Поєднання з методом молекулярного імпринтингу підсилює селективність адсорбції; крім того, кріогелі можна наповнювати твердими пористими мікро-/наночастинками для керування механікою, текстурою та сорбційними властивостями; відомі також неорганічні кріогелі (оксиди, вуглецеві матеріали тощо). Беручи до уваги той факт, що кількість робіт, опублікованих у цій галузі, за останні роки зросла майже в геометричній прогресії (Рис. 1), доцільно спочатку дати короткий історичний огляд цих гелевих систем, які дуже цікаві як з фундаментальної, так і з прикладної точок зору. Більше того, автори деяких останніх публікацій, присвячених переважно прикладним аспектам, часто виявляються необізнаними з новаторськими дослідженнями та основними науковими джерелами. Є надія, що цей розділ також сприятиме кращому розумінню досягнень у формуванні кріотропних гелів за останні два десятиліття.

Кероване зшивання полімерів або білків, що формують нано/мікропористі стінки макропор кріогелів, може бути хімічним (утворення ковалентних зв’язків) або фізичним (міжмолекулярні взаємодії). Кількість перехресних зв’язків варіюють у широких межах, змінюючи механічні та інші властивості матеріалу. Тому важливо розуміти закономірності процесів заморожування за різних умов, що визначають текстуру кріогелів. Для біополімерів (хітозан, альгінат, желатин, гіалуронова кислота, декстран)

часто поєднують обидва підходи – фізичний та хімічний – або створюють міжпроникні мережі.

Хімічне зшивання. Хімічно зшиті кріогелі зазвичай мають більший розмір пор. Як зшивальні агенти застосовують біфункціональні низькомолекулярні сполуки, що реагують із функціональними групами або з непредельними зв'язками гелеутворювального полімеру. Однак реакція зшивання різко знижує здатність полімерів до необоротних деформацій і набухання. Для синтетичних і природних полімерів застосовують різні зшивачі. Глутаровий альдегід утворює основи Шиффа з первинними амінами (желатин, хітозан), що після відтавання можуть частково перетворюватися на більш стабільні структури (циклічні ацеталі/амінацеталі). Карбодііміди активують карбоксильні групи для утворення амідних зв'язків (желатин, альгінат). Епоксидні зшивачі реагують з гідроксильними/амінними групами (ПВС, целюлоза, декстран). Діізоціанати утворюють уретанові/сечовинні зв'язки; геніпін забезпечує м'яке біосумісне зшивання аміновмісних біополімерів. У більшості випадків концентрацію зшивача та pH добирають так, щоб реакція відбувалася вже в замороженому стані, що забезпечує формування безперервних стінок каркаса [52, 57].

Фізичне (нековалентне) структурування. Фізичні (термозворотні) кріогелі мають високу вологоутримувальну здатність і термозворотність, водночас у них відсутні незреаговані зшивальні агенти з потенційною токсичністю [25, 57]. Для ПВС, полі(N-ізопропілакриламіду), желатину та ін. кріогелі можуть утворюватися завдяки кристалізації сегментів (ПВС) чи асоціації спіралей (желатин), іонному зшиванню (альгінат–Ca^{2+}), поліелектролітним комплексам (хітозан–гіалуронова кислота (ГК)), множинним водневим зв'язкам тощо. Такі кріогелі зазвичай чутливі до температури, іонної сили та pH; їх механічні властивості коригують концентрацією полімеру, числом циклів «заморожування–відтавання» і додаванням наповнювачів (кремнезем, глини, наночастинки вуглецю тощо) [57].

Переваги кріотропного підходу. На відміну від методів з порогенами, не потрібно видаляти твердий пороутворювач; відсутній ризик його залишків у матеріалі. Процес відбувається у воді й при відносно м'яких умовах, що сумісно з чутливими біомолекулами та клітинами (за відповідного вибору хімії зшивання). Обмеженнями є вимоги до обладнання контролю заморожування, потенційна крихкість при дуже великих порах та необхідність ретельного підбору рецептури для балансу між пористістю та міцністю.

Підходи до синтезу кріогелів, механізми та фактори що впливають на їх формування. Властивості матеріалів, отриманих методом кріоструктурування, залежать від усіх чинників вихідного полімерного розчину. Змінюючи характеристики полімеру (молекулярну масу, вміст залишкових О-ацетильних груп, pH, концентрацію), склад розчинника та режим кріогенної обробки (температуру, швидкість розморожування, кількість циклів заморожування-відтавання тощо), можна керувати фізико-хімічними показниками та структурою кінцевих кріогелів [2, 13–16, 20–22, 24–26, 29–32, 37, 39, 51]. Склад, тобто характер використовуваних полімерів впливають на кінцеву морфологію кріогелю, механічні властивості і деградацію. Як зазначалося вище, структура і властивості кріогелів залежать від багатьох факторів. Для початку розглянемо, як впливають характеристики полівінілового спирту на властивості одержуваних кріогелів.

Серед полімерів для отримання кріогелів найширше застосовується й досліджується полівініловий спирт. Такий інтерес зумовлений унікальними механічними, дифузійними та теплофізичними властивостями кріогелів ПВС доступністю полімеру, його нетоксичністю, гідрофільністю, біосумісністю та біорозкладністю [54–56] у тканинах і рідинах людини, а також відносною простотою методики гелеутворення (розчин ПВС просто заморожують на певний час, а потім розморожують). Завдяки великій кількості гідроксильних груп у макромолекулі ПВС сітка кріогелю стабілізується внутрішньо- та

міжмолекулярними водневими зв’язками. Процеси кріоструктурування ПВС детально описані в роботах Пеппаса, Лозінського, Ріккарді, Пазоса [2, 4, 5, 10, 15, 22–26, 36, 43, 54, 56]. Сформовані таким чином кріогелі ПВС є термозворотними: вони плавляться під час нагрівання. Експерименти [56] показують, що в’язкість вихідних розчинів і розчинів, отриманих із відповідних кріогелів після їх плавлення, не відрізняється, що свідчить про відсутність міжмолекулярного зшивання. Властивості матеріалів, отриманих методом кріоструктурування, залежать від усіх чинників вихідного полімерного розчину.

Молекулярна маса та ступінь деацетилювання. Одним із головних чинників здатності ПВС до кріоструктурування є молекулярна маса вихідного полімеру [13, 16, 22, 59]. Це важливо з тієї причини, що в більшості випадків ПВС отримують шляхом гідролізу полівінілацетату, а це означає, що в результаті цієї процедури в полімері може залишитися певна кількість неомилених О-ацильних груп. Було встановлено [13], що при <90% СД кріогелі не утворюються навіть при найбільш сприятливих умовах. При ~ 95% СД отримують слабкі кріогелі, реологічні властивості яких навіть важко виміряти. При кількості О-ацильних залишків в кількості менше 3% і при використанні концентрованих розчинів ПВС утворюються міцні, еластичні кріогелі. До очевидних причин «поганого» гелеутворення ПВС з низьким значенням СД відносяться стеричні перешкоди, які створюються об'ємними ацетильними групами. Збільшення молекулярної маси може підвищувати ступінь кристалічності в сітці кріогелю [26, 91], але водночас обмежує рухливість макромолекул через зменшення вільного об’єму [54]. Встановлено [54], що для отримання стабільних фізико-хімічних і механічних показників кріогелі доцільно формувати з ПВС із М > 50 000: концентровані розчини утворюють мутні, пружні, високоплавкі (Тпл > 60–80°С) гетерогенні гелі. Застосування ПВС з М < 50 000 приводить до прозорих низькоплавких (Тпл < 30–40°С) і механічно слабких гелів. Важливим є також вміст залишкових О-ацетильних груп і стереорегулярність ОН-груп у полімері. Показано [59], що за ступеня деацетилювання (СД) нижче 90% кріогелі ПВС не утворюються навіть за сприятливих умов, а для формування кріогелів із «добрим» пружно-міцнісним комплексом слід використовувати ПВС із вмістом залишкових О-ацетильних груп не більш як 3%. Міжмолекулярні взаємодії у водному розчині ПВС зумовлені водневими зв’язками між ОН-групами у синдіотактичних блоках ПВС, а внутрішньомолекулярні – за участю ОН-груп ізотактичних фрагментів (Рис. 3).

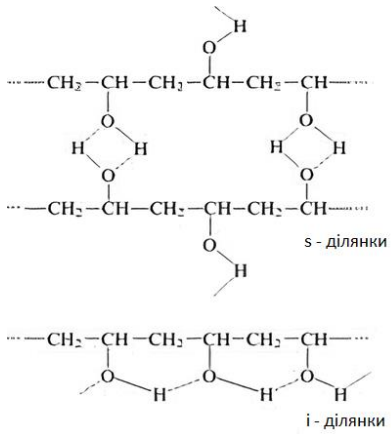

Рис. 5. Утворення внутрішньо- та міжмолекулярних водневих зв’язків у синдіо- (s) та ізо- (i)тактичних фракціях ПВС

Кріогелі на основі ПВС, збагаченого синдіотактичними фрагментами, мають вищу кристалічність порівняно з утвореними з атактичного полімеру приблизно тієї ж молекулярної маси, що свідчить про формування водневих зв’язків між молекулами під час кріотропного гелеутворення цього полімеру [13, 10, 22, 60]. Варіювання ступеня

кристалічності ПВС шляхом зміни його молекулярної маси є важливим для конструювання біомедичних матеріалів, оскільки впливає на механічні та дифузійні властивості кріогелів. Цей підхід застосовано для гелів, що імітують тканини серцево-судинної системи, шкіру [61], або як імплантати для заміни міжхребцевих дисків [62], де потрібні підвищені міцність і жорсткість.

Лозинський і співавтори виявили, що гелі, синтезовані з ПВС меншої молекулярноої маси (до 40 кДа), були більш жорсткими, ніж гелі з більш високою молекулярною масою [13, 15, 22, 36]. При ступені деацетилювання (СД) нижче 90% кріогелі не утворюються ні в яких, навіть найсприятливіших умовах. При вмісті залишкових О-ацильних груп 5% виходять дуже слабкі кріогелі, реологічні характеристики яких навіть важко правильно виміряти. І тільки на основі концентрованих водних розчинів ПВС високодеацетильованих марок (СД > 97%) можна формувати досить міцні кріогелі.

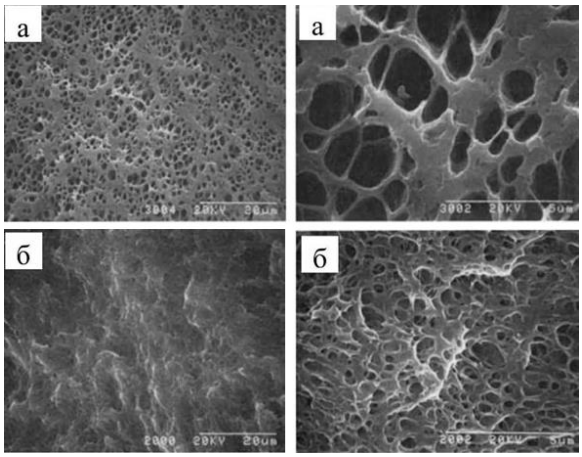

Рис. 6. SEM-зображення поверхні зрізів кріогелю на ПВС зі ступенем деацетилювання 97.5% (а) та 99.9% (б). Шкала зліва: 20 мкм, зправа: 5 мкм

Досдження впливу СД полівінілового спирту (97.5% і 99.9%) на структуру і властивості одержуваних кріогелів показало, що в кріогелях на основі ПВС з високим вмістом полімеру СД кристаліти більш стабільні за рахунок більш компактної упаковки макромолекул, в той час як кріогелі на основі ПВС з більш низьким СД містять багато макромолекулярних ланцюгів, що містять об'ємні О-ацильні групи, які перешкоджають компактній агрегації макромолекул [63]. В результаті кріогелі ПВС на основі полімеру з більш високим СД мають більш високу температуру плавлення, так як число водневих зв'язків, що стабілізують структуру кріогелів ПВС, буде збільшуватися зі збільшенням ступеня деацетилювання, при цьому розмір пір буде зменшуватися і кріогелі ПВС стануть більш еластичними (Рис. 6). На зображеннях, отриманих за допомогою скануючої електронної мікроскопії зразків кріогелю ПВС (Рис. 6), чітко видно пористу структуру цих матеріалів. Збільшення концентрації ПВС в вихідних розчинах призвело до зменшення розміру пор в зразках кріогелю і збільшення числа багатих полімером областей, як показано на Рис. 6 [44].

Зі збільшенням молекулярної маси число і розмір кристалічних областей збільшується за рахунок збільшення довжини полімерного ланцюга. Однак цей ефект обмежений зменшенням вільного об'єму і рухливості високомолекулярних полімерів. Хасан і Пеппас [10] виявили, що під час набухання в кристалі більше нестабільності однорідність і ступінь кристалічності в більш високій молекулярній масі ПВС за рахунок збільшення довжини ланцюга. Це сприяє додатковій кристалізації під час набухання та підвищенню рухливості через менше фізичного зшивання, про що свідчить вищий загальний коефіцієнт набухання об'єму.

Показано, що пористість і механічні властивості кріогеля гіалуронової кислоти, зшитої з дигліцидиловим ефіром етиленгліколю, залежать від концентрації як вихідного полімеру, так і зшивача [65]. Підвищення концентрації гіалуронової кислоти призводило до зменшення розміру пор кріогелю, зниження властивостей набухання та посилення механічних властивостей. З іншого боку, зниження концентрації зшивачів при постійній концентрації гіалуронової кислоти збільшувало розмір пір і здатність до набухання, але забезпечувало меншу жорсткість [65]. Склад кріогелів желатин/ гіалуронова кислота вплинув на модуль стиснення та інші важливі механічні характеристики кріоелів 66]. Більша кількість желатину в композитному кріогелі збільшила модуль Юнга (або жорсткість) і в'язкість за рахунок утворення додаткових поперечних зв'язків між желатином і молекулами ГК, що сприяло стійкості стійок до згинання при стисненні. Більш зшитий матеріал також показав зменшення граничної деформації. Однак було виявлено, що збільшення концентрації желатину понад 10 % забезпечує надмірну швидкість зшивання при температурі зшивання (–20°C) і використовуваній концентрації зшивача. Це призвело до завершення процесу гелеутворення в полімерному розчині до того, як утворилися порогени (кристали льоду). Утворені в цих умовах кріогелі були дуже крихкими і мали низьку пористість і гіршу механічну міцність [66]. Ці приклади показують, що склад кріогелю повинен бути оптимізований для кожного конкретного застосування з урахуванням природи та концентрації полімеру, а також механізму зшивання.

Концентрація розчину полімерів. Як зазначаломсч вище**,** у літературі [2, 13–16, 20–22, 24–26, 29–32, 37, 39, 51, 67] описано вплив багатьох параметрів на властивості кріогелів. Одним із них є концентрація вихідного розчину. У роботі Тріу та Кутубутдіна [61] показано, що вища концентрація ПВС дає кріогелі з меншою пористістю, що зменшує рівноважне набухання (обернена залежність: що вища концентрація, то менші пори й, відповідно, менша вологоутримувальна здатність). Водночас у роботах Лозінського [13, 15, 22, 36] виявлено, що підвищення концентрації ПВС збільшує жорсткість і теплостійкість кріогелів – внаслідок утворення більшої кількості міжмолекулярних водневих зв’язків між ОН-групами. Хіккі та Пеппас, варіюючи концентрацію розчину ПВС, відзначали, що вищі концентрації дають стабільніші гелі з більшою кристалічністю [75].

Вплив природи та складу розчинника. Відомо, що розчинники, залежно від своєї природи, істотно впливають на властивості полімерних розчинів і дисперсій. Такі характеристики, як полярність і кислотно-основні властивості, можуть зумовлювати дисоціацію речовин у розчині, реологічні та температурні зміни. Варіювання природи розчинника під час формування кріогелів суттєво змінює властивості кінцевих продуктів, що детально вивчено Хасаном і Пеппасом [68]. Низькомолекулярні полімери ведуть до утворення більших пор порівняно з розчинами високомолекулярних полімерів, що пов’язано з щільнішою упаковкою в останніх. Підвищення концентрації полімеру в розчині приводить до зменшення середнього розміру пор.

Показано [69, 70], що такі органічні розчинники, як диметилсульфоксид (ДМСО), етиленгліколь і пропіленгліколь, забезпечують високі коефіцієнти світлопропускання, добру міцність на розтяг і високі ступені набухання у кріогелях ПВС. Законномірності гелеутворення в ДМСО подібні до водних систем, однак морфологія і властивості сильно різняться: шари водних кріогелів ПВС є менш прозорими й термостійкішими та, як правило, більш пружними, ніж отримані з ДМСО за однакових концентрацій. Це пов’язано з кращою термодинамічною спорідненістю ДМСО до ПВС, яка зменшує ефективність водневого зшивання між ланцюгами під час кріоструктурування [70].

