

«Умные» полимеры как поверхностные модификаторы биоаналитических устройств и биоматериалов: теория и практика

А.Е.Иванов,^a В.П.Зубов^b

^a *Protista Biotechnology AB*
Kvarngatan 2, SE 26734, Bjuv, Sweden

^b *Институт биоорганической химии имени М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова*
Российской академии наук
Россия, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

«Умные» полимеры (смарт-полимеры) способны обратимо изменять свое агрегатное состояние, переходя из водорастворимой формы в нерастворимую, в ответ на небольшие изменения температуры, pH или состава раствора. Прививка таких полимеров на твердые поверхности позволяет управлять их адсорбционными свойствами и смачиваемостью. Обзор суммирует теоретические модели конформационных переходов в привитых полимерных цепях и полимерных щетках в совокупности с результатами физических измерений. Особое внимание уделено таким параметрам, как длина и плотность прививки полимерных цепей, взаимному расположению цепей на поверхности, роли полистирольных, органосилановых или алкантиольных подслоев, а также их влиянию на адсорбцию белков и адгезию клеток. Рассмотрены основные области применения привитых «умных» полимеров — для культивирования и сепарации клеток, создания биоаналитических устройств и биоматериалов, направленного транспорта лекарств в организме.

Библиография — 174 ссылки.

Оглавление

I. Введение	565
II. Основные виды смарт-полимеров и ключевые достижения в области биофункциональных смарт-полимерных композитов	566
III. Моделирование структуры полимерных щеток при конформационных переходах	567
IV. Параметры Флори–Хаггинса, размеры полимерных клубков и их зависимости от температуры для некоторых смарт-полимеров	569
V. Температурно-зависимые переходы в поверхностно-привитых смарт-полимерах: физико-химические характеристики	571
VI. Температурно-зависимые переходы в шитых и поверхностно-привитых смарт-полимерах и их взаимодействие с белками	574
VII. Температурно-зависимые переходы в поверхностно-привитых смарт-полимерах: адгезия и отделение культур биологических клеток и тканей	576
VIII. Поверхностно-привитые полимеры и гели в материалах и методах биоанализа	579
IX. Заключение	581

I. Введение

Среди многообразия материалов и устройств, применяемых в биотехнологии и медицине, особое место занимают кон-

струкции типа твердый каркас–полимерная оболочка, в которых полимер химически связан с твердой поверхностью. Такие конструкции сочетают в себе механические и структурные характеристики твердых носителей с физико-химиче-

А.Е.Иванов (A.E.Ivanov). Кандидат химических наук, научный сотрудник фирмы «Protista Biotechnology AB» (Швеция), доцент Лундского университета (Швеция).
Телефон: +46(46)263–0032, e-mail: ivalevg@gmail.com
В.П.Зубов (V.P.Zubov). Доктор химических наук, заведующий лабораторией полимеров для биологии ИБХ РАН, профессор МГУ, МИТХТ.

Телефон: +7(495)335–1011, e-mail: zubov@ibch.ru
Область научных интересов авторов: высокомолекулярные соединения, композиционные сорбенты, полимеры для биологии, биокатализаторы, нанопокртия, биосепарация, биоанализ, адгезия клеток.

Дата поступления 23 апреля 2015 г.

скими свойствами и биосовместимостью полимерных модификаторов. Примерами материалов и устройств указанного типа могут служить композиционные сорбенты для биосепарации,^{1–4} носители для культивирования клеток лабораторных животных,^{5–8} частицы для направленного транспорта лекарств и трансфекции генов,^{9, 10} микрофлюидные схемы¹¹ и биосенсоры.¹² В последнее десятилетие по этой теме было опубликовано несколько обстоятельных обзоров^{13–15} и множество оригинальных работ.

Интересными модификаторами указанных материалов и устройств оказались «умные» полимеры,^{16, 17} или смарт-полимеры (от английского слова smart — умный, умелый, изящный),[†] дающие возможность управлять физико-химическими свойствами поверхностей путем изменения температуры, pH или состава контактирующего с ними водного раствора. В частности, в технике широко применяют тонированные смарт-стекла, обратимо изменяющие коэффициент светопропускания под действием небольшого электрического напряжения (2.5 В).¹⁸

Обзор суммирует наиболее значительные достижения в области биосепарации и биоанализа, а также культивирования клеток животных и инженерии тканей с использованием «умных» композиционных материалов и устройств. Несмотря на растущее число исследований в этой области, в них, как правило, не рассматриваются физико-химические особенности поведения привитых полимеров, параметры их взаимодействия с растворителем, а также особенности связывания биомакромолекул со смарт-полимерными покрытиями, смарт-полимерами как таковыми и диссоциация образующихся комплексов. Между физико-химическими исследованиями смарт-полимеров и их применением в биоматериалах существует определенный разрыв, поэтому при реализации управляемых адсорбционных и адгезионных взаимодействий этих материалов с биомакромолекулами и клетками доминирует эмпирический подход. Попытки интегрировать полученные практические результаты в сложившуюся систему представлений о взаимодействии белков и биологических клеток с синтетическими полимерами принимаются редко. Это отмечено в подробно рассмотренной ниже работе¹⁹.

Теоретическое описание конформационных переходов в привитых полимерных слоях, как правило, опережает получение экспериментальных данных, и, следовательно, требуется хотя бы приблизительное сопоставление результатов работ, полученных разными методами и опубликованных разными авторами. Временной интервал, включающий эти работы, довольно широк — от 80-х годов прошлого столетия до настоящего времени. Следует отметить, что многие результаты двадцатилетней давности вовсе не утратили своей значимости, способствуют лучшему пониманию поверхностных явлений с участием смарт-полимеров и заслуживают внимательного рассмотрения. Настоящий обзор не претендует на исчерпывающий анализ всего многообразия структур и свойств смарт-полимерных композитов, но ставит целью комплексное рассмотрение функциональных свойств смарт-полимерных покрытий во взаимосвязи с их структурой и физико-химическими характеристиками, обобщение базовых предсказаний теорий, экспериментальных результатов и основных практических достижений и таким

образом введение читателя в эту интенсивно развивающуюся область науки и техники.

II. Основные виды смарт-полимеров и ключевые достижения в области биофункциональных смарт-полимерных композитов

«Умные», или смарт-полимеры — водорастворимые высокомолекулярные соединения, способные обратимо изменять свое агрегатное состояние, переходя из гидрофильной (растворимой) в гидрофобную (нерастворимую) форму в ответ на небольшие изменения температуры, pH либо состава водного раствора.^{16, 20} Кроме того, к «умным» часто относят нерастворимые в воде полимеры с фотохромными и электрохромными свойствами,^{21, 22} а также полимеры, восприимчивые к изменению внешних условий. Наиболее известными водорастворимыми «умными» полимерами являются поли(*N*-изопропилакриламид) (PNIPAA),²³ поли(*N*-винилкапролактан) (PVCL) и полимеры некоторых других *N*-замещенных виниламидов,^{24–26} а также блок-сополимеры полиэтиленоксида (PEO) и полипропиленоксида (PPO) типа PEO–PPO–PEO (в частности, Pluronic^(R))^{27, 28} и полипептиды с повторяющимися аминокислотными последовательностями VPGVG, характерными для эластинов — белков соединительной ткани млекопитающих.²⁹

Указанные фазовые переходы происходят в воде в весьма узких интервалах температуры: в пределах одного градуса Цельсия для PNIPAA (при 32°C) и эластиноподобных полипептидов (при 28°C). Сшитые смарт-полимеры образуют гели, также способные к обратимым переходам из набухшего в коллапсированное состояние.^{30, 31} Кроме того, смарт-полимеры могут быть привиты или адсорбированы на твердые поверхности, которые вследствие этого приобретают способность значительно изменять свои физико-химические свойства (в первую очередь смачиваемость и адсорбционную активность) в ответ на небольшие изменения внешних условий.

Такие материалы впервые были разработаны и изучены группой исследователей под руководством профессора Окано (Япония) в 1990-е годы. Позднее эти разработки были многократно воспроизведены в различных вариантах и усовершенствованы как той же научной группой, так и многими другими. Основным открытием Окано с соавт. была возможность адгезии, роста и культивирования клеток животных на носителях, химически модифицированных щетками PNIPAA, при температурах, превышающих температуру конформационного перехода привитого полимера. Более того, оказалось, что при понижении температуры полученные культуры клеток можно отделять от поверхности PNIPAA-содержащих носителей с сохранением жизнеспособности в значительно большей степени, чем при традиционной обработке трипсином и этилендиаминтетрауксусной кислотой (EDTA).³² Впоследствии аналогичным образом были культивированы различные виды клеток животных, в частности эпителиальные клетки роговицы глаза, которые образовывали конfluenceнтные моно- и поли-слойные культуры; в этом виде они могли быть отделены от носителя посредством конформационного перехода привитого PNIPAA и далее использоваться для пересадки пациентам с поврежденной роговицей.³³ Описаны и другие виды клеток, культивированных подобным образом и пересаженных в живые организмы с целью восстановления поврежден-

[†] В настоящем обзоре мы используем оба термина по причине распространения прилагательного «смарт-полимерный» (реагент, комплекс, композит и т.п.).

ных тканей.³⁴ В работе³⁵ изучено культивирование гибридом в гидрогелях, полученных путем термоосаждения PVCL.

Авторы исследования³⁶ использовали твердые носители, содержащие на поверхности привитые смарт-полимеры, для разделения различных линий клеток животных. Специфические антитела адсорбировали при 37°C на поверхность полипропиленовой мембраны, модифицированной привитым PNIPAA, которая затем контактировала с суспензией клеток двух различных линий. После отмывки неспецифически связанных клеток отделение специфически связанных достигалось при 10°C, т.е. в условиях набухания привитого полимера. В работе⁸ продемонстрирована возможность специфической адгезии клеток животных за счет образования комплексов между их поверхностными гликопротеинами и боронатсодержащими полимерами, в том числе привитыми на твердые носители. Возможность высвобождения клеток путем их конкурентного элюирования моносахаридами или вследствие сдвига pH может стать основой новых методов разделения и культивирования клеток.

Одно из первых применений поверхностно-связанных смарт-полимеров в области выделения и очистки белков описано в работе³⁷: контролируя конформационные переходы PVCL, адсорбированного на Сефарозе, содержащей краситель Cibacron Blue 3G, можно управлять процессами сорбции и десорбции фермента лактатдегидрогеназы. Фермент и PVCL связываются с указанным красителем, поэтому переход адсорбированного PVCL из состояния связанных с поверхностью глобул (при 40°C) в состояние набухших и более мобильных клубков (при 23°C) приводит к десорбции специфически связанного фермента за счет конкурентного взаимодействия PVCL с красителем. В частности, выделение лактатдегидрогеназы из экстракта мышечной ткани путем описанного температурно-контролируемого элюирования происходило с 90%-ным сохранением активности фермента при 17-кратной очистке от прочих белков. Впоследствии получили распространение методы металлохелатной аффинной преципитации белков с использованием смарт-полимерных реагентов.³⁸

Влияние температуры на хроматографическое удерживание стероидных лекарственных препаратов, производных аминокислот и пептидов на силикагелях, модифицированных щетками PNIPAA, и сополимеров NIPAA изучено в серии работ Каназавы с соавт.^{39, 40} Повышение температуры, вызывающее дегидратацию PNIPAA и конформационный переход в полимерных щетках, приводит к возрастанию удерживания указанных сорбатов, что дает уникальную возможность хроматографического анализа фенилтиогидантоиновых производных аминокислот в чисто водной (бессолевой) среде с применением градиента температуры.⁴⁰ Температурно-контролируемая адсорбция белков в микрофлюидных схемах с использованием поверхности, химически модифицированной привитым слоем PNIPAA со средней толщиной 4 нм, позволила концентрировать и запрограммированно высвобождать белки путем локального изменения температуры микроскопических фрагментов этих схем.¹¹ Данный принцип был реализован на примере управляемой адсорбции – десорбции конъюгатов стрептавидина и PNIPAA, способных связываться с иммунными комплексами, а затем при нагревании адсорбироваться на PNIPAA-содержащей поверхности микрофлюидной схемы.⁴¹

Приведенные выше примеры иллюстрируют широкий диапазон реальных и возможных применений поверхностно-привитых смарт-полимеров в медицине, препаративной биохимии и микрометодах биоанализа. В связи с этим структура, свойства и поведение привитых слоев смарт-

полимеров оказались предметом как теоретических, так и экспериментальных фундаментальных исследований.

III. Моделирование структуры полимерных щеток при конформационных переходах

Полимерными щетками называют ансамбли полимерных цепей, присоединенных к твердой или иной поверхности через концевые группы и расположенных настолько близко друг к другу, что соседние цепи вступают во взаимодействие и принимают более вытянутую форму по сравнению с такими же цепями в свободном растворе.^{42, 43} Теоретическому моделированию равновесных структур полимерных щеток и их конформационных переходов при изменении параметра взаимодействия полимера с растворителем посвящено множество исследований,^{44–46} выполненных в значительной мере в России (см. работы Бириштейн с соавт.).

В данном разделе изложены базовые представления о структуре и поведении полимерных щеток, имеющие большое значение для понимания механизмов управляемой адсорбции и адгезии биополимеров и клеток. Рассмотрим простейшую модель электронейтральной полимерной щетки, расположенной на плоской поверхности и состоящей из цепей толщиной a , равной длине мономерного звена, со степенью полимеризации n и площадью поверхности, приходящейся на одну цепь, $a^2\sigma$, где величина $\sigma > 1$ равна отношению средней площади, приходящейся на одну цепь, к толщине цепи.^{45, 46} Структурные характеристики привитых полимерных слоев получены в этих работах в соответствии с теорией Флори–Хаггинса, базирующейся на представлении свободной энергии цепи в привитом слое в виде суммы двух слагаемых

$$\Delta F = \Delta F_{el} + \Delta F_{conc}$$

где ΔF_{el} — свободная энергия эластичной деформации, ΔF_{conc} — свободная энергия взаимодействия звеньев цепи с окружающей средой. Поскольку ΔF_{el} и ΔF_{conc} являются функциями n , σ , толщины слоя H и параметра Флори–Хаггинса χ , минимизация ΔF по H приводит к следующим асимптотическим выражениям для равновесной величины H в разных растворителях:

в хорошем растворителе

$$H \sim n^{3/5} \left(\frac{1}{2} - \chi \right)^{1/5}, \quad \chi > \frac{1}{2} \quad (1)$$

в тета-растворителе

$$H \sim n^{1/2}, \quad \chi = \frac{1}{2} \quad (2)$$

в плохом растворителе

$$H \sim n^{1/3} \left(\chi - \frac{1}{2} \right)^{-1/3}, \quad \chi < \frac{1}{2} \quad (3)$$

В простейшем случае изолированных цепей их размеры совпадают с размерами свободных цепей в растворе при том же значении χ . Отметим, что теории, рассмотренные в работах^{45, 46}, не учитывают взаимодействия цепей с несущей поверхностью, так что распластывания цепей за счет адсорбции их сегментов на поверхность в рамках данных моделей не происходит. Это накладывает некоторые ограничения на их предсказательную силу, поскольку изолированная цепь теоретически почти полностью распластывается на адсорбирующей поверхности уже при небольшой свободной энергии

связывания мономерного звена: $2kT$ и выше.⁴⁹ Впрочем, реальные системы могут характеризоваться толщинами слоев в десятки нанометров, что значительно превышает толщину цепи даже при очень низких равновесных концентрациях полимеров ($0.01 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$).⁵⁰

Чтобы перейти от асимптотических решений к более реалистичным и представить зависимости H от χ в виде непрерывной функции при разных значениях n , авторы работы⁵¹ ввели в приведенные выше выражения для H в хорошем и плохом растворителях коэффициенты пропорциональности $k_1 = 1.5$, $k_2 = 0.7$ соответственно

$$H \approx k_1 n^{3/5} \left(\frac{1}{2} - \chi \right)^{1/5}, \quad \chi < \frac{1}{2} \quad (4)$$

$$H \approx k_2 n^{1/3} \left(\chi - \frac{1}{2} \right)^{-1/3}, \quad \frac{3}{5} > \chi > \frac{1}{2} \quad (5)$$

позволяющие при $\chi \approx 0.5$ получить значения H , близкие к асимптотическому решению, которое дает выражение (2) для тета-растворителя,

$$H \approx n^{1/3} \left(\chi - \frac{1}{2} \right)^{-1/3}, \quad \chi > \frac{3}{5} \quad (6)$$

Зависимости H от n , полученные с использованием приведенных коэффициентов, представлены на рис. 1. Как видно, изменения толщины привитого полимерного слоя при переходе от плохого растворителя к хорошему наиболее выражены для цепей с высокой степенью полимеризации. Примечательно также, что переход полимерного слоя из плохого растворителя в тета-растворитель ($\chi = 0.5$) сопровождается относительно небольшим ростом равновесной толщины слоя H , в то время как при переходе в растворитель с $\chi = 0.4$ значение H увеличивается намного больше.

Конформационные переходы плотно расположенных привитых цепей, образующих полимерную щетку, гораздо сложнее. В тета-условиях критерий перекрывания и взаимодействия соседних цепей определяется неравенством

$$\frac{n}{\sigma} > 1 \quad (7)$$

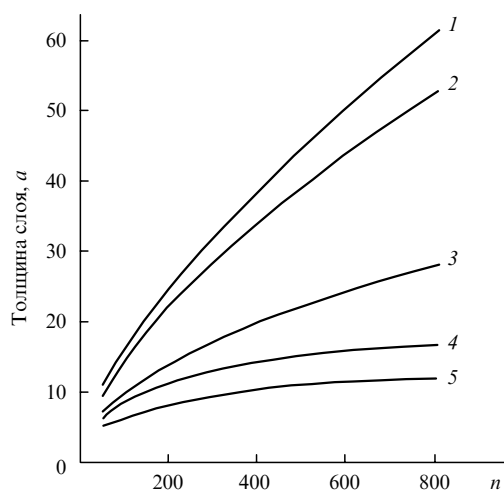


Рис. 1. Зависимости толщины привитого полимерного слоя (в единицах толщины цепи a) от степени полимеризации для не взаимодействующих друг с другом цепей при различных χ .⁵¹ χ : 1 — 0.3, 2 — 0.4, 3 — 0.5, 4 — 0.55, 5 — 0.9.

Для отношения равновесной толщины щетки H к контурной длине цепи L были получены следующие зависимости от χ и σ :⁴⁵

$$\frac{H}{L} \sim \sigma^{-1/3} \left(\frac{1}{2} - \chi \right)^{1/3}, \quad \chi < 0.5 \quad (8)$$

$$\frac{H}{L} \sim \sigma^{-1/2}, \quad \chi = 0.5 \quad (9)$$

$$\frac{H}{L} \sim \sigma^{-1} \left(\chi - \frac{1}{2} \right)^{-1}, \quad \chi > 0.5 \quad (10)$$

В этом случае для описания H/L в виде непрерывной функции от χ и от σ необходимо ее представить в виде линейных комбинаций функций (8)–(10) для каждой из областей значений χ и подобрать соответствующие коэффициенты пропорциональности, обеспечивающие как непрерывность самой функции, так и ее производной (это необходимо для получения плавной зависимости H/L от χ , предсказанной теорией⁴⁵). Авторами работы⁵¹ получены следующие функции H/L для трех областей значений χ :

$$\frac{H}{L} \approx k_3 \left[\sigma^{-1/3} \left(\frac{1}{2} - \chi \right)^{1/3} + k_4 \sigma^{-1/2} \right], \quad \chi < 0.45 \quad (11)$$

$$\frac{H}{L} \approx \sigma^{-1/2} + (1 - k_5 \sigma) \left(\frac{1}{2} - \chi \right), \quad 0.6 > \chi > 0.45 \quad (12)$$

$$\frac{H}{L} \approx k_6 \left[\sigma^{-1} \left(\chi - \frac{1}{2} \right)^{-1} + k_7 \sigma^{-1/2} \right], \quad \chi > 0.6 \quad (13)$$

Отметим, что приведенные приближенные выражения (11)–(13) не дают идеального совпадения при всех n и σ в точках $\chi = 0.45$ и 0.6 , но в целом описывают конформационные переходы в соответствии с предсказаниями теории,⁴⁵ дают возможность представить себе общие закономерности этих переходов и справедливы в пределах $100 > \sigma > 6$ и $1 > \chi > 0$. Найденные коэффициенты пропорциональности имеют следующие значения: $k_3 = 1.3$, $k_4 = 0.4$, $k_5 = 3.6 \cdot 10^{-3}$, $k_6 = 0.16$, $k_7 = 1.2$.

Графики зависимостей относительной толщины полимерного слоя, образованного перекрывающимися цепями, от σ при различных значениях χ приведены на рис. 2, а от χ — на рис. 3. В указанном полимерном слое взаимодействие между сегментами различных цепей приводит к их вытягиванию относительно гауссовой конформации статистического клубка не только в хороших, но и в плохих растворителях. В результате конформационный переход выражен слабее, чем в изолированном клубке, и происходит в более широком интервале значений χ , сдвинутом в область $\chi > 0.5$. При высоких плотностях прививки эти эффекты усиливаются (см. рис. 2).

Следует отметить, что теории, рассмотренные в работах^{44–47}, разработаны прежде всего для описания конформационных переходов в полимерах, растворимых или набухающих в органических растворителях; в них параметр Флори–Хаггинса, как правило, возрастает с понижением температуры, а термодинамическое качество растворителя соответственно ухудшается. В этом случае теория предсказывает постепенное сжатие полимерной щетки как единого целого без вертикальной или латеральной сегрегации на отдельные области с большей и меньшей концентрацией полимера. В результате сжатия в плохом растворителе полимерные

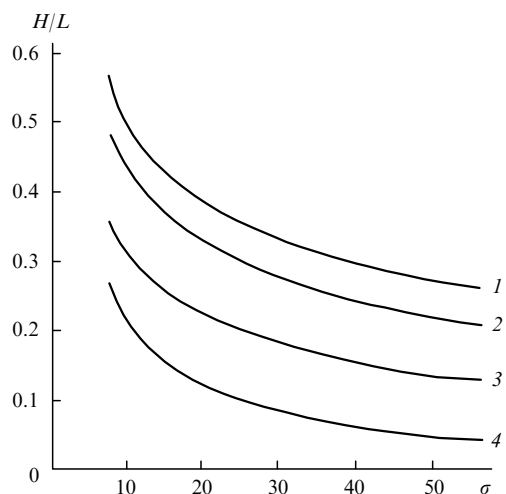


Рис. 2. Зависимости относительной толщины привитого полимерного слоя от отношения средней площади, приходящейся на одну цепь, к толщине цепи для взаимодействующих друг с другом цепей.⁵¹
 χ : 1 — 0.3, 2 — 0.4, 3 — 0.5, 4 — 0.6.

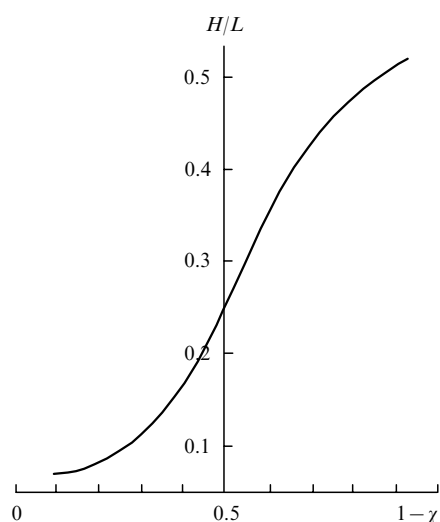


Рис. 3. Зависимость относительной толщины привитого полимерного слоя от параметра Флори–Хаггинса для взаимодействующих друг с другом цепей при $\sigma = 16$.⁵¹

слои станут непроницаемыми для потока растворителя, т.е. теоретически их проницаемостью можно управлять путем изменения термодинамического качества растворителя.^{42,47}

Существенно иную картину представляют собой конформационные переходы в полимерных щетках, образованных смарт-полимерами в водных средах. В этом случае параметр Флори–Хаггинса сначала увеличивается постепенно с повышением температуры, а затем скачкообразно. Для описания переходов в щетках, образованных смарт-полимерами, применяют модель «двух состояний», согласно которой мономерные звенья полимера существуют одновременно в неассоциированной гидратированной форме и в форме гидрофобных кластеров из нескольких звеньев.⁵² Эти формы находятся в равновесии, чем указанная модель отличается от рассмотренных выше моделей,^{42–47} в которых все мономер-

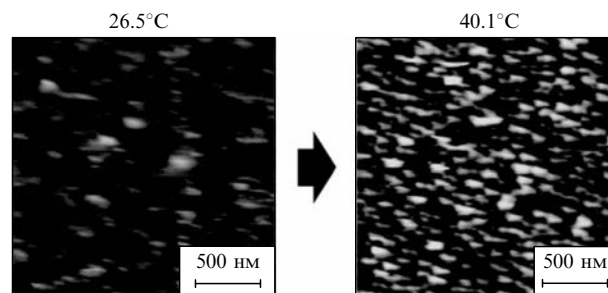


Рис. 4. АСМ-Изображения микроструктуры поверхности кремниевой пластинки, модифицированной привитым PNIPAA, полученные в водной среде в полуконтактном режиме.⁵⁵

ные звенья считались одинаковыми. Кроме того, анализируемая модель⁵² рассматривает зависимость эффективного значения χ не только от температуры, но и от объемной доли полимера в щетке; зависимость эффективного значения χ от концентрации растворимого полимера была экспериментально найдена как для PEO–PPO–PEO, так и для PNIPAA.⁵³ Одним из основных предсказаний теории⁵² является бимодальное распределение объемной доли полимера по нормали к поверхности, зависящее от χ и σ . Кроме того, при высоких значениях χ и σ может происходить латеральная сегрегация привитого полимера с образованием концентрированных мицеллоподобных структур, разделенных промежутками с относительно низкой концентрацией полимера.⁵⁴

Эти предсказания получили качественное экспериментальное подтверждение в работе⁵⁵, в которой прививку высокомолекулярного PNIPAA на кремниевые пластинки проводили путем свободнорадикальной полимеризации, намеренно достигая невысоких поверхностных плотностей привитого полимера. С помощью метода атомно-силовой микроскопии (АСМ) показано, что при 26.5°C слой привитого PNIPAA является в основном однородным, а при 40°C приобретает выраженную ячеистую структуру с эффективным размером агрегатов полимерных цепей ~ 100 нм (рис. 4). Такой структурный переход, сопровождающийся дегидратацией слоя привитого полимера и изменением его массы, был независимо зарегистрирован методом пьезоэлектрического микровзвешивания. Выводы теории⁵² о бимодальном распределении объемной плотности сегментов PNIPAA подтверждены в работе⁵³.

Отметим еще раз, что вычисления, проведенные авторами работы⁵¹, являются приблизительными и служат в основном для иллюстрации выводов ранних теоретических работ. Несмотря на это, они обладают некоторой предсказательной силой, что показано в следующих разделах данного обзора. Подробное строгое теоретическое описание фазовых переходов в смарт-полимерных и полиэлектролитных щетках изложено в публикациях^{52,54,56} (см. также библиографию в обзоре⁵⁴).

IV. Параметры Флори–Хаггинса, размеры полимерных клубков и их зависимости от температуры для некоторых смарт-полимеров

Для того чтобы представить себе, какие температурные интервалы больше всего подходят для реализации управляемых конформационных переходов в гидратированных полимерных щетках, рассмотрим некоторые экспериментальные работы по определению параметра Флори–Хаггинса в вод-

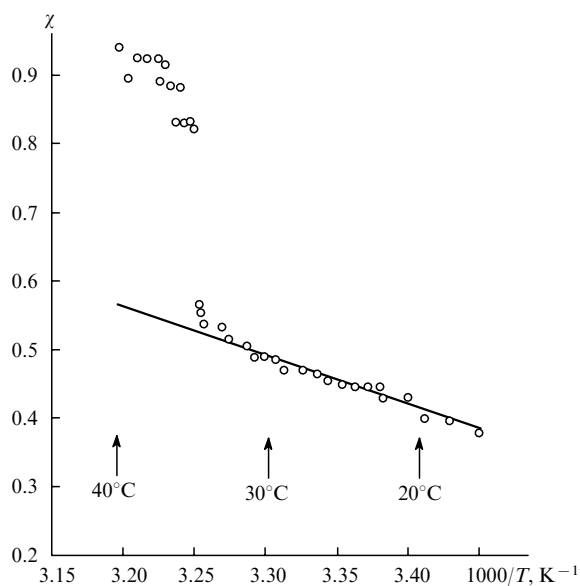


Рис. 5. Температурная зависимость параметра Флори–Хаггинса для гидрогеля PNIPAA.⁵⁷

ных растворах «умных» полимеров и гидрогелей. Зависимость χ от температуры для PNIPAA была получена при изучении набухания геля этого полимера в воде. Зависимость χ от $1/T$ близка к линейной при $\chi < 0.55$, что соответствует интервалу температур от 15 до 35°C, проходит через тета-условия при 31.5°C и претерпевает «разрыв» при 35°C, а затем резко возрастает до значений $\chi = 0.8–0.9$ (рис. 5).⁵⁷ Возвращаясь к рис. 1 и 2, отметим, что для достижения существенного набухания щетки PNIPAA ($\chi = 0.4$) требуется температура $\sim 21^\circ\text{C}$, т. е. значительно ниже температуры фазового перехода растворимого полимера.

Фазовый переход растворимого высокомолекулярного PNIPAA (с молекулярной массой (M) в интервале от $1.6 \cdot 10^6$ до $25 \cdot 10^6$ г·моль⁻¹) изучен методами статического и динамического светорассеяния при низких концентрациях полимера (~ 13 мг·л⁻¹).^{58,59} Было найдено, что с повышением температуры от 20 до 30.5°C размеры набухших полимерных клубков постепенно уменьшаются и приходят к тета-условиям при 30.6°C.⁵⁹ Выше этой температуры и гидродинамический радиус клубков, и радиус их вращения резко уменьшаются, гидрофобность цепей возрастает и одновременно увеличиваются пространственные флуктуации концентрации полимера (Δc), происходящие за счет ассоциации и диссоциации его цепей. Это приводит к увеличению интенсивности светорассеяния, которое пропорционально среднеквадратичной флуктуации концентрации $\langle \Delta c^2 \rangle$.⁶⁰ Фазовый переход PNIPAA изучен также методом дифференциальной микрокалориметрии, причем точка максимума эндотермы, определяющая нижнюю критическую температуру растворимости (НКТР), располагалась при 32.2°C, что соответствовало начальному участку температурной зависимости интенсивности светорассеяния.⁶¹ При температурах выше НКТР ассоциация полимерных цепей становится ярко выраженной, происходит образование субмикрометровых частиц нерастворимого полимера, которые затем флокулируют с образованием осадка. Точка перегиба на температурной зависимости светорассеяния (или поглощения света) может быть названа точкой флокуляции, по аналогии с точкой флокуляции субмикрометровых частиц шитого PNIPAA.⁶²

Температурные зависимости гидродинамического радиуса клубков и светорассеяния растворов полимеров изучены и для другого смарт-полимера — поли(*N*-винил-капролактама) с M от 10^5 до $23 \cdot 10^5$ г·моль⁻¹ (см.⁶³). Аналогично температурным зависимостям, полученным для PNIPAA, гидродинамический радиус клубков высокомолекулярного PVCL в воде уменьшается с повышением температуры, проходит через тета-условия при 29.3°C и далее уменьшается вплоть до НКТР (31.0°C); при этой температуре происходит фазовый переход (рис. 6). При этом интенсивность светорассеяния резко возрастает вследствие ассоциации клубков и образования нерастворимых частиц.

Примерно такие же закономерности найдены и в работе⁶⁴ для PVCL с $M = 4 \cdot 10^6$ г·моль⁻¹. В работе⁶⁵ обнаружено что нижняя критическая температура растворимости PVCL, определенная методом микрокалориметрии, увеличивается с уменьшением молекулярной массы с 31°C ($M = 1.5 \cdot 10^7$ г·моль⁻¹) до 37.5°C ($M = 21 \cdot 10^3$ г·моль⁻¹), что особенно заметно при изучении PVCL с небольшими молекулярными массами. Также установлено, что PVCL, как и PNIPAA с заряженными концевыми группами, образует при температуре выше НКТР стабильные коллоидные суспензии; это свидетельствует о гидрофильном характере их поверхности. При кажущемся сходстве фазовых переходов в PNIPAA и PVCL температурная зависимость удельной теплоемкости для PNIPAA в области фазового перехода резко возрастает до более высоких значений (18 Дж·г⁻¹·К⁻¹) по сравнению с аналогичной зависимостью для PVCL (3 Дж·г⁻¹·К⁻¹), к тому же она распространяется в область более высоких температур. При этом изменение объема водного раствора, наблюдаемое при фазовом переходе, также больше в случае PNIPAA. Это свидетельствует о большем количестве воды, связанной с указанным полимером, поэтому для разрушения гидратирующей оболочки потребуется больше энергии и при этом высвободится большее число молекул воды.⁶⁵ Слабее гидратированный PVCL имеет более высокий по сравнению с PNIPAA параметр Флори–Хаггинса ($\chi = 0.52$, найден при 20°C для гидрогеля PVC, шитого бис(*N*-винилпирролидоновым) реагентом, 1%

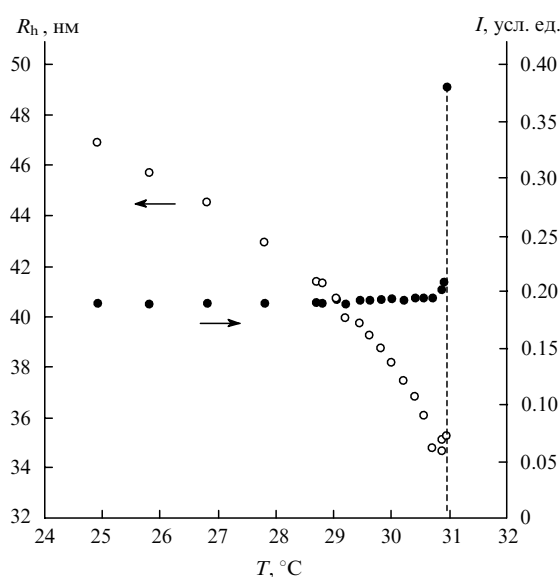


Рис. 6. Температурные зависимости гидродинамического радиуса клубков PVCL (R_h) и интенсивности светорассеяния (I) его водного раствора.⁶³

от количества мономера).⁶⁶ В отличие от резкого сжатия геля PNIPAA при повышении температуры (см. рис. 5), гель PVCL сжимается постепенно, что отражается на изменении степени набухания от ~ 2 при 20°C до ~ 0.3 при 60°C.⁶⁶ Более полное гидратирование макромолекул PNIPAA и связанные с этим резкие фазовые переходы растворимого полимера, по-видимому, стали одной из причин широких исследований PNIPAA и в поверхностно-привитом состоянии.

V. Температурно-зависимые переходы в поверхностно-привитых смарт-полимерах: физико-химические характеристики

Систематическое исследование конформационных переходов поверхностно-связанного PNIPAA началось в 90-х годах прошлого века в связи с обнаруженным влиянием этих переходов на адгезию, культивирование и высвобождение клеток животных.^{32–34} Плоские стеклянные пластинки последовательно обрабатывали растворами диметилдихлорсилана и сополимера стирола с аминотетраметилстиролом (78 : 22 мол.%) для введения в состав носителя аминотетраметильных групп. После этого к полученной поверхности химически присоединяли либо PNIPAA с концевой карбоксильной группой ($M = 13200 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}$), либо сополимер NIPAA и акриловой кислоты (97 : 3 мол.%), в обоих случаях в присутствии водорастворимого карбодимида в качестве конденсирующего реагента.³²

Смачивание PNIPAA-модифицированных поверхностей водой исследовали, измеряя краевые углы смачивания при разных температурах. Полученные зависимости наступающего и отступающего углов смачивания представлены на рис. 7. Как видно, оба способа присоединения полимера приводили к получению поверхности со смачиваемостью, сильно зависящей от температуры в интервале 20–30°C, т.е. несколько ниже температуры фазового перехода PNIPAA (32°C). По мнению авторов настоящего обзора, сдвиг температуры конформационного перехода поверхностно-привитых полимеров объясняется их адсорбционным взаимодей-

ствием с гидрофобным подслоем полистирола, характеризующимся углом смачивания 80° (см.⁶⁷). В условиях относительно слабого гидратирования PNIPAA ($\chi = 0.45–0.5$), соответствующего температурам 25–30°C (см. рис. 5), полимер может адсорбироваться на полистироле за счет гидрофобных взаимодействий, так что для его десорбции необходимы условия $\chi < 0.4$, отвечающие более полному гидратированию цепей и достижимые при $T < 20^\circ\text{C}$.

Отметим, что значение наступающего краевого угла смачивания «чувствительно» к наличию на поверхности гидрофобных фрагментов, а отступающего угла — гидрофильных фрагментов,⁶⁸ поэтому очень слабая температурная зависимость отступающего угла (см. рис. 7) означает присутствие гидратированного полимера во всем изученном интервале температур, что согласуется с гидрофильным характером суспензий PNIPAA выше НКТП.⁶⁵ С учетом этого возрастание наступающего угла при повышении температуры можно объяснить в основном появлением обнажений гидрофобного полистирольного подслоя в результате переориентации и агрегации цепей PNIPAA. Обсуждая различный характер зависимостей на рис. 7, авторы статьи⁶⁷ сделали вывод, что многоточечное присоединение сополимера NIPAA–акриловая кислота затормаживает дегидратацию полимера и агрегацию его цепей.

На наш взгляд, можно частично согласиться лишь со второй частью этого утверждения. Теоретическое рассмотрение адсорбции изолированной цепи путем необратимого связывания сегментов предсказывает ее почти полное распластывание на твердой поверхности с образованием некоторого количества коротких петель,⁴⁹ которые малоподвижны, а потому не подвержены агрегации. В более реалистичной поэтапной адсорбции многих цепей макромолекулы, адсорбированные на поздних стадиях, образуют большие петли и «хвосты», непосредственно не контактирующие с твердой поверхностью, плотно покрытой цепями, адсорбированными на первых стадиях. При этом количество длинных сегментов невелико и уменьшается пропорционально величине $s^{-11/5}$, где s — длина петли.⁶⁹ Эти сегменты могут агрегировать с короткими петлями. Наличие реакционно-способных групп в петельных и хвостовых сегментах хемосорбированных цепей получило экспериментальное подтверждение.^{2, 70, 71} По всей видимости, многоточечное связывание полимера при хемосорбции приводит к более плотному покрытию поверхности, чем присоединение за концевую группу, и характеризуется ограниченной подвижностью прилегающих к ней цепей, так что обратимое обнажение субмикрометровых участков гидрофобного подслоя становится менее вероятным (рис. 8).

При изучении конформационных переходов PNIPAA, привитого через концевую группу путем фотоиницированной полимеризации с использованием инициаторов, методом АСМ найдено,⁷² что в результате таких температурно-зависимых переходов изменяются как эффективная толщина привитого полимерного слоя, так и его микромеханические свойства. Это согласуется с результатами публикации⁷³, авторы которой исследовали температурные зависимости модуля упругости в слабосшитых гелях PNIPAA. В интервале температур 30–34°C при содержании сшивателя 2.4 мол.% модуль упругости резко возрастал от 10 кПа до ~ 1 МПа. При содержании сшивателя 4.8 мол.% указанный переход имел место при более низких температурах (24–30°C), причем модуль упругости достигал ~ 10 МПа при $T > 32^\circ\text{C}$.

В работе⁷⁴ прививка PNIPAA на золотые пластинки была осуществлена методом радикальной полимеризации с пере-

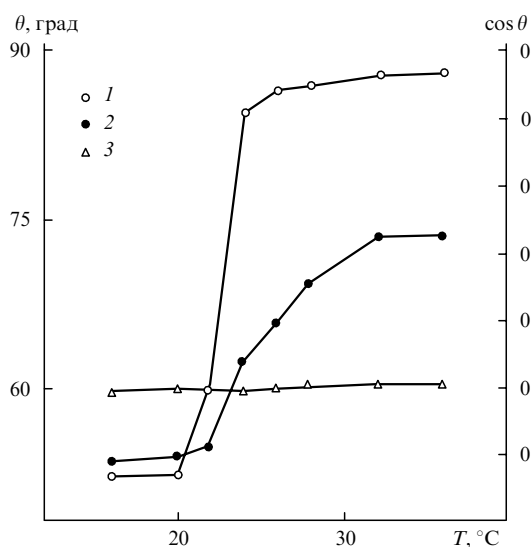


Рис. 7. Температурные зависимости наступающих углов смачивания поверхностей, химически модифицированных PNIPAA путем прививки за концевую группу (1), многоточечного связывания (2), и отступающего угла в случае прививки за концевую группу (3).⁵¹

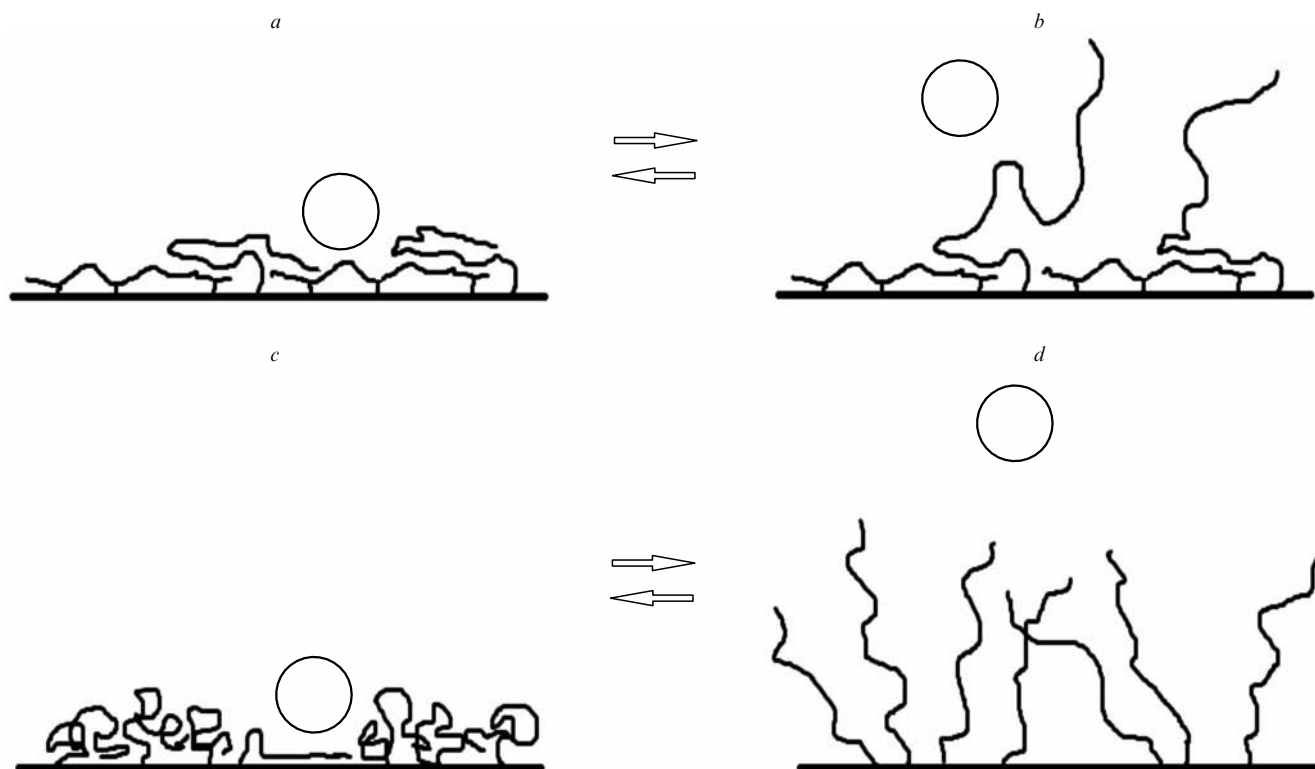


Рис. 8. Схема конформационных переходов в смарт-полимерах, химически адсорбированных на поверхности (*a, b*) и привитых через концевую группу (*c, d*).

Высокая подвижность привитых цепей (*c, d*) и их способность к ассоциации друг с другом способствуют частичному обнажению гидрофобных фрагментов поверхности носителя при повышенных температурах и создают возможность терморегулируемой адсорбции белков (*c*). Поверхностно-фиксированные сегменты цепей, сильно распластанных в хемосорбционных слоях (*a, b*), защищают белки от прямого контакта с носителем, а конформационные переходы редких длинных петель и хвостов, находящихся в тех же слоях, влияют на адсорбцию белков в малой степени. Кругом обозначено расположение макромолекулы белка.

носом атома (ATRP) с получением слоев привитого полимера толщиной в несколько десятков нанометров. Поверхностно-иницирированная полимеризация NIPAA приводила к образованию полимерных щеток. Характерной особенностью метода ATRP является равновесие между активной формой растущих макрорадикалов и их неактивной формой — карбоцепным полимером, содержащим концевой атом галогена, при том что равновесие сдвинуто в сторону неактивной формы. Под действием восстанавливающего комплекса переходного металла (обычно одновалентной меди) указанный алкилгалогенид превращается в растущий макрорадикал, легко переходящий обратно в неактивную форму.⁷⁵ Вследствие этого, во-первых, мала вероятность рекомбинации радикалов, и, во-вторых, образующиеся полимерные цепи имеют примерно одинаковую длину, поскольку растущие макрорадикалы переходят из активной в неактивную форму с одинаковой частотой. Благодаря этому поверхностно-иницирированная радикальная полимеризация с переносом атома обычно приводит к образованию однородных полимерных щеток с малыми вариациями толщины.⁷⁶ Исследование щеток PNIPAA методом АСМ в водной среде показало уменьшение их толщины от 29 до 11 нм при повышении температуры от 25 до 35°C.⁷⁴

Аналогичный подход к синтезу привитого PNIPAA применен для получения щеток с варьируемой молекулярной массой и плотностью прививки цепей на стеклянные пластинки с напыленным слоем золота.⁷⁷ Полимерный слой утолщался с увеличением количества иммобилизованного эфира бромизомасляной кислоты — источника инициирую-

щих полимеризацию радикалов. Путем варьирования этой величины были получены полимерные щетки с разной плотностью прививки PNIPAA и средней площадью, приходящейся на цепь, от 2.3 до 19 нм². Полимерные щетки различной толщины (от 10 до 97 нм), полученные при максимальной плотности прививки, характеризовались разными углами смачивания — от 66 до 83° при 25°C. При повышении температуры в области 29–33°C все привитые слои показывали ступенчатое увеличение угла смачивания всего на 5–10°, связанное с дегидратацией и конформационными переходами в PNIPAA. То, что термочувствительность покрытия была выражена относительно слабо (см. для сравнения рис. 7), можно объяснить его высокой плотностью и однородностью, а следовательно, малой доступностью алкантиольного подслоя для смачивания водой.