Вплив низькомолекулярних добавок. Вода – найуживаніший розчинник для біомедичних застосувань. Для зміни її властивостей, особливо за кріогенних умов, вводять невеликі кількості солей (електролітів), хаотропних або космотропних агентів. Через вміст

солі підвищується концентрація розчинених речовин і знижується точка замерзання розчину полімерів; однак дисоціація електролітів негативно впливає на здатність ПВС до кристалізації і сприяє формуванню дрібніших пор, ніж у гелях без електролітів [69, 72]. Хаотропні агенти (сечовина, гуанідін гідрохлорид) пригнічують водневі зв'язки, знижуючи модуль і температуру плавлення кріогелів; космотропні агенти (трегалоза, гідроксипролін) загалом підвищують модуль і температуру плавлення, хоча залежність може мати мінімум за зростання концентрації через конкуренцію процесів [72].

Неорганічні солі також діють через вплив на водневі зв'язки: космотропні (наприклад, NaF, KCl у помірних кількостях) підвищують жорсткість і температуру плавлення, тоді як хаотропні (LiCl, NaSCN) їх зменшують. У статті [71] показана здатність гідрогелю ПВС змінювати свої властивості за допомогою різних типів солей: Na_2SO_4, NaCl і $NaNO_3$. Дослідження проведено з метою розширити кількість солей, які вже використовувалися для отримання плівок або гелів, а також з метою встановлення причин збільшення деформації плівок одночасно зі збільшенням їх кристалічності. З метою встановлення, чи впливає додавання солі до початкового водного розчину ПВС, гравіметричним методом вивчалась зміна таких властивостей ПВС-кріогелю, як кристалічність та пористість. Отримані дані свідчать про те, що присутні в розчині ПВС іони впливають на взаємодію між системами ПВС−вода і ПВС−ПВС; їх вплив на водні ПВС−гідрогелі відповідає ліотропному ряду Гофмейстера.

Вплив умов кріогенної обробки

Температура гелеутворення. За нижчих температур розчинник кристалізується швидше, унаслідок чого зростає число дрібніших кристалів розчинника. Це веде до утворення більшої кількості пор меншого розміру [13, 16].

Швидкість заморожування. Висока швидкість заморожування розчинника сприяє утворенню дрібних (менш упорядкованих) кристалів льоду. За низьких швидкостей формуються великі кристали, які можуть руйнувати стінки пор [25]. Відбувається «витіснення» розчиненої речовини в рідку фазу зі зниженням температури замерзання. Це прискорює гелеутворення, що робить кріоструктурування ефективнішим за оптимальних умов [16]. Для вихідних розчинів із вищою концентрацією характерне формування дрібніших пор.

Кількість циклів заморожування–відтавання. Циклічна зморозка-розморозка кріогелю істотно впливає і на механіку, і на макропористу морфологію. Починаючи з другого циклу замерзає вже сам кріогель, а не розчин; збільшення числа циклів, як правило, підвищує жорсткість, причому після ~ шести циклів зміни стають мінімальними. Триваліша витримка нижче точки замерзання дає більш пружні кріогелі; повільне відтавання також сприяє формуванню міцнішої структури, тоді як швидке нагрівання заморожених зразків (~10°C/хв) приводить до мутного в'язкого колоїду.

Зниження швидкості охолодження з ~1.85 до 0.30°C/хв підвищує жорсткість на ~26–36% (за однакових режимів відтавання); подальше уповільнення може додатково збільшувати модуль, але надто повільне відтавання здатне навіть зменшити жорсткість порівняно з «швидким» охолодженням. Гелеутворення супроводжується формуванням аморфних і кристалічних областей між макромолекулами, що забезпечує фізично зшиту матрицю. В аморфних ділянках НРМФ залишаються «незадіяні» молекули та ланки ланцюгів [13, 20]. Повторні цикли заморожування–відтавання ініціюють ці ділянки до утворення нових зв'язків; зі зростанням кількості внутрішньо- та міжмолекулярних зв'язків змінюється мікроструктура і властивості гелю. Показано збільшення розміру мікропор [13, 16, 20] і зростання механічних характеристик [15, 54] зі збільшенням кількості циклів. Хасан і Пеппас [68] встановили, що частка розчинної золь-фракції у НРМФ кріогелів ПВС зменшується зі зростанням числа циклів, що узгоджується з даними

про істотне підвищення кристалічності після кожного циклу [29]. Інші автори [61, 73] виявили, що кожен цикл приблизно вдвічі підвищує механічні показники; гранична кількість циклів, після якої структура та властивості не змінюються, – шість [16]. Зростання міцності пояснюють ущільненням кристалічної структури кріогелю.

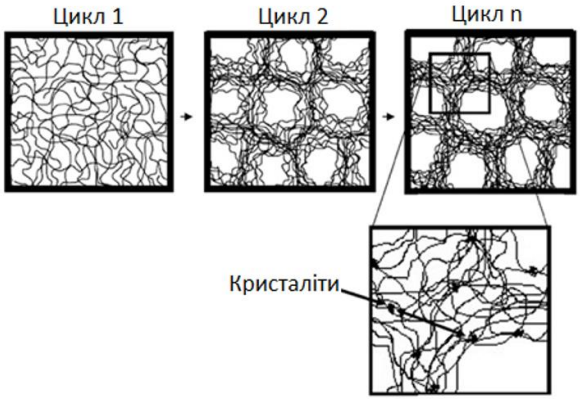

Рис. 7. Вплив числа циклів заморожування-розморожування на мікроструктуру кріогелів [74]

Таблиця 1. Фактори, що впливають на пористість кріогелів

Ступінь і тип зшивки	Основні шляхи утворення – хімічна чи фізична зшивка. Хімічно зшиті кріогелі, зазвичай мають більший розмір пор. Однак реакція зшивки різко знижує здатність полімерів до незворотних деформацій та набухання. У свою чергу фізичні кріогелі мають високу вологоутримуючу здатність і термооборотність.
Молекулярна маса і ступінь гідролізу/ деацетилювання (СД)	Високий СД (≤ 3% О-ацильних груп) – більше водневих зв’язків, зростання температури плавлення, тенденція до менших пор; за СД < 90% макропориста структура не формується.
Склад розчину та концентрація	Низькомолекулярні полімери призводять до утворення більших пор, ніж розчини високомолекулярних полімерів. Це пов'язано з утворенням більш щільно упакованої структури у високомолекулярних полімерів У разі зміни концентрації полімеру в розчині його більш високі значення призводять до зменшення середнього розміру пор.
Температура гелеутворення	При більш низьких температурах розчинник кристалізується швидше, в результаті чого збільшується кількість більш дрібних кристалів розчинника. Це призводить до утворення великої кількість більш дрібних пор.
Швидкість заморожування	Висока швидкість замерзання розчинника призводить до утворення дрібних (менш впорядкованих) кристалів льоду. При низькій швидкості замерзання утворюються великі кристали льоду, які можуть зруйнувати стінки пор.
Кількість циклів замо-рожування–відтавання	Більше циклів – ущільнення кристалічної фази, зміна макро-/мікропористості (кількість мікропор зростає). Гранична кількість циклів – 6.
Електроліти (ряд Гофмейстера) та низькомолекулярні добавки	Загалом, солі знижують температуру замерзання, тому можуть формувати ся дрібніші пори, ніж у безсольових системах. Космотропні іони (SO_4^{2-}, F^-, Cl^-) – щільніші стінки, дрібніші пори; хаотропні (SCN^-, NO_3^-, Li^+) – більш відкриті структури. Хаотропні (сечовина, гуанідин) послаблюють водневі зв’язки, відповідно пори збільшуються; космотропні (трегалоза, гідроксипролін) – ущільнення, пори зменшуються.

Збільшення числа циклів заморожування-розморожування знижує швидкість вивільнення речовин зі зразків кріогелю Кожен цикл після першого, одночасно зі збільшенням об'ємної частки кристалічних областей, призводить до збільшення локальної концентрації полімеру. Це призводить до збільшення часу, необхідного для переміщення молекул через аморфні зони багатих полімером областей, що призводить до зниження швидкості вивільнення речовин з матриці кріогелю [75]. Зменшення швидкості заморожування або розморожування дає більше часу для перебудови полімерних ланцюгів у впорядковані домени, що призводить до збільшення об'ємної частки

кристалічного ПВС та/або збільшення розміру кристалічних доменів. Це призводить до зменшення рухливості молекул вивільняються речовин в матриці ПВС і, як наслідок, до зниження швидкості їх вивільнення [75]. Структура кріогелів ПВС, що складається з кристалічних і аморфних областей [74] з системою сполучних пор, забезпечує дифузію молекул з кріогелевої матриці.

Залежно від реакційних особливостей системи гелеутворення може відбуватися на одній зі стадій кріогенної обробки: під час заморожування системи; під час витримування за від'ємної температури (найчастіше для хімічно зшитих гелів [25, 68]); або під час відтавання заморожених матриць (характерно для нековалентного кріоструктурування, наприклад у водних розчинах ПВС [50, 52, 76, 95]). У Таблиці 1 наведено узагальнені чинники, що впливають на пористу структуру кріогелів.

Керування морфологією пор. Зазвичай кріогелі з макропорами подібні до губчастих матеріалів із взаємопов'язаною пористою структурою. Їхні властивості визначаються пористою архітектурою (розмір пор, розподіл за розмірами, взаємопроникність), товщиною стінок і «густотою» стінок, яку зручно описувати як концентрацію полімеру в набухших стінках пор [30]. Розмір пор зумовлює сумарний об'єм пор і разом із проникними каналами керує масоперенесенням у гелі. Товщина та щільність стінок визначають макроскопічні механічні характеристики кріогелів.

Кріогелі здатні утримувати дуже багато розчинника (найчастіше води); у низці систем вміст води сягає ~ 97% від загальної маси. Основна частина рідини міститься у капілярах і може бути легко видалена механічним відтисканням завдяки зв'язаним порам навіть за відносно малих деформацій. Наприклад, повністю гідратований поліакриламідний гель, отриманий із 5% розчину мономера при −12°C, містить 4–5% зв'язаної з полімером води та ~ 90% води у порах, з яких 72–74% легко видаляються простим стисканням [77].

Високопориста взаємопов'язана архітектура забезпечує вільну дифузію розчинених речовин – від малих молекул до макромолекул і навіть колоїдних частинок (білкових міцел та вірусів) – у кріогелях з порами > 50 мкм [30, 36].

Оскільки кріогелі складаються з великих взаємопов'язаних пор і відносно щільних полімерних стінок, їх можна висушувати без руйнування порової структури. Початкова архітектура повністю відновлюється при швидкому повторному набуханні у відповідному розчиннику; регідратація триває від секунд до десятків секунд. Ця здатність є однією з ключових переваг кріогелів: матеріал зручно зберігати у сухому стані й оперативно відновлювати перед використанням.

Додатково важливі геометрія форми та направлене заморожування: за сталого температурного градієнта формуються анізотропні «канальні» структури, корисні для направленої міграції клітин і транспортних задач [36].

Завдяки макропористій морфології кріогелі демонструють значний прикладний потенціал. Макропори зазвичай взаємопов'язані, а їхній діаметр лежить у діапазоні від одиниць до сотень мікрометрів. Додаткові дескриптори морфології – форма макропор і товщина їхніх стінок. Тому пріоритетними є дослідження механізмів кріоструктурування та виявлення ключових факторів, що визначають властивості й порову архітектуру. Залежно від хімічної природи розчинника та прекурсорів у процесі заморожування утворюються полікристали розчинника різної геометрії, які «шаблонують» форму/розмір макропор. Умови кріогенної обробки змінюють частку вимороженої фази в об'ємі системи, дозволяючи отримувати кріогелі з заданим розміром пор і контрольованою зв'язаністю. Таким чином, на макро-/мікроархітектуру суттєво впливають: (i) Концентрація полімеру: що вища – то менші пори, товстіші стінки, більша міцність і менша проникність; (ii) Режим охолодження: швидке/глибоке заморожування – дрібні пори; повільне – великі канали; (iii) Добавки (солі, кріопротектори, органічні модифікатори): змінюють кристалізацію розчинника та фазове розділення, (iv) pH і йонна

сила: критично для поліелектролітів і білків; (v) Стехіометрія зшивання та кінетика реакції під час заморожування (співвідношення зшивача/функціональних груп, температура).

Основні складові кріогелів. Вибір біорозкладного полімеру є ключовим для створення матеріалів, що імітують біологічне мікросередовище та властивості штучних тканин і водночас здатні безпечно деградувати/метаболізуватися без побічних ефектів. У низці робіт зазначено, що для формування кріогелів можуть використовуватися полімери різної хімічної природи. Це дозволяє досягати нового поєднання корисних властивостей: синтетичні полімери надають матеріалу жорсткості та теплостійкості, а біополімери – біосумісності, гідрофільності, здатності до біодеградації. Наприклад, кріогелі на основі ПВС та альгінату кальцію застосовували для заміщення кісткової тканини [78], а кріогелі на основі натрієвої солі карагінану та желатину – для хірургічної заміни не лише кісток, а й шкіри [79]. Серед природних полісахаридів найбільш поширені хітозан і целюлоза. На їх основі отримано унікальні кріогелі для медицини та біоінженерії (депо для адресної доставки лікарських сполук [3, 57, 80], пористі носії для клітинної інженерії [20, 81], а також ефективні сорбенти для очищення вод і біологічних рідин від токсинів [83, 84], іонів металів [85, 86].

Природні полімери. Властивості біополімерів значною мірою визначаються їхньою хімічною природою (білки/пептиди проти полісахаридів), ступенем модифікації та умовами кріогелеутворення. Нижче наведено узагальнені підходи до отримання кріогелів на їх основі та характерні особливості деградації.

Желатин і колаген широко використовують як матриці завдяки їхній біоактивності та наявності мотивів, що сприяють адгезії клітин. Кріогелі з желатину отримують шляхом: ковалентного зшивання (геніпін, глутаровий альдегід у низьких концентраціях); фізичного структурування (охолодження з утворенням трьохспіральних доменів) із подальшим хімічним «фіксуванням». Такі кріогелі зазвичай біодеградують під дією колагенази та інших протеаз; швидкість деградації регулюють щільністю зшивання та вмістом білкового компонента. Колагенові кріогелі забезпечують високу клітинну інфільтрацію й придатні для інженерії хряща/кістки при підсиленні неорганічними наповнювачами (гідроксиапатит тощо). Фібринові та альбумінові системи застосовують для швидкого гемостазу та загоювання, однак потребують додаткового підсилення для довготривалої механічної стабільності.

Альгінат натрію легко утворює кріогелі шляхом іонного зшивання Ca^{2+} у замороженому стані. Пори наслідують морфологію кристалів льоду; підвищення концентрації іонів кальцію та полімеру зменшує середній розмір пор і підвищує міцність на стиск. Недоліком є слабка адгезія клітин .

Гіалуронова кислота (ГК) формує кріогелі через утворення амідних зв’язків або реакцію з гліцидильними/вінілсульфоновими агентами; можливе також зшивання геніпіном за наявності аміновмісних співавторів. ГК-кріогелі добре імітують позаклітинний матрикс м’яких тканин і деградують гіалуронідазами. Декстран, целюлоза та їхні похідні (карбоксіметилцелюлоза, оксидований декстран) застосовуються для створення м’яких кріогелів із контрольованою гідролітичною стабільністю; альдегідні/карбонільні групи зручно використовувати для шивання аміновмісних полімерів і іммобілізації лігандів.

Глюкозамін і похідні можуть виконувати роль мономерних або ковалентно вбудованих фрагментів у полісахаридних мережах, підвищуючи біоактивність і біорезорбцію. У кріогелях його використовують переважно як функціональний мотив для взаємодії з білками/рецепторами або як будівельний блок у хітозан-базованих системах [57].

Хітозан є лінійним полісахаридом, що складається з Р(1-4)-пов'язаних D-глюкозамінових залишків зі змінною кількістю випадково розташованих N-ацетил-

глюкозамінових груп. Його отримують шляхом N-деацетилювання хітину. Він, як правило, нерозчинний в нейтральних умовах, але легко розчинний в присутності кислоти завдяки протонуванню вільних аміногруп глюкозаміну. Він є аналогом глюкозаміногліканів, що містяться в екстрацелюлярному матриксі (ЕКМ) хряща, і тому може імітувати середовище ЕКМ [87]. Було показано, що хітозан має відмінну біосумісність, здатність до біологічного розкладання та адсорбційні властивості і може легко розкладатися лізоцимом, природним ферментом [57]. Він доступний з різним ступенем деацетилювання, в'язкості та молекулярної маси, що впливає на кінцеві властивості кріогелю. Хітозан широко використовується при приготуванні тканинно-інженерних каркасів для регенерації кісток, хрящів і шкіри [88]. Хітозан завдяки первинним аміногрупам утворює кріогелі як через ковалентне зшивання (геніпін, глутаровий альдегід, епоксидні/карбодіімідні агенти), так і через поліелектролітні комплекси (з ГК, альгінатом, карбоксіметилцелюлозою).

Синтетичні полімери. Поліетиленгліколь дає хімічно зшиті кріогелі через радикальну полімеризацію. Деградацією кріогелів на його основі керують введенням естерних/β-тіоестерних/ацетальних зв’язків. Переваги – висока біосумісність і контроль механіки; недолік – відсутність природних точок адгезії.

ПВС формує фізичні кріогелі циклічним заморожуванням–відтаненням [25] (кристалічні домени як вузли зшивання) або ковалентно зшивається (глутаровий альдегід, борати, гліцидильні агенти). Базовий ПВС біостійкий; біорозкладність досягають окисненням, кополімеризацією або створенням сумішей/композитів із біополімерами. ПВС-кріогелі відзначаються високою пружністю та формостійкістю.

Полі(молочна кислота) і споріднені поліестери у кріогелях використовують як зшиті макромери (наприклад, полілактид-діакрилати) або як дисперсні фази/армуючі волокна; вони гідролітично деградують до метаболізованих кислот.

Полі(N-ізопропілакриламід) та інші термочутливі полімери дозволяють створювати стимул-чутливі кріогелі з керованим набуханням і вивільненням активних речовин.

Композитні (гібридні) кріогелі. Одним із пріоритетних напрямів сучасної хімії є розроблення нових матеріалів біотехнологічного й біомедичного призначення. Простим і ефективним підходом є введення до системи розчинних і/або нерозчинних добавок, які завдяки своїй хімічній природі надають композиту специфічний набір властивостей. Такі композиційні кріогелі поєднують властивості всіх введених компонентів. Наприклад, можна отримати кріогелі з комплексом заданих властивостей: бактерицидністю, жорсткістю, теплостійкістю, сорбційною активністю тощо. Як зазначалося, кріогелі – гідрофільні, міцні, біосумісні та біорозкладні матеріали з інертною та розвиненою пористою структурою. Одним із найпоширеніших способів поліпшення експлуатаційних властивостей полімерних матеріалів, є модифікація полімерами або низькомолекулярними сполуками. Поєднання природних та синтетичних полімерів, а також наповнювачів (гідроксиапатит, високодисперсний кремнезем (ВДК), глини, оксиди металів, вуглецеві наноматеріали) дозволяє одночасно поліпшити механічні характеристики, керованість пористістю та надати додаткові функції (біоактивність, антимікробність, провідність, рентгеноконтрастність тощо). Такі композити на основі кріогелів з більш ніж одного компонента. Вони виготовляються не шляхом простого змішування двох або більше полімерів, а шляхом включення іншого типу матеріалу, наприклад, нано-, мікро- або макрочастинок [64, 68, 73, 78]. Матриці кріогелів охоплюють полімерні (ПВС, поліакриламід, поліакрилати), білкові (желатин, альбумін, колаген), а також змішані системи та гібриди з неорганічними наповнювачами (активоване вугілля, ВДК, оксиди металів, графенові оксиди тощо) для отримання матеріалу з бажаними фізичними, хімічними та біологічними властивостями. Ці матеріали можуть поєднувати в собі корисні властивості кожного компонента, що використовується при приготуванні гібридних кріогелів. Основними цілями додавання наповнювача є поліпшення механічних

властивостей, контрольоване вивільнення і доставка біологічно-активних речовин (БАР) [3, 57, 80].

Композитні кріогелі дозволяють: (i) підвищити механічну жорсткість і зносостійкість; (ii) задати селективність адсорбції; (iii) регулювати заряд/гідрофільність поверхні; (iv) інтегрувати каталізатори, ферменти або біомолекули; (v) отримати провідні або магніточутливі матриці. Для біомедичних застосувань критичною є відкритопориста макроструктура (d ≳ 10–100 мкм) з достатньою з'єднаністю пор (перколяція) і контрольованою товщиною стінок [2, 4, 19].

В залежності від бажаних потреб, для синтезу композитів на основі кріогелів використовують два комплементарні підходи: *in situ* (введення наповнювача у полімерну матрицю до кріоструктурування) та *ex situ* (імпрегнація матеріалу у вже сформовану пористу кріогелеву матрицю) [22, 89, 91]. У випадку *in situ* частинки (ВДК, активоване вугілля, глина тощо) інтегруються безпосередньо в несучу фазу під час формування каркаса. Це зазвичай забезпечує більш рівномірний розподіл і ефективне механічне підсилення за рахунок армування стінок пор, а для провідних наповнювачів – полегшує досягнення перколяційних мереж. Водночас підвищення в'язкості та зміна кріокристалізації (депресія точки замерзання, модифікація теплопровідності) можуть зменшувати середній розмір пор і змінювати морфологію, що важливо для масоперенесення у сорбційних та тканинно-інженерних системах. Додатковим обмеженням є можлива хімічна взаємодія зшивальних агентів (наприклад, глутарового альдегіду) із поверхневими групами наповнювачів, зсув pH і агрегація частинок, що ускладнює масштабовану відтворюваність. Підхід *ex situ* зберігає первинну макропористість і дозволяє цілеспрямовано навантажувати стінки пор функціональними фазами – від кремнезему та глин до вуглецевих адсорбентів – створюючи градієнти складу або локальні активні зони. Це зручно для задач, де критичні саме поверхневі взаємодії (гемостатичний ефект, антибактеріальні покриття, іммобілізація біомолекул), а також коли потрібно мінімізувати контакт активної фази з кислотами чи зшивачами. Недоліком є ризик обсипання/вимивання наповнювача з пор у вологих середовищах, що потребує м'якої постфіксації тонким полімерним шаром або іонним зв'язуванням, і вищі вимоги до змочуваності та дегазації під час імпрегнації (часто з використанням циклів вакуум-атмосферний тиск та розчинників зі зниженим поверхневим натягом).

Отже, *in situ* доцільно обирати, коли пріоритетом є об'ємне армування каркаса або формування провідної/функціональної мережі у всьому об'ємі; *ex situ* – коли потрібно зберегти відкритість пор, отримати високу активну поверхню й керовану локалізацію функцій без втручання у хімію зшивання. Для складних біомедичних задач (гемостатика, антибактеріальні та сорбційні системи) найкращий результат часто дає гібридна стратегія: мінімальне *in situ* «насіння» наповнювача для базового підсилення каркаса у поєднанні з керованою *ex situ* імпрегнацією і м'якою фіксацією, що забезпечує баланс між механічною стабільністю, проникністю та функціональністю (Рис. 8).

Автори роботи [89] показали, що найкраще надавати кріогелям провідності тоді, коли вже сформований пористий каркас вкривають тонким шаром вуглецевих нанотрубок (ВНТ) на внутрішніх стінках пор *(ex situ)*. За дуже малих кількостей ВНТ (близько 0.12–0.15 $\%_{мас}$) утворюється суцільна провідна мережа, і електропровідність зростає до приблизно 0,01–0,06 См/см. Якщо ж додавати ВНТ у вихідний розчин до гелеутворення (*in situ*), для появи провідності потрібні значно більші кількості, а сам гель стає слабшим, бо нанотрубки під час зшивання поглинають ультрафіолет і зменшують частку «справжнього» гелю. Загалом, покриття стінок пор нанотрубками дає керовану електропровідність без помітної втрати міцності, тоді як змішування «з нуля» частіше погіршує механіку.

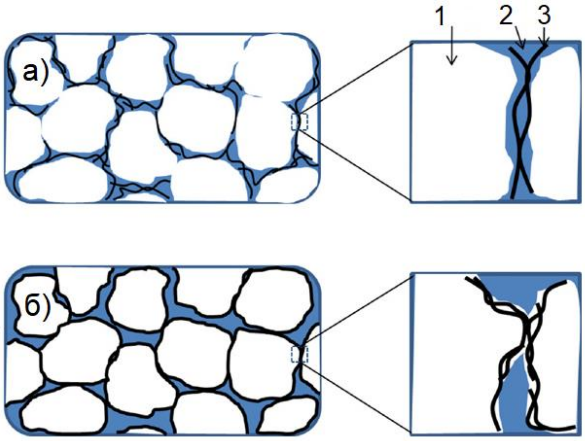

Рис. 8. Схематичне зображення розподілу наповнювача у порах кріогелю при додаванні а) *in situ; б) ex situ.* 1- пора кріогелю; 2- стінка пори; 3- наповнювач

Композитні кріогелі на основі ПВС, білків та полісахаридів. Як зазначалося, кріогелі ПВС – гідрофільні, міцні, біосумісні та біорозкладні матеріали з інертною та розвиненою пористою структурою. Одним із найпоширеніших способів поліпшення експлуатаційних властивостей полімерних матеріалів, є модифікація іншими полімерами або низькомолекулярними сполуками. Змішуючи вихідний розчин із різними добавками, отримують полімерні композиції з новими заданими властивостями – так звані «розумні» матеріали. Наприклад, формування кріогелів із ПВС та йонообмінною смолою дало матеріал, у якому розчинені речовини могли вільно дифундувати завдяки системі сполучених пор [56]. Наповнення гелю протимікробними й лікарськими речовинами забезпечувало пролонговану дію: активний наповнювач десорбувався в умовах осмотичного впливу або активні іони вільно дифундували у просторовій сітці [16, 20, 90]. Сучасні роботи з розроблення нових біоматеріалів дедалі частіше використовують технологію кріоструктурування ПВС із різними полісахаридами. Високий інтерес зумовлено наявністю у полісахаридах реакційноздатних гідроксильних, простоефірних і аміногруп, через які можуть формуватися внутрішньо- та міжмолекулярні зв'язки; більшість полісахаридів є біосумісними з тканинами й біологічними рідинами людини та широко застосовуються – від замісної хірургії й клітинної інженерії до сорбційних матеріалів. Найбільш вивчені полісахариди для модифікації кріогелів ПВС – хітозан і целюлоза. Хітозан – широко застосовуваний полісахарид для композитних кріогелів. Це – амінополісахарид із β-D-глюкозамінових і N-ацетил-D-глюкозамінових ланок; аморфно-кристалічний кислоторозчинний полімер. Джерело – хітин, другий за поширеністю в природі полімер після целюлози (панцирі ракоподібних, комахи, міцелій грибів тощо). Хітозан має власну біологічну активність і здатність до комплексоутворення; спрямована хімічна модифікація (прививна кополімеризація, функціональне заміщення) дозволяє отримувати унікальні біосумісні та біодеградовані матеріали [93].

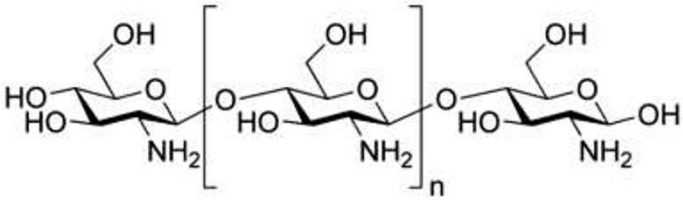

Рис. 9. Структурна формула хітозану

Хітозанові волокна, волокна та плівки використовуються в тканинній інженерії як біоматеріал для загоєння ран [60]. При утворенні кріогелів на основі цього полісахариду

частіше використовується хітозан, що отримується з хітину краба та інших ракоподібних. Високомолекулярний хітозан не розчиняється у воді, а для його розчинення використовують водні розчини кислот. Одержання кріогелів на основі цього полісахариду без зшивальних реагентів неможливе, оскільки хітозан – негелеутворювальний полімер [76, 90, 94]. Тому для формування кріогелів без зшивачів практикують змішування хітозану з іншим гелеутворювальним полімером, найчастіше ПВС [50–53, 76, 95]. В якості зшиваючого агента зазвичай використовують глутаровий альдегід (ГА) [50, 76, 95, 99], який додають в підкислений водний розчин хітозану, а потім цю реакційну суміш піддають кріогенній обробці.

Матеріали на основі кріогелів ПВС–хітозан мають принципово нові властивості: ПВС створює міцний каркас, що забезпечує вільну дифузію, а хітозан – несе біологічну активність [53, 86, 95]. Завдяки аміногрупам хітозан виявляє комплексоутворення та сорбційну активність, тому його часто використовують як сорбент для вилучення іонів важких металів, радіонуклідів, барвників, а також для біологічного розділення білків. Наприклад, сорбційна ємність щодо Cu(II) для нативного хітозану зі ступенем деацетилювання 63% становить 0.81 ммоль/г [97], для кріогелів хітозану, зшитих глутаровим альдегідом, – 3.6 ммоль/г, а для зшитих 5′-піридоксальфосфатом – 3.0 ммоль/г. Іони Cu(II) зв’язуються з макромолекулами хітозану через хелатування (Рис. 10):

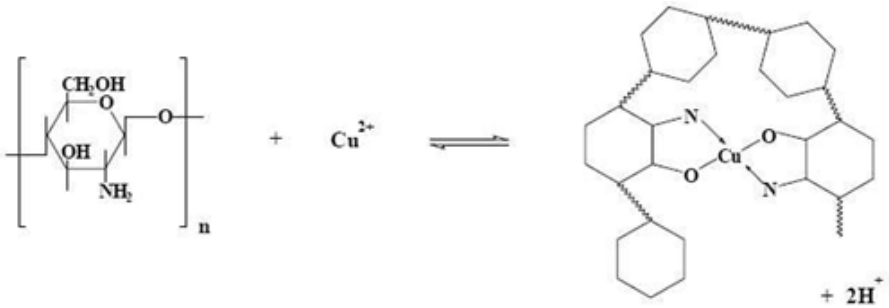

Рис. 10. Утворення хелатних комплексів хітозану з Cu^{2+}

Для адресної доставки БАР і як матриця для росту клітин хітозан часто використовується в скаффолдах з іншими гелеутворювальними полімерами. Наприклад, композити хітозану з желатином застосовують для замісної хірургії хрящів: у структуру матеріалу проростають аутологічні хондроцити; хітозан забезпечує біологічну активність, желатин – адгезію [98]. Висока біологічна активність хітозану дозволяє створювати на його основі матеріали широкого призначення, а формування кріокомпозитів розширює сфери застосування, надаючи нових властивостей.

Матриця, що складається з ПВС та хітозану, була синтезована для використання в якості засобу доставки антибіотика спарфлоксацину, а також для використання в антибактеріальній пов’язці для загоєння ран [59]. Різні склади ПВС та хітозану були виготовлені та оброблені за допомогою циклічного заморожування-розморожування. Результати показали, що відсоток набухання і відсоток фракції гелю збільшувався зі збільшенням концентрації хітозану і зменшувався зі збільшенням концентрації ПВС. Було перевірено антимікробну активність різноманітних на грампозитивних та грамнегативних бактеріях, і було виявлено, що при низькому відсотку хітозану антимікробна активність відсутня, а збільшується зі збільшенням вмісту хітозану. Виділення препарату збільшувалося зі збільшенням товщини і температури середовища. Ця система показує, як додавання хітозану до кріогелю ПВС може надавати важливу антимікробну активність, а також забезпечувати систему, чутливу до температури та pH, для вивільнення ліків [59].

Повідомлялося про порівняння композиційних матеріалів з використанням хітозану, желатину та крохмалю, доданих до ПВС [100]. Зразок для кожного окремого

компонента, доданого до ПВС, був підготовлений і оброблений за допомогою методів циклічного заморожування-розморожування та коагуляції для застосування в якості штучних кровоносних судин. Було виявлено, що отримані механічні властивості контролюються ПВС, а не іншими компонентами. Було виявлено, що кожен композитний зразок ПВС має подібну до артерій поведінку жорсткості.

У статті [95] турецьких науковців досліджено композитні кріогельні матриці на основі хітозану та полівінілового спирту, отримані методом кріоструктурування з різними масовими співвідношеннями ПВС/хітозан при загальній концентрації полімерів 2 мас.% та при зшиванні глутаровим альдегідом. Показано, що зміна вмісту кожного полімеру впливає на морфологію, пористість і здатність до набухання кріогелів. Кріогелі характеризували методами ІЧ-спектроскопії (підтверджено зшивання через утворення іміно-груп C=N), СЕМ (визначення пористої структури та розміру пор) і гравіметричного набухання у воді. Показано, що зі зростанням частки хітозану пористість зростає приблизно вдвічі (від ~ 38 до ~ 77%), збільшується середній діаметр пор (приблизно від 21 до 61 мкм), а зразки переходять від твердих і крихких до еластичних і «губчастих». Усі кріогелі зберігають форму під час набухання та демонструють дуже високі ступені набухання (порядку 3000–6000%). Автори роблять висновок, що змінюючи співвідношення ПВС/хітозан, можна цілеспрямовано варіювати морфологію, пористість і водоутримувальну здатність кріогелів, що дозволяє підбирати матриці під різні завдання тканинної інженерії (кісткова, хрящова, м’які тканини).

У статті [101] досліджено полімерні плівки на основі сумішей ПВС та хітозану з різним вмістом хітозану (0, 5, 20 та 35 мас. %) та їх хімічно зшиті аналоги з ГА (1 мас. %). Показано, що введення хітозану знижує ступінь кристалічності ПВС, збільшуючи частку аморфної фази. Оптимальне співвідношення 80/20 ПВС/хітозан) забезпечує найкращий баланс жорсткості й гнучкості; за 35 мас. % хітозану з’являється підвищена крихкість композиту. Зшивання ГА, з одного боку, збільшує кількість ковалентних зв’язків і жорсткість при кімнатній температурі, а з іншого — зменшує кількість гідроксильних груп та кристалічність, що веде до збільшення вільного об’єму тобто до підвищення гнучкості композиту. Отримані матеріали розглядаються як перспективні для застосувань у біомедицині, фармації та харчовому пакуванні, а як подальший крок планується введення наночастинок ZnO для посилення антимікробних властивостей.

Автори статті [102] синтезували біорозкладаний пористий каркас з використанням колагену, ГА і желатину з великим потенціалом для регенерації шкіри завдяки відповідному розміру пор, високому ступеню набухання, цитосумісності та збільшенню вироблення колагену клітинами шкіри під час культивування.