Существенные различия в микромеханическом и адгезивном поведении щеток PNIPAA при температурах выше и ниже температуры фазового перехода этого полимера зарегистрированы путем измерения сил отталкивания между пластинками с привитым PNIPAA и параллельно расположенными пластинками слюды, т.е. методом поверхностно-силовой микроскопии (рис. 9). При температуре 26°C силы отталкивания возникают на расстояниях ~250 нм, соответствующих контурной длине цепей PNIPAA ($M = 26\,3000\text{ г}\cdot\text{моль}^{-1}$) и намного превышающих толщину сухого привитого слоя (125 нм). Это указывает на значительное набухание полимера в воде при 26°C. Дальнейшее сближение параллельных поверхностей приводило к постепенному увеличению сил отталкивания и к их резкому росту

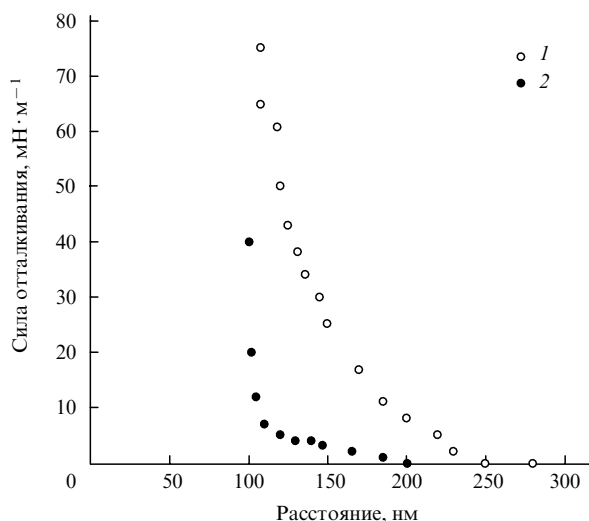


Рис. 9. Зависимости сил отталкивания между щеткой PNIPAA и параллельно расположенной пластинкой слюды от расстояния между ними при 26 (1), 36°C (2).⁷⁷

на расстояниях ~ 120 нм. При температуре 36°C характер зависимости сил отталкивания от расстояния между пластинками принципиально иной (см. рис. 9): они мало выражены на расстояниях 120–250 нм, но очень резко возрастают на расстояниях < 105 нм. Это вызвано тем, что привитой полимер дегидратирован, имеет компактную структуру, количество сегментов, экспонированных в раствор за пределы данной компактной структуры, невелико, поэтому они не оказывают сопротивления сближению пластинок. При дальнейшем уменьшении расстояния соприкосновение слюдяной пластинки с плотным слоем коллапсированного полимера сопровождается резко нарастающим отталкиванием. Описанный эксперимент был проведен при максимальной плотности прививки PNIPAA и средней площади, приходящейся на цепь, 2.3 нм^2 , что соответствует $\sigma \approx 5$.

Сжатие привитого слоя PNIPAA при повышении температуры от 17 до 37°C регистрировали и методом эллипсометрии в водной среде.⁷⁸ Толщина слоя постепенно уменьшалась от 83 до 50 нм без резкого скачка при температуре фазового перехода растворимого PNIPAA (32°C). При снижении температуры наблюдалось обратимое увеличение толщины привитого слоя. Полученные результаты соответствуют предсказаниям теорий, рассмотренных в работах^{45,46}, об уширении температурного интервала конформационных переходов в слоях привитых полимеров с взаимодействующими цепями. Более того, изменение толщины слоя в 1.5–2.5 раза, найденное в работах^{77,78}, сопоставимо с предсказаниями расчетов⁵¹ для высокой плотности прививки цепей, хотя и несколько ниже теоретических значений: состояния системы с $\chi = 0.45$ и 0.9 при $\sigma = 5$ описываются величинами $H/L = 0.52$ и 0.17, рассчитанными по уравнениям (11) и (13), т.е. соответствуют изменению толщины полимерного слоя в ~ 3 раза. Здесь следует принять во внимание следующее: во-первых, выражения (11) и (13) носят приближительный характер, и, во-вторых, реальные системы характеризуются широкими вариациями значений σ и H/L , что может быть причиной указанных отклонений. Как отмечено выше, силы отталкивания, зарегистрированные в работе⁷⁷, возникали на расстояниях, равных контурной длине цепей, т.е. многие цепи находились в предельно вытянутых (или близких к ним) конформациях.

Детальное исследование структуры привитого слоя PNIPAA проведено в работе⁵³, посвященной изучению конформационных переходов в привитых слоях методом отражения нейтронов. Прививочную полимеризацию на поверхности золотых пластинок проводили методом ATRP. На первой стадии синтеза получали смешанные хемосорбционные монослои додекантиола и 11-сульфанилундекан-1-тиола, взятых в варьируемых соотношениях, проводили ацилирование спиртовых групп с использованием бромангидрида 2-бромпропионовой кислоты, а затем полимеризацию NIPAA в присутствии катализатора и CuBr. В результате были получены привитые слои PNIPAA с молекулярной массой от $13 \cdot 10^3$ до $230 \cdot 10^3 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}$ и плотностью прививки от 0.01 до 0.54 цепи на 1 нм^2 или, соответственно, со средней площадью, приходящейся на цепь, от 100 до 1.9 нм^2 ($\sigma \approx 4$). Распределение сегментов привитого PNIPAA по нормали к поверхности носило бимодальный характер (рис. 10), что соответствует предсказаниям теории.⁵² Повышение температуры в области НКТР поли(*N*-изопропил-акриламида) приводит к дегидратации полимера, его конформационному переходу и сжатию привитого слоя.

Суммируя сказанное выше, можно заключить, что термочувствительность привитых слоев PNIPAA, исследованная с использованием широкого набора физико-химических методов, характеризуется сжатием этих слоев, повышением их жесткости и ухудшением смачиваемости, происходящими с увеличением температуры в интервале, близком к НКТР свободного полимера. Характерно, что наиболее плотные и однородные слои привитых полимеров демонстрируют наименее резкие изменения поверхностных свойств, возможно, в связи с более полным экранированием поверхности твердых носителей. Поэтому, прежде чем переходить к рассмотрению взаимодействий привитых полимерных слоев с белками, обратим еще раз внимание на возможную роль органосилановых или алкантиольных подслоев как в этих взаимодействиях, так и в механизме температурно-зависимых переходов привитого PNIPAA.

Влияние состава органосиланового подслоя на температурные зависимости углов смачивания плоских поверхнос-

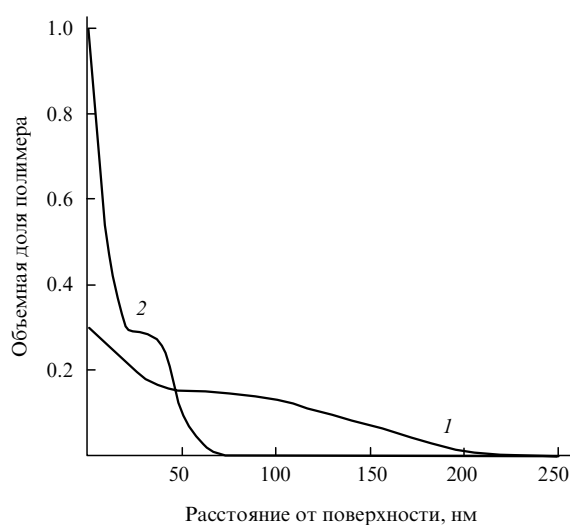


Рис. 10. Объемная доля PNIPAA ($M = 230 \cdot 10^3 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}$), привитого на золотую пластинку, как функция расстояния от поверхности при плотности прививки 0.08 цепи на 1 нм^2 (12.5 нм^2 на цепь, $\sigma \approx 27$) при температурах 20 (1) и 39°C (2).⁵³

тей, несущих привитой PNIPAA, изучено в работе⁷⁹. Кремниевые пластинки одновременно химически модифицировали (3-аминопропил)триметоксисиланом и триметоксисилильным реагентом, содержащим гидрофобный перфторалкильный заместитель. После ацилирования аминопропильных групп бромангидридом бромизомасляной кислоты и проведения прививочной полимеризации NIPAA по механизму ATRP авторы получили набор носителей с разной микро- и наногетерогенностью поверхности, зависящей от соотношения силилирующих реагентов. Вопреки ожиданиям, было найдено, что углы смачивания у поверхностей, содержащих относительно небольшое количество перфторированного модификатора, оказываются меньше, чем у поверхностей, несущих PNIPAA в отсутствие этого модификатора. При этом температурная зависимость угла смачивания оказалась в первом случае гораздо более сильной: угол смачивания изменялся более чем на 50° и всего лишь на 25° в отсутствие модификатора. Характерно, что, как и в работе⁷⁸, конформационный переход привитого PNIPAA происходил в довольно широком интервале температур — от 25 до 40°C. Объясняя полученные результаты, авторы предположили, что в присутствии модификатора привитой PNIPAA ориентируется на поверхности за счет ассоциации гидрофобных фрагментов цепи PNIPAA с перфторалкильными группами, при этом полярные амидные группы экспонируются в водную фазу. При повышении температуры конформационный переход PNIPAA сопровождается ассоциацией цепей привитого полимера между собой и частичным обнажением высокогидрофобного подслоя, аналогично тому, как показано на рис. 4 и в виде схемы на рис. 8(c,d). Это явление следует учитывать при рассмотрении адсорбции белков на PNIPAA-содержащие поверхности, поскольку связывание белков теоретически может происходить как на сегментах привитого дегидратированного PNIPAA, так и на гидрофобном подслое, подобно адсорбции на обращенно-фазовых алкилсилильных или перфторалкильных⁸⁰ сорбентах.

VI. Температурно-зависимые переходы вшитых и поверхностно-привитых смарт-полимерах и их взаимодействие с белками

Взаимодействие синтетических полимеров с белками стало предметом систематических исследований уже в 80-х годах прошлого века в связи с разработкой биоматериалов и имплантатов. Одна из важных практических целей этих работ заключалась в создании материалов с минимальной адсорбционной активностью (высокой инертностью или резистентностью) в отношении широкого набора биополимеров, в первую очередь белков. Главное условие адсорбционной резистентности — отсутствие сильных взаимодействий между молекулами белков и поверхностью синтетического материала в физиологической среде. Электронейтральность полимеров позволяет исключить ионные взаимодействия, а полярность функциональных групп — повысить смачиваемость материала водой, т.е. его гидрофильность, и таким образом снизить свободную энергию поверхности раздела фаз полимер/раствор как движущую силу адсорбции растворенных органических веществ. Для справки: свободная энергия раздела фаз полимер/вода составляет всего 3.7 и 3.1 мДж·м⁻² соответственно для целлюлозы и поливинилового спирта, в то время как для полиэтилена и нейлона она равна соответственно 53 и 42 мДж·м⁻² (см.⁸¹). Адсорбция бычьего сывороточного альбумина из фосфатного буферного раствора (pH 7.4) на поверхности различных электронейтральных органических

материалов существенно возрастает с увеличением свободной энергии раздела фаз.⁸² Для ряда нейтральных полимеров — тефлона, нейлона, поливинилхлорида — обнаружены аналогичные зависимости адсорбции других белков — сывороточного альбумина человека, иммуноглобулинов IgG и IgM, α₂-макроглобулина,⁸³ а также для фибриногена.⁸⁴ Указанные закономерности в целом получили подтверждение, хотя, например, адсорбция IgG на полистирол и полидиметилсилоксан уменьшалась со снижением смачиваемости материала, что могло быть связано с различной шероховатостью поверхности носителей.⁸⁵

Привитой полиэтиленоксид — один из наиболее изученных адсорбционно-резистентных синтетических полимеров, хорошо гидратируется в водных средах и характеризуется высокой гибкостью и подвижностью полимерной цепи. Не углубляясь в детали молекулярных механизмов адсорбционной резистентности, ставшей предметом теоретических исследований^{86,87} и оживленных дискуссий,⁸⁸ отметим, что и деформация гидратной оболочки PEO, и ограничение числа возможных конформаций полимерной цепи при контакте с белковыми молекулами способны вызывать отталкивание.⁸⁸ Конкурентная адсорбция сегментов привитого PEO на прилегающих участках твердой поверхности также препятствует адсорбции белков, при этом важную роль играют как длина цепей, так и плотность их прививки.⁸⁷ Согласно теории,⁸⁷ высокая плотность прививки обеспечивает более низкие равновесные количества адсорбированного белка, в то время как длинные сегменты, экспонированные в раствор, существенно замедляют скорость адсорбции. Экспериментально показано, что многие щеточные и хемосорбционные покрытия на основе PEO^{1,6,89} и других нейтральных водорастворимых полимеров (декстранов,⁹⁰ N-замещенных полиакриламидов^{1,91}) действительно обладают высокой резистентностью, что снижает адсорбцию белков на твердые носители в десятки раз.

С учетом сказанного можно было бы ожидать, что дегидратация смарт-полимеров при температурах выше НКТР приведет к увеличению их адсорбционной способности по отношению к органическим веществам, включая белки. На самом деле ответ на вопрос о том, способны ли белки связываться со смарт-полимерами, находящимися в дегидратированном нерастворимом (для гелей и частиц) или коллапсированном состоянии (для привитых цепей), остается не вполне однозначным. Иванов с соавт.⁹² и независимо Лакхиари с соавт.⁹³ исследовали хроматографию стандартных белков (лизоцима, иммуноглобулина,⁹² альбумина⁹³) на пористом стекле или силикагеле, покрытом хемосорбированными сополимерами на основе NIPAA и пришли к выводу, что дегидратация и конформационный переход привитого полимера влияют на адсорбцию белков лишь в небольшой степени, при том что выход нанесенных на колонку белков близок к количественному, а элюирование происходит с малым удерживанием, проходящим через максимум около 35°C, т.е. чуть выше НКТР растворимого PNIPAA.⁹² Возможно, адсорбционная резистентность указанных носителей обусловлена особенностями структуры хемосорбционных слоев полимеров-модификаторов (см. рис. 8,a,b), т.е. плотным покрытием носителя сополимером NIPAA,⁹² содержащим редкие петли и хвосты, переходы которых не очень сильно влияют на адсорбцию белков.

Работа⁹⁴ посвящена влиянию гидрофобно-гидрофильного баланса в молекулах аминокислот на их взаимодействие с гелями PNIPAA. Установлено, что адсорбция аминокислот с гидрофобными боковыми цепями, таких как валин и лейцин, возрастает при переходе к температурам выше НКТР

намного сильнее, чем в случае более гидрофильных глутаминовой и аспарагиновой кислот, по-видимому, из-за более выраженного гидрофобного взаимодействия первых с дегидратированными сегментами PNIPAA. В процессе хроматографии стероидных гормонов на силикагеле с привитым PNIPAA удерживание гидрофобного тестостерона было значительно сильнее, чем удерживание более гидрофильного гидрокортизона,³⁹ как ниже, так и выше НКТР. Авторы работы⁹⁵ исследовали изотермы адсорбции бычьего альбумина, овальбумина и лизоцима на микрочастицах сшитого PNIPAA. На микрочастицах в набухшем состоянии (25°C) сорбировалось заметно большее количество белков на единицу массы сухого полимера, чем на тех же частицах в коллапсированном состоянии при 37°C, причем во втором случае различие содержаний адсорбированных белков было незначительным. В то же время при пересчете количества адсорбированного лизоцима на единицу массы влажных гелей концентрация адсорбированного белка в коллапсированном геле оказывалась в 1.5–2.5 раза выше. Авторы полагают, что причина этого — гидрофобное взаимодействие белка с дегидратированным полимером; в данном случае адсорбционные центры локализованы в основном на поверхности микрочастиц, в отличие от набухших гелей, внутренний объем которых в большей степени доступен для белковых молекул. Очевидно, что из-за эффектов объемного сжатия строгая интерпретация полученных адсорбционных данных затруднена.

Анализ каталитической активности некоторых ферментов, иммобилизованных в гели смарт-полимеров, представляет интерес как независимый экспериментальный метод исследования «умных» полимеров. В работе⁹⁶ при изучении свойств химотрипсина, включенного в гель PNIPAA, при температурах ниже и выше температуры фазового перехода этого полимера наблюдали обратимое снижение каталитической активности химотрипсина в 2–5 раз в температурном интервале 30–50°C. На основании анализа зависимостей каталитической активности от содержания фермента в геле, а также результатов экспериментов с необратимым инактиватором протеиназ были исключены предположения о влиянии диффузионных затруднений для молекул субстрата, а также о стерических затруднениях для его взаимодействия с активным центром фермента. Адекватным объяснением может быть лишь неспецифическая ассоциация химотрипсина с дегидратированными цепями PNIPAA, приводящая к частичной обратной инактивации фермента. Похожие температурные зависимости были получены и при иммобилизации фермента уреазы.⁹⁷ В работе⁹⁸ изучена сорбция сывороточного альбумина в частицах сшитого PNIPAA, а также в аналогичных частицах, содержащих положительно заряженные в условиях эксперимента третичные и четвертичные алкиламиногруппы. На нейтральных частицах белок не адсорбировался ни при 25, ни при 40°C, в то время как анионообменные частицы были более адсорбционно активны, причем при температуре 25°C адсорбция была выше, чем при 40°C, что объяснено сжатием частиц при повышенной температуре и меньшей доступностью их пор.

На основании приведенных данных можно заключить, что переход поверхностно-привитых или сшитых цепей PNIPAA из гидратированного в дегидратированное состояние, как правило, приводит лишь к небольшому усилению их адсорбционных взаимодействий с белками, а в некоторых случаях не приводит вовсе, в отличие от аминокислот и стероидов. Это можно объяснить тем, что гидрофобные группы в белках в основном локализованы внутри макромолекул и потому менее доступны. Характерно, что существен-

ное усиление этих взаимодействий с повышением температуры было достигнуто при использовании вместо PNIPAA сополимера NIPAA и более гидрофобного мономера — бутилметакрилата (BMA) — в качестве химического модификатора поверхности силикагеля.³⁹ Выше было отмечено, что наличие гидрофобных групп в составе органосилоновых подслоев может сильно влиять на смачиваемость поверхности, химически модифицированной PNIPAA,⁷⁹ и на характер ее температурной зависимости. По-видимому, при введении BMA в состав смарт-полимера проявляется аналогичное влияние, что дает возможность путем изменения температуры в большей мере контролировать свободную энергию поверхности и связанную с ней адсорбционную способность белков.

Одной из наиболее цитируемых публикаций, которые демонстрируют возможность температурно-управляемой адсорбции и десорбции белков на поверхности с привитым PNIPAA, стала статья¹¹. Авторы этой работы осуществили химическую прививку PNIPAA на поверхность микрофлюидной схемы, несущей алкантиольные группы, за счет эффекта переноса на них цепи при проведении радикальной полимеризации NIPAA в контактирующем растворе. Возможные механизмы этой реакции более подробно обсуждены в работе⁹⁹. Таким образом удалось получить привитой слой PNIPAA с площадью поверхности, приходящейся на цепь, ~10 нм² (т.е. не очень плотный, $\sigma \approx 20$). С использованием метода поверхностно-силовой микроскопии было найдено, что эффективная толщина слоя PNIPAA составляет ~100 нм при температурах 20 и 23°C и уменьшается до 50 нм при температуре >26°C. Прививка PNIPAA предотвращала необратимую адсорбцию белков, в частности миоглобина, при 20°C на поверхность нитрида кремния — базового материала микрофлюидной схемы.

Исследование методом эллипсометрии показало, что адсорбция сывороточного альбумина на полимерно-модифицированные кремнеземные поверхности снижается в 10–15 раз по сравнению с исходными немодифицированными поверхностями (25°C), но возрастает в 20–30 раз при повышении температуры до 55°C. Микрофлюидную ячейку объемом 3 мкл нагревали, передавая тепло по золотым или платиновым микроленочным элементам шириной от 10 до 50 мкм, смонтированным в подложку из нитрида кремния. Нагрев микроленки до 35°C длился менее микросекунды, что гораздо короче времени образования адсорбционного слоя белка. В качестве белкового сорбата для изучения термозависимой адсорбции был выбран флуоресцентно-меченный миоглобин. С использованием метода флуоресцентной микроскопии было показано, что адсорбционный слой белка образуется непосредственно над леночными элементами, нагретыми до 35°C. Спустя всего лишь секунду после прекращения нагрева миоглобин десорбировался и диффундировал в контактирующий водный раствор. Таким образом, с использованием привитого PNIPAA оказалось возможным создать микрофлюидную схему, позволяющую проводить термоуправляемые процессы адсорбции и десорбции белков и обладающую замечательным быстродействием. Указанная разработка открыла путь к созданию целого ряда управляемых аналитических устройств,^{8, 100–102} в том числе позволяющих контролируемым образом связывать и высвобождать жизнеспособные клетки животных.^{8, 100}

Адсорбция миоглобина на силикагель, химически модифицированный PNIPAA, подробно изучена в работе¹⁰³. Адсорбция этого белка на силикагеле, модифицированном триметокси-3-сульфанилпропилсиланом ((MeO)₃Si(CH₂)₃SH) оказалась весьма высокой (90 мг·г⁻¹

или $0.3 \text{ мг} \cdot \text{м}^{-2}$),¹⁰³ так что указанный подслои сам по себе не защищал миоглобин и другие белки от адсорбции. В результате прививки PNIPAA, т.е. благодаря образованию полимерного покрытия, количество адсорбированного на силикагеле белка снижалось в 15–30 раз. При понижении температуры от 35 до 9°C происходило высвобождение миоглобина из покрытого полимером силикагеля в контактирующий раствор при снижении адсорбированного количества белка в ~2 раза. При повторном нагреве и охлаждении вновь происходило его связывание и высвобождение. Особое внимание обращает на себя характер изотерм адсорбции миоглобина, которые в области малых концентраций белка экстраполировались к одному и тому же значению $\sim 1 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$, что свидетельствует об адсорбции миоглобина на остаточных обнаженных фрагментах поверхности носителя, в равной степени происходящей при 9 и 35°C (рис. 11). В связи с этим был сделан вывод о том, что термозависимое связывание белка происходит именно на дегидратированных цепях PNIPAA. С учетом сказанного в начале этого раздела и в конце предыдущего, представляется вероятным, что термо-

зависимая обратимая адсорбция белков происходит прежде всего на сегментах PNIPAA, прилежащих к гидрофобному подслою при температуре выше НКТР и претерпевающих наибольшую переориентацию в результате гидратации при понижении температуры (см. рис. 8,с).

К подобному выводу пришли и авторы работы¹⁰⁴, в которой адгезия эндотелиальных клеток к PNIPAA-модифицированным поверхностям стекла и полистирола реализовалась за счет их связывания с преадсорбированным фибронектином — высокомолекулярным гликопротеином межклеточного матрикса. Фибронектин адсорбировался при 37°C на относительно тонкие слои привитого PNIPAA (< 4 нм), но не адсорбировался на слои этого полимера толщиной 7 нм и больше. Авторы считают, что привитые цепи PNIPAA вблизи поверхности полистирола испытывают промотированную дегидратацию благодаря гидрофобным свойствам подложки.¹⁰⁴

В пользу этого вывода свидетельствуют и зависимости адсорбции сывороточного альбумина и фибронектина от плотности прививки PNIPAA, которые были изучены в работе¹⁹. Число функциональных групп, инициирующих полимеризацию по механизму ATRP, регулировали, варьируя соотношение органосилильных реагентов, взятых для химического модифицирования плоских стекол или кремниевых пластинок, а именно органотрихлорсилана, несущего короткий олигоэтиленгликоль (6–9 мономерных звеньев), и 11-(2-бром-2-метилпропионил)додецилтрихлорсилана — инициатора полимеризации. В результате был получен набор носителей с плотностями прививки PNIPAA от 0 до 0.2 цепей на 1 нм^2 , что соответствует средней площади, приходящейся на цепь, 5 нм^2 и $\sigma \approx 10$ (M от $2.7 \cdot 10^4$ до $4.8 \cdot 10^4 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}$). Прививка PNIPAA на смешанный органосилановый подслои практически не влияла на адсорбцию белков при 23°C, которая в условиях гидратации цепей PNIPAA составляла $0.2\text{--}0.3 \text{ мг} \cdot \text{м}^{-2}$. В то же время при 37°C адсорбция белков сильно зависела от плотности прививки PNIPAA при ее малых значениях, соответствующих состоянию, промежуточному между сеткой и изолированными цепями, в частности для альбумина она достигала $0.9 \text{ мг} \cdot \text{м}^{-2}$. Авторы объяснили указанное явление взаимодействием цепей PNIPAA с частично проникающими в полимерный слой белковыми молекулами, поскольку в условиях высокой плотности прививки PNIPAA это взаимодействие выражено слабо или сходит на нет. На наш взгляд, при невысоких плотностях прививки увеличиваются микро- и наногетерогенность поверхности, что способствует адсорбции сегментов привитого PNIPAA при температуре выше НКТР на гидрофобном подслое, содержащем производное додецилтрихлорсилана, и их десорбции ниже НКТР, с чем и связаны соответствующие вариации адсорбции белков, подобные описанным в работах^{11, 103, 104} и проиллюстрированные на рис. 8,с,д.