Кріогелі ПВС/желатин були виготовлені шляхом сублімаційного розморожування суміші ПВС та желатину [139]. Желатин був доданий для сприяння адгезії та проліферації ендотеліальних клітин. Кріогелі не мали великих пор, але це не було потрібно для застосування. Навпаки, низька пористість корисна в тому сенсі, що вона гарантує, що ендотеліальні клітини залишаються на поверхні гелю, а не проникають всередину. Дослідження показало, що застосування посиленого навантаження на зсув кріогелів ПВС/желатин різко збільшує проліферацію ендотеліальних клітин і сприяє неоендотелізації, що робить кріогелі особливо придатними для розробки штучних артеріальних трансплантатів [103]. Нео із співавторами. комбінували ПВС і шовк з метою одночасного поліпшення біосумісної здатності і фізичних властивостей коирозитних кріогелів для заміщення пульпозного ядра в міжхребцевих дисках [104].

Для композитів ПВС/активоване вугілля (АВ), зшитих ГА, показано негативний ефект надмірного полімерного покриття: багатошаровий композит ПВС екранує внутрішню нанопористість частинок АВ для сорбатів (навіть для N_2), тоді як ртутна порометрія «бачить» ці макропори. Тонкі й гнучкі стінки композиту (сухі ~1–3 мкм)

легше деформуються на високих тисках, що позначається на внеску субмікронних пор. Спроба «механічного» прикріплення АВ у присутності ГА призводить до надмірної фіксації і/або полімеризації ГА в порах АВ (можливий містковий зв'язок по –ОН), що істотно знижує питому поверхню S_{BET} навіть за високого вмісту вугілля [92].

Нещодавно було продемонстровано, що синтетичні частинки і клітини можуть бути структуровані в мікропористу систему завдяки ковалентній зшивці в замороженому стані, без додавання будь-яких полімерів [105]. Цікавим є те, що можливе створення вторинної структури кріогелю всередині первинної, завдяки чому існує модливість отримувати матеріали з точно заданими властивостями [106].

У статті [107] вивчали шляхи формування пор на прикладі гідрогелю на основі біополімерів. Автори розглядали кріогелі як супермакропористі гідрогелі, що формуються при від'ємних температурах шляхом фазового розділення: утворення кристалів льоду та збагаченої на мономер/полімер НРМФ, де відбуваються полімеризація й зшивання. Після відтанення, залишається тривимірна мережа взаємопов'язаних пор. Автори пропонують вперше використати мікрокомп'ютерну томографію щоб простежити кріоструктурування у динаміці й кількісно описати зміни структури. У роботі застосовано два підходи. У «прямому» варіанті досліджували поліакриламідні кріогелі, синтезовані за радикальною полімеризацією з N,N'-метиленбісакриламідом при –12°С. Зразки відбирали на різних часових етапах, швидко заморожували в рідкому азоті й ліофілізували, після чого аналізували. Показано, що в міру перебігу кріотропного гелеутворення об'єм твердої фази зменшується приблизно з 55 до 26%, тоді як пористість зростає з 44 до 73 %, а середній розмір пор збільшується з ~ 0 до 84 мкм, що відповідає формуванню полімерних стінок навколо льодяних кристалів і розвитку макропористої структури. У «непрямому» підході автори використали вже сформовані кріогелі на основі хітозану–агарози–желатину. Скелети насичували водою, заморожували при –12°С, а потім багаторазово сканували під час повільного відтанення льоду в порах. Це дозволило «проявити» попередньо сформовану пористу структуру та простежити аналогічні зміни пористості, об'єму твердої фази й середнього розміру пор, причому водну та полімерну фази можна було розрізнити за різними порогами щільності.

Авторами [108] отриманий кріогель на основі полівінілового спирту шляхом циклічного кріоструктурування з подальшим його осадженням наночастинок оксиду цинку *in situ*. SEM-аналіз підтвердив, що кріогель має відмінну морфологію пор, тоді як TEM-аналіз виявив добре розділені наночастинки оксиду цинку діаметром близько 100 нм. Синтезований нанокомпозит показав дуже високу антибактеріальну активність щодо грамм-позитивних і грамм- негативних бактерій.

Дослідження [109] присвячене вивченню композитних матеріалів полісахарид−глина для видалення барвника метиленового синього. Композит альгінат− монтморилоніт був підданий кріотропному гелеутворенню при –21°С. Встановлено, що кріоструктурування привело до значного збільшення адсорбційної здатності композиту за рахунок збільшення площі поверхні адсорбенту. Також було досліджено вплив при обробці поверхні модифікаторами та при додаванні інших сорбентів.

Нанокомпозити вуглецевих кріогелів та аміноборану (BH_3NH_3) використовували як хімічні джерела гідридів. Вони показали високий потенціал для зберігання H_2, завдяки можливості вивільнення H_2 нижче температури 90°С порівняно з 105°С з чистим амінобораном [110]. Варто зазначити, що вуглецеві кріогелі не є кріогелями в строгому значенні цього слова, оскільки реакції структурування не відбуваються у замороженому стані. Термін "вуглецевий кріогель" в використовується за традицією.

Характеристика процесу деградації *in vitro* та *in vivo* кріогелів. Вибір біорозкладного полімеру є ключовим для розробки сучасних біоматеріалів, які імітують біологічне середовище та властивості штучної тканини і водночас здатні безпечно

розкладатися/метаболізуватися без небажаних побічних ефектів. Біорозкладні кріогелі одержують як із природних полімерів (біополімерів), так і із синтетичних полімерів, що містять гідролізовані або ферментативно чутливі зв'язки [3, 57, 102]. Кріогель може складатися з одного полімеру або комбінації кількох компонентів. Біополімери рослинного чи тваринного походження привертають увагу завдяки вродженій біосумісності та здатності імітувати позаклітинний матрикс, сприяючи взаємодіям клітина–матриця і регенерації тканин. Серед синтетичних полімерів для формування кріогелів широко застосовують полі(етиленгліколь) та полі(етиленгліколь) діакрилат, полі(L-молочну кислоту) і ПВС [57]. Їхні механічні властивості та швидкість деградації легко налаштовуються шляхом зміни молекулярної маси, складу та типу зв'язків, однак таким системам часто бракує біоадгезивності та специфічних сигналів для клітин; цю ваду компенсують іммобілізацією біоактивних мотивів або створенням композитів із біополімерами. Деградація та резорбція біоматеріалів є критично важливими як для керованого вивільнення лікарських засобів, так і для застосувань у тканинній інженерії. Поступове заміщення імплантованого каркаса неотканинами лежить в основі нормального загоєння і має відбуватися без індукції хронічного запалення, фіброзної інкапсуляції чи відторгнення імплантату [111]. Макропористі кріогелі з поліпшеною тривимірною архітектурою здатні поглинати значні об'єми водних середовищ і біологічних рідин та ефективно підтримують клітинну інфільтрацію, що сприяє як ферментативній, так і неферментативній деградації [112]. Розпад мережі відбувається переважно шляхом гідролізу або суміжних механізмів і регулюється природою полімеру, типом та щільністю зшивання, пористістю тощо. Важливо враховувати реакційне середовище: зсув pH до кислих значень може спричиняти локальний некроз через автокаталіз деградації кислотними продуктами розпаду [113,114].

Деградацію в умовах *in vitro* зазвичай вивчають у буферних або змодельованих біологічних середовищах, відстежуючи втрату маси композиту з часом [114–117]. Моделювання охоплює чисто хімічний гідроліз, як у випадку каркасів із полі (L-молочної кислоти) [117, 118], або ферментативне розщеплення після додавання відповідних ферментів [118]. Температура, pH і склад кріогелю визначають профіль деградації. Так, для кріогелів інуліну деградація залежала від концентрації зшивача дивінілсульфону та від pH [116]. Дослідження в різних буферах (pH 1; 7.4; 9; 37.5 °C) показало: повна деградація за pH 1 тривала 1–6 діб залежно від ступеня зшивання; за нейтральних і лужних умов час збільшувався, а швидкість знижувалася зі зростанням щільності зшивання. Так, за мінімального ступеня зшивання (75 мол. %) через 21 добу втрата маси становила 61% при pH 7.4 і 45% при pH 9.

Кріогелі хітозану, зшиті окисненим декстраном (динамічні основи Шиффа), деградували швидше у фосфатно-сольовому буфері (pH 7.4) за вищого вмісту декстрану, що пов'язано з підвищеною гідрофільністю та меншою молекулярною масою декстрану порівняно з хітозаном. Відновлення іміносполук борогідридом натрію ($NaBH_4$) знижувало ступінь деградації порівняно з невідновленими мережами, оскільки останні містять pH-чутливі геміацетальні та геміамінальні фрагменти [87]. Реакції з утворенням основи Шиффа також застосовували для зшивання кріогелів хітозану біорозкладними поліуретановими наночастинками; модифікація цих наночастинок полі(1,4-бутиленадипат)-діолом підвищувала чутливість до деградації (втрата маси 22.9 % після 28 діб у фосфатно-сольовому буфері). Такі кріогелі були pH-чутливими і розріджувалися під дією оцтової кислоти (pH < 1) або моноаміну (анілін; pH ~ 10) [119]. Це підкреслює багатофакторність процесу й необхідність урахування як складу мережі, так і середовища експлуатації.

Оскільки в умовах in vivo полімерні каркаси піддаються ферментативній дії, для *in vitro*-моделювання часто застосовують відповідні ферментні розчини. Наприклад, колагенові кріогелі з мікроголками гіалуронової кислоти, зшиті полі(етиленгліколем) із

сукцинімідилглутаратними групами, та навантажені моксифлоксацином, тестували в середовищі з колагеназою і в модельній рідині, що містить лізоцим, D-глюкозу, хлорид натрію, бичачий сироватковий альбумін і $CaCl_2 \cdot 2H_2O$. У присутності колагенази повна деградація наставала протягом 24 годин, тоді як у модельній рідині – приблизно за один місяць [120].

Для виявлення впливу типу й концентрації ферментів застосовували їхні суміші. Деградацію кріогелів желатин/гіалуронова кислота/глюкозамін досліджували у змішаних розчинах гіалуронідази та колагенази [121]. Із зростанням вмісту глюкозаміну деградація посилювалася: колагеназа забезпечувала повне розчинення приблизно за 4 години, тоді як у гіалуронідазі ступінь деградації становив близько 35 % за дві доби. Ймовірна причина – зменшення щільності зшивання: низькомолекулярний глюкозамін має лише одну первинну аміногрупу і не формує міжланцюгові зшивки так ефективно, як білковий желатин. Для системи желатин–гіалуронова кислота у колагеназі деградація відбувалася швидше, ніж у чисто желатинових кріогелях, оскільки фермент гідролізує лише пептидні зв'язки желатину; часткова заміна на гіалуронову кислоту прискорює втрату маси [122]. У композиті колаген/гіалуронова кислота/желатин швидкість і глибина деградації залежали від виду ферменту і його концентрації: під дією лізоциму протягом 7 діб залишалося приблизно 38 % і 36 % початкової маси за активностей 10 000 і 30 000 одиниць на мілілітр відповідно; у гіалуронідазі 50 одиниць на мілілітр каркас повністю руйнувався за 7 діб; у колагеназі 20 одиниць на мілілітр – приблизно за 3 години [102].

Для гідрогелів желатин–хітозан, отриманих ліофілізацією (сублімаційним сушінням), поведінку *in vitro* вивчали протягом 5 тижнів у присутності колагенази, лізоциму та N-ацетил-D-глюкозамінідази [113]. Оцінювали втрату маси та продукти розпаду, а також зміни pH. Пористі тривимірні каркаси з більшими порами мали більшу площу поверхні та кількість доступних пор для ферментів, що зумовлювало вищі швидкості деградації. Додавання токоферолу зменшувало деградацію завдяки гідрофобним взаємодіям і «екрануванню» просторові мережі.

Деградація в умовах *in vivo* є суттєво складнішою і визначається тканинним мікрооточенням та клітинною активністю. Для колагенових каркасів показано тканиноспецифічні відмінності: підшкірно деградацію фіксували вже через 4 тижні, тоді як у кісткових дефектах – через 8–12 тижнів [123]. Кріогелі на основі желатину/гідроксиапатиту/сульфату кальцію, що містили кістковий морфогенетичний білок 2 (BMP-2) і золедронову кислоту, тестували у м'язовій «кишені» черевної стінки: гістологія засвідчила, що модифікація золедроновою кислотою уповільнювала деградацію порівняно з варіантом лише з кістковим морфогенетичним білком 2, але підвищувала інфільтрацію кістковою тканиною [124].

Варто враховувати, що навіть біосумісні продукти розпаду можуть чинити місцеві сприятливі або небажані ефекти в умовах *in vivo*. Так, гідроліз аліфатичних поліефірів типу полі(молочно-ко-гліколевої кислоти) супроводжується накопиченням кислих продуктів і зниженням pH, що пригнічує клітинну міграцію та ангіогенез. Показано, що надто швидка деградація викликає значне локальне закислення і погіршує життєздатність клітин у каркасі як *in vitro*, так і *in vivo* [114].

Дослідження можливості застосування композитів на основі кріогелів у біомедицині. Найперспективніші біоінженерні та біомедичні застосування кріогелів стали можливими завдяки поєднанню макропористості з достатньою механічною міцністю. Взаємопов'язані пори мікрометрового діапазону та добра біосумісність надають кріогелям потенціал для іммобілізації й росту клітин, що відкриває шляхи до заміщення пошкоджених тканин шкіри та внутрішніх органів [2, 4, 7, 9, 14, 16, 19, 32, 82]. Водночас застосування кріогелів у тканинній інженерії ставить низку відкритих питань: від деталізації механізмів кріоструктурування до керованості мікробною/ферментативною

деградацією в біосередовищах та оптимізації порової архітектури для адгезії, проліферації й диференціювання клітин. Створення полімерних матеріалів медичного призначення висуває високі вимоги до вихідної сировини. Кріогелі зі спеціально введеними біолігандами – здатні до селективного розпізнавання та (або) хімічного зв'язування біомолекул – мають високий потенціал у біотехнології й біомедицині. Такі матеріали застосовують у біокаталізі, селективній адсорбції та як 3D-каркаси для біосепарацій у тканинній інженерії. Біоліганди інтегрують у мережу кріогелю двома основними підходами: Кополімеризація структурних мономерів (акриламід, 2-гідроксіетилметакрилат або N,N-диметилакриламід) з функціональними мономерами, що містять реакційноздатні групи (наприклад, алілгліцидиловий ефір) з подальшою модифікацією функціональності [57]. Для заміщення хрящової тканини створено кріогелі на основі природних полімерів (желатин, агароза, хітозан, альгінат) і їхніх комбінацій [125]. Агароза та альгінат підтримують збереження фенотипу хондроцитів; желатин покращує клітинну адгезію; хітозан частково імітує матрикс хряща. Механічні властивості оптимізували так, щоб матеріал зберігав цілісність під дією циклічних навантажень у механічному біореакторі: при необмеженому стисканні кріогель хітозан–желатин виявив значну еластичність і не руйнувався навіть за 80% деформації, модуль пружності становив 36–39 кПа; при циклічному стисканні на 10%, 20% і 40% тріщин чи істотної залишкової деформації не спостерігалось. Біосумісність оцінювали за впливом на ріст фібробластів [57].

У роботі іранських дослідників [126] вивчено контрольоване вивільнення антибіотика цефазоліну (β-лактам з переважною активністю проти грампозитивних бактерій; як модельний об'єкт застосовували *Bacillus cereus*) із кріогелів на основі полівінілового спирту та хітозану. Розчини ПВС, хітозану та цефазоліну піддавали кріоструктуруванню. Щоб знизити ступінь набухання (оскільки надмірне набухання прискорює вивільнення препарату), до суміші до заморожування вводили наноглину сепіоліт. Саме завдяки сепіоліту досягали регулювання набухання і кінетики десорбції для пролонгації вивільнення. Вивільнення цефазоліну з нанокомпозитів оцінювали у фосфатно-сольовому буфері (pH 7.4) залежно від вмісту хітозану: показано, що кількість десорбованого препарату зростає зі збільшенням частки хітозану, тоді як у чистому ПВС-кріогелі воно мінімальне.

В іншому дослідженні [127] до кріогелю ПВС–хітозан інтегрували гідрохлорид ципрофлоксацину як антимікробний агент. Зразки отримували змішуванням розчинів компонентів у різних співвідношеннях та застосуванням циклічного заморожування–відтавання. Матеріал виявився pH-чутливим завдяки присутності хітозану; механізм і швидкість десорбції залежали від вмісту хітозану і pH середовища. У кислому середовищі (pH 4.5–5.5) вивільнення відбувалося швидше, ніж за нейтрального pH 7.4, що відповідає порогу розчинення як препарату, так і полімерної матриці на основі хітозану. Такі системи розглядають як перспективні ранові покриття, де близький до нейтрального pH тканин сприяє пролонгованій дії.