VII. Температурно-зависимые переходы в поверхностно-привитых смарт-полимерах: адгезия и отделение культур биологических клеток и тканей

Разработка методов культивирования клеток животных на PNIPAA-модифицированных поверхностях^{32–34} трансформировалась в отдельное направление биологического материалоустройства, включающее разнообразные способы прививки PNIPAA и сополимеров на основе NIPAA, а также культивирование разнообразных клеточных линий и получение морфологически и функционально различных кон-

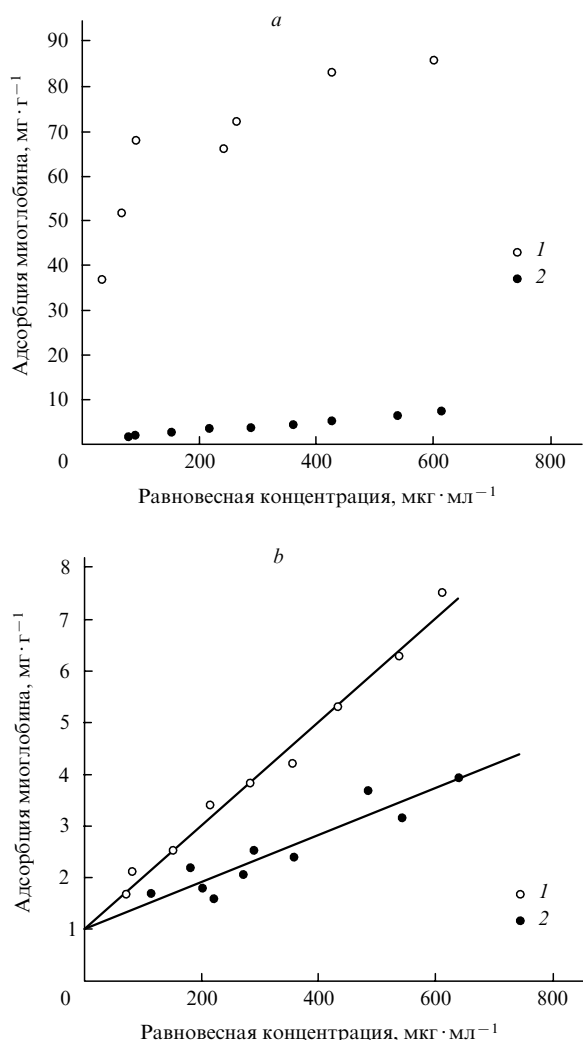


Рис. 11. Изотермы адсорбции миоглобина на силикагеле Крома-сил 100 (1) и том же силикагеле с привитым PNIPAA (2) из 10 мМ фосфатного буферного раствора, содержащего 0.1 М NaCl (рН 6.0) при 35°C (а), и изотермы адсорбции миоглобина на силикагеле с привитым PNIPAA при 35 (1) и 9°C (2) (б).¹⁰³

флюэнтных культур. Наиболее распространенными способами нанесения покрытий из PNIPAA на полистирольные планшеты или на модифицированные плоские стекла являются полимеризация NIPAA в органическом растворителе под действием пучка электронов, а также плазменная полимеризация.¹⁰⁵ В первом случае образуется ультратонкий слой сшитого геля PNIPAA, толщина которого на полистирольной подложке увеличивается с повышением концентрации NIPAA и варьирует в пределах от 15 до 30 нм,¹⁰⁶ а толщина на стеклянной пластинке, модифицированной (3-метакрилоилпропил)триметоксисилоном, — от 3 до 9 нм.¹⁰⁴ Примечательно, что в статье¹⁰⁶ и в работе¹⁰⁴ сообщено, что адсорбция фибронектина и последующая адгезия эндотелиальных клеток происходили лишь при использовании очень тонких (15 нм) слоев PNIPAA, обладающих большей гидрофобностью: при 37°C и толщинах 15 и 30 нм углы смачивания составляли 78° и 65° соответственно, причем вторые слои не были адгезионно активными по отношению к клеткам. Макроскопические гели PNIPAA, химически сшитые *N,N'*-метилденбис(акриламидом), с углом смачивания 50° также не были адсорбционно- и адгезионно-активны при 37°C,¹⁰⁶ что согласуется с результатами работ^{92, 93, 98}. Уменьшение толщины привитого на полистирол слоя PNIPAA до величин < 15 нм позволяло повысить адгезионную активность, но создавало проблему неполного отделения конфлюэнтных слоев культивированных клеток при понижении температуры,¹⁰⁴ так что оптимальная толщина слоя полимера составляла 15–20 нм.

К формированию сшитого термочувствительного покрытия приводит и плазменная полимеризация NIPAA. Прививка PNIPAA характеризуется в этом случае образованием более толстых слоев сшитого геля (73 нм при 20°C и 64 нм при 40°C в водной среде) и существенно более низкими углами смачивания (34° при 20°C и 40° при 40°C).¹⁰⁷ Очевидно, что поверхностно-привитые гели, полученные путем плазменной полимеризации, претерпевают существенно менее выраженные структурные переходы, чем полимерные щетки, для которых толщины привитых слоев могут изменяться в 2–3 раза, а углы смачивания — на 25–35° (см. рис. 7–9). Тем не менее культивирование эндотелиальных клеток при 37°C давало возможность получить конфлюэнтную монослойную культуру и далее отделить ее от носителя при понижении температуры до 25°C.¹⁰⁸

Отметим, что интерес к получению описанных выше сверхтонких гелей обусловлен прежде всего возможностью их массового производства в стандартных условиях.¹⁰⁴ В то же время было показано, что относительно простые синтетические подходы, например нанесение несшитых сополимеров NIPAA и *трет*-бутилакриламида на полистирольные планшеты путем осаждения из испаряемого растворителя, обеспечивают как эффективную адгезию клеток, так и их рост и последующее отслоение полученных культур, правда в присутствии таких белков, как коллаген и ламинин, способствующих адгезии клеток.¹⁰⁹ В отличие от гелей PNIPAA, полученных плазменной полимеризацией, толщина полимерного покрытия в этом случае не имеет принципиального значения для адгезии и размножения клеток и может варьироваться в интервале от 30 нм до 2 мкм.¹¹⁰ Полистирольные планшеты, покрытые слоем осажденного PNIPAA, были применены для культивирования мезенхимальных стволовых клеток, причем в полученных монослойных культурах клетки оставались недифференцированными, на что указывал состав поверхностных клеточных рецепторов в культурах, отделенных от носителя при пониженных температурах.¹¹⁰ Аналогичные результаты независимо получены и в

работе¹¹¹. Направленное дифференцирование стволовых клеток имеет большие перспективы применения в терапии: привлекает возможность получения монослойных культур клеток, которые при необходимости могут быть дифференцированы.

Относительно небольшое число публикаций посвящено изучению адгезии клеток на щетках PNIPAA, полученных путем прививочной полимеризации по механизму ATRP.^{19, 112} Авторы рассмотренной выше работы¹⁹ изучали адгезию фибробластов линии 3T3 на PNIPAA-содержащих поверхностях с разными плотностями прививки полимера. Аналогично адсорбции белков, адгезия клеток на щетках PNIPAA с относительно высокой плотностью прививки (0.2 цепи на 1 нм², $\sigma \approx 10$) при 37°C была ниже той, что наблюдалась при небольших плотностях прививки. Более того, в первом случае клетки имели округлые очертания, а во втором проявляли тенденцию к фокальной адгезии, которая свидетельствует о включении взаимодействий между внеклеточным матриксом и активным цитоскелетом, необходимых для миграции и деления клеток.

Важно отметить, что отделение единичных клеток и их конфлюэнтных культур от термочувствительного полимерного носителя, происходящее при понижении температуры, связано не только с механическим подъемом, который обусловлен гидратацией и набуханием полимера, но и с пространственной переориентацией клеточных рецепторов, передачей сигналов и с последующими метаболическими процессами в клетке. На это указывает, в частности, то, что отделение клеток подавляется при ингибировании в них фосфорилирования тирозина — процесса, вовлеченного в передачу сигнала от клеточных рецепторов интегринов. Отделение клеток замедлялось также при стабилизации одного из основных компонентов цитоскелета — F-актина, играющего существенную роль в подвижности клетки и ее сжатии при делении.¹¹³ Наконец, отделение клеток от носителя может быть подавлено путем ингибирования синтеза аденозинтрифосфата.¹⁰⁵ Последнее указывает на то, что при отделении от носителя клетки затрачивают свою собственную энергию. О вкладе энергии клеточного метаболизма в отделение клеток от носителей свидетельствует и тот факт, что оно в ряде случаев происходит полнее при комнатной температуре, чем при 5–10°C,¹¹³ несмотря на лучшее набухание PNIPAA при низких температурах.

В процессе роста адгезированные клетки выделяют белки межклеточного матрикса, специфические для каждой клеточной линии и приобретающие подвижность при конформационных или фазовых переходах в полимере-носителе. При температурно-инициированном отделении конфлюэнтных культур белки могут частично адсорбироваться на поверхности носителя, что подтверждено в ряде работ (см., например,^{108, 113}). Причем матриксные белки в основном остаются в составе отделяемой монослойной культуры, что способствует сохранению важных мембранных белков, включая экспрессированные клеточные маркеры.^{110, 111} Помимо описанных выше монослойных культур, получены и полислойные культуры клеток, в частности кератиноцитов, клеток эпидермиса, которые были использованы в клинике для лечения ожогов. Кроме того, выращены полислойные культуры кардиомиоцитов — мышечных клеток сердца.³⁴ При подкожной трансплантации этих культур животным наблюдалось образование новой ткани, включающей кровеносные сосуды. Более того, трансплантация двуслойных культур кардиомиоцитов позволяла восстановить функцию биения сердца при инфаркте миокарда.³⁴

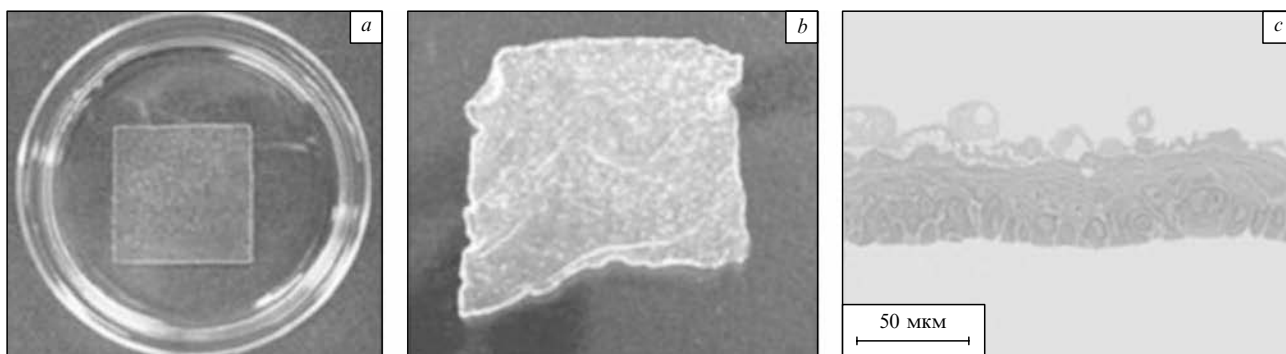


Рис. 12. Культуры эпителия слизистой оболочки рта, предназначенные для трансплантации.¹¹⁴
a — конфлюэнтная культура эпителиальных клеток, культивируемых на квадратных подложках с привитым PNIPAA при 37°C, в полистирольной чашечке Петри; *b* — та же культура, отделенная от подложки при 20°C без применения ферментов; *c* — окрашивание толуидиновым синим показывает стратификацию клеток в полислоистой культуре.

В дальнейшем было показано, что трансплантация аутологичных (т.е. взятых у пациента) культур миобластов сопровождалась установлением межклеточных коммуникаций между пересаженной культурой и клетками организма, а также синхронизацией пульсаций их электрических потенциалов уже через 30–45 мин после пересадки и в целом способствовала активизации репаративного процесса в поврежденных тканях сердца.¹¹⁴ Путем культивирования на покрытых PNIPAA носителях были получены полислоистые культуры эпителиальных клеток слизистой оболочки (рис. 12). Толщина одной такой культуры составляла 50–60 мкм и включала от 3 до 5 слоев стратифицированных клеток (см. рис. 12, *c*). Полученные культуры аутологичных клеток были успешно использованы для трансплантации и последующей регенерации тканей, в частности при лечении язвы пищевода.¹¹⁴

Помимо описанных выше методов культивирования клеток животных на смарт-полимерных покрытиях, значительный интерес представляют методики разделения и анализа этих клеток, основанные на их обратимой специфической адгезии к функционально-активным смарт-полимерам. Одним из подходов к фракционированию клеток является упомянутое выше связывание с антителами, адсорбированными на полипропиленовой (PP) мембране, покрытой плазменно-полимеризованным PNIPAA.³⁶ Этот подход получил дальнейшее развитие при создании на основе PP-волокон трехмерных пористых носителей для культивирования клеток животных.¹¹⁵

Другим подходом, приобретающим все большее распространение, стала управляемая адгезия клеток на полимерных щетках, содержащих иммобилизованные бороновые кислоты. В работах^{8, 116–118}, выполненных с участием одного из авторов данного обзора, показано, что шитые полисахаридные частицы, а также дрожжевые клетки и клетки животных связываются с указанными носителями путем образования эфиров бороновой кислоты с поверхностными олигосахаридами частиц и клеток при pH 8 и выше, т.е. в условиях частичной ионизации фенолборной кислоты (РВА, $pK_a = 9$ (см.¹¹⁹)) и достаточного количества реакционноспособных фенолборонатных анионов. Как частицы, так и клетки могут быть отделены от носителей путем обработки растворами сахаров и полиолов (фруктозы, сорбита), обладающих высокой аффинностью к фенолборонатам и конкурирующих за связывание с олигосахаридами. Константы связывания моносахаридов и полиолов с боратом и фенолборонатом приведены в работе¹²⁰. Следует отметить, что клетки живот-

ных могли быть не только адгезированы к бороносодержащим полимерам, но и культивированы на стеклянных пластинках, несущих полимерные щетки указанного состава. Размножение гибридом клеток линии M2139, адгезированных на этих носителях, подтвердил МТТ-тест. Культивируемые клетки могли быть затем десорбированы раствором фруктозы с 70%-ным сохранением их жизнеспособности.⁸ Возможность специфического связывания дрожжевых клеток на электродах, несущих иммобилизованную бороновую кислоту, с последующей десорбцией в присутствии фруктозы показана и в работе¹²¹. Иммобилизация *m*-аминофенилборной кислоты на золотые электроды, обработанные 10-карбоксихексан-1-тиолом, позволила создать сенсор для распознавания сиаловой кислоты (Neu5Ac), обильно локализованной на поверхности клеток метастазированной меланомы.¹²² Предложенный метод детектирования указанного сахара может служить основой для разработки анализа на злокачественность опухолей.

Адгезия клеток рака молочной железы MCF-7 к полимерной щетке из поли(3-акриламидофенилборной) кислоты, привитой на кремниевые нановолокна, обработанные (3-сульфанилпропил)триметоксисиланом (по аналогии с методами, рассмотренными в статьях^{11, 116}), изучена в работе¹⁰⁰. Клетки связывались с носителем при pH 6.8 и 7.8 и могли быть отделены от него при pH 7.8 в присутствии 70 ммоль·л⁻¹ глюкозы. Характерно, что адгезия клеток при pH 6.8 в условиях слабой ионизации РВА имела место в присутствии 70 ммоль·л⁻¹ глюкозы, т.е. клетки можно было отделять от носителя, просто повысив pH. Авторы посчитали, что указанное явление обусловлено комплексобразованием сиалосодержащих олигосахаридов клеточного гликокаликса с неионизированной формой РВА при pH < 7.¹⁰⁰

Эта концепция получила распространение в ряде работ^{122–124} благодаря тому, что взаимодействие фенолборной кислоты со свободной сиаловой кислотой, в отличие от других сахаров, происходит при относительно низких значениях pH, а именно при pH 4–7. В работе¹²⁴ утверждается, что продукт реакции РВА с глицериновой группой Neu5Ac стабилизирован координационным взаимодействием между атомом бора и *N*-ацетильной группой Neu5Ac. В работе¹²⁵ этот механизм оспаривается; в ней указано, что взаимодействие при pH < 8 происходит за счет ассоциации диола фенолборной кислоты с α -гидроксикарбоксилатной группой Neu5Ac. Концевые остатки Neu5Ac присоединены к соседним сахаридным звеньям именно через атом кислорода

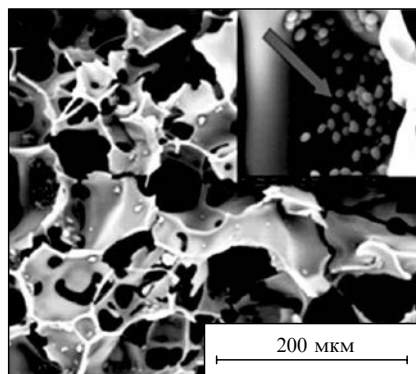


Рис. 13. Микрофотография полиакриламидного криогеля с поверхностью, модифицированной привитым боронатсодержащим сополимером, который адгезирует дрожжевые клетки.¹²⁶ Стрелка на вставке указывает на участок криогеля с высокой плотностью клеток.

α -гидроксильной группы гликозида, поэтому он не может участвовать в реакции. Механизм связывания Neu5Ac и РВА при $\text{pH} < 8$ остается неясным. Сам же факт такого связывания выглядит правдоподобным, так как адгезия десалирированных эритроцитов на золотом электроде с иммобилизованной РВА при $\text{pH} 7.4$ вызывает значительно меньшие изменения его потенциала по сравнению с адгезией нативных клеток.¹²³ В связи с этим в работах^{122–124} утверждается, что при взаимодействии с клетками животных в нейтральных и слабощелочных средах боронатсодержащие реагенты селективно связываются именно с сиаловой кислотой. Отметим, что адгезия дрожжевых клеток, не содержащих сиаловой кислоты, к боронатсодержащим привитым полимерам при $\text{pH} 7$, действительно, выражена очень слабо, в отличие от адгезии при $\text{pH} 8–9$.¹¹⁷

В статье¹²⁶ показаны возможности препаративного разделения клеток животных путем их обратной адгезии к привитым боронатсодержащим полимерам. В качестве носителя использовали широкопористые полиакриламидные криогели с диаметром пор до 100 мкм, т.е. достаточным для проникновения как дрожжевых клеток, так и клеток животных внутрь носителя. Носители указанного типа широко применяют для разделения и культивирования клеток животных.^{127–131} Прививку сополимера NIPAA и *N*-акрилоил-*m*-аминофенилборной кислоты (1 : 1) проводили путем радикальной полимеризации, инициированной комплексом дипериодаткупрата (соединением трехвалентной меди), который ранее применяли для прививки водорастворимых мономеров на полиакриламидные носители.¹³² Адгезивные свойства криогеля продемонстрированы с использованием дрожжевых клеток (рис. 13). Было показано, что поверхностно-зависимые клетки (фибробласты линии Cos 7), как и поверхностно-независимые гибридомы линий CC9C10 и D9D4, легко адгезируются к привитым боронатсодержащим сополимерам NIPAA. При этом гибридомы могли быть отделены от носителя путем элюирования 0.1 М раствором фруктозы ($\text{pH} 7.2$), в то время как для отделения фибробластов требовалась концентрация этого сахара 0.5 моль \cdot л⁻¹. Столь заметное различие условий элюирования может определяться разным составом и количеством поверхностных гликопротеинов в клетках.

Таким образом, путем ступенчатого элюирования можно разделять поверхностно-зависимые и поверхностно-независимые линии клеток животных. Отметим, что температурно-

зависимое элюирование путем нагрева до 37°C давало возможность десорбировать клетки лишь на 30–40%. Вероятной причиной этого могла быть медленная диссоциация боронатгликопротеиновых комплексов. Известно, что боронатсодержащие сополимеры NIPAA в присутствии муцинового гликопротеина теряют способность к резким фазовым переходам, в то время как присутствие моносахаридов просто повышает их НКТР.¹²⁰ Мукоадгезивные свойства боронатсодержащих сополимеров изучены в работе¹³³.

В последующем после работы¹²⁶ исследования¹³⁴ получены тонкие гели, образованные поливиниловым спиртом и боронатсодержащими полимерами. Гели наносили на поверхность полистирольных планшетов, на поверхности гелей культивировали фибробласты линии NIH3T3, которые достигали через несколько дней конфлюэнтной структуры, после чего гелевые подложки частично растворяли в 0.2 М растворе фруктозы и монослойная культура отделялась от геля. Таким образом, был найден новый путь неферментативного отделения таких клеточных культур от носителей, альтернативный описанному выше отделению от термочувствительных PNIPAA-содержащих поверхностей.

VIII. Поверхностно-привитые полимеры и гели в материалах и методах биоанализа

Сенсорные элементы современных биоаналитических приборов, таких как спектрометры поверхностного плазмонного резонанса (ППР), кварцево-кристаллические микровесы (ККрМ) и прецизионные интерферометры, в том числе спектрально-корреляционные интерферометры (СКИ), включают в себя биомолекулярные лиганды, иммобилизованные на поверхности твердых носителей и ответственные за специфическое узнавание и связывание анализируемых веществ, их комплексов (например, иммунокомплексов) или биологических клеток. Носители воспринимают слабые генерируемые сигналы и преобразуют их в более сильные, которые можно зарегистрировать с помощью электрических систем. Такими носителями (преобразователями) являются тонкие золотые покрытия (в методе ППР), кристаллы кварца (в методе ККрМ), плоские стеклянные пластинки (в методе СКИ) и капилляры. Все эти материалы способны сильно и неспецифически сорбировать белки, липопротеины, фосфолипиды и другие компоненты физиологических жидкостей и продуктов питания, что снижает специфичность и точность анализов. В связи с этим и в соответствии с представлениями, изложенными в разделе VI, было предпринято немало попыток придать адсорбционную резистентность золоту, стеклу и кварцу путем прививки на их поверхности разнообразных гидрофильных полимеров, как нейтральных, так и цвиттер-ионных. Последние также значительно снижают адсорбционную активность твердых носителей.¹³⁵

Ранее для предотвращения неспецифической сорбции биополимеров на поверхностях биосенсорных устройств использовали РЕО- и декстрансодержащие покрытия.^{90, 136} В последние годы исследования сконцентрированы на регулируемой прививочной полимеризации олигоэтиленгликольметакрилата (OEGMA)^{6, 137} и подобных ему мономеров.¹³⁸ В работе⁶ описана радикальная полимеризация OEGMA по механизму ATRP, инициированная сложным эфиром бромизомасляной кислоты, которая образует монослой на поверхности золотых пластинок для поверхностного плазмонного резонанса. В результате полимеризации получают слои привитого полимера толщиной до 50 нм, практически недостижимой при химической иммобилизации РЕО. Несмотря на высокую чувствительность метода ППР, с его

помощью не установлена адсорбция белков из 10- или 100%-ной сыворотки крови, а также из раствора фибронектина ($1 \text{ мг} \cdot \text{мл}^{-1}$), что свидетельствует о высокой резистентности полученного покрытия. При использовании РЕО ($M = 2000 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}$) с концевыми аминогруппами, иммобилизованными на органосилилированных стеклянных пластинках, во много раз снизилась неспецифическая адсорбция ДНК при одновременном четырехкратном увеличении выхода в реакции гибридизации ДНК с иммобилизованными на РЕО олигонуклеотидами.¹³⁹ Снижение неспецифической адсорбции ДНК необходимо для подавления шумовых сигналов при создании биосенсоров, настроенных на высокоселективное связывание путем гибридизации ДНК с наборами иммобилизованных олигонуклеотидов.¹⁴⁰ Такие наборы, названные матричными биосенсорами, содержат большое число однотипных микроячеек; их широко применяют для высокопроизводительного скрининга — одновременного анализа большого количества проб.¹⁴¹ Носителями иммобилизованных специфических лигандов, в том числе олигонуклеотидов, могут быть как полимерные щетки, так и шитые микрогели, используемые, например, для иммобилизации бактериальных клеток и последующего флуоресцентного анализа внутриклеточных процессов, что позволяет количественно определять антибиотики.¹⁴²

Несмотря на то что конформационные переходы привитых цепей PNIPAA подробно исследованы методами ППР и ККрМ, применение смарт-полимеров в качестве модификаторов поверхностей соответствующих преобразователей пока ограничено. Причины этого не вполне ясны; тонкие гидрогели полимеров, со специфическими лигандами и(или) красителями многократно изучены и использованы как оптические сенсоры на сахара,¹⁴³ амины и спирты.¹⁴⁴ Иммобилизация ферментов в тонкие гели, содержащие рН-чувствительные красители и последующая фотометрическая регистрация каталитических процессов превратились в распространенный метод детекции ферментных субстратов и субстратоподобных веществ.¹⁴⁵ Кроме того, монослои амфифильных поликатионов с включенными в них ферментами были многократно использованы как модификаторы поверхности электродов для потенциометрической регистрации процессов молекулярного узнавания.^{146–148} По-видимому, прививочная сополимеризация NIPAA с функционально-активными мономерами, по крайней мере по механизму ATRP, представляет определенные трудности, поскольку сольватирование комплексов одновалентной меди с аминоксодержащими лигандами, а тем более замещение этих лигандов, существенно влияет на восстановительный потенциал комплексов, а следовательно, на константу роста цепи.¹⁴⁹

Укажем еще на один распространенный биоаналитический метод, в котором применение «умных» полимеров пока не получило широкого распространения — капиллярный электрофорез (КЭ). Некоторые водорастворимые полимеры (как катионные, так и нейтральные), используемые в качестве компонентов рабочих буферов для КЭ белков, предотвращают их необратимую адсорбцию на поверхности кварцевых капилляров за счет динамического модифицирования поверхности.¹⁵⁰ Показано, что фазовый переход в растворах сополимеров типа РЕО–РРО–РЕО, происходящий при повышении температуры от комнатной до 38°C , позволяет регулировать вязкость подвижной фазы и таким образом оптимизировать разделение смесей олигонуклеотидов и ДНК.¹⁵¹ По мнению авторов данного обзора, растворы термочувствительных полимеров могли бы быть использованы в препаративном варианте КЭ для отделения очищен-

ных веществ от полимерного модификатора путем его термосаждения из раствора.

Возвращаясь к смарт-полимерным композитам, отметим, что особое внимание в качестве объекта исследования привлекли наночастицы золота, включенные в полимерные гидрогели на основе NIPAA¹⁵² или в микрогели этих гелей.¹⁵³ При сжатии гелей вследствие повышения температуры либо изменения состава водной фазы увеличивается плотность распределения иммобилизованных наночастиц золота, что приводит к «красному сдвигу» частоты плазмонного резонанса.¹⁵³

В работах^{99,154} с помощью интерферометрического спектрально-корреляционного метода изучены конформационные переходы сополимера *N,N*-диметилакриламида и *N*-акрилоил-*m*-аминофенилборной кислоты (NAAPBA) (9:1), привитого на поверхность плоских стекол. Переходы обусловлены увеличением ионизации фенилборной кислоты при повышении значений рН от нейтральных до 9.2 и характеризуются увеличением толщины полимерной щетки и ее обратимым уменьшением при понижении рН. Примечательно, что в ионизированном состоянии (рН 9.2) растворимый и привитой сополимеры самопроизвольно связывают муциновый гликопротеин, что соответствует условиям адгезии клеток животных на аналогичных носителях^{8,118} и указывает на вероятный механизм этой адгезии. Щетки поли-NAAPBA, толщиной 20 нм недавно получены на кристаллах кварца и изучены методом ККрМ как сенсоры на глюкозу.¹⁵⁵ Связывания данного полимера с фруктозой, основным конкурирующим сахаридом, этим методом не зарегистрировано, что дало возможность селективно измерять концентрацию глюкозы.

Несколько вариантов химического модифицирования поверхности плоских стекол, предназначенных для иммобилизации специфических антител и использования в методе СКИ, исследованы с целью оптимизации молекулярного узнавания и связывания сердечных тропонинов, регуляторных белков, представляющих интерес для диагностики инфаркта миокарда и других болезней сердца.¹⁵⁶ Применяя метод СКИ, можно сравнивать толщины слоев иммобилизованных антител непосредственно в процессе их химического присоединения к активированной поверхности, а следовательно, оценивать эффективность иммобилизации. Специфическое связывание тропонинов регистрировали по приращению толщины адсорбционного слоя, которое линейно возрастало с увеличением логарифма концентрации анализируемого вещества и в условиях насыщения составляло ~ 3 нм. Последующее связывание детектирующих антител, меченных биотином, приводило к дополнительному приращению толщины слоя адсорбированных белков. Отметим, что значительно повысить чувствительность вторичной детекции тропонинов позволило применение магнитных наночастиц, несущих те же детектирующие антитела. Специфическое связывание указанных магнитных наночастиц с антигенами может быть зарегистрировано с использованием эффекта их нелинейной намагниченности.¹⁵⁷ С помощью этого метода удалось определить пикограммовое содержание стафилококковых токсинов в такой сложной среде, как цельное молоко.¹⁵⁸

Магнитные наночастицы (МНЧ), несущие привитые полимеры, главным образом РЕО, широко изучают как контрастирующие агенты для магнитно-резонансной диагностики¹⁵⁹ и носители для целевого транспорта лекарств.¹⁶⁰ Широкое распространение получила магнитная сепарация клеток животных путем их связывания со специфическими антителами, иммобилизованными на магнитных частицах,

покрытых РЕО или другими полимерами.¹⁶¹ Основные области применения МНЧ в медицине и физические принципы их использования обобщены в обзоре¹⁶², а методы химической конъюгации МНЧ с нуклеиновыми кислотами и их применение в биоанализе и биосепарации — в обзоре¹⁶³. Благодаря большой удельной площади поверхности МНЧ могут адсорбировать значительное количество белков и других органических веществ.^{162, 164} Адсорбция протекает более селективно, если полимеры-модификаторы несут реакционно-способные группы. В недавних работах^{165, 166} по прививке металл-хелатирующих полиэлектролитов на МНЧ продемонстрирована возможность извлечения лекарственных препаратов и ионов тяжелых металлов из физиологических жидкостей для последующего количественного анализа.

Большая группа работ посвящена химическому модифицированию смарт-полимерами МНЧ или включению этих частиц в соответствующие микрогели. Указанные дисперсные системы разрабатывали прежде всего для целевой доставки лекарств под действием магнитного поля и их последующего высвобождения в больных органах за счет локального повышения температуры. С этой целью были получены наночастицы магнетита, покрытые аморфным диоксидом кремния, которые затем химически модифицировали (3-метакрилоилпропил)триметоксисиланом и сополимеризовали с NIPAA в присутствии бифункционального сшивающего агента. В результате формировались частицы сшитого PNIPAA, имеющие форму, близкую к сферической (диаметром 300–500 нм) с магнетитным ядром внутри.¹⁶⁷ При повышении температуры от 20 до 50°C полученные композиционные частицы сжимались (диаметр уменьшался в 1.5–2 раза), а при охлаждении принимали первоначальные размеры.

Суперпарамагнитные свойства магнетита позволяют быстро концентрировать и осаждать суспензию частиц с помощью постоянного магнита. В работе¹⁶⁸ композиционные частицы указанного типа были изучены как термочувствительные носители цинковой соли фталоцианинсульфоновой кислоты — известного средства для фотодинамической терапии опухолей. В результате объемного фазового перехода в гелевой оболочке, состоящей из сополимера NIPAA с *N*-гидроксиметилакриламидом, происходит высвобождение этого лекарства, причем при температурах в интервале 25–37°C высвобождение незначительное, но оно резко увеличивается уже при температуре 39°C, соответствующей двух- или трехкратному уменьшению диаметра частиц.

Обратимое набухание и сжатие полимерной оболочки изучено и для МНЧ, покрытых термочувствительным блок-сополимером РЕО–РРО–РЕО, модифицированным полиэтиленгликолем (РЕИ).¹⁶⁹ В противоположность работе¹⁶⁸ было показано, что высвобождение лекарственных средств происходило не при повышении, а при понижении температуры в интервале от 35 до 20°C, т.е. в условиях набухания полимерной оболочки частиц-носителей. По-видимому, причина этих различий заключается в разных механизмах связывания лекарств: если связывание с *N*-замещенным полиакриламидом происходит за счет совокупности полярных и гидрофобных взаимодействий, по аналогии с образованием комплексов поли(*N*-виниллактамов) с ароматическими соединениями,^{37, 170, 171} то в случае блок-сополимеров РЕО–РРО–РЕО наиболее вероятны окклюзия органических молекул в процессе коллапса сополимера при повышенной температуре и их высвобождение при ее понижении (рис. 14).

Магнитные наночастицы, покрытые PNIPAA, изучены и как носители для магнитной сепарации клеток. Частицы, несущие биотиновую метку, связывались с авидином, затем

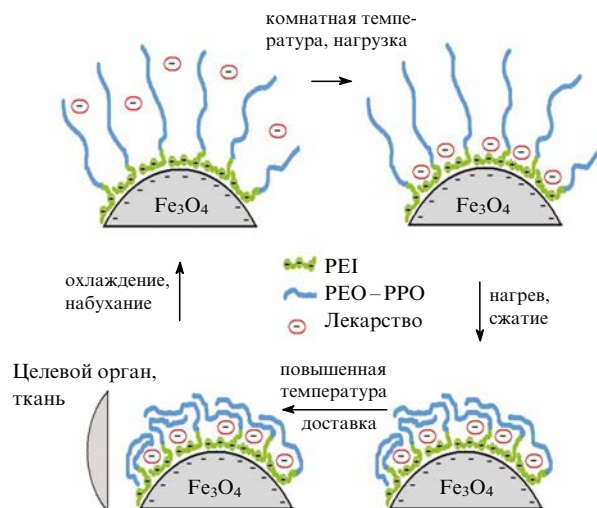


Рис. 14. Схема нагрузки композиционных магнитных частиц лекарственным средством и его высвобождение при понижении температуры.¹⁶⁹

с биотинилированными антителами, локализованными на поверхности дрожжевых клеток. Путем температурно-регулируемой агрегации частиц и приложения магнитного поля МНЧ с биоаффинно-связанными клетками были сконцентрированы и отделены от клеток, не содержащих указанных антител.¹⁷² Аналогичные подходы использованы в дальнейшем и для сепарации клеток животных. В работе¹⁷³ в экспериментах с мышами осуществлено отделение нейтрофилов от макрофагов посредством связывания последних на магнитных частицах с термочувствительным покрытием, содержащим иммобилизованные антитела F4/80, специфические к макрофагам. Частицы агрегировали при нагревании до 30°C и осаждались вместе со связанными клетками под действием приложенного магнитного поля. Таким образом, путем отрицательной селекции фракция нейтрофилов, более лабильных и хрупких клеток, могла быть значительно обогащена. Полученные клетки были далее активированы и использованы для изучения процессов секреции цитокинов.¹⁷⁴

IX. Заключение

Суммируя сказанное выше, можно прийти к нескольким заключениям. Способность «умных» полимеров изменять агрегатное состояние в ответ на малые изменения условий окружающей среды, в частности на изменение температуры, за счет обратимой гидратации–дегидратации полимерных цепей в значительной степени сохраняется в полимерах, привитых на поверхность через концевую группу и, в несколько меньшей степени, в хемосорбированных полимерах.

Соответствующие конформационные переходы изучены разнообразными физико-химическими методами, включающими АСМ, поверхностно-силовую микроскопию, эллипсометрию, методы отражения нейтронов и измерения адсорбции белков. Общей закономерностью является сжатие полимерного привитого слоя при повышении температуры, сопровождающееся увеличением его микромеханической жесткости, а в случаях прививки средней плотности — латеральной сегрегацией привитого слоя. Соответствующие прогнозы теорий в ряде случаев получили качественные или полуколичественные подтверждения.

При высоких плотностях прививки конформационные и агрегативные переходы PNIPAA — наиболее изученного «умного» полимера — оказываются выражены слабее, чем при средних и низких плотностях. В то же время сегрегация привитых полимерных слоев открывает возможность управления адсорбционными и адгезионными свойствами поверхности за счет обратимого частичного обнажения поверхности носителей, имеющих адсорбционно-активные органические или алкантиольные подслои, необходимые для химической прививки полимеров. Это явление было использовано для контролируемой адсорбции белков и адгезии клеток животных, их культивирования и высвобождения путем повышения температуры. Установлено, что возможность управления адгезивными свойствами полимерных слоев зависит как от толщины привитого слоя, так и от способа его прививки. Эффективность высвобождения культивированных клеток определяется не только гидратацией и набуханием привитого полимера, но и процессами сигнализации и изменениями внутриклеточного метаболизма в результате температурно-зависимой переориентации поверхностных клеточных рецепторов.

Интересным направлением исследований является обратимая адгезия бактериальных клеток и клеток животных на боронатсодержащих полимерных щетках, открывающая широкие возможности для культивирования, иммобилизации и высвобождения этих клеток под действием сахаров, т.е. в щадящих условиях, близких к физиологическим. Взаимодействие боронатсодержащих полимеров с поверхностными гликопротеинами клеток и межклеточного матрикса может лечь в основу направленного транспорта лекарств. Использование «умных» полимеров в качестве поверхностных модификаторов и узнающих элементов биосенсоров является перспективной и пока не очень разработанной областью исследований. То же относится и к магнитным частицам со смарт-полимерными покрытиями в качестве носителей лекарственных средств.

Очевидно, указанные направления исследований будут интенсивно развиваться в ближайшие годы. В целом возможности создания управляемых нано-, микро- и макросистем на основе «умных» полимеров, бесспорно, имеют большое будущее.

Литература

1. A.E.Ivanov, V.V.Saburov, V.P.Zubov. *Adv. Polym. Sci.*, **104**, 135 (1992)
2. A.E.Ivanov, V.P.Zubov. *J. Chromatogr., A*, **673**, 159 (1994)
3. V.P.Zubov, D.V.Kapustin, A.N.Generalova, E.Yu.Yagudaeva, A.A.Vikhrov, S.V.Sizova, M.R.Muidinov. *Polym. Sci., Ser. A*, **49**, 1247 (2007) [*Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **49**, 2042 (2007)]
4. T.Kawai, K.Saito, W.Lee. *J. Chromatogr., B*, **790**, 131 (2004)
5. И.И.Селезнева, Ю.А.Рочев, Б.К.Гаврилюк, А.В.Горелов, Т.Н.Голубева, К.А.Даусон. В кн. *Тезисы докладов конференции «От современной фундаментальной биологии к новым наукоемким технологиям»*. Пушкино, 2001. С. 98
6. H.Ma, J.Hyun, P.Stiller, A.Chilkoti. *Adv. Mater.*, **4**, 338 (2004)
7. A.Muzutani, A.Kikuchi, M.Yamato, H.Kanazawa, T.Okano. *Biomaterials*, **29**, 2073 (2008)
8. A.E.Ivanov, J.Eccles, H.A.Panahi, A.Kumar, M.V.Kuzimenkova, L.Nilsson, B.Bergentahl, N.Long, G.J.Phillips, S.V.Mikhailovsky, I.Yu.Galaev, B.Mattiasson. *J. Biomed. Mater. Res. A*, **88**, 213 (2009)
9. N.Nasongkla, X.Shuai, H.Ai, B.D.Weinberg, J.Pink, D.A.Boothman, J.Gao. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **43**, 6323 (2004)
10. C.G.Oster, M.Wittmar, F.Unger, L.Barbu-Tudoran, A.K.Schaper, T.Kissel. *Pharm. Res.*, **21**, 927 (2004)
11. D.L.Huber, R.P.Manginell, M.A.Samara, B.-I.Kim, B.C.Bunker. *Science*, **301**, 352 (2003)
12. H.Kitano, Y.Anraku, H.Shinohara. *Biomacromolecules*, **7**, 1065 (2006)
13. W.Senaratne, L.Andruzzi, C.K.Ober. *Biomacromolecules*, **6**, 2427 (2005)
14. F.Zhou, W.T.S.Huck. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8**, 3815 (2006)
15. R.Barbey, L.Lavanant, D.Paripovic, N.Schuerer, C.Sugnaux, S.Tugulu, H.-A.Klok. *Chem. Rev.*, **109**, 5437 (2009)
16. I.Yu.Galaev. *Russ. Chem. Rev.*, **64**, 471 (1995) [*Ученые химии*, **64**, 505 (1995)]
17. О.Е.Филиппова, А.Р.Кхохлов. *Petrol. Chem.*, **50**, 266 (2010) [*Нефтехимия*, **50**, 279 (2010)]
18. A.Llordes, G.Garcia, J.Gazquez, D.J.Milliro. *Nature (London)*, **500**, 323 (2013)
19. C.Xue, B.-C.Choi, S.Choi, P.V.Braun, D.E.Leckband. *Adv. Funct. Mater.*, **22**, 2394 (2012)
20. A.Kumar, I.Yu.Galaev, B.Mattiasson. In *Smart Polymers: Applications in Biotechnology and Biomedicine*. (Eds I.Yu.Galaev, B.Mattiasson). CRC Press; Taylor and Francis Group, Boca Raton, 2008. P. 401
21. В.П.Шибяев. *Природа*, (6), 12 (2012)
22. E.Blasco, M.Pinol, C.Berges, C.Sanchez-Somolinos, L.Oriol. In *Smart Polymers and Their Applications*. (Eds M.R.Aguilar, J.San Roman). Elsevier, Cambridge, 2014. P. 510
23. H.G.Schild. *Prog. Polym. Sci.*, **17**, 163 (1992)
24. Yu.E.Kirsh, T.A.Sus, T.M.Karapatadze, V.V.Kobyakov, L.A.Sinitina, S.A.Ostrovskii. *Polym. Sci. USSR*, **21**, 3017 (1979) [*Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **21**, 2734 (1979)]
25. Yu.E.Kirsh. In *Water Soluble Poly-N-Vinylamides. Synthesis and Physicochemical Properties*. Wiley, Chichester, 1998. P. 111
26. M.Akashi, S.Nakano, A.Kishida. *J. Polym. Sci., Part A*, **34**, 301 (1996)
27. D.A.Chiappetta, A.Sosnik. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **66**, 303 (2007)
28. A.V.Kabanov, E.V.Batrakova, N.S.Melik-Nubarov, N.A.Fedoseev, T.Y.Dorodnich, V.Y.Alakhov, V.P.Chekhonin, I.R.Nazarova, V.A.Kabanov. *J. Control. Release*, **22**, 141 (1992)
29. J.C.Rodriguez-Cabello, J.Reguera, A.Girotti, M.Alonso, A.M.Testera. *Prog. Polym. Sci.*, **30**, 1119 (2005)
30. X.Z.Zhang, X.D.Xu, S.-X.Cheng, R.-X.Zhou. *Soft Matter*, **4**, 385 (2008)
31. E.E.Makhaeva, L.T.M.Thanh, S.G.Starodoubtsev, A.R.Khokhlov. *Macromol. Chem. Phys.*, **197**, 1973 (1996)
32. N.Yamada, T.Okano, H.Sakai, F.Karikusa, Y.Sawasaki, Y.Sakurai. *Macromol. Chem., Rapid Commun.*, **11**, 571 (1990)
33. K.Nishida, M.Yamato, Y.Hayashida, K.Watanabe, N.Maeda, H.Watanabe, K.Yamamoto, S.Nagai, A.Kikuchi, Y.Tano, T.Okano. *Transplantation*, **77**, 379 (2004)
34. A.Kikuchi, T.Okano. *J. Control. Release*, **101**, 69 (2005)
35. E.A.Markvicheva, I.F.Kuz'kina, I.I.Pashkin, T.N.Plechko, Yu.E.Kirsh, V.P.Zubov. *Biotechnol. Tech.*, **5**, 223 (1991)
36. A.Okamura, A.Hagiwara, S.Yamagami, M.Yamaguchi, T.Shinbo, T.Kanamori, S.Kondo, K.Miwa, I.Itagaki. *J. Biosci. Bioeng.*, **105**, 221 (2008)
37. I.Yu.Galaev, C.Warrol, B.Mattiasson. *J. Chromatogr., A*, **684**, 37 (1994)
38. B.Mattiasson, A.Kumar, A.E.Ivanov, I.Yu.Galaev. *Nature Protoc.*, **2**, 213 (2007)
39. H.Kanazawa, Y.Kashiwase, K.Yamamoto, Y.Matsushima, A.Kikuchi, Y.Sakurai, T.Okano. *Anal. Chem.*, **69**, 823 (1997)
40. H.Kanazawa, T.Sunamoto, Y.Matsushima, A.Kikuchi, T.Okano. *Anal. Chem.*, **72**, 5961 (2000)
41. J.M.Hoffman, M.Ebara, J.J.Lai, A.S.Hoffman, A.Folch, P.S.Slayton. *Lab Chip*, **10**, 3130 (2010)
42. S.T.Milner. *Science*, **251**, 905 (1991)