У роботі [128], присвяченій механіко-морфологічним характеристикам композитних кріогелів ПВС–хітозан для судинних трансплантатів, показано, що хітозан підсилює проліферацію та ріст клітин. Зразки з хітозаном і без нього мали подібну пружну поведінку та загалом відтворювали механіку свинячої аорти; водночас додавання хітозану впливало на макропористу структуру. Для регулювання розміру пор застосовували багаторазові цикли заморожування–відтавання: у ненаповненому ПВС-кріогелі зміни розміру пор зі зростанням числа циклів були незначні, тоді як у композиті ПВС– хітозан виявлено пряму залежність – пори послідовно збільшувалися з числом циклів, із помітними стрибками після кожного другого циклу.

Авторами [129] розроблено макропористий кріогель на основі ПВС та хітозану з поверхневою модифікацією комплексом кватернований хітозан–полідофамін Поєднання

пористої матриці (швидке всмоктування/розширення) та комплексу кватернований хітозан–полідофамін (адгезія формених елементів, активація контактного шляху коагуляції, антибактеріальність) забезпечило суттєве прискорення гемостазу; матеріал легко й атравматично знімається після обробки слабкою кислотою. Ефективність і біосумісність підтверджені *in vitro* та на моделях неконтрольованої кровотечі у щурів (стегнова артерія, дефект печінки), де зафіксовано менший час зупинки кровотечі та крововтрату порівняно з контрольними матеріалами.

ВИСНОВКИ

Проаналізовані дослідження, опубліковані за останні 20 років, свідчать, що кріогелі є практично універсальною платформою для проектування різних біоматеріалів для вирішення певних біомедичних проблем. Формування композиційних матеріалів методом кріоструктурування є перспективним напрямком у створенні нових матеріалів. Найбільш відповідним для цієї мети є полівініловий спирт та полісахарид хітозан, з розчинів яких в процесі кріогенного впливу утворюються кріогелі з оптимальними властивостями. Важливою є можливість надання додаткових функцій кріогелям шляхом хімічної модифікації або введення частинок/полімерів для набуття нових біовластивостей, наприклад, стимулювання регенерації тканин. Перспективні напрями подальших робіт включають ефективне керування архітектурою пор (зокрема спрямоване заморожування для отримання каналів перних розмірів), динамічні/стимул-чутливі мережі з програмованою деградацією, а також комбіновані системи доставки (молекули, білки, клітини, екзосоми) з просторово-часовим контролем вивільнення. Змішування двох полімерів дозволяє поєднати властивості обох компонентів в кінцевому продукті.

Більшість біорозкладаних полімерів є біосумісними, екологічно чистими та відновлюваними. Деякі дослідження не приділяють багато уваги вивченню біодеградації і припускають, що матеріал піддається біологічному розкладанню в залежності від матеріалу, з якого він виготовлений. З іншого боку, дослідження, що оцінюють здатність до біологічного розкладання, показують, що біорозкладання відіграє важливу роль у дизайні тканинної інженерії. Завдяки високій пористості і в той же час значній механічній міцності, а також стабільності у всіх біотехнологічних середовищах, кріогелі на основі ПВС знайшли широке застосування в різних областях біотехнології. Кріогелі з полівінілового спирту зарекомендували себе як відмінні носії для іммобілізації біомакромолекул клітин тощо. Введення в систему такого полісахариду, як хітозан, відкриває перспективи для створення нових широкопористих матеріалів для використання в медичних цілях (в якості перев'язувальних матеріалів для ран, носіїв ліків, матриць клітинної інженерії), а також для біотехнології (наприклад, для видалення з води небезпечних забруднювачів при створенні біосорбентів із заданими транспортними властивостями або систем з контрольованим вивільненням лікарських сполук). Дослідження, проведені в цій області, показують, що композитні кріогелі на основі хітозану є не тільки ефективними адсорбентами, але і мають здатність до контрольованої десорбції. Можна вважати, що здатність до біологічного розкладання має бути ключовою властивістю матеріалів, які використовують для забезпечення кращих рішень для проектування конструкцій в біотехнологіях. Краще розуміння процесу біодеградації дозволить розробити передові матеріали, які контролюють вивільнення ліків у певну частину організму. Кращий контроль за деградацією 3D-тканинних конструкцій також полегшить процес загоєння та заміни здоровими тканинами.

Таким чином, кріогелі – зріла, але водночас відкрита до інженерних інновацій платформа: керована архітектура, регульована механіка, хімічна функціоналізація і прогнозована біодеградація роблять їх придатними для створення наступного покоління біомедичних матеріалів і пристроїв, зокрема на основі ПВС та хітозану, з потенціалом адресної терапії та прискореної регенерації тканин.

ПЕРСПЕКТИВИ НА МАЙБУТНЄ

На нашу думку, подальший розвиток досліджень у галузі композитних кріогелів визначатиметься кількома ключовими напрямами. Насамперед, пріоритетом залишатиметься підвищення керованості процесу кріоструктурування, зокрема поліпшення відтворюваності морфологічних параметрів, контроль над розміром і сполученістю пор, а також над товщиною і щільністю стінок кріогелю. Це передбачає поглиблене вивчення механізмів формування льодяних кристалітів, кріоконцентрування і фазового розділення за різних температурно-концентраційних умов. Матриці на основі полівінілового спирту (ПВС) і хітозану залишаються основними платформами завдяки біосумісності, доступності, простоті синтезу у водному середовищі та широким можливостям для хімічної функціоналізації. Проте зростає інтерес до комбінованих систем із залученням додаткових біополімерів (гіалуронова кислота, декстран, альгінат) та гетерофункціональних нанонаповнювачів (оксиди металів, графен, вуглецеві нанотрубки), які надають нових властивостей – електропровідності, антимікробності, рентгеноконтрастності або каталізу.

У середньостроковій перспективі особливу увагу буде приділено інженерії спрямовано-пористих структур із каналізованою архітектурою, градієнтами жорсткості або хімічного складу, що критично важливо для 3D-культивування клітин, направленої васкуляризації та створення тканинних аналогів. Інтеграція біохімічних і фізичних сигналів (жорсткість, заряд поверхні, біоліганди, провідність) дозволить проектувати інтелектуальні середовища з програмованим впливом на адгезію, проліферацію та диференціювання клітин.

У довгостроковому горизонті дослідження концентруватимуться на розробці «розумних» кріогелів – адаптивних систем, здатних відповідати на зміни температури, pH, ферментного профілю або інших фізико-хімічних факторів. Очікується впровадження вбудованих сенсорних компонентів, механізмів керованого вивільнення активних агентів (молекули, білки, клітини, екзосоми) та можливостей бездротового моніторингу стану середовища.

Не менш актуальним буде питання масштабування технології, зокрема розроблення енергоефективних і відтворюваних методів спрямованого заморожування, сушіння та постфіксації, які дозволяють зберігати функціональність і відкриту пористість у реальних умовах виробництва.

Загалом, поєднання керованої морфології, хімічної функціоналізації, біорозкладаності та фізико-хімічної адаптивності забезпечує кріогелям потужний потенціал для створення нового покоління біомедичних матеріалів – від гемостатичних пов’язок і антибактеріальних покриттів до адресної терапії та регенерації складних тканин.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Wichterle O., Lim D.* Hydrophilic gels for biological use // Nature. – 1960. – V. 185. – P. 117–118.
2. *Peppas N. A., Hilt J. Z., Khademhosseini A., Langer R.* Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology // Adv. Mater. – 2006. – V. 18, No. 11. – P. 1345–1360.
3. *Park K., Shalaby W. S. W., Park H.* Biodegradable hydrogels for drug delivery. – Basel: Technomic Publishing Co., 1993. – 252 p.
4. *Peppas N. A.* Hydrogels in Medicine and Pharmacy / Ed. N.A. Peppas. – Boca Raton: CRC Press, 1986. – Vols. 1–3.

5. *Peppas N. A., Huang Y., Torres-Lugo M., Ward J. H., Zhang J.* Physicochemical foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology // Annu. Rev. Biomed. Eng. – 2000. – V. 2. – P. 9–29.
6. *Chen J., Park H., Park K.* Synthesis of superporous hydrogels: hydrogels with fast swelling and superabsorbent properties // J. Biomed. Mater. Res. – 1999. – V. 44, No. 1. – P. 53–62.
7. *Ratner B. D., Hoffman A. S.* Synthetic hydrogels for biomedical applications // Hydrogels for Medical and Related Applications / Ed. J.D. Andrade. – Washington, DC: American Chemical Society, 1976. – ACS Symp. Ser., V. 31. – P. 1–36.
8. *Kumar A., Han S. S.* PVA-based hydrogels for tissue engineering: a review // Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater. – 2017. – V. 66, N. 4. – P. 159–182.
9. *Henderson T. M. A., Ladewig K., Haylock D. N., McLean K. M., O'Connor A. J.* Cryogels for biomedical applications // J. Mater. Chem. B. – 2013. – V. 1, No. 20. – P. 2682–2695.
10. *Hassan C. M., Peppas N. A.* Cellular PVA hydrogels produced by freeze/thawing // J. Appl. Polym. Sci. – 2000. – V. 76, N. 14. – P. 2075–2079.
11. *Annabi N., Nichol J. W., Zhong X., Ji C., Koshy S., Khademhosseini A., Dehghani F.* Controlling the porosity and microarchitecture of hydrogels for tissue engineering // Tissue Eng. Part B Rev. – 2010. – V. 16, N. 4. – P. 371–383.
12. *Mikhalovsky S. V., Savina I. N., Dainiak M., Ivanov A. E., Galaev I. Yu.* Biomaterials/cryogels enabling technologies. – Amsterdam: Elsevier, 2011. – P. 11–22.
13. *Lozinsky V. I.* Cryostructuring of polymeric systems. 55. Retrospective view on more than 40 years of studies performed in the A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds with respect to cryostructuring processes in polymeric systems // Gels. – 2020. – V. 6, N. 3. – P. 29.
14. *Shiekh P. A., Andrabi S. M., Singh A., Majumder S., Kumar A.* Designing cryogels through cryostructuring of polymeric matrices for biomedical applications // Eur. Polym. J. – 2021. – V. 144. – P. 110234.
15. *Lozinsky V., Damshkaln L., Kurochkin I.* Study of cryostructuring of polymer systems. 28. Physicochemical properties and morphology of poly(vinyl alcohol) cryogels formed by multiple freezing–thawing // Colloid J. – 2008. – V. 70, No. 2. – P. 189–198.
16. *Wan W. K., Bannerman A. D., Yang L., Mak H.* Poly(vinyl alcohol) cryogels for biomedical applications // Polymeric Cryogels: Macroporous Gels with Remarkable Properties. – Berlin: Springer, 2014. – Adv. Polym. Sci., V. 263. – P. 283–321.
17. *Razavi M., Qiao Y., Thakor A. S.* Three-dimensional cryogels for biomedical applications // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2019. – V. 107, N. 12. – P. 2736–2755.
18. *Savina I. N., Ingavle G. C., Cundy A. B., Mikhalovsky S. V.* A simple method for the production of large volume 3D macroporous hydrogels for advanced biotechnological, medical and environmental applications // Sci. Rep. – 2016. – V. 6. – P. 21154.
19. *Savina I. N., Shevchenko R. V., Allan I. U., Illsley M., Mikhalovsky S. V.* Cryogels in regenerative medicine // Supermacroporous Cryogels: Biomedical and Biotechnological Applications. – Boca Raton: CRC Press, 2016. – P. 177–196.
20. *Hixon K. R., Lu T., Sell S. A.* A comprehensive review of cryogels and their roles in tissue engineering applications // Acta Biomater. – 2017. – V. 62. – P. 29–41.
21. *Erdem A., Ngwabebhoh F. A., Yildiz U.* Novel macroporous cryogels with enhanced adsorption capability for the removal of Cu(II) ions from aqueous phase: modelling, kinetics and recovery studies // J. Environ. Chem. Eng. – 2017. – V. 5, N. 1. – P. 1269–1280.
22. *Lozinsky V. I.* A brief history of polymeric cryogels // Polymeric Cryogels: Macroporous Gels with Remarkable Properties / Ed. O. Okay. – Berlin: Springer, 2014. – Adv. Polym. Sci., V. 263. – P. 1–48.

23. *Pazos V., Tardif J. C., Mongrain R.* Gel-based mechanical phantom of stenotic coronary artery // ASME 2007 Summer Bioengineering Conference (June 20–24, 2007, Keystone, Colorado, USA). – 2007. – P. 133–134.
24. *Peppas N. A., Scott J. E.* Controlled release from poly(vinyl alcohol) gels prepared by freezing–thawing processes // J. Control. Release. – 1992. – V. 18, N. 2. – P. 95–100.
25. *Peppas N.A., Stauffer S.R.* Reinforced uncrosslinked poly(vinyl alcohol) gels produced by cyclic freezing–thawing processes: a short review // J. Control. Release. – 1991. – V. 16, N. 3. – P. 305–310.
26. *Ricciardi R., Auriemma F., De Rosa C.* Structure and properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels obtained by freeze/thaw techniques // Macromol. Symp. – 2005. – V. 222, N. 1. – P. 49–64.
27. *Gun'ko V. M., Turov V. V., Zarko V. I., Pakhlov E. M., Matkovsky A. K., Oranska O. I., Skubiszewska-Zięba J.* Cryogelation of individual and complex nanooxides under different conditions // Colloids Surf. A. – 2014. – V. 456. – P. 261–272.
28. *Gun'ko V. M., Turov V. V., Zarko V. I., Pakhlov E. M., Prykhod'ko G. P., Remez O. S., Leboda R., Skubiszewska-Zięba J., Blitz J. P.* High-pressure cryogelation of nanosilica and surface properties of cryosilicas // Colloids Surf. A. – 2013. – V. 436. – P. 618–632.
29. *Ricciardi R., Auriemma F., Gaillet C., De Rosa C., Lauprêtre F.* Investigation of the crystallinity of freeze/thaw poly(vinyl alcohol) hydrogels by different techniques // Macromolecules. – 2004. – V. 37, N. 25. – P. 9510–9516.
30. *Gun'ko V. M., Savina I. N., Mikhalovsky S. V.* Cryogels: morphological, structural and adsorption characterization // Adv. Colloid Interface Sci. – 2013. – V. 187–188. – P. 1–46.
31. *Pazos V., Mongrain R., Tardif J.* Polyvinyl alcohol cryogel: optimizing the parameters of cryogenic treatment using hyperelastic models // J. Mech. Behav. Biomed. Mater. – 2009. – V. 2, N. 5. – P. 542–549.
32. *Gordon M.* Controlling the mechanical properties of PVA hydrogels for biomedical applications. – Dissertation. – The University of Western Ontario, Canada, 1999.
33. *Harper D.* Online etymology dictionary: gel. Online Etymology Dictionary. – 2013. – URL: https://www.etymonline.com/ (дата звернення: 01.11.2025).
34. Gelato in the English dictionary // Cambridge Dictionary. – URL: https://dictionary.cambridge.org/dictionary/english/gelato (дата звернення: 01.11.2025).
35. *Goff H. D.* Colloidal aspects of ice cream – a review // Int. Dairy J. – 1997. – V. 7, N. 6–7. – P. 363–373.
36. *Lozinsky V. I., Galaev I. Yu., Plieva F. M., Savina I. N., Jungvid H., Mattiasson B.* Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest // Trends Biotechnol. – 2003. – V. 21, N. 10. – P. 445–451.
37. *Richter M., Augustat Z., Shirbaum F.* Izbrannye metody issledovaniya krakhmala. – Moscow: Pishchevaya promyshlennost', 1975. – 14 p [in Russian].
38. *Lozinsky I.* Kriotropnoe geleobrazovanie rastvorov polivinilovogo spirta // Usp. Khim. – 1998. – V. 67, N. 7. – P. 641–655 [in Russian].
39. *Jpn. Patent 47-012854. Water-resistant poly(vinyl alcohol) plastics.* Inoue T. – Опубл. 1972.
40. *U.S. Patent 3,875,302 A.* Gelled vinyl alcohol polymers and articles therefrom. Inoue T. – Опубл. 1975.
41. *Kukharchyk M. M., Baramboym N. K.* Yzmenenye svoystv vodnykh rastvorov polyvynylovoho spyrtu pry kryolytycheskom vozdeystvyy // Vysokomol. Soed. – 1972. – V. 11. – P. 843–846 [in Russian].
42. *Łabudzińska, A. Ziabicki.* Effect of composition and gelation conditions on structural changes accompanying the gelation of PAN, PVA and gelatin solutions. Kolloid-Zeitschrift & Zeitschrift für Polymere. – 1971. – V. 243. – P. 21–27.