43. J.Ruhe. In *Polymer Brushes. Synthesis, Characterization, Applications*. (Eds R.C.Advincola, W.J.Brittain, K.C.Caster, J.Ruhe). Wiley-VCH, Weinheim, 2004. P. 1
44. T.M.Birshtein, E.B.Zhulina. *Polym. Sci. USSR*, **25**, 2165 (1983) [*Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **25**, 1862 (1983)]
45. O.V.Borisov, E.B.Zhulina, T.M.Birshtein. *Polym. Sci. USSR*, **30**, 772 (1988) [*Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **30**, 767 (1988)]
46. E.B.Zhulina, O.V.Borisov, V.A.Pryamitsyn, T.M.Birshtein. *Macromolecules*, **24**, 140 (1991)
47. S.T.Milner, T.A.Witten, M.E.Cates. *Macromolecules*, **21**, 2610 (1988)
48. A.Halperin, M.Tirrel, T.P.Lodge. *Adv. Polym. Sci.*, **100**, 31 (1988)
49. K.Konstadinidis, S.Prager, M.Tirrel. *J. Chem. Phys.*, **97**, 7777 (1992)
50. A.Takahashi, M.Kawaguchi, H.Hirota, T.Kato. *Macromolecules*, **13**, 884 (1980)
51. A.E.Ivanov, V.P.Zubov. In *Smart Polymers: Applications in Biotechnology and Biomedicine*. (Eds I.Yu.Galaev, B.Mattiasson). Taylor and Francis, London; New York, 2002. P. 163
52. V.A.Baulin, E.B.Zhulina, A.Halperin. *J. Chem. Phys.*, **119**, 10977 (2003)
53. H.Yim, M.S.Kent, S.Mendez, G.P.Lopez, S.Satija, Y.Seo. *Macromolecules*, **39**, 3420 (2006)
54. O.V.Borisov, E.B.Zhulina. In *Smart Polymers: Applications in Biotechnology and Biomedicine*. (Eds I.Yu.Galaev, B.Mattiasson). Taylor and Francis, Boca Raton; London; New York, 2008. P. 53
55. N.Ishida, S.Biggs. *Langmuir*, **23**, 11083 (2007)
56. E.B.Zhulina, T.M.Birshtein, O.V.Borisov. *Macromolecules*, **28**, 1491 (1995)
57. S.Hirotsu. *J. Phys. Soc. Jpn.*, **56**, 233 (1987)
58. S.Fujishige, K.Kubota, I.Ando. *J. Phys. Chem.*, **93**, 3311 (1989)
59. K.Kubota, S.Fujishige, I.Ando. *J. Phys. Chem.*, **94**, 5154 (1990)
60. S.V.Kazakov. In *Smart Polymers: Applications in Biotechnology and Biomedicine*. (Eds I.Yu.Galaev, B.Mattiasson). CRC Press, Taylor and Francis, Boca Raton, 2008. P. 401
61. H.G.Schild, D.A.Tirrell. *Langmuir*, **7**, 665 (1991)
62. B.Elmas, M.A.Onur, S.Senel, A.Tuncel. *Colloid Polym. Sci.*, **280**, 1137 (2002)
63. A.C.W.Lau, C.Wu. *Macromolecules*, **32**, 581 (1999)
64. E.E.Makhaeva, H.Tenhu, A.R.Khokhlov. *Macromolecules*, **31**, 6112 (1998)
65. A.Laukkanen, L.Valtola, F.M.Winnik, H.Tenhu. *Macromolecules*, **37**, 2268 (2004)
66. M.Ilavsky, G.Mamytbekov, K.Bouchal, L.Hanykova. *Polym. Bull.*, **43**, 109 (1999)
67. Y.G.Takei, T.Aoki, K.Sanui, N.Ogata, Y.Sakurai, T.Okano. *Macromolecules*, **27**, 6163 (1994)
68. R.H.Dettre, R.E.Johnsson. *J. Phys. Chem.*, **69**, 1507 (1965)
69. B.O'Shaughnessy, D.Vavylonis. *Eur. Phys. J.*, **11**, 213 (2003)
70. A.E.Ivanov, S.V.Belov, V.P.Zubov. *Polym. Sci., Ser. A*, **35**, 1093 (1993) [*Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **35**, 1320 (1993)]
71. T.J.Lenk, V.M.Hallmark, J.F.Rabolt, L.Häusslink, H.Ringsdorf. *Macromolecules*, **26**, 1230 (1993)
72. S.Kidoaki, S.Ohya, Y.Nakayama, T.Masuda. *Langmuir*, **17**, 2402 (2001)
73. M.E.Harmon, D.Kuckling, C.W.Frank. *Langmuir*, **19**, 10660 (2003)
74. D.M.Jones, J.R.Smith, W.T.C.Huck, C.Alexander. *Adv. Mater.*, **14**, 1130 (2002)
75. J.-S.Wang, K.Matyjaszewski. *Macromolecules*, **28**, 7901 (1995)
76. K.Matyjaszewski, H.Dong, W.Jakubowski, J.Pietrasik, A.Kusumo. *Langmuir*, **23**, 4528 (2007)
77. K.N.Plunkett, X.Zhu, J.S.Moore, D.E.Leckbland. *Langmuir*, **22**, 4259 (2006)
78. H.Tu, C.E.Heitzman, P.V.Braun. *Langmuir*, **20**, 8313 (2004)
79. T.Sun, W.Song, L.Jiang. *Chem. Commun.*, 1723 (2005)
80. D.V.Kapustin, V.V.Saburov, L.L.Zavada, A.V.Evstratov, G.B.Barsamian, V.P.Zubov. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, **24**, 770 (1998) [*Биоорг. химия*, **24**, 868 (1998)]
81. T.Matsunaga, Y.Ikada. *J. Colloid Interface Sci.*, **84**, 8 (1981)
82. Y.Ikada, M.Suzuki, Y.Tamada. In *Polymers as Biomaterials*. (Ed. S.W.Shalaby). Plenum, New York, 1984. P. 135
83. D.R.Absolom, W.Zingg, A.W.Neumann. In *Proteins at Interfaces. ACS Symposium Series. Vol. 343*. (Ed. J.L.Brash). American Chemical Society, Washington, 1987. P. 401
84. D.R.Absolom, W.Zingg, A.W.Neumann. *J. Biomed. Mater. Res.*, **21**, 161 (1981)
85. T.Y.Chang, V.G.Yadav, S.De Leo, A.Mohedas, B.Rajalingam, C.-L.Chen, S.Selvarasah, M.R.Dokmeci, A.Khademhosseini. *Langmuir*, **23**, 11718 (2007)
86. S.I.Jeon, J.H.Lee, J.D.Andrade, P.G.De Gennes. *J. Colloid Interface Sci.*, **142**, 149 (1991)
87. I.Szleifer. *Biophys. J.*, **72**, 595 (1997)
88. M.Morra. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, **11**, 567 (2000)
89. E.Ostuni, R.G.Chapman, E.Holmlin, S.Takayama, G.M.Whitesides. *Langmuir*, **17**, 5605 (2001)
90. E.Osterberg, K.Bergström, K.Holmberg, A.Jennifer, J.A.Riggs, J.M.Van Alstine, T.P.Schuman, N.L.Burns, J.M.Harris. *Colloids Surf., A*, **77**, 159 (1993)
91. A.E.Ivanov, L.V.Kozlov, B.B.Shojbonov, V.P.Zubov, V.K.Antonov. *Biomed. Chromatogr.*, **5**, 90 (1991)
92. A.E.Ivanov, L.S.Zhigis, E.V.Kurganova, V.P.Zubov. *J. Chromatogr., A*, **776**, 75 (1997)
93. H.Lakhiari, T.Okano, N.Nurdin, C.Luthi, P.Descout, D.Muller, J.Jozefonvicz. *Biochim. Biophys. Acta*, **1379**, 303 (1998)
94. H.Bianco-Peled, S.Gryc. *Langmuir*, **20**, 169 (2004)
95. V.Grabstain, H.Bianco-Peled. *Biotechnol. Prog.*, **19**, 1728 (2003)
96. N.L.Eremeev, N.F.Kazanskaya. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.*, **50**, 1891 (2001) [*Изв. АН. Сер. хим.*, 1806 (2001)]
97. A.V.Kukhtin, N.L.Eremeev, E.A.Belyaeva, N.F.Kazanskaya. *Biochemistry (Moscow)*, **62**, 371 (1997) [*Биохимия*, **62**, 438 (1997)]
98. S.Morisada, K.-I.Namazuda, H.Kanda, Y.Hirokawa, Y.Nakano. *Adv. Powder Technol.*, **21**, 28 (2010)
99. A.E.Ivanov, N.Solodukhina, M.Wahlgren, L.Nilsson, A.A.Vikhrov, M.P.Nikitin, A.V.Orlov, P.I.Nikitin, M.V.Kuzimenkova, V.P.Zubov. *Macromol. Biosci.*, **11**, 275 (2011)
100. H.Liu, Y.Li, K.Sun, J.Fan, P.Zhang, J.Meng, S.Wang, L.Jiang. *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 7603 (2013)
101. L.Li, J.Wu, C.Gao. *Colloids Surf., B*, **85**, 12 (2011)
102. M.A.Cole, N.H.Voelcker, H.Thissen, H.J.Griesser. *Biomaterials*, **30**, 1827 (2009)
103. A.E.Ivanov, J.Ekeroth, L.Nilsson, I.Yu.Galaev, B.Bergensstahl, B.Mattiasson. *J. Colloid Interface Sci.*, **296**, 538 (2006)
104. K.Fukumori, Y.Akiyama, M.Yamato, J.Kobayashi, K.Sakai, T.Okano. *Acta Biomater.*, **5**, 470 (2009)
105. R.M.P.da Silva, J.M.Mano, R.L.Reis. *Trends Biotechnol.*, **25**, 577 (2007)
106. Y.Akiyama, A.Kikuchi, M.Yamato, T.Okano. *Langmuir*, **20**, 5506 (2004)
107. X.Cheng, H.E.Canavan, M.J.Stein, J.R.Hull, S.J.Kweskin, M.S.Wagner, G.A.Somorjai, D.G.Castner, B.D.Ratner. *Langmuir*, **21**, 7833 (2005)
108. H.E.Canavan, X.Cheng, D.J.Graham, B.D.Ratner, D.G.Castner. *Langmuir*, **21**, 1949 (2005)
109. M.T.Moran, W.M.Carroll, I.Selezneva, A.Gorelov, Yu.Rochev. *J. Biomed. Mater. Res. A*, **81**, 870 (2007)
110. M.E.Nash, X.Fan, W.M.Carroll, A.V.Gorelov, F.P.Barry, G.Shaw, Y.A.Rochev. *Stem Cell Rev. Rep.*, **9**, 148 (2013)
111. L.Yang, F.Cheng, T.Liu, J.R.Lu, K.Song, L.Jiang, S.Wu, W.Guo. *Biomed. Mater.*, **7**, 035003 (2012)
112. J.Wei, P.He, A.Liu, X.Chen, X.Wang, X.Jing. *Macromol. Biosci.*, **9**, 1237 (2009)
113. M.A.Cooperstain, H.E.Canavan. *Langmuir*, **26**, 7695 (2009)

114. I.Elloumi-Hannachi, M.Yamato, T.Okano. *J. Int. Med.*, **267**, 54 (2009)
115. A.S.Chetty, V.Vargha, A.Maity, F.S.Moolman, C.Rossouw, R.Anandjiwala, L.Boguslavsky, D.Mancama, W.W.Focke. *Colloids Surf., A*, **419**, 37 (2013)
116. A.E.Ivanov, I.Yu.Galaev, B.Mattiasson. *J. Mol. Recogn.*, **19**, 322 (2006)
117. A.E.Ivanov, H.A.Panahi, L.Nilsson, M.V.Kuzimenkova, B.Bergenstehl, H.S.Waqif, M.Jahanshahi, I.Yu.Galaev, B.Mattiasson. *Chem. – Eur. J.*, **12**, 7204 (2006)
118. A.E.Ivanov, A.Kumar, S.Nilsang, M.-R.Aguilar, L.I.Mikhailovska, I.N.Savina, L.Nilsson, I.G.Scheblykin, M.V.Kuzimenkova, I.Yu.Galaev. *Colloids Surf., B*, **75**, 510 (2010)
119. M.V.Kuzimenkova, A.E.Ivanov, I.Yu.Galaev. *Macromol. Biosci.*, **6**, 170 (2006)
120. A.E.Ivanov, K.Shiomori, Y.Kawano, I.Yu.Galaev, B.Mattiasson. *Biomacromolecules*, **7**, 1017 (2006)
121. R.Polsky, J.C.Harper, D.R.Wheeler, D.C.Arango, S.M.Brozik. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **47**, 2631 (2008)
122. A.Matsumoto, H.Cabral, N.Sato, K.Kataoka, Y.Miyahara. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **49**, 5494 (2010)
123. A.Matsumoto, N.Sato, K.Kataoka, Y.Miyahara. *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 12022 (2009)
124. H.Otsuka, E.Uchimura, H.Koshino, T.Okano, K.Kataoka. *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 3493 (2003)
125. K.Djanashvili, L.Frullano, J.A.Peters. *Chem. – Eur. J.*, **11**, 4010 (2005)
126. A.Srivastava, A.K.Shakya, A.Kumar. *Enzyme Microb. Technol.*, **51**, 373 (2012)
127. A.Kumar, F.Plieva, I.Yu.Galaev, B.Mattiasson. *J. Immunol. Methods*, **283**, 185 (2003)
128. M.B.Dainiak, A.Kumar, I.Yu.Galaev, B.Mattiasson. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 849 (2006)
129. V.I.Loizinsky. *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.*, **57**, 1015 (2008) [Изв. АН. Сер. хим., 996 (2008)]
130. V.I.Loizinsky, L.G.Damshkaln, K.O.Bloch, P.Vardi, N.V.Grinberg, T.V.Burova, V.Y.Grinberg. *J. Appl. Polym. Sci.*, **108**, 3046 (2008)
131. N.Kathuria, A.Tripathi, K.K.Kar, A.Kumar. *Acta Biomater.*, **5**, 406 (2009)
132. I.N.Savina, B.Mattiasson, I.Yu.Galaev. *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.*, **44**, 1952 (2006)
133. A.E.Ivanov, L.Nilsson, I.Yu.Galaev, B.Mattiasson. *Int. J. Pharm.*, **358**, 36 (2008)
134. R.M.Reddy, A.Srivastava, A.Kumar. *PLOS ONE*, **8**, e77861 (2013)
135. J.Ladd, Z.Zhang, S.Chen, J.C.Hower, S.Jiang. *Biomacromolecules*, **9**, 1357 (2008)
136. E.Stenberg, B.Persson, H.Roos, C.Urbaniczky. *J. Colloid Interface Sci.*, **143**, 513 (1991)
137. A.Hucknall, S.Rangarajan, A.Chilkoti. *Adv. Mater.*, **21**, 2441 (2009)
138. L.Andruzzo, W.Senaratne, A.Hexemer, E.D.Sheets, B.Ilic, E.J.Kramer, B.Baird, C.K.Ober. *Langmuir*, **21**, 2495 (2005)
139. R.Schlapak, P.Pammer, D.Armitage, R.Zhu, P.Hinterdorfer, M.Vaupel, T.Fruhwrith, S.Howorka. *Langmuir*, **22**, 277 (2006)
140. A.Cattani-Scholz, D.Pedone, F.Blobner, G.Abstreiter, J.Schwartz, M.Tornow, L.Andruzzo. *Biomacromolecules*, **10**, 489 (2009)
141. T.Zimina, V.Luchinin. *Nanoindustry*, (5), 80 (2010) [Наноиндустрия, (5), 80 (2010)]
142. D.O.Fesenko, T.V.Nasedkina, D.V.Prokopenko, A.D.Mirzabekov. *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 1860 (2005)
143. S.Hajizadeh, A.E.Ivanov, M.Jahanshahi, M.H.Sanati, N.V.Zhuravleva, L.I.Mikhailovska, I.Yu.Galaev. *React. Funct. Polym.*, **68**, 1625 (2008)
144. S.Petrova, Y.Kostov, K.Jeffris, G.Rao. *Anal. Lett.*, **40**, 715 (2007)
145. V.G.Andreou, Y.D.A.Clonis. *Biosens. Bioelectron.*, **17**, 61 (2003)
146. I.N.Kurochkin. In: *Advances in Biosensors. Biosensors: a Russian Perspective. Vol. 3.* (Eds A.P.F.Turner, Yu.M.Yevdokimov). JAI Press, Greenwich, Connecticut, 1995. P. 77
147. G.V.Dubacheva, M.V.Porus, L.V.Sigolaeva, D.V.Pergushov, D.V.Tur, V.S.Papkov, A.B.Zezin, A.A.Yaroslavov, A.V.Eremenko, I.N.Kurochkin, S.D.Varfolomeev. *Nanotechnol. Russ.*, **3**, 221 (2008) [Рос. нанотехнол., **2** (1–2), 154 (2007)]
148. L.V.Sigolaeva, D.V.Pergushov, C.V.Synatschke, A.Wolf, I.Dewald, I.N.Kurochkin, A.Feryc, A.H.E.Müller. *Soft Matter*, **9**, 2858 (2013)
149. H.Bergenudd, G.Coullerez, M.Jonsson, E.Malmström. *Macromolecules*, **42**, 3302 (2009)
150. L.A.Kartsova, E.A.Bessonova. *Russ. Chem. Rev.*, **84**, 860 (2015) [Успехи химии, **84**, 860 (2015)]
151. F.Wan, J.Zhang, A.Lau, S.Tan, C.Burger, B.Chu. *Electrophoresis*, **29**, 4704 (2008)
152. S.A.Asher, V.L.Alexeev, A.V.Goponenko, A.C.Sharma, I.K.Lednev, C.S.Wilcox, D.N.Finegold. *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 3322 (2003)
153. M.Karg, Y.Lu, E.Carbó-Argibay, I.Pastoriza-Santos, J.Pérez-Juste, L.-M.Liz-Marzan, T.Hellweg. *Langmuir*, **25**, 3163 (2009)
154. A.E.Ivanov, N.M.Solodukhina, L.Nilsson, M.P.Nikitin, P.I.Nikitin, V.P.Zubov, A.A.Vikhrov. *Polym. Sci., Ser. A*, **54**, 1 (2012) [Высокомолекулярные соединения. Сер. А, **54**, 3 (2012)]
155. C.Sugnaux, H.-A.Klok. *Macromol. Rapid Commun.*, **35**, 1402 (2014)
156. A.V.Orlov, A.G.Burenin, V.O.Shipunova, A.A.Lizunova, B.G.Gorshkov, P.I.Nikitin. *Acta Natur.*, **6**, 85 (2014)
157. M.P.Nikitin, P.M.Vetoshko, N.A.Brusentsov, P.I.Nikitin. *J. Magn. Magn. Mater.*, **321**, 1658 (2009)
158. A.V.Orlov, J.A.Khodakova, M.P.Nikitin, A.O.Shepelyakovskaya, F.A.Brovko, A.G.Laman, E.V.Grishin, P.I.Nikitin. *Anal. Chem.*, **85**, 1154 (2013)
159. U.I.Tromsdorf, O.T.Bruns, S.C.Salmen, U.Beisiegel, H.Weller. *Nano Lett.*, **9**, 4434 (2009)
160. U.O.Häfeli, J.S.Riffle, L.Harris-Shekawat, A.Carmichael-Baranauskas, F.Mark, J.P.Dailey, D.Bardenstein. *Mol. Pharm.*, **6**, 1417 (2009)
161. D.Horák, M.Babič, H.Macková, M.J.Beneš. *J. Sep. Sci.*, **30**, 1751 (2007)
162. В.Н.Никифоров. *Наука и технологии в пром-сти*, (1), 90 (2011)
163. A.G.Pershina, A.E.Sazonov, V.D.Filimonov. *Russ. Chem. Rev.*, **83**, 299 (2014) [Успехи химии, **83**, 299 (2014)]
164. S.R.Saptarshi, A.Duschl, A.L.Lopata. *J. Nanobiotechnol.*, **11**, 26 (2013)
165. H.A.Panahi, E.R.Soltani, E.Moniri, A.Tamadon. *Talanta*, **117**, 511 (2013)
166. H.B.Sadeghi, H.A.Panahi, M.Ghasemi, E.Moniri, I.Yu.Galaev. *Adv. Polym. Technol.*, **31**, 257 (2012)
167. Y.Deng, W.Yang, C.Wang, S.Fu. *Adv. Mater.*, **15**, 1729 (2003)
168. C.Liu, J.Guo, W.Yang, J.Hu, C.Wang, S.Fu. *J. Mater. Chem.*, **19**, 4764 (2009)
169. S.Chen, Y.Li, C.Guo, J.Wang, J.Ma, X.Lian, L.-R.Yang, H.-Z.Liu. *Langmuir*, **23**, 12669 (2007)
170. I.R.Nasimova, E.E.Makhaeva, A.R.Khokhlov. *J. Appl. Polym. Sci.*, **81**, 3238 (2001)
171. E.V.Churilina, G.V.Shatalov, Ya.I.Korenman, P.T.Sukhanov, V.M.Bolotov. *Russ. J. Appl. Chem.*, **81**, 726 (2008) [Журн. прикл. химии, **81**, 690 (2008)]
172. H.Furukawa, R.Shiomoyo, N.Ohnishi, H.Fukuda, A.Kondo. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **62**, 478 (2003)
173. A.Hoshino, N.Ohnishi, M.Yasuhara, K.Yamamoto, A.Kondo. *Biotechnol. Prog.*, **23**, 1513 (2007)
174. A.Hoshino, T.Nagao, N.Nagi-Miura, N.Ohno, M.Yasuhara, K.Yamamoto, T.Nakayama, K.Suzuki. *J. Autoimmunol.*, **31**, 79 (2008)

Новые электрохимические сенсоры с электродами на основе мультислоев, синтезированных методом послойной химической сборки, и их аналитические возможности

С.С.Ермаков, К.Г.Николаев, В.П.Толстой

Санкт-Петербургский государственный университет
Россия, 199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9

Проанализированы и обобщены результаты исследований в области применения метода послойной химической сборки для получения мультислоев на поверхности электродов с целью создания электрохимических сенсоров для определения концентраций неорганических, органических и биоорганических соединений. Изложена суть метода и отмечены его основные достоинства — возможность синтеза в мягких условиях отдельных слоев с заданными толщиной и составом и получения на их основе мультислоев. Рассмотрены условия переноса заряда в слоях на поверхности электрода между молекулами аналита и окислительно-восстановительными центрами электрода, а также условия функционирования оптимального электрода. Отмечена роль электрокатализаторов и интермедиатов в этих процессах. Особое внимание уделено способам синтеза наночастиц золота разного размера. Приведены результаты экспериментальных работ и обсуждены перспективы применения метода послойной химической сборки для создания электродов различных электрохимических сенсоров.

Библиография — 241 ссылка.

Оглавление

I. Введение	880
II. Метод послойной химической сборки и краткая история его развития	881
III. Основные принципы работы электрохимических сенсоров	882
IV. Особенности метода послойной химической сборки, важные при синтезе мультислоев на поверхности электродов электрохимических сенсоров	884
V. Сенсоры на неорганические соединения	886
VI. Сенсоры на органические соединения	886
VII. Сенсоры на биологически активные соединения и глюкозу	891
VIII. Заключение	896

I. Введение

В химической сенсорике электрохимические сенсоры занимают особое место. В настоящее время они нашли широкое применение в различных областях, начиная от анализа воздуха рабочей зоны,^{1,2} определения токсичных веществ и патогенов в окружающей среде и продуктах питания, и заканчивая анализом физиологических жидкостей *in situ*, важным для медицинской диагностики.^{3–9}

Эффективность работы таких сенсоров во многом определяется электрохимическими процессами на поверхности

электродов, в качестве которых в зависимости от конструкции сенсора и способа получения аналитического сигнала используют углеродные материалы, благородные металлы, проводящие оксиды и пр. В последнее время для создания наиболее эффективных электродов стали применять наноструктурированные материалы,^{6, 10} которые имеют особенности, важные для работы сенсора, в частности, позволяют существенно увеличить аналитический сигнал за счет электрокатализа.

Для получения и нанесения на поверхность электрода таких материалов используют известные физические и хими-

С.С.Ермаков (S.S.Ermakov). Доктор химических наук, старший научный сотрудник, профессор кафедры аналитической химии СПбГУ.

Телефон: +7(812) 428–4090, e-mail: ermakov.sergey@chem.spbu.ru

К.Г.Николаев (K.G.Nikolaev). Аспирант того же университета.

E-mail: nikolaevkg@gmail.com

Область научных интересов авторов: новые высокочувствительные методы электрохимических измерений, синтез и применение наноструктур в электроанализе, хемометрика.

В.П.Толстой (V.P.Tolstoy). Доктор химических наук, профессор кафедры химии твердого тела того же университета.

Телефон: +7(812) 428–4104, e-mail: vpitol@yandex.ru

Область научных интересов: препаративная химия наноматериалов, оптическая спектроскопия твердого тела, электронная микроскопия.

Дата поступления 15 октября 2015 г.

ческие методы — напыление в вакууме, метод золь–гель,¹¹ осаждение из растворов, метод Лэнгмюра–Блоджетт,¹² физическую адсорбцию, ковалентное связывание,¹³ капельное нанесение с последующей сушкой¹⁴ и другие. Метод послойной химической сборки (ПХС) — один из интенсивно развиваемых в последние 10–15 лет. Опубликовано несколько обзоров, посвященных особенностям применения этого метода для создания сенсоров на органические вещества и биологические объекты.^{15–21} Однако в них не дана (за исключением обзора¹⁶, посвященного особенностям применения наночастиц золота) сравнительная характеристика аналитических возможностей таких сенсоров. Фактически отсутствуют обзоры публикаций по сенсорам для определения концентраций неорганических аналитов.

Цель настоящей работы — анализ и обобщение исследований по применению метода ПХС для получения электродов электрохимических сенсоров, которые позволяют определять широкий круг неорганических и органических (включая биоорганические) аналитов, а также сопоставление их аналитических характеристик и прогноз дальнейшего развития метода ПХС.

Материал представлен следующим образом. После Введения в разделе II рассмотрен метод ПХС и изложена краткая история его развития. В разделе III рассмотрены основные принципы работы электрохимических и амперометрических сенсоров, а также сформулированы главные задачи, которые необходимо решить для создания высокоэффективных[†] электродов электрохимического сенсора. В разделе IV обсуждены особенности ПХС, важные при создании таких электродов. В разделах V–VII проанализированы аналитические возможности сенсоров на основе электродов со слоями, синтезированными методом ПХС, при определении неорганических, органических и биологических объектов.

II. Метод послойной химической сборки и краткая история его развития

Послойная химическая сборка на поверхности электрода-подложки слоя толщиной на уровне нескольких нанометров может быть выполнена при соблюдении следующих условий:²²

— наличие на поверхности подложки необходимого числа активных центров; эти центры должны вступать в реакции с образованием слоя, толщина которого ограничена так называемым эффектом самонасыщения;

— каждый новый синтезированный слой должен проявлять свойства реакционноспособной подложки при синтезе последующих слоев;

— в процессе многостадийного последовательного синтеза необходимо обязательно удалять избытки реагентов и продуктов реакций после каждой стадии обработки подложки.

Данный подход к синтезу наноструктурированных материалов был реализован в первую очередь при синтезе из газовой фазы слоев оксидов металлов из легколетучих хлоридов металлов и получил название метода молекулярного наслаивания (Atomic Layer Epitaxy (ALE),^{23–25} или Atomic Layer Deposition (ALD)²⁶). В настоящее время данный метод

синтеза сравнительно широко применяется в материаловедении. Достаточно сказать, что, по нашим оценкам, в 2013 г. было опубликовано ~1100 статей, авторы которых использовали его для создания новых тонкослойных материалов.

Важное место при послойном синтезе занимают методики с применением жидкофазных реагентов, к которым относятся растворы солей металлов, коллоидных частиц и полиэлектролитов. Считается, что первые работы, посвященные ПХС, с использованием коллоидных растворов провел Илер,²⁷ с применением растворов солей металлов — Николау²⁸ и Толстой с соавт.²⁹, а растворов полиэлектролитов — Декер и Хонг.³⁰ Первый обзор³¹ работ по этой теме опубликован в 1993 г.

Слои синтезируют по методикам ионного, коллоидного и ионно-коллоидного наслаивания.^{32,33} В первой применяют диссоциированные в растворе соли реагентов, во второй — коллоидные растворы (включая суспензии, мицеллярные и молекулярные растворы), в третьей — коллоидные растворы и растворы солей. В некоторых работах данные методики синтеза характеризуют как полиионную сборку,³⁴ хотя в большинстве случаев проводят химическую сборку не ионов, а коллоидных частиц. Англоязычными вариантами таких названий являются Layer-by-Layer (LbL) Synthesis³⁵ или Successive Ionic Layer Deposition (SILD),^{36–38} а также Successive Ionic Layer Adsorption and Reaction (SILAR);³⁹ причем, как видно из данных терминов, при характеристике применяемых методик не выделяют различные подходы к синтезу, учитывающие природу применяемых реагентов.

В настоящее время методики ПХС с использованием растворов реагентов широко применяются в нанотехнологии при создании новых капсул для доставки лекарств, мембран, антикоррозионных покрытий, электрохромных и магнитных материалов, катализаторов и т.д. Число опубликованных в 2014 г. статей на эту тему превысило 1500.

Применение жидкофазных реагентов открыло новые возможности для послойного синтеза, поскольку таких реагентов существенно больше, чем соединений, легколетучих в низкотемпературной области, и, как правило, сам синтез может быть проведен в мягких условиях (фактически при комнатной температуре), а это дополнительно расширяет круг используемых реагентов и подложек, а также дает возможность исследовать биологические объекты.

Многообразие условий послойного синтеза методом ионного наслаивания отражено на рис. 1, на котором схематично показана последовательность обработки подложки растворами реагентов. Обработка подложки реагентами организована так, что выделяется один цикл, который включает несколько стадий. Сначала проводят обработку раствором соли, содержащей катион из состава растущего слоя, затем удаляют избыток реагента путем промывки растворителем, далее обрабатывают раствором, содержащим анион из состава слоя и вновь осуществляют промывку. Число таких циклов повторяют, исходя из задачи синтеза.

В соответствии с такой схемой, для каждого из растворов реагентов следует выбрать растворитель, концентрацию реагента, его состав, фоновый электролит, значение pH раствора, его температуру и время обработки. Как минимум, применяют два реагента и две промывные жидкости, для которых также нужно контролировать pH, температуру, наличие и концентрацию фонового раствора и т.д. Поэтому задача выбора условий ионного наслаивания значительно усложняется. Следует учесть также, что перед синтезом необходимо найти условия специальной обработки поверхности подложки для обеспечения адсорбции одного из реагентов с образованием первого слоя.

[†] Под эффективностью сенсора мы будем понимать режим работы, при котором получают лучшие аналитические характеристики — чувствительность, предел обнаружения, стабильность, линейный диапазон и время отклика.



Рис. 1. Последовательность обработки подложки реагентами при ПХС.

1, 2 — растворы солей, которые при взаимодействии на поверхности подложки дают слой труднорастворимого соединения.

Таким образом, рост слоя на поверхности в процессе ПХС будет наблюдаться, если в первом цикле наслаивания на подложке произошли следующие процессы:

- адсорбция катион- или анионсодержащего реагента, входящего в структуру растущего слоя;
- данный адсорбированный слой должен быть устойчив при удалении избытка реагента путем промывки;
- адсорбция противоположно заряженного реагента при обработке раствором второго реагента;
- образовавшийся слой также должен быть устойчив при удалении избытка второго реагента путем промывки.

В результате этих реакций на поверхности должен образоваться слой, имеющий новые центры для адсорбции первого реагента при втором и последующих циклах наслаивания. Другими словами, основная задача при синтезе слоев каждого состава — найти реагенты и условия синтеза, удовлетворяющие указанным граничным условиям. Очевидно, что среди возможных реагентов всем условиям будет соответствовать только часть, а нарушение даже одного из условий ПХС приведет к тому, что при многократном проведении на поверхности таких циклов слой образовываться не будет.

Сравнивая различные методики послойного синтеза с использованием растворов реагентов, следует отметить, что ионное, ионно-коллоидное и коллоидное наслаивания отличаются от послойного синтеза или метода золь–гель. Действительно, в случае двух последних методов подложку также можно многократно обрабатывать растворами реагентов и фиксировать образование на поверхности слоя, толщина которого возрастает с увеличением числа циклов обработки. Толщина такого слоя будет зависеть от времени обработки подложки реагентами и их концентрации, а именно вследствие этого снижается точность заданной толщины синтезируемых слоев.

III. Основные принципы работы электрохимических сенсоров

Принципиальная конструкция амперометрического сенсора впервые предложена Кларком с соавт.⁴⁰ Был создан сенсор для определения кислорода, а также сконструирован первый ферментный биосенсор для определения глюкозы. Дальнейшее развитие работ в этой области привело к появлению очень большого числа электрохимических сенсоров для определения неорганических, органических и биологически активных соединений. Как правило, современный электрохимический сенсор⁴¹ представляет собой устройство, содержащее мембрану (иногда газовый зазор), селективную по физическим характеристикам — агрегатному состоянию, размеру частиц и т.п. (рис. 2). Далее идет чувствительный слой, в котором происходят химические или биохимические реакции, обеспечивающие селективность определения. Последняя часть — преобразователь (потенциостат) — устройство, преобразующее отклик распознающего элемента (физической или химической природы) в измеряемый сигнал (как правило, электрический), величина которого пропорциональна концентрации определяемого вещества или веществ. Часто довольно сложно провести четкую границу между чувствительным слоем и преобразователем; в некоторых случаях последний может выполнять также функцию чувствительного слоя.⁴² Образно говоря, электрохимический сенсор можно представить в виде миниатюрного аналитического устройства, в котором мембрана осуществляет стадию пробоотбора, чувствительный слой обеспечивает сигналообразующий процесс, а преобразователь играет роль инструмента получения аналитического сигнала.

В качестве инструментальных методов в электрохимических сенсорах используют потенциометрию, амперометрию (АМ), циклическую вольтамперометрию (ЦВА), спектроскопию электрохимического импеданса, кулонометрию и кон-

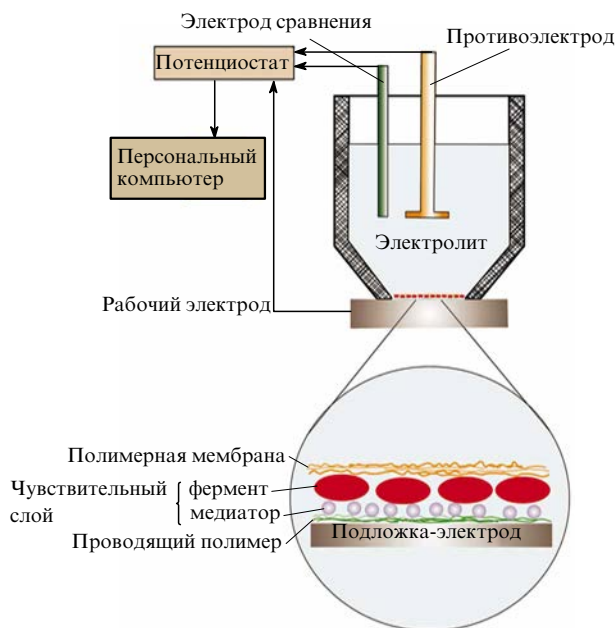


Рис. 2. Устройство электрохимической ячейки и пример последовательности расположения слоев в мультислой на поверхности электрода электрохимического сенсора.

дуктометрию. Наиболее распространены амперометрические сенсоры.

С учетом типа реакции, протекающей в чувствительном слое, сенсоры подразделяют на химические (для достижения селективности определения используют химические реакции) и биологические (используют ферментативные реакции или биоселекторы).

Обычно выделяют три поколения биосенсоров.⁴ Первое поколение базируется на определении кислорода, образующегося (или потребляемого) в результате ферментативной реакции. Второе поколение содержит медиаторы электронного переноса, которые позволяют снизить энергию активации переноса электрона от фермента к электроду. Третье поколение основано на прямом переносе электрона с электрода на активный центр фермента или наоборот. В настоящее время развивается новое направление — создание бесферментных электрохимических сенсоров.⁴²

Основная проблема, с которой сталкиваются исследователи при использовании биосенсоров второго и третьего поколений, — сравнительно низкая электрохимическая активность аналитов биологической природы. Это связано с большими размерами и жесткой структурой биомолекул. Локальное изменение заряда при переносе электрона в такой молекуле сопровождается структурно-химическими процессами, для которых требуются большие энергетические затраты, что, соответственно, приводит к высокой энергии активации электрохимической стадии. Именно поэтому вопрос электрокатализа является основным при разработке амперометрических биосенсоров.

В настоящее время наиболее перспективными электрокатализаторами являются наноструктурированные материалы.^{10, 43–45} Применение наночастиц в электрохимических сенсорах — быстро развивающаяся область электроаналитической химии, о чем свидетельствует значительное число обзоров,^{15–21, 46} посвященных этой теме. Многообразие свойств электродов таких сенсоров достигается благодаря разнообразию способов синтеза наночастиц на поверхности

электродов. За счет электрокатализа удается существенно увеличить аналитический сигнал сенсора и, соответственно, повысить чувствительность определения аналита. Наночастицы металлов осуществляют следующие важные функции в электроанализе:^{18, 47}

- существенно увеличивают проводящую поверхность;
- проявляют каталитические свойства, обусловленные их малыми размерами;
- осуществляют контакт непосредственно с окислительно-восстановительными центрами ферментов.

Следует отметить, что электрокаталитический эффект, выражающийся в увеличении константы скорости переноса электрона, может достигать шести порядков.^{10, 48}

В первом приближении можно считать, что наиболее эффективным будет трансдьюсер, который обеспечивает наиболее полный переход электронов от электрохимически активных центров чувствительного слоя с максимальной каталитической активностью к электроду. Концентрация таких центров должна быть оптимальной с учетом конечной скорости диффузии компонентов анализируемого вещества к поверхности. Последнее условие становится понятным при рассмотрении моделей диффузионных процессов, построенных в работах^{49–51} для нескольких типов электродов, включая частично блокированные (часть поверхности которых покрыта непроводящим веществом, например оксидом), электрохимически гетерогенные (имеющие на поверхности частицы с разной проводимостью), а также пористые электроды.^{52–54} Примером гетерогенных электродов могут служить электроды из стеклоуглерода или In–Sn-оксида (ITO),^{55, 56} на поверхности которых находятся наночастицы благородного металла,^{53, 54} а примером пористых — электроды, на поверхность которых нанесен слой углеродных нанотрубок или полиэлектролитов.^{57, 58} Очевидно, что величина аналитического сигнала будет зависеть от степени шероховатости поверхности электрода.

С учетом многообразия параметров, влияющих на степень эффективности электродов электрохимических сенсоров, создание оптимального электрода — сложная многопараметрическая задача в материаловедении тонкопленочных структур. Следует отметить, что зачастую из-за многообразия факторов, влияющих на аналитический сигнал, их сложно учесть при анализе разных моделей в вычислительном эксперименте и заранее предсказать свойства электрода. Попытки «направленного» задания свойств электрохимического сенсора путем создания на поверхности слоев методами фото- или электрополимеризации,^{59, 60} Ленгмюра–Блоджетт,⁶¹ испарения капель^{62–66} и других, не привели к успеху, поскольку не позволяют на требуемом уровне контролировать состав и морфологию таких слоев. В этом отношении особое значение приобретают методики ПХС, которые дают возможность прецизионно задавать толщину синтезируемого слоя и получать на поверхности электрода все необходимые компоненты, т.е. синтезировать мультислой, содержащий, например, ферменты или биоселекторы, медиаторы электронного переноса, а также электрокатализаторы, обеспечивающие сравнительно быстрый перенос электрона от аналита либо медиатора на электрод и(или) мембрану.

Необходимо специально подчеркнуть, что применение метода ПХС впервые открывает возможность прецизионно задавать толщину каждого из слоев в мультислой и далее изучать электрохимический отклик сенсора. Таким образом, среди серии однотипных электродов можно выбирать наиболее эффективные с точки зрения, например, чувствительности. В частности, в работе⁶⁷ на электрод были нанесены

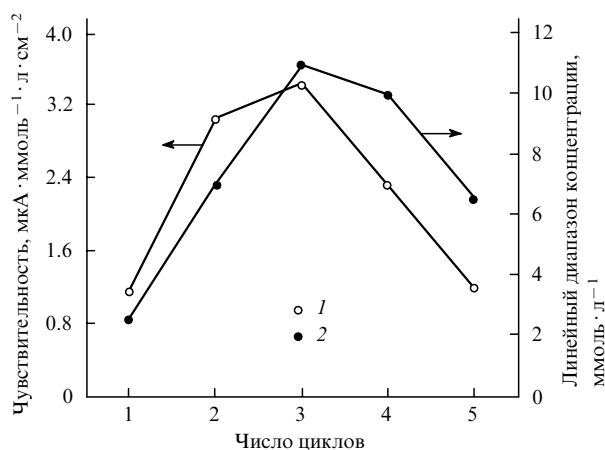


Рис. 3. Изменение чувствительности (1) и линейного диапазона концентрации (2) от числа циклов обработки в процессе ПХС электрода электрохимического сенсора на глюкозу.⁶⁷

слои полиэлектролитов — хлорида полидиаллилдиметил-аммония (ПДДА) и полистиролсульфоната (ПСС), — а также глюкозооксидазы. В экспериментах слои, синтезированные в результате трех циклов ПХС, показали наибольшую чувствительность и максимальный линейный диапазон (рис. 3). По-видимому, после проведения отмеченного числа циклов на поверхности образуется чувствительный слой с максимальной концентрацией электроактивного вещества и минимальным электрическим сопротивлением. Ухудшение характеристик сенсора с электродами, синтезированными после четырех и пяти циклов, вероятно, следует связать с возрастанием диффузионных ограничений в слое наибольшей толщины и увеличением его сопротивления.

Таким образом, в последнее время в материаловедении сформировался новый многообещающий подход к созданию электродов электрохимических сенсоров, основанный на синтезе мультислоев, анализе их электрохимических свойств и выборе оптимальных в ряду однотипных электродов, различающихся числом циклов ПХС.

IV. Особенности метода послойной химической сборки, важные при синтезе мультислоев на поверхности электродов электрохимических сенсоров

В настоящее время возможности метода ионного, ионно-коллоидного и коллоидного наслаивания хорошо известны. Отметим те из них, которые могут быть реализованы при формировании мультислоев на поверхности электродов электрохимических сенсоров. Прежде всего рассмотрим возможность синтеза слоев на поверхности электродов сложной формы, включая микроэлектроды и электроды с неполированной шероховатой поверхностью. Эта особенность метода ПХС обусловлена тем, что на каждом цикле обработки реагентами реакции образования слоя протекают в слое адсорбированных на поверхность подложки ионов или коллоидных частиц, равномерно ее покрывающих. Выбор компонентов для ПХС позволяет формировать на поверхности электрода слои разного состава и создавать сенсоры практически на все классы соединений — неорганические,^{68–113} органические,^{114–128} биологически активные соединения и глюкозу.^{129–217} Данным методом можно синтезировать слои, содержащие все необходимые компоненты, включая

медиаторы, ферменты и другие вещества, ответственные за формирование аналитического сигнала.

Полученные с применением метода ПХС сенсоры условно можно разделить на ферментные и бесферментные. В случае бесферментных сенсоров аналитический сигнал получается благодаря электрохимической активности аналитов. Повышение чувствительности достигается за счет использования медиаторов, иммобилизованных на поверхности электрода,^{78, 80, 81, 85, 87, 96, 99–101, 114, 157, 161, 163–165, 171, 174} или катализа поверхностными наноструктурированными материалами, среди которых следует выделить одно- и многостепенные углеродные нанотрубки^{70, 82, 100, 105, 108, 115, 117} (см. также^{138, 144, 147, 148, 150, 155, 162, 167, 169, 170, 173–179, 186, 197–207, 217}), графен,^{69, 74, 126, 171} наночастицы платины,^{135, 166, 177, 178} золота^{75, 80, 97, 99–101, 105, 109, 110, 129–132, 138, 143, 145, 149, 171, 185} (см. также^{189–193, 214}), сульфида кадмия,^{84, 165, 194} оксидов металлов.^{133, 155, 161}

Следует отметить, что при создании ферментных сенсоров ПХС можно выполнять в мягких условиях, как правило, при комнатной температуре. Это имеет большое значение при модифицировании электродов биосенсоров, содержащих ферменты и белки: предотвращается денатурация молекул и сохраняется их активность на поверхности электрода. В настоящее время такой подход широко применяют при создании биосенсоров на глюкозу,^{188–190, 192–198, 208–217} холин,^{139, 140} пирокатехин,^{125, 147} фенол,^{119, 128} аммиак⁷³ и др. Предложено использовать значительное число ферментов, которые могут быть непосредственно включены в мультислой в условиях ПХС. К ним относятся глюкозооксидаза,^{125, 126, 181, 188–190, 192–198, 208–217} пероксидаза хрена,¹²⁵ фитаза,¹¹⁹ тирозиназа,¹²⁸ холиноксидаза,^{139, 140} Кроме того, в состав чувствительного слоя методом ПХС вводят белки и геминь,^{92–95, 103, 104} антигены,^{142, 144–149, 155, 184, 185} аптамеры¹⁷³ и другие традиционные компоненты биосенсоров.

С учетом морфологии чувствительного слоя различают два варианта. В первом фермент непосредственно иммобилизован на поверхности электрода (примеры приведены выше), а во втором — на поверхности наночастиц металлов или оксидов, нанесенных на электрод. В последнем случае достигается большая удельная поверхность чувствительного слоя и, возможно, наблюдается эффект электрокатализа.^{81, 205} Иммобилизация ферментов осуществляется вследствие их адсорбции на поверхности наночастиц, контактирующих с электродом,^{71, 102, 170, 178, 192, 201, 202} или на слои полиэлектролита, предварительно нанесенные на наночастицы методом ПХС^{73, 90, 93, 95, 107, 119, 121, 125, 139, 140, 152, 159} (см. также^{168, 180, 182, 183, 201, 208, 210–213, 216}).

При иммобилизации на электроде желательнее, чтобы фермент находился на поверхности электропроводящего вещества и контактировал с медиатором, обеспечивающим эффективный перенос электронов на электрод. Селективность такого сенсора резко повышается, если с внешней по отношению к электроду стороны находится специальная полупроницаемая мембрана, защищающая фермент от воздействия нежелательных компонентов анализируемого раствора. Для сенсора на глюкозу с ферментом глюкозооксидазой такими компонентами являются аскорбиновая и мочевая кислоты, а также ацетаминофен. Мембрана не должна допускать их взаимодействия с ферментом, но должна пропускать молекулы глюкозы, кислорода, пероксида водорода и глюконовой кислоты (рис. 4).

Рассмотрим более подробно условия ПХС электропроводящих полимеров и полупроницаемых мембран. Такой синтез выполняют с использованием растворов полиэлектролитов. Проводящие полимерные слои могут быть полу-

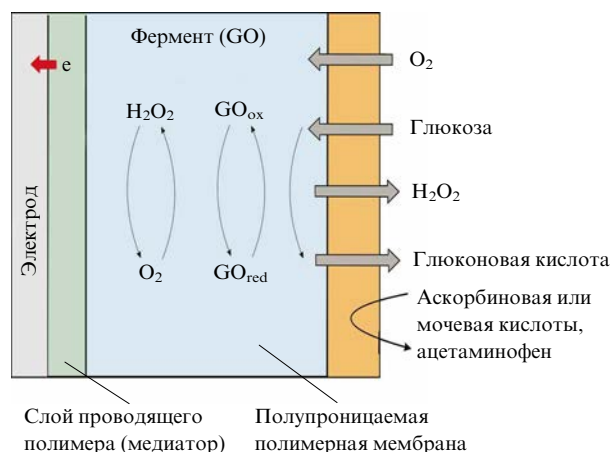


Рис. 4. Схема различных диффузионных, химических и электрохимических процессов в мультислой на поверхности электрода сенсора на глюкозу.

чены с использованием растворов ПДДА и сульфонилированного полианилина (СПАН), поли(этилен-3,4-диокситиофена) (ПЕДОТ) и полиэтиленimina (ПЭИ)²¹⁸ или полианилина (ПА),²¹⁹ а также полибутиленвиологена (ПБВ) и полистиролсульфоната (ПСС),²²⁰ а полупроницаемые мембраны — с использованием растворов гуминовых кислот

(НАs) и FeCl₃, НАs и ПДДА, ПСС и ПДДА.²²¹ Показано, что оптимизировать свойства таких мембран можно, контролируя число циклов при ПХС, т.е. изменяя толщину синтезируемых слоев.

Другая проблема, которую приходится решать при создании высокоэффективного биосенсора, содержащего фермент, связана с оптимизацией процессов перехода электронов от активного центра фермента к поверхности электрода. Она возникает из-за того, что окислительно-восстановительный центр фермента окружен плотной белковой оболочкой, которая усложняет перенос электронов; для оптимизации таких процессов используют медиаторы,^{81, 107, 140, 169, 182, 195, 197, 206, 210} участвующие в окислительно-восстановительных реакциях на границе раздела фермент/электрод и снижающие перенапряжение электрохимической реакции. К числу таких медиаторов относят ферроцианиды различных металлов,^{81, 87, 114, 140} комплексы переходных металлов с органическими лигандами,^{83, 85, 149, 157, 201} органические соединения,^{78, 161, 163, 171} белки и гемины.^{71, 92–95, 101–104, 107} Важно, что слои данных соединений также могут быть получены в условиях ПХС.