43. *Peppas N. A.* Turbidimetric studies of aqueous poly(vinyl alcohol) solutions // Makromol. Chem. – 1975. – V. 176, № 11. – P. 3433.
44. *Chaplin M.* Water structure and science. – London South Bank University, 2012. – URL: http://www.lsbu.ac.uk/water/ (дата звернення: 01.11.2025.
45. *Qian L., Zhang H.* Formation of colloidal crystals by controlled freezing of colloidal suspensions // J. Chem. Technol. Biotechnol. – 2011. – V. 86, N. 2. – P. 172–184.
46. *Butler M.F.* Growth of Solutal Ice Dendrites Studied by Optical Interferometry // Cryst. Growth Des. – 2002. – V. 2, N. 1. – P. 59–66.
47. *Alexandrov D. V., Galenko P. K.* The Mullins–Sekerka theory: 60 years of morphological stability // J. Appl. Phys. – 2024. – V. 136, N. 5. – P. 055103.
48. *Zhang H., Hussain I., Brust M., Butler M. F., Rannard S. P., Cooper A. I.* Aligned two- and three-dimensional structures by directional freezing of polymers and nanoparticles // Nat. Mater. – 2005. – V. 4, N. 10. – P. 787–793.
49. *Mattiasson B., Kumar A., Galaev I. Yu.*, eds. Macroporous Polymers: Production, Properties and Biotechnological/Biomedical Applications. – Boca Raton: CRC Press, 2009. – 481 p.
50. *Ceylan S., Alatepeli B.* Evaluation of PVA/chitosan cryogels as potential tissue engineering scaffolds: synthesis, cytotoxicity and genotoxicity investigations // J. Turk. Chem. Soc. Sect. A. – 2021. – V. 8, N. 1. – P. 69–78.
51. *Ma S., Wang S., Li Q., Leng Y., Wang L., Hu G.H.* A novel method for preparing poly(vinyl alcohol) hydrogels: preparation, characterization, and application // Ind. Eng. Chem. Res. – 2017. – V. 56. – P. 7971–7976.
52. *Ceylan S., Göktürk D., Bölgen N.* Effect of crosslinking methods on the structure and biocompatibility of polyvinyl alcohol/gelatin cryogels // Biomed. Mater. Eng. – 2016. – V. 27, N. 4. – P. 327–340.
53. *Laochai T., Mooltongchun M., Teepoo S.* Design and construction of magnetic nanoparticles incorporated with a chitosan and poly(vinyl alcohol) cryogel and its application for immobilization of horseradish peroxidase // Energy Procedia. – 2016. – V. 89. – P. 248–254.
54. *Ricciardi R., Auriemma F., De Rosa C., Lauprêtre F.* X-ray diffraction analysis of poly(vinyl alcohol) hydrogels obtained by freezing and thawing techniques // Macromolecules. – 2004. – V. 37, N. 5. – P. 1921–1927.
55. *Thomas J., Gomes K., Lowman A., Marcolongo M.* The effect of dehydration history on PVA/PVP hydrogels for nucleus pulposus replacement // J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. – 2004. – V. 69, N. 2. – P. 135–140.
56. *Lozinsky V. I., Zubov A. L., Savina I. N., Plieva F. M.* Study of cryostructuration of polymer systems. XIV. Poly(vinyl alcohol) cryogels: apparent yield of the freeze–thaw-induced gelation of concentrated aqueous solutions of the polymer // J. Appl. Polym. Sci. – 2000. – V. 77, N. 8. – P. 1822–1831.
57. *Savina I. N., Zoughaib M., Yergeshov A. A.* Design and assessment of biodegradable macroporous cryogels as advanced tissue engineering and drug carrying materials // Gels. – 2021. – V. 7, N. 3. – P. 79.
58. *Kurochkin I. I., Kurochkin I. N., Kolosova O. Yu., Lozinsky V. I.* Cryostructuring of polymeric systems: application of deep neural networks for the classification of structural features peculiar to macroporous poly(vinyl alcohol) cryogels prepared without and with additives of chaotropes or kosmotropes // Molecules. – 2020. – V. 25, N. 19. – P. 4480.
59. *Watase M.* Effects of degree of polymerization, degree of saponification and concentration on rheological properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels prepared by repeated freezing and melting // Nippon Kagaku Kaishi. – 1983. – No. 7. – P. 1254–1259 [in Japanese].

60. *Wan W. K., Campbell G., Zhang Z .F., Hui A. J., Boughner D. R.* Optimizing the tensile properties of poly(vinyl alcohol) hydrogel for the construction of a bioprosthetic heart valve stent // J. Biomed. Mater. Res. – 2002. – V. 63, N. 6. – P. 854–861.
61. *Thomas J., Lowman A., Marcolongo M.* Novel associated hydrogels for nucleus pulposus replacement // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2003. – V. 67, N. 4. – P. 1329–1337.
62. *Trieu H., Qutubuddin S.* Poly(vinyl alcohol) hydrogels. 2. Effects of processing parameters on structure and properties // Polymer. – 1995. – V. 36, N. 13. – P. 2531–2539.
63. *Watase M.* Rheological properties of hydrogels of poly(vinyl alcohol) prepared by repeated freezing and melting // Nippon Kagaku Kaishi. – 1983. – N. 7. – P. 973–977 [in Japanese].
64. *Wong E. Y. L.* Poly(vinyl alcohol) nanocomposite hydrogels for intervertebral disc prostheses. – Dissertation. – The University of Western Ontario, Canada, 2012.
65. *Oelschlaeger C., Bossler F., Willenbacher N.* Synthesis, structural and micromechanical properties of 3D hyaluronic acid-based cryogel scaffolds // Biomacromolecules. – 2016. – V. 17, N. 2. – P. 580–589.
66. *Chang K. H., Liao H. T., Chen J. P.* Preparation and characterization of gelatin/hyaluronic acid cryogels for adipose tissue engineering: in vitro and in vivo studies // Acta Biomater. – 2013. – V. 9, N. 3. – P. 9012–9026.
67. *Alexandrov D. V., Galenko P. K.* The Mullins–Sekerka theory: 60 years of morphological stability // J. Appl. Phys. – 2024. – V. 136, N. 5. – P. 055103.
68. *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. – Berlin: Springer, 2000. – P. 37–65.
69. *Yamaura K., Itoh M., Tanigami T., et al.* Properties of gels obtained by freezing/thawing of poly(vinyl alcohol)/water/dimethyl sulfoxide solutions // J. Appl. Polym. Sci. – 1989. – V. 37, N. 9. – P. 2709–2718.
70. *Hyon S. H., Cha W. I., Ikada Y.* Preparation of transparent poly(vinyl alcohol) hydrogel // Polymer Bull. – 1989. – V. 22, N. 2. – P. 119–122.
71. *Pațachia S., Florea C., Friedrich C., Thomann Y.* Tailoring of poly(vinyl alcohol) cryogels properties by salts addition // Express Polym. Lett. – 2009. – V. 3, N. 5. – P. 320–331.
72. *Lozinsky V. I.* Study of cryostructuration of polymer systems. XII. Poly(vinyl alcohol) cryogels: influence of low-molecular electrolytes // J. Appl. Polym. Sci. – 1996. – V. 61, N. 11. – P. 1991–1998.
73. *Savina I. N., Lozinskii V. I.* Study of cryostructuring of polymer systems. 23. Composite poly(vinyl alcohol) cryogels filled with dispersed particles containing ionogenic groups // Colloid J. – 2004. – V. 66, N. 3. – P. 343–350.
74. *Millon L. E., Nieh M., Hutter J. L., Wan W.* SANS characterization of an anisotropic poly(vinyl alcohol) hydrogel with vascular applications // Macromolecules. – 2007. – V. 40, N. 10. – P. 3655–3662.
75. *Hickey A. S., Peppas N. A.* Mesh size and diffusive characteristics of semicrystalline poly(vinyl alcohol) membranes prepared by freezing/thawing techniques // J. Membr. Sci. – 1995. – V. 107, N. 3. – P. 229–237.
76. *Jabli M., Baouab M. H. V., Sintes-Zydowicz N., Hassine B. B.* Dye molecules/ Copper(II)/macroporous glutaraldehyde–chitosan microspheres complex: surface characterization, kinetic, and thermodynamic investigations // J. Appl. Polym. Sci. – 2012. – V. 123, N. 6. – P. 3412–3424.

77. *Plieva F. M., Karlsson M., Aguilar M.-R., et al.* Pore structure in supermacroporous polyacrylamide based cryogels // Soft Matter. – 2006. – V. 4. – P. 303–330.
78. *Mishra R., Goel S. K., Gupta K. C., Kumar A.* Biocomposite cryogels as tissue engineered biomaterials for regeneration of critical-sized cranial bone defects // Tissue Eng. Part A. – 2014. – V. 20, N. 3–4. – P. 751–762.
79. *Katsen-Globa A., Meiser I., Petrenko Y. A., Ivanov R. V., Lozinsky V. I., Zimmermann H., Petrenko A. Y.* Towards ready-to-use 3D scaffolds for regenerative medicine: adhesion-based cryopreservation of human mesenchymal stem cells attached and spread within alginate–gelatin cryogel scaffolds // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2014. – V. 25, N. 3. – P. 857–871.
80. *Bhattarai N., Gunn J., Zhang M.* Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2010. – V. 62, N. 1. – P. 83–99.
81. *Xu H., Huang S., Wang J., Lan Y., Feng L., Zhu M., Xiao Y., Cheng B., Xue W., Guo R.* Enhanced cutaneous wound healing by functional injectable thermo-sensitive chitosan-based hydrogel encapsulated human umbilical cord mesenchymal stem cells // Int. J. Biol. Macromol. – 2019. – V. 137. – P. 433–441.
82. *Konovalova M. V., Markov P. A., Durnev E. A., Kurek D. V., Popov S. V., Varlamov V. P.* Preparation and biocompatibility evaluation of pectin and chitosan cryogels for biomedical application // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2017. – V. 105, N. 2. – P. 547–556.
83. *Pakdel P. M., Peighambardoust S. J.* Review on recent progress in chitosan-based hydrogels for wastewater treatment application // Carbohydr. Polym. – 2018. – V. 201. – P. 264–279.
84. *Xue X., Li L., He J.* The performances of carboxymethyl chitosan in wash-off reactive dyeings // Carbohydr. Polym. – 2009. – V. 75, N. 2. – P. 203–207.
85. *Perumal S., Atchudan R., Yoon D. H., Joo J., Cheong I. W.* Spherical chitosan/gelatin hydrogel particles for removal of multiple heavy metal ions from wastewater // Ind. Eng. Chem. Res. – 2019. – V. 58, N. 23. – P. 9900–9907.
86. *Jin L., Bai R.* Mechanisms of lead adsorption on chitosan/PVA hydrogel beads // Langmuir. – 2002. – V. 18, N. 25. – P. 9765–9770.
87. *Akilbekova D., Shaimerdenova M., Adilov S., Berillo D.* Biocompatible scaffolds based on natural polymers for regenerative medicine // Int. J. Biol. Macromol. – 2018. – V. 114. – P. 324–333.
88. *Berillo D., Cundy A.* 3D-macroporous chitosan-based scaffolds with in situ formed Pd and Pt nanoparticles for nitrophenol reduction // Carbohydr. Polym. – 2018. – V. 192. – P. 166–175.
89. *Petrov P. D., Georgiev G. L.* Fabrication of super-macroporous nanocomposites by deposition of carbon nanotubes onto polymer cryogels // Eur. Polym. J. – 2012. – V. 48, N. 8. – P. 1366–1373.
90. *Chhatri A., Bajpai J., Bajpai A. K.* Designing polysaccharide-based antibacterial biomaterials for wound healing applications // Biomatter. – 2011. – V. 1. – P. 189–197.
91. *Rezvova M. A., Pykin A. V., Borisova A. V., et al.* Biocompatible nanocomposite cryogels with improved mechanical properties based on polyvinyl alcohol and carbon nanotubes for cardiovascular applications // Front. Bioeng. Biotechnol. – 2025. – V. 13. – P. 1544297.
92. *Zheng Y., Clogston J. D., Patri A. K., Dobrovolskaia M. A., McNeil S. E.* Composites with macroporous poly(vinyl alcohol) cryogels and activated carbon beads // ACS Appl. Mater. Interfaces. – 2012. – V. 4, N. 5. – P. 2727–2733.
93. *Arcos-Arevalo A. J., Zavala-Arce R. E., Avila-Perez P., Garcia-Gaitan B., Garcia-Rivas J. L., Jiménez-Núñez M.L.* Removal of fluoride from aqueous solutions using chitosan cryogels // J. Chem. – 2016. – V. 2016. – P. 6250189.

94. *Dinu M. V., Dinu I. A., Lazar M. M., Dragan E. S.* Chitosan-based ion-imprinted cryo-composites with excellent selectivity for copper ions // Carbohydr. Polym. – 2018. – V. 186. – P. 140–149.
95. *Gül G., Demir Karakuş D., Bölgen N.* Optimization studies of cryogel scaffolds prepared using different chitosan and polyvinyl alcohol ratios // Osmaniye Korkut Ata Univ. J. Inst. Sci. – 2023. – V. 6, N. 2. – P. 1110–1121.
96. *Bisen D. S., Bhatt R., Bajpai A. K., Bajpai R., Katare R.* Reverse indentation size effects in gamma irradiated blood compatible blend films of chitosan–poly(vinyl alcohol) for possible medical applications // Mater. Sci. Eng. C. – 2017. – V. 71. – P. 982–993.
97. *Kamiński W., Modrzejewska Z.* Application of chitosan membranes in separation of heavy metal ions // Sep. Sci. Technol. – 1997. – V. 32, N. 16. – P. 2659–2668.
98. *Xia W., Liu W., Cui L., Liu Y., Zhong W., Liu D., Wu J., Chua K., Cao Y.* Tissue engineering of cartilage with the use of chitosan–gelatin complex scaffolds // J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. – 2004. – V. 71, N. 2. – P. 373–380.
99. *Ali S., Ranjha N.M., Ahmad B., Khan A.A., Hassan F.U., Aziz T., Alharbi M., Alshammari A., Alasmari A.F., Alharbi M.E.* Sustained release of drug facilitated through chemically crosslinked polyvinyl alcohol-gelatin (PVA-GE) hydrogels. A sustainable biomedical approach. Pol. J. Chem. Technol. - *2023.* – V. 25, N. 2. – P. 56.
100. *Liu Y., Vrana N. E., Cahill P. A., McGuinness G. B.* Physically crosslinked composite hydrogels of PVA with natural macromolecules: structure, mechanical properties, and endothelial cell compatibility // J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater. – 2009. – V. 90B, N. 2. – P. 492–502.
101. *Pugar D., Haramina T., Leskovac M., Ćurković L.* Preparation and characterization of poly(vinyl alcohol)/chitosan polymer blend films chemically crosslinked with glutaraldehyde: mechanical and thermal investigations // Molecules. – 2024. – V. 29, N. 17. – P. 5914.
102. *Wang H. M., Chou Y. T., Wen Z. H., Wang Z. R., Chen C. H., Ho M. L.* Novel biodegradable porous scaffold applied to skin regeneration // PLoS One. – 2013. – V. 8, N. 1. – P. e56330.
103. *Vrana N. E., Cahill P. A., McGuinness G. B.* Endothelialization of PVA/gelatin cryogels for vascular tissue engineering: effect of disturbed shear stress conditions // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2010. – V. 94, N. 4. – P. 1080–1090.
104. *Neo P. Y., Shi P. J., Goh J. C. H., Toh S. L.* Characterization and mechanical performance study of silk/PVA cryogels: towards nucleus pulposus tissue engineering // Biomed. Mater. – 2014. – V. 9, No. 6. – P. 065002.
105. *Kirsebom H., Mattiasson B., Galaev I.Yu.* Building macroporous materials from microgels and microbes via a one-step cryogelation // Langmuir. – 2009. – V. 25, N. 15. – P. 8462–8465.
106. *Plieva F. M., Ekström P., Galaev I. Yu., Mattiasson B.* Monolithic cryogels with open porous structure and unique double-continuous macroporous networks // Soft Matter. – 2008. – V. 4. – P. 2418–2428.
107. *Kumar A., Mishra R., Reinwald Y., Bhat S.* Cryogels: freezing unveiled by thawing // Mater. Today. – 2010. – V. 13, N. 11. – P. 42–44.
108. *Chaturvedi A., Bajpai A. K., Bajpai J., Singh S. K.* Evaluation of poly(vinyl alcohol)-based cryogel–zinc oxide nanocomposites for possible applications as wound dressing materials // Mater. Sci. Eng. C. – 2016. – V. 65. – P. 408–418.
109. *Uyar G., Kaygusuz H., Erim F.B.* Methylene blue removal by alginate–clay quasi-cryogel beads // React. Funct. Polym. – 2016. – V. 107. – P. 61–67.

110. *Feaver A., Sepehri S., Shamberger P.* Coherent carbon cryogel–ammonia borane nanocomposites for H2 storage // J. Phys. Chem. B. – 2007. – V. 111, N. 27. – P. 7469–7472.
111. *Anderson J., Cramer S.* Perspectives on the inflammatory, healing, and foreign body responses to biomaterials and medical devices // Host Response to Biomaterials / Ed. S.F. Badylak. – Oxford: Academic Press, 2015. – Chapter 2. – P. 13–36.
112. *Gun'ko V. M., Savina I. N., Mikhalovsky S. V.* Properties of water bound in hydrogels // Gels. – 2017. – V. 3, N. 4. – P. 37.
113. *Gorgieva S., Kokol V.* Preparation, characterization, and in vitro enzymatic degradation of chitosan–gelatine hydrogel scaffolds as potential biomaterials // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2012. – V. 100, No. 6. – P. 1655–1667.
114. *Sung H. J., Meredith C., Johnson C., Galis Z. S.* The effect of scaffold degradation rate on three-dimensional cell growth and angiogenesis // Biomaterials. – 2004. – V. 25, N. 26. – P. 5735–5742.
115. *Kathuria N., Tripathi A., Kar K. K., Kumar A.* Synthesis and characterization of elastic and macroporous chitosan–gelatin cryogels for tissue engineering // Acta Biomater. – 2009. – V. 5, N. 1. – P. 406–418.
116. *Ari B., Sahiner N.* Biodegradable super porous inulin cryogels as potential drug carrier // Polym. Adv. Technol. – 2020. – V. 31, N. 12. – P. 2863–2873.
117. *Bolgen N., Aguilar M. R., Fernandez M. D., Gonzalo-Flores S., Villar-Rodil S., Roman J. S., Piskin E.* Thermoresponsive biodegradable HEMA–lactate–dextran-co-NIPA cryogels for controlled release of simvastatin // Artif. Cells Nanomed. Biotechnol. – 2015. – V. 43, N. 1. – P. 40–49.
118. *Bagri L. P., Saini R. K., Bajpai A. K.,* Choubey R. Silver hydroxyapatite reinforced poly(vinyl alcohol)–starch cryogel nanocomposites and study of biodegradation, compressive strength and antibacterial activity // Polym. Eng. Sci. – 2019. – V. 59, N. 2. – P. 254–263.
119. *Lin T.-W., Hsu S.-H.* Self-healing hydrogels and cryogels from biodegradable polyurethane nanoparticle crosslinked chitosan // Adv. Sci. – 2020. – V. 7, N. 7. – P. 1901388.
120. *Saraswathy K., Agarwal G., Srivastava A.* Hyaluronic acid microneedles-laden collagen cryogel plugs for ocular drug delivery // J. Appl. Polym. Sci. – 2020. – V. 137, N. 42. – P. 49285.
121. *Chen C.-H., Kuo C.-Y., Wang Y.-J., Chen J.-P.* Dual function of glucosamine in gelatin/hyaluronic acid cryogel to modulate scaffold mechanical properties and to maintain chondrogenic phenotype for cartilage tissue engineering // Int. J. Mol. Sci. – 2016. – V. 17, N. 11. – P. 1957.
122. *Kao H. H., Kuo C. Y., Chen K. S., Chen J. P.* Preparation of gelatin and gelatin/hyaluronic acid cryogel scaffolds for the 3D culture of mesothelial cells and mesothelium tissue regeneration // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – V. 20, N. 18. – P. 4527.
123. *Salgado C. L., Grenho L., Fernandes M. H., Colaco B. J., Monteiro F. J.* Biodegradation, biocompatibility, and osteoconduction evaluation of collagen–nanohydroxyapatite cryogels for bone tissue regeneration // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2016. – V. 104, N. 1. – P. 57–70.
124. *Raina D. B., Larsson D., Mrkonjic F., Isaksson H., Kumar A., Lidgren L., Tägil M.* Gelatin–hydroxyapatite–calcium sulphate-based biomaterial for long-term sustained delivery of bone morphogenic protein-2 and zoledronic acid for increased bone formation: in vitro and in vivo carrier properties // J. Control. Release. – 2018. – V. 272. – P. 83–96.

125. *Tripathi A., Melo J. S.* Preparation of a sponge-like biocomposite agarose–chitosan scaffold with primary hepatocytes for establishing an in vitro 3D liver tissue model // RSC Adv. – 2015. – V. 5, N. 38. – P. 30701–30710.
126. *Mahdavinia G. R., Hosseini R., Darvishi F., Sabzi M.* The release of cefazolin from chitosan/poly(vinyl alcohol)/sepiolite nanocomposite hydrogel films // Iran. Polym. J. – 2016. – V. 25, N. 11. – P. 933–943.
127. *Muhd Julkapli N., Akil H. M., Ahmad Z.* Preparation, properties and applications of chitosan-based biocomposites/blend materials: a review // Compos. Interfaces. – 2011. – V. 18, N. 6. – P. 449–507.
128. *Ranjha N. M., Khan S.* Chitosan/poly(vinyl alcohol)-based hydrogels for biomedical applications: a review // J. Pharm. Altern. Med. – 2013. – V. 2, N. 1. – P. 30–41.
129. *Xu G., Cao S., Huang Z., Dong Y., Chu C.* Catechol–polysaccharide complex enhancing the detachment and blood coagulation of polyvinyl alcohol/chitosan cryogel for non-compressible bleeding // Int. J. Biol. Macromol. – 2025. – V. 318, Pt 4. – P. 145281.

REFERENCES

1. Wichterle O., Lim D. Hydrophilic gels for biological use. *Nature*. 1960. **185**: 117.
2. Peppas N. A., Hilt J. Z., Khademhosseini A., Langer R. Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology. *Ad Mater*. 2006. **18**(11): 1345.
3. Park K., Shalaby W.S.W., Park H. *Biodegradable hydrogels for drug delivery* (Basel: Technomic Publishing Co., 1993).
4. Peppas N. A. *Hydrogels in Medicine and Pharmacy* (Ed. N.A. Peppas. Boca Raton: CRC Press, 1986. Vols. 1–3).
5. Peppas N.A., Huang Y., Torres-Lugo M., Ward J.H., Zhang J. *Physicochemical foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology* (Annu. Re Biomed. Eng. 2000. 2).
6. Chen J., Park H., Park K. Synthesis of superporous hydrogels: hydrogels with fast swelling and superabsorbent properties. *J. Biomed. Mater. Res*. 1999. **44**(1): 53.
7. Ratner B. D., Hoffman A. S. *Synthetic hydrogels for biomedical applications. Hydrogels for Medical and Related Applications* (Ed. J.D. Andrade. Washington, DC: American Chemical Society. ACS Symp. Ser. 1976).
8. Kumar A., Han S. S. PVA-based hydrogels for tissue engineering: a review. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater*. 2017. **66**(4): 159.
9. Henderson T. M. A., Ladewig K., Haylock D. N., McLean K. M., O'Connor A. J. Cryogels for biomedical applications. *J. Mater. Chem. B*. 2013. **1**(20): 2682.
10. Hassan C. M., Peppas N. A. Cellular PVA hydrogels produced by freeze/thawing. *J. Appl. Polym. Sci*. 2000. **76**(14): 2075.
11. Annabi N., Nichol J. W., Zhong X., Ji C., Koshy S., Khademhosseini A., Dehghani F. Controlling the porosity and microarchitecture of hydrogels for tissue engineering. *Tissue Eng. Part B Rev*. 2010. **16**(4): 371.
12. Mikhalovsky S. V., Savina I. N., Dainiak M., Ivanov A. E., Galaev I. Yu. *Biomaterials/cryogels enabling technologies* (Amsterdam: Elsevier, 2011).
13. Lozinsky V. I. Cryostructuring of polymeric systems. 55. Retrospective view on more than 40 years of studies performed in the A. N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds with respect to cryostructuring processes in polymeric systems. *Gels*. 2020. **6**(3): 29.
14. Shiekh P. A., Andrabi S. M., Singh A., Majumder S., Kumar A. Designing cryogels through cryostructuring of polymeric matrices for biomedical applications. *Eur. Polym. J*. 2021. **144**: 110234.

15. Lozinsky V., Damshkaln L., Kurochkin I. Study of cryostructuring of polymer systems. 28. Physicochemical properties and morphology of poly(vinyl alcohol) cryogels formed by multiple freezing–thawing. *Colloid J*. 2008. **70**(2): 189.
16. Wan W. K., Bannerman A. D., Yang L., Mak H. *Poly(vinyl alcohol) cryogels for biomedical applications. Polymeric Cryogels: Macroporous Gels with Remarkable Properties* (Ed. O. Okay. Berlin: Springer. Ad Polym. Sci. 2014).
17. Razavi M., Qiao Y., Thakor A. S. Three-dimensional cryogels for biomedical applications. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2019. **107**(12): 2736.
18. Savina I. N., Ingavle G. C., Cundy A. B., Mikhalovsky S. A simple method for the production of large volume 3D macroporous hydrogels for advanced biotechnological, medical and environmental applications. *Sci. Rep*. 2016. **6**: 21154.
19. Savina I. N., Shevchenko R. V., Allan I. U., Illsley M., Mikhalovsky S. *Cryogels in regenerative medicine. Supermacroporous Cryogels: Biomedical and Biotechnological Applications* (Boca Raton: CRC Press, 2016).
20. Hixon K. R., Lu T., Sell S. A. A comprehensive review of cryogels and their roles in tissue engineering applications. *Acta Biomater*. 2017. **62**: 29.
21. Erdem A., Ngwabebhoh F. A., Yildiz U. Novel macroporous cryogels with enhanced adsorption capability for the removal of Cu(II) ions from aqueous phase: modelling, kinetics and recovery studies. *J. Environ. Chem. Eng*. 2017. **5**(1): 1269.
22. Lozinsky V. I. *A brief history of polymeric cryogels. Polymeric Cryogels: Macroporous Gels with Remarkable Properties* (Ed. O. Okay. Berlin: Springer. Ad Polym. Sci. 2014).
23. Pazos V., Tardif J. C., Mongrain R. Gel-based mechanical phantom of stenotic coronary artery. In: *ASME 2007 Summer Bioengineering Conference* (June, 20–24, 2007, Keystone, Colorado, USA). P. 133.
24. Peppas N. A., Scott J. E. Controlled release from poly(vinyl alcohol) gels prepared by freezing–thawing processes. *J. Control. Release*. 1992. **18**(2): 95.
25. Peppas N. A., Stauffer S. R. Reinforced uncrosslinked poly(vinyl alcohol) gels produced by cyclic freezing–thawing processes: a short review. *J. Control. Release*. 1991. **16**(3): 305.
26. Ricciardi R., Auriemma F., De Rosa C. Structure and properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels obtained by freeze/thaw techniques. *Macromol. Symp*. 2005. **222**(1): 49.
27. Gun'ko V. M., Turov V. V., Zarko V. I., Pakhlov E. M., Matkovsky A. K., Oranska O. I., Skubiszewska-Zięba J. Cryogelation of individual and complex nanooxides under different conditions. *Colloids Surf. A*. 2014. **456**: 261.
28. Gun'ko V. M., Turov V. V., Zarko V. I., Pakhlov E. M., Prykhod'ko G. P., Remez O. S., Leboda R., Skubiszewska-Zięba J., Blitz J. P. High-pressure cryogelation of nanosilica and surface properties of cryosilicas. *Colloids Surf. A*. 2013. **436**: 618.
29. Ricciardi R., Auriemma F., Gaillet C., De Rosa C., Lauprêtre F. Investigation of the crystallinity of freeze/thaw poly(vinyl alcohol) hydrogels by different techniques. *Macromolecules*. 2004. **37**(25): 9510.
30. Gun'ko V. M., Savina I. N., Mikhalovsky S. Cryogels: morphological, structural and adsorption characterization. *Ad Colloid Interface Sci*. 2013. **187–188**: 1.
31. Pazos V., Mongrain R., Tardif J. Polyvinyl alcohol cryogel: optimizing the parameters of cryogenic treatment using hyperelastic models. *J. Mech. Beha Biomed. Mater*. 2009. **2**(5): 542.
32. Gordon M. Controlling the mechanical properties of PVA hydrogels for biomedical applications. Dissertation. The University of Western Ontario, Canada, 1999.
33. Harper D. Online etymology dictionary: gel. Online Etymology Dictionary. 2013. URL: https://www.etymonline.com (accessed on: 01.11.2025).
34. Gelato in the English dictionary. Cambridge Dictionary. URL: https://dictionary.cambridge.org/dictionary/english/gelato (accessed on: 01.11.2025).
35. Goff H. D. Colloidal aspects of ice cream a review. *Int. Dairy J*. 1997. **7**(6–7): 363.

36. Lozinsky V. I., Galaev I. Yu., Plieva F. M., Savina I. N., Jungvid H., Mattiasson B. Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest. *Trends Biotechnol*. 2003. **21**(10): 445.
37. Richter M., Augustat Z., Shirbaum F. *Izbrannye metody issledovaniya krakhmala* (Moscow: Pishchevaya promyshlennost', 1975) [in Russian].
38. Lozinsky I. Kriotropnoe geleobrazovanie rastvorov polivinilovogo spirta. *Usp. Khim*. 1998. **67**(7): 641 [in Russian].
39. Patent Jpn. 47-012854. Inoue T. Water-resistant poly(vinyl alcohol) plastics. 1972 [in Japanese].
40. Patent US 3,875,302 A. Inoue T. Gelled vinyl alcohol polymers and articles therefrom. 1975.
41. Kukharchyk M. M., Baramboym N. K. Yzmenenye svoystv vodnykh rastvorov polyvynylovoho spyrtu pry kryolytycheskom vozdeystvyy. *Vysokomol. Soed*. 1972. **11**: 843 [in Russian].
42. Łabudzińska, A. Ziabicki. Effect of composition and gelation conditions on structural changes accompanying the gelation of PAN, PVA and gelatin solutions. *Kolloid-Zeitschrift & Zeitschrift für Polymere*. 1971. **243**: 21.
43. Peppas N. A. Turbidimetric studies of aqueous poly(vinyl alcohol) solutions. *Makromol. Chem*. 1975. **176** (11): 3433.
44. Chaplin M. Water structure and science. London South Bank University, 2012. URL: http://www.lsbu.ac.uk/water (accessed on: 01.11.2025).
45. Qian L., Zhang H. Formation of colloidal crystals by controlled freezing of colloidal suspensions. *J. Chem. Technol. Biotechnol*. 2011. **86**(2): 172.
46. Butler M.F. Growth of Solutal Ice Dendrites Studied by Optical Interferometry. *Cryst. Growth Des*. 2002. **2**(1): 59.
47. Alexandrov D.V., Galenko P.K. The Mullins–Sekerka theory: 60 years of morphological stability. *J. Appl. Phys*. 2024. **136**(5): 055103.
48. Zhang H., Hussain I., Brust M., Butler M. F., Rannard S. P., Cooper A. I. Aligned two- and three-dimensional structures by directional freezing of polymers and nanoparticles. *Nat. Mater*. 2005. **4**(10): 787.
49. Mattiasson B., Kumar A., Galaev I. Yu., eds. *Macroporous Polymers: Production, Properties and Biotechnological/Biomedical Applications* (CRC Press, 2009).
50. Ceylan S., Alatepeli B. Evaluation of PVA/chitosan cryogels as potential tissue engineering scaffolds: synthesis, cytotoxicity and genotoxicity investigations. *J. Turk. Chem. Soc. Sect. A*. 2021. **8**(1): 69.
51. Ma S., Wang S., Li Q., Leng Y., Wang L., Hu G. H. A novel method for preparing poly(vinyl alcohol) hydrogels: preparation, characterization, and application. *Ind. Eng. Chem. Res*. 2017. **56**: 7971.
52. Ceylan S., Göktürk D., Bölgen N. Effect of crosslinking methods on the structure and biocompatibility of polyvinyl alcohol/gelatin cryogels. *Biomed. Mater. Eng*. 2016. **27**(4): 327.
53. Laochai T., Mooltongchun M., Teepoo S. Design and construction of magnetic nanoparticles incorporated with a chitosan and poly(vinyl alcohol) cryogel and its application for immobilization of horseradish peroxidase. *Energy Procedia*. 2016. **89**: 248.
54. Ricciardi R., Auriemma F., De Rosa C., Lauprêtre F. X-ray diffraction analysis of poly(vinyl alcohol) hydrogels obtained by freezing and thawing techniques. *Macromolecules*. 2004. **37**(5): 1921.
55. Thomas J., Gomes K., Lowman A., Marcolongo M. The effect of dehydration history on PVA/PVP hydrogels for nucleus pulposus replacement. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl*. Biomater. 2004. **69**(2): 135.
56. Lozinsky V. I., Zubov A. L., Savina I. N., Plieva F. M. Study of cryostructuration of polymer systems. XI Poly(vinyl alcohol) cryogels: apparent yield of the freeze–thaw-

induced gelation of concentrated aqueous solutions of the polymer. *J. Appl. Polym. Sci*. 2000. **77**(8): 1822.
57. Savina I. N., Zoughaib M., Yergeshov A. A. Design and assessment of biodegradable macroporous cryogels as advanced tissue engineering and drug carrying materials. *Gels*. 2021. **7**(3): 79.
58. Kurochkin I. I., Kurochkin I. N., Kolosova O. Yu., Lozinsky V. I. Cryostructuring of polymeric systems: application of deep neural networks for the classification of structural features peculiar to macroporous poly(vinyl alcohol) cryogels prepared without and with additives of chaotropes or kosmotropes. *Molecules*. 2020. **25**(19): 4480.
59. Watase M. Effects of degree of polymerization, degree of saponification and concentration on rheological properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels prepared by repeated freezing and melting. *Nippon Kagaku Kaish*i. 1983. **7**: 1254. [in Japanese]
60. Wan W. K., Campbell G., Zhang Z. F., Hui A. J., Boughner D. R. Optimizing the tensile properties of poly(vinyl alcohol) hydrogel for the construction of a bioprosthetic heart valve stent. *J. Biomed. Mater. Res*. 2002. **63** (6): 854.
61. Thomas J., Lowman A., Marcolongo M. Novel associated hydrogels for nucleus pulposus replacement. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2003. **67**(4): 1329.
62. Trieu H., Qutubuddin S. Poly(vinyl alcohol) hydrogels. 2. Effects of processing parameters on structure and properties. *Polymer*. 1995. **36**(13): 2531.
63. Watase M. Rheological properties of hydrogels of poly(vinyl alcohol) prepared by repeated freezing and melting. *Nippon Kagaku Kaishi*. 1983. **7**: 973. [in Japanese]
64. Wong E. Y. L. Poly(vinyl alcohol) nanocomposite hydrogels for intervertebral disc prostheses. Dissertation. The University of Western Ontario, Canada, 2012.
65. Oelschlaeger C., Bossler F., Willenbacher N. Synthesis, structural and micromechanical properties of 3D hyaluronic acid-based cryogel scaffolds. *Biomacromolecules*. 2016. **17**(2): 580.
66. Chang K. H., Liao H. T., Chen J. P. Preparation and characterization of gelatin/hyaluronic acid cryogels for adipose tissue engineering: in vitro and in vivo studies. *Acta Biomater*. 2013. **9**(3): 9012.
67. Alexandrov D. V., Galenko P. K. The Mullins–Sekerka theory: 60 years of morphological stability. *J. Appl. Phys*. 2024. **136**(5): 055103.
68. 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. Berlin: Springer, 2000)
69. Yamaura K., Itoh M., Tanigami T., et al. Properties of gels obtained by freezing/thawing of poly(vinyl alcohol)/water/dimethyl sulfoxide solutions. *J. Appl. Polym. Sci*. 1989. **37**(9): 2709.
70. Hyon S. H., Cha W. I., Ikada Y. Preparation of transparent poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Polymer Bull*. 1989. **22**(2): 119.
71. Paţachia S., Florea C., Friedrich C., Thomann Y. Tailoring of poly(vinyl alcohol) cryogels properties by salts addition. *Express Polym. Lett*. 2009. **3**(5): 320.
72. Lozinsky V. I. Study of cryostructuration of polymer systems. XII. Poly(vinyl alcohol) cryogels: influence of low-molecular electrolytes. *J. Appl. Polym. Sci*. 1996. **61**(11): 1991.
73. Savina I. N., Lozinskii V. I. Study of cryostructuring of polymer systems. 23. Composite poly(vinyl alcohol) cryogels filled with dispersed particles containing ionogenic groups. *Colloid J*. 2004. **66**(3): 343.
74. Millon L. E., Nieh M., Hutter J. L., Wan W. SANS characterization of an anisotropic poly(vinyl alcohol) hydrogel with vascular applications. *Macromol*. 2007. **40**(10): 3655.

75. Hickey A. S., Peppas N. A. Mesh size and diffusive characteristics of semicrystalline poly(vinyl alcohol) membranes prepared by freezing/thawing techniques. *J. Membr. Sci.* 1995. **107**(3): 229.
76. Jabli M., Baouab M. H. V., Sintes-Zydowicz N., Hassine B. B. Dye molecules/ Copper(II)/macroporous glutaraldehyde–chitosan microspheres complex: surface characterization, kinetic, and thermodynamic investigations. *J. Appl. Polym. Sci.* 2012. **123**(6): 3412.
77. Plieva F. M., Karlsson M., Aguilar M.-R., et al. Pore structure in supermacroporous polyacrylamide based cryogels. *Soft Matter*. 2006. **4**: 303.
78. Mishra R., Goel S. K., Gupta K. C., Kumar A. Biocomposite cryogels as tissue engineered biomaterials for regeneration of critical-sized cranial bone defects. *Tissue Eng. Part A*. 2014. **20**(3–4): 751.
79. Katsen-Globa A., Meiser I., Petrenko Y. A., Ivanov R. V., Lozinsky V. I., Zimmermann H., Petrenko A. Y. Towards ready-to-use 3D scaffolds for regenerative medicine: adhesion-based cryopreservation of human mesenchymal stem cells attached and spread within alginate–gelatin cryogel scaffolds. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2014. **25**(3): 857.
80. Bhattarai N., Gunn J., Zhang M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Ad Drug Deli Re 2010*. **62**(1): 83.
81. Xu H., Huang S., Wang J., Lan Y., Feng L., Zhu M., Xiao Y., Cheng B., Xue W., Guo R. Enhanced cutaneous wound healing by functional injectable thermo-sensitive chitosan-based hydrogel encapsulated human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Int. J. Biol. Macromol*. 2019. **137**: 433.
82. Konovalova M. V., Markov P. A., Durnev E. A., Kurek D. V., Popov S. V., Varlamov V. P. Preparation and biocompatibility evaluation of pectin and chitosan cryogels for biomedical application. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2017. **105** (2): 547.
83. Pakdel P. M., Peighambardoust S. J. Review on recent progress in chitosan-based hydrogels for wastewater treatment application. *Carbohydr. Polym*. 2018. **201**: 264.
84. Xue X., Li L., He J. The performances of carboxymethyl chitosan in wash-off reactive dyeings. *Carbohydr. Polym*. 2009. **75**(2): 203.
85. Perumal S., Atchudan R., Yoon D.H., Joo J., Cheong I. W. Spherical chitosan/gelatin hydrogel particles for removal of multiple heavy metal ions from wastewater. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2019. **58**(23): 9900.
86. Jin L., Bai R. Mechanisms of lead adsorption on chitosan/PVA hydrogel beads *Langmuir*. 2002. **18**(25): 9765.
87. Akilbekova D., Shaimerdenova M., Adilov S., Berillo D. Biocompatible scaffolds based on natural polymers for regenerative medicine. *Int. J. Biol. Macromol*. 2018. **114**: 324.
88. Berillo D., Cundy A. 3D-macroporous chitosan-based scaffolds with in situ formed Pd and Pt nanoparticles for nitrophenol reduction. *Carbohydr. Polym*. 2018. **192**: 166.
89. Petrov P. D., Georgiev G.L. Fabrication of super-macroporous nanocomposites by deposition of carbon nanotubes onto polymer cryogels. *Eur. Polym. J*. 2012. **48**(8): 1366.
90. Chhatri A., Bajpai J., Bajpai A. K. Designing polysaccharide-based antibacterial biomaterials for wound healing applications. *Biomatter*. 2011. **1**(2): 189.
91. Rezvova M. A., Pykin A. V., Borisova A. V., et al. Biocompatible nanocomposite cryogels with improved mechanical properties based on polyvinyl alcohol and carbon nanotubes for cardiovascular applications. Front. Bioeng. *Biotechnol*. 2025. **13**: 1544297.
92. Zheng Y., Clogston J. D., Patri A. K., Dobrovolskaia M. A., McNeil S. E. Composites with macroporous poly(vinyl alcohol) cryogels and activated carbon beads. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2012. **4**(5): 2727.

93. Arcos-Arevalo A. J., Zavala-Arce R. E., Avila-Perez P., Garcia-Gaitan B., Garcia-Rivas J. L., Jiménez-Núñez M.L. Removal of fluoride from aqueous solutions using chitosan cryogels. *J. Chem*. 2016. **2016**: 6250189.
94. Dinu M. V., Dinu I. A., Lazar M. M., Dragan E. S. Chitosan-based ion-imprinted cryo-composites with excellent selectivity for copper ions. *Carbohydr. Polym*. 2018. **186**: 140.
95. Gül G., Demir Karakuş D., Bölgen N. Optimization studies of cryogel scaffolds prepared using different chitosan and polyvinyl alcohol ratios. *Osmaniye Korkut Ata Uni J. Inst. Sci*. 2023. **6** (2): 1110.
96. Bisen D. S., Bhatt R., Bajpai A. K., Bajpai R., Katare R. Reverse indentation size effects in gamma irradiated blood compatible blend films of chitosan–poly(vinyl alcohol) for possible medical applications. *Mater. Sci. Eng. C*. 2017. **71**: 982.
97. Kamiński W., Modrzejewska Z. Application of chitosan membranes in separation of heavy metal ions. *Sep. Sci. Technol*. 1997. **32**(16): 2659.
98. Xia W., Liu W., Cui L., Liu Y., Zhong W., Liu D., Wu J., Chua K., Cao Y. Tissue engineering of cartilage with the use of chitosan–gelatin complex scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater*. 2004. **71**(2): 373.
99. Ali S., Ranjha N. M., Ahmad B., Khan A. A., Hassan F. U., Aziz T., Alharbi M., Alshammari A., Alasmari A. F., Alharbi M. E. Sustained release of drug facilitated through chemically crosslinked polyvinyl alcohol-gelatin (PVA-GE) hydrogels. A sustainable biomedical approach. *Pol. J. Chem. Technol*. 2023. **25**(2): 56.
100. Liu Y., Vrana N. E., Cahill P. A., McGuinness G. B. Physically crosslinked composite hydrogels of PVA with natural macromolecules: structure, mechanical properties, and endothelial cell compatibility. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater*. 2009. **90B**(2): 492.
101. Pugar D., Haramina T., Leskovac M., Ćurković L. Preparation and characterization of poly(vinyl alcohol)/chitosan polymer blend films chemically crosslinked with glutaraldehyde: mechanical and thermal investigations. *Molecules*. 2024. **29**(17): 5914.
102. Wang H. M., Chou Y. T., Wen Z. H., Wang Z. R., Chen C. H., Ho M. L. Novel biodegradable porous scaffold applied to skin regeneration. *PLoS One*. 2013. **8**(1): e56330.
103. Vrana N. E., Cahill P. A., McGuinness G. B. Endothelialization of PVA/gelatin cryogels for vascular tissue engineering: effect of disturbed shear stress conditions. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2010. **94**(4): 1080.
104. Neo P. Y., Shi P. J., Goh J. C. H., Toh S. L. Characterization and mechanical performance study of silk/PVA cryogels: towards nucleus pulposus tissue engineering. *Biomed. Mater*. 2014. **9**(6): 065002.
105. Kirsebom H., Mattiasson B., Galaev I. Yu. Building macroporous materials from microgels and microbes via a one-step cryogelation. *Langmuir*. 2009. **25**(15): 8462.
106. Plieva F. M., Ekström P., Galaev I. Yu., Mattiasson B. Monolithic cryogels with open porous structure and unique double-continuous macroporous networks. *Soft Matter*. 2008. **4**: 2418.
107. Kumar A., Mishra R., Reinwald Y., Bhat S. Cryogels: freezing unveiled by thawing. *Mater. Today*. 2010. **13**(11): 42.
108. Chaturvedi A., Bajpai A. K., Bajpai J., Singh S. K. Evaluation of poly(vinyl alcohol)-based cryogel–zinc oxide nanocomposites for possible applications as wound dressing materials. *Mater. Sci. Eng. C*. 2016. **65**: 408.
109. Uyar G., Kaygusuz H., Erim F. B. Methylene blue removal by alginate–clay quasi-cryogel beads. *React. Funct. Polym*. 2016. **107**: 61.
110. Feaver A., Sepehri S., Shamberger P. Coherent carbon cryogel–ammonia borane nanocomposites for H2 storage. *J. Phys. Chem. B*. 2007. **111**(27): 7469.

111. Anderson J., Cramer S. *Perspectives on the inflammatory, healing, and foreign body responses to biomaterials and medical devices. Host Response to Biomaterials* (Ed. S.F. Badylak. Oxford: Academic Press, 2015).
112. Gun'ko V. M., Savina I. N., Mikhalovsky S. Properties of water bound in hydrogels. *Gels*. 2017. **3**(4): 37.
113. Gorgieva S., Kokol Preparation, characterization, and in vitro enzymatic degradation of chitosan–gelatine hydrogel scaffolds as potential biomaterials. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2012. **100**(6): 1655.
114. Sung H. J., Meredith C., Johnson C., Galis Z. S. The effect of scaffold degradation rate on three-dimensional cell growth and angiogenesis. *Biomaterials*. 2004. **25** (26): 5735.
115. Kathuria N., Tripathi A., Kar K. K., Kumar A. Synthesis and characterization of elastic and macroporous chitosan–gelatin cryogels for tissue engineering. *Acta Biomater.* 2009. **5**(1): 406.
116. Ari B., Sahiner N. Biodegradable super porous inulin cryogels as potential drug carrier. *Polym. Ad Technol*. 2020. **31**(12): 2863.
117. Bolgen N., Aguilar M. R., Fernandez M. D., Gonzalo-Flores S., Villar-Rodil S., Roman J. S., Piskin E. Thermoresponsive biodegradable HEMA–lactate–dextran-co-NIPA cryogels for controlled release of simvastatin. Artif. *Cells Nanomed. Biotechnol*. 2015. **43**(1): 40.
118. Bagri L. P., Saini R. K., Bajpai A. K., Choubey R. Silver hydroxyapatite reinforced poly(vinyl alcohol)–starch cryogel nanocomposites and study of biodegradation, compressive strength and antibacterial activity. *Polym. Eng. Sci*. 2019. **59**(2): 254.
119. Lin T.-W., Hsu S.-H. Self-healing hydrogels and cryogels from biodegradable polyurethane nanoparticle crosslinked chitosan. *Ad Sci*. 2020. **7**: 1901388.
120. Saraswathy K., Agarwal G., Srivastava A. Hyaluronic acid microneedles-laden collagen cryogel plugs for ocular drug delivery. *J. Appl. Polym. Sci*. 2020. **137**(42): 49285.
121. Chen C.-H., Kuo C.-Y., Wang Y.-J., Chen J.-P. Dual function of glucosamine in gelatin/hyaluronic acid cryogel to modulate scaffold mechanical properties and to maintain chondrogenic phenotype for cartilage tissue engineering. *Int. J. Mol. Sci.* 2016. **17**(11): 1957.
122. Kao H. H., Kuo C. Y., Chen K. S., Chen J. P. Preparation of gelatin and gelatin/hyaluronic acid cryogel scaffolds for the 3D culture of mesothelial cells and mesothelium tissue regeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. **20**(18): 4527.
123. Salgado C. L., Grenho L., Fernandes M. H., Colaco B. J., Monteiro F. J. Biodegradation, biocompatibility, and osteoconduction evaluation of collagen–nanohydroxyapatite cryogels for bone tissue regeneration. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2016. **104**(1): 57.
124. Raina D. B., Larsson D., Mrkonjic F., Isaksson H., Kumar A., Lidgren L., Tägil M. Gelatin–hydroxyapatite–calcium sulphate-based biomaterial for long-term sustained delivery of bone morphogenic protein-2 and zoledronic acid for increased bone formation: in vitro and in vivo carrier properties. *J. Control. Release*. 2018. **272**: 83.
125. Tripathi A., Melo J. S. Preparation of a sponge-like biocomposite agarose–chitosan scaffold with primary hepatocytes for establishing an in vitro 3D liver tissue model. *RSC Ad*. 2015. **5**(38): 30701.
126. Mahdavinia G. R., Hosseini R., Darvishi F., Sabzi M. The release of cefazolin from chitosan/poly(vinyl alcohol)/sepiolite nanocomposite hydrogel films. *Iran. Polym. J*. 2016. **25**(11): 933.
127. Muhd Julkapli N., Akil H. M., Ahmad Z. Preparation, properties and applications of chitosan-based biocomposites/blend materials: a review. *Compos. Interfaces*. 2011. **18**(6): 449.

128. Ranjha N. M., Khan S. Chitosan/poly(vinyl alcohol)-based hydrogels for biomedical applications: a review. *J. Pharm. Altern. Med.* 2013. **2**(1): 301.
129. Xu G., Cao S., Huang Z., Dong Y., Chu C. Catechol–polysaccharide complex enhancing the detachment and blood coagulation of polyvinyl alcohol/chitosan cryogel for non-compressible bleeding. *Int. J. Biol. Macromol*. 2025. **318**: 145281.

UDC 544.723 *DOI: 10.15407/Surface.2025.17.305*

CRYOGELS FILLED WITH NANOSTRUCTURED MATERIALS: ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS

Eugen Dikhtiaruk

Chuiko Institute of Surface Chemistry, NAS of Ukraine,
17 Oleg Mudrak St., Kyiv-03164, Ukraine, e-mail: eugenchemlab@gmail.com

The article presents a review of the current state of synthesis and applications of composite cryogels prepared using cryotropic gelation and incorporating nanostructured materials. Particular attention is paid to poly(vinyl alcohol) (PVA) and chitosan as key biocompatible polymer matrices. The fundamental principles of cryotropic gelation, such as freezing and the factors influencing the formation of the macroporous cryogel structure, are analyzed, including temperature and freezing rate, number of freeze–thaw cycles, solution composition, type of cross-linking, presence of electrolytes and low-molecular weight additives. The features of physically and chemically cross-linked hydrogels are discussed along with mechanisms of pore formation, cryoconcentration, phase separation, and intermolecular bonding. Modern approaches to composite cryogel synthesis are examined, particularly in situ and ex situ methods of nanofiller incorporation (carbon nanotubes, metal oxides, clays, etc.), and their effects on the morphology, mechanical properties, and bioactivity. Special attention is given to the biomedical applications of cryogels, including drug delivery, implants, tissue scaffolds, and antibacterial or hemostatic coatings. In vitro and in vivo characteristics are addressed, including biodegradability, release control, cytocompatibility, and mechanical stability. The combination of PVA and chitosan in composite cryogels provides an optimal balance between elasticity, bioactivity, and sorption capacity. The article summarizes the literature of the last two decades and identifies future development directions, especially the design of smart cryogels with integrated functions for biomedical applications.

Keywords*: cryogel, cryotropic gelation, nanocomposites, poly(vinyl alcohol), chitosan.*