В последние годы особое внимание уделяется электрокатализу наночастицами, в частности углерода и благородных металлов (в основном золота). В этой связи большое значение имеют способы иммобилизации таких наночастиц на поверхности электрода. Так, для закрепления коллоидных частиц золота²²² на поверхности ее предварительно обраба-

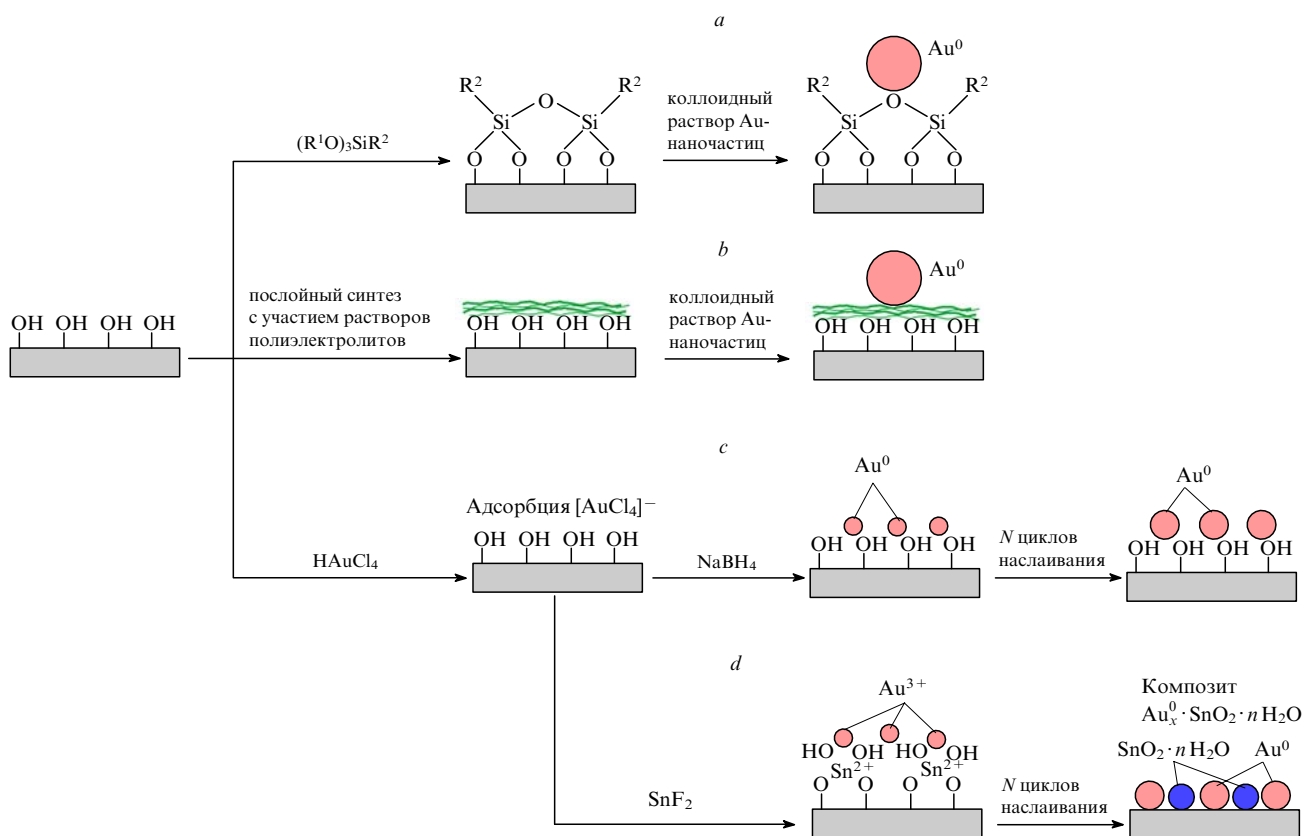


Рис. 5. Возможные маршруты синтеза наночастиц золота на поверхности электрода.

a — иммобилизация на поверхности электрода коллоидных частиц Au за счет взаимодействия с предварительно адсорбированным слоем органического или металлоорганического соединения; *b* — иммобилизация на поверхности электрода с предварительно нанесенным методом ПХС слоем полиэлектролитов; *c* и *d* — последовательные реакции восстановления адсорбированных анионов [AuCl₄]⁻ по методике ионного наслаивания.

тывают раствором 3-аминопропилтриметоксисилана и формируют функциональные группы, которые проявляют по отношению к Au-наночастицам хелатный эффект (рис. 5,а). Закрепить Au-наночастицы можно и на поверхности слоя полиэлектролитов, синтезированных также в условиях ПХС²²³ с использованием растворов ПА и ПСС (рис. 5,б). Однако данные соединения существенно изменяют условия передачи электронов от наночастиц к электроду и снижают характеристики сенсора.

Предложен подход к синтезу Au-наночастиц (на примере поверхности ИТО-электрода), основанный на проведении в условиях ионного наслаивания последовательных многократных реакций восстановления адсорбированных анионов $[\text{AuCl}_4]^-$ (рис. 5,с и d).²²⁴ В соответствии с этим подходом, на стадии обработки поверхности раствором HAuCl_4 происходит адсорбция анионов на ее положительно заряженных центрах, а затем на стадии обработки раствором восстановителя (NaBH_4 или $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) образуются наночастицы Au^0 . Последующая многократная обработка этими реагентами с непрерывным удалением их избытка путем промывки водой ведет к увеличению размеров наночастиц, которые можно контролировать, варьируя число циклов ионного наслаивания. Если в качестве восстановителя использовать раствор SnF_2 , то на поверхности образуется слой наноконструкта $\text{Au}_x^0 \cdot \text{SnO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$,^{225–227} поскольку в результате окислительно-восстановительной реакции в слое адсорбированных ионов катионы Au^{3+} превращаются в Au^0 , а Sn^{2+} в Sn^{4+} (рис. 5,д). Проведенные авторами исследования показали, что синтезированный слой представляет собой совокупность наночастиц Au^0 и $\text{SnO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$.

Очевидно, образующиеся в ходе реакций наночастицы Au^0 (см. рис. 5,с и d) будут находиться в омическом контакте с материалом электрода, и это, по нашему мнению, определяет эффективность работы такого электрода.

Таким образом, слои, синтезированные методом ПХС, которые применяют при создании электродов электрохимических сенсоров, могут быть включены в структуру мультислоя с заданным расположением его отдельных компонентов. Следует подчеркнуть, что с использованием метода ПХС возможно эффективное решение большинства проблем, возникающих при создании электрохимических сенсоров (см. раздел II).

Ниже обсуждены работы, в которых рассмотрены аналитические возможности сенсоров на неорганические, органические, биологически активные аналиты и глюкозу.[‡]

V. Сенсоры на неорганические соединения

Для электрохимического детектирования неорганических молекул чаще всего используют чувствительные слои, состоящие из полиоксометаллатов,^{68, 72, 76, 77} различных аллотропных модификаций углерода⁹¹ — графена,^{69, 74} нанокристаллов алмаза,¹⁰⁴ одно- и многостенных углеродных нанотрубок,^{70, 82, 85, 98, 100, 105, 106, 179, 204} Применяют также наночастицы благородных металлов,^{74, 75, 80, 97–101, 105, 106, 109, 110} оксидов и сульфидов переходных металлов.^{71, 84, 86, 88, 103} Такие наночастицы обладают достаточно развитой поверхностью, стерически доступной

‡ Следует отметить, что одним из продуктов биологической реакции может быть кислород или пероксид водорода, поэтому статьи, в которых не указаны биохимические реакции, отнесены к работам по сенсорам на неорганические соединения. Ввиду сравнительно большого числа публикаций отдельно рассмотрены работы по сенсорам на глюкозу.

для подвода к ней молекул неорганических аналитов. В качестве подложек используют благородные металлы (Au, Pt), стекла, слои ИТО, а также углеродсодержащие материалы.

Для определения большинства неорганических аналитов ферменты в составе чувствительного слоя, как правило, не нужны, так как селективность достигается за счет выбора потенциала детектирования, и получение аналитического сигнала обусловлено электрохимической активностью аналитов. Исключение составляют случаи определения электрохимически не активного аммиака.^{73, 90} В качестве электрокатализаторов используют органические^{78, 83, 85, 89, 100, 101, 107} и неорганические медиаторы,^{81, 82, 87, 96} гемыны^{71, 84, 93–95, 103, 104} и наноструктуры.

Из довольно широкого круга неорганических соединений, которые определяют при помощи электрохимических сенсоров с мультислоями, синтезированными методом ПХС, преобладают халькогениды,⁷² пниктогениды^{68–71, 73, 74} и галогениды.^{72, 76} Большой интерес вызывают высокочувствительные определения пероксида водорода и кислорода — элементов, играющих важную роль в природе, а также определение pH растворов.

Методом амперометрии с использованием электрода на основе мультислоев графена и фталоцианинового комплекса кобальта(II), связанных через ПДДА, удалось достичь предела обнаружения нитритов, равного $8.4 \cdot 10^{-8}$ моль \cdot л⁻¹ (табл. 1). Такое низкое значение получено за счет использования слоев графена, который увеличивает скорость переноса электронов от реакционных центров к электроду, и Co^{II} -комплекса фталоцианина, выполняющего функцию реагента для окисления нитритов. При определении пероксида водорода методом амперометрии на электроде, состоящем из мультислоев наночастиц MnO_2 и холиноксидазы, сшитых ПДДА и ПАС, достигнут предел обнаружения $2.2 \cdot 10^{-8}$ моль \cdot л⁻¹, что связано с высокой каталитической активностью наночастиц MnO_2 . При определении кислорода методом амперометрии с применением электрода, модифицированного мультислоями β -циклодекстрина и наночастицами золота, предел обнаружения снизился до 0.05 мг \cdot л⁻¹; повысилась чувствительность к нитритам до 4 нА \cdot мкмоль⁻¹ \cdot л, пероксиду водорода — до 0.62 А \cdot моль⁻¹ \cdot л \cdot см⁻², кислороду — до $2.065 \cdot 10^{-5}$ А \cdot л \cdot см⁻² \cdot мг⁻¹.

При использовании электрохимических сенсоров, полученных методом ПХС, достигаются более низкие пределы обнаружения, чем при применении других электрохимических сенсоров. Так, при определении нитрит-ионов на электроде, модифицированном комплексом марганец – фенантролин (связанными через кислородные мостики), который иммобилизован в матрице Nafion, предел обнаружения составил $6.5 \cdot 10^{-6}$ моль \cdot л⁻¹ (см.²²⁸). Такая же тенденция наблюдается и в случае определения H_2O_2 на электроде, модифицированном оксидом графена с иммобилизованными капельным методом наночастицами серебра. В этом случае предел обнаружения составил $1.099 \cdot 10^{-6}$ моль \cdot л⁻¹ (см.²²⁹).

VI. Сенсоры на органические соединения

При определении органических аналитов чаще всего в состав слоя на поверхности электрода вводят наночастицы различных аллотропных модификаций углерода, в частности углеродные нанотрубки,^{70, 115, 117, 126} или наночастицы гидроксидов переходных^{120, 128} и платиновых металлов (Pt, Pd),^{118, 123, 124, 126} Электродом-подложкой, как правило, служат стекла с пленками ИТО, а также углеродные материалы.

Таблица 1. Составы мультислоев, синтезированных в условиях ПХС на поверхности электродов, методы измерения и характеристики электрохимических сенсоров для определения ряда неорганических аналитов.

Состав мультислоя	Материал электрода-подложки	Аналит	Метод измерения ^a	Характеристики сенсора					Ссылки
				$S, A \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-2}$	ТО, с	СТБ, сут	ЛИ, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	ПО, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	
ПОМ – ПДДА	C	NO_2^-	ЦВА (–0.4–0.4), АМ (–0.22)	$4 \cdot 10^{-3}$ (см. ^b)	≤ 6	55	–	–	68
Графен/фталочианин кобальта – ПДДА	СУЭ	NO_2^-	ЦВА (0.2–1.4), АМ (0.8)	–	5	–	$(0.1–1) \cdot 10^{-3}, (2–36) \cdot 10^{-6}$	$8.4 \cdot 10^{-8}$	69
ОУН – СОПП	СУЭ	NO_2^-	ЦВА (–0.2–0.5), АМ (–0.77)	–	–	–	–	–	70
Гемоглобин – Fe_3O_4	Pt	NO_2^-	АМ (–0.7)	–	–	–	$1.5 \cdot 10^{-6}–0.12 \cdot 10^{-3}$	$0.29 \cdot 10^{-6}$	71
		H_2O_2	АМ (–0.4)	–	–	–	$0.125 \cdot 10^{-6}–0.16 \cdot 10^{-3}$	$3.0 \cdot 10^{-8}$	
ПОМ – ПАУ – ПАА	Au	NO_2^-	ЦВА (–0.2–0.4)	$5 \cdot 10^{-4}$	–	–	$(0.5–70) \cdot 10^{-3}$	–	72
		ClO_3^-		$1.5 \cdot 10^{-4}$	–	–	$(0.9–100) \cdot 10^{-3}$	–	
		$\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$		$4.32 \cdot 10^{-2}$	–	–	$(0.05–0.8) \cdot 10^{-3}$	–	
Уреаза, аргиназа – ПДДА – ПСС	Au	NH_3	СЭИ	–	–	–	–	–	73
НЧ Pd – графен – ТМА	Au	$\text{H}_2\text{O}, \text{NO}_2, \text{H}_2$	ЦВА (–0.4–1.4), АМ (0.066)	–	–	–	–	–	74
НЧ Au – ПДДА	СУЭ	As(III)	ЦВА (0.1–0.6)	–	–	–	–	$0.48 \cdot 10^{-6}$	75
ПОМ – порфирины	ITO	ClO_2^-	ЦВА (0.2–1.2), АМ(0.95)	$1.6 \cdot 10^{-1}$ (см. ^b)	–	–	–	$13.8 \cdot 10^{-6}$	76
ПОМ – ПДДА	C	H_2O_2	ЦВА (0.0–0.4)	–	–	–	–	–	77
Нафтол зеленый В – СДГ	СУЭ	H_2O_2	ЦВА (0.2–0.6), АМ(0.38)	–	–	14	$8 \cdot 10^{-6}–1.8 \cdot 10^{-4}$	$0.9 \cdot 10^{-6}$	78
СДГ	ITO	H_2O_2	ЦВА (–0.2–0.8)	–	–	20	$4.9 \cdot 10^{-7}–2.4 \cdot 10^{-4}$	–	79
НЧ Au – тионин	Au	H_2O_2	ЦВА (–0.35–0.1), АМ (–0.18)	$22.8 \cdot 10^{-3}$	–	–	$6.0 \cdot 10^{-6}–1.1 \cdot 10^{-3}$	$5.8 \cdot 10^{-6}$	80
Гексааниоферрат меди	(F-Sn)-оксид	H_2O_2	ЦВА (0.0–1.2), АМ (0.0 B)	$3 \cdot 10^{-2}$	–	–	–	–	81
МУН – политионин – оксид железа	СУЭ	H_2O_2	ЦВА (–0.6–0.3), АМ (–0.5)	$2.74 \cdot 10^{-3}$	–	–	$(0.099–6.54) \cdot 10^{-3}$	$0.0536 \cdot 10^{-3}$	82
Со-Комплекс тетрасульфофталочианина – ПДДА	Au	H_2O_2	ЦВА (–0.2–0.5)	–	–	14	$(1–20) \cdot 10^{-6}$	$0.4 \cdot 10^{-6}$	83
Гемоглобин – НЧ CdS – хитозан	СУЭ	H_2O_2	ЦВА (–0.9–0.3), АМ (–0.4)	–	–	–	$0.125 \cdot 10^{-6}–1.20 \cdot 10^{-3}$	$0.083 \cdot 10^{-6}$	84
Fe-Комплекс фталочианина – ПАБС – МОУН	Au	H_2O_2	ЦВА (–0.1–0.6)	$0.87 \cdot 10^{-3}$ (см. ^b)	–	–	–	$5.5 \cdot 10^{-4}$	85
MnO ₂ – ПДДА – ПАС	СУЭ	H_2O_2	АМ (0.25; 0.45)	0.377	–	–	$4.5 \cdot 10^{-8}–1.0 \cdot 10^{-4}$	$2.2 \cdot 10^{-8}$	86
НЧ берлинской лазури – ПАУ	Стекло	H_2O_2	АМ (0.2)	–	–	–	–	–	87
TiO ₂ – ПАУ	ПГЭ	H_2O_2	ЦВА (–0.2–0.6)	–	–	–	–	–	88
TiN – бромид 1-(3-аминопропил)-3-метил-имидазолия	СУЭ	H_2O_2	ЦВА (–0.8–0.5), АМ (–0.35)	$3.80 \cdot 10^{-1}$	–	–	$1.0 \cdot 10^{-6}–2.1 \cdot 10^{-3}$	–	89
GOX – ПДДА	СУЭ	H_2O_2	ЦВА (–0.05–0.5), АМ (0.2)	–	–	–	$(0.1–0.8) \cdot 10^{-3}$	–	90

Таблица 1 (продолжение).

Состав мультислоя	Материал электрода-подложки	Аналит	Метод измерения ^a	Характеристики сенсора					Ссылки
				$S, A \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-2}$	ТО, с	СТБ, сут	ЛИ, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	ПО, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	
Мезопористый углерод СМК-3	СУЭ	H ₂ O ₂	ЦВА (-1.0-0.3)	—	—	30	$(1.2-57) \cdot 10^{-6}$	$0.6 \cdot 10^{-6}$	91
Миоглобин-ПСС	ГЭ	H ₂ O ₂	ЦВА (-0.6-0.2)	0.62	—	—	$(1-70) \cdot 10^{-6}$	—	92
Миоглобин-ПДДА	ПГЭ	H ₂ O ₂	ЦВА (-0.8-0.2), АМ(-0.1)	$1.606 \cdot 10^{-3}$	—	—	$(10-130) \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	93
Гемоглобин-ПАУ, ПСС, ПС	СУЭ	H ₂ O ₂	ЦВА (-0.8-0.2)	$4.3 \cdot 10^{-1}$	—	—	$2.5 \cdot 10^{-6}-1.2 \cdot 10^{-4}$	$2.1 \cdot 10^{-7}$	94
Гемоглобин-ПДДА- мезопористый алюминий	СУЭ	H ₂ O ₂	ЦВА (-0.7-0.1), АМ(-0.3)	—	—	15	$1.0 \cdot 10^{-6}-1.86 \cdot 10^{-4}$	10^{-7}	95
Берлинская лазурь- ПДДА	ITO	H ₂ O ₂	ЦВА (-0.2-1.0), АМ(-0.1)	—	—	—	$(0.5-3.5) \cdot 10^{-3}$	$0.1 \cdot 10^{-3}$	96
НЧ Au	СУЭ	H ₂ O ₂	ЦВА (-0.5-0.8) АМ (-0.3)	$(6.339 \pm 0.156) \cdot 10^{-2}$ (см. ^b) $(2.452 \pm 0.230) \cdot 10^{-2}$ (см. ^b)	—	—	$5.0 \cdot 10^{-6}-1.0771 \cdot 10^{-3}$ $1.4745 \cdot 10^{-3}-2.5362 \cdot 10^{-2}$	—	97
НЧ Au-хитозан- МУН	СУЭ	H ₂ O ₂	АМ (-0.2)	$9.221 \cdot 10^{-2}$	—	—	$1.5 \cdot 10^{-6}-5.1 \cdot 10^{-4}$	$9.0 \cdot 10^{-8}$	98
НЧ Au-поливиологен	Au	H ₂ O ₂	ЦВА (-0.6 ÷ -0.31)	0.48	—	—	до $35 \cdot 10^{-3}$	10^{-6}	99
Сут с-НЧ Au-ионная жидкость-МУН	СУЭ	H ₂ O ₂	АМ (-0.2)	—	—	—	$5.0 \cdot 10^{-5}-1.15 \cdot 10^{-3}$	$3.0 \cdot 10^{-6}$	100
Сут с-НЧ Au	ITO	H ₂ O ₂	АМ (-0.1)	—	—	—	$(0.1-0.4) \cdot 10^{-3}$	$0.5 \cdot 10^{-6}$	101
HRP-нанослой оксидов титана	СУЭ	H ₂ O ₂	ЦВА (-0.8-0.2)	0.78	—	—	$2.1 \cdot 10^{-6}-1.85 \cdot 10^{-4}$	$0.7 \cdot 10^{-6}$	102
Гемоглобин-Fe ₃ O ₄ - хитозан	ITO	H ₂ O ₂	ЦВА (-0.9-0.3)	—	—	—	$(0.77-160) \cdot 10^{-6}$	—	103
Гемоглобин-нано- кристаллические алмазы	СУЭ	H ₂ O ₂	АМ (-0.3)	—	—	—	$0.5 \cdot 10^{-6}-0.25 \cdot 10^{-3}$	$0.4 \cdot 10^{-6}$	104
НЧ Au-ПДДА-МУН	СУЭ	O ₂	ЦВА (-0.4-1.4)	—	—	—	—	—	105
НЧ Pt	ОУН	CO ₂	ЦВА ^c	—	—	—	0-1	—	106
Сут с-лакказа-сульфа- нилундекановая кислота, полиаспарагиновая кислота	Au	O ₂	ЦВА (-0.35-0.3)	—	—	—	—	—	107
МУН-ПЭИ	C	O ₂	ЦВА (-0.5-1.0)	—	—	—	—	—	179
β-Циклодекстрин-НЧ Au	Au	O ₂	АМ (-0.15)	—	—	60	$0.2-6.5$ (см. ^d)	0.05 (см. ^d)	109
НЧ Au	СУЭ	O ₂	ЦВА (-0.3-0.6)	—	—	—	—	—	110
FeTsPc-FeT4MPyP	СУЭ	O ₂	АМ (-0.15)	$2.065 \cdot 10^{-5}$ (см. ^e)	—	10^f	$0.2-6.4$ (см. ^d)	0.06 (см. ^d)	111

Таблица 1 (окончание).

Состав мультислой	Материал электрода-подложки	Аналит	Метод измерения ^a	Характеристики сенсора					Ссылки
				$S, A \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-2}$	ТО, с	СТБ, сут	ЛИ, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	ПО, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	
ПОМ–ПДДА	C	См. ^g	Потенциометрия, ЦВА (–1–0), воспроизводимость, 3мВ	69 ± 2 (см. ^h)	≥ 7	≥ 90	–	10^{-14}	112
ПОМ–ПДДА	C	См. ^g	ЦВА (–1.2–0.2)	72.1 ± 0.4 (см. ^h)	–	–	–	–	113
ОУН–ПДДА	Au, Cг	См. ^g	Кондуктометрия (рН)	–	–	–	0–9 (см. ⁱ)	–	204

Примечание. Приняты следующие обозначения: *S* — чувствительность, ТО — время отклика, СТБ — стабильность, ЛИ — линейный интервал, ПО — предел обнаружения, ПОМ — полиоксалаты, СУЭ — стеклоуглеродный электрод, СЭИ — спектроскопия электрохимического импеданса, ОУН — однослойные углеродные нанотрубки, СОПП — сверхокисленный полипиролл, ПАУ — полициклические ароматические углеводороды, ПАА — полиакриламид, ТМА — хлорид 3-триметоксисилпропилтриметиламмония, СДГ — слоистый двойной гидроксид, МУН — многослойные углеродные нанотрубки, ПАБС — полиакрилонитрилбутадиестирол, МОУН — смесь многостенных и одностенных нанотрубок, ПГЭ — пиролизированный графитовый электрод, ПАС — поли(*n*-ацетоксистириол), GOX — глюкозооксидаза, СМК-3 — марка мезопористого углерода, ГЭ — графитовый электрод, ПС — полистирол, Сут с — цитохром С, НРР — пероксидаза хрена, FeTs — тетрасульфоталониан железа(II), FeT4MPy — тетраakis(*N*-метилпиридил)порфирин железа(III).

^a Здесь и в других таблицах в скобках указан интервал измерения потенциала (метод ЦВА) и фиксированный потенциал (метод АМ) в вольтах. ^b Размерность $A \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{л}$. ^c Потенциальный отклик цепи 0.2 В. ^d Размерность $\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$. ^e Размерность $A \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-2}$. ^f Указано число измерений. ^g Определение рН. ^h Размерность мВ · (рН)⁻¹. ⁱ В единицах рН.

Таблица 2. Составы мультислоев, синтезированных в условиях ПХС на поверхности электродов, методы измерения и характеристики электрохимических сенсоров для определения ряда органических аналитов.

Состав мультислоя	Материал электрода-подложки	Аналит	Метод измерения, В	Характеристики сенсора			Ссылки
				$S, A \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{л}$	ЛИ, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	ПО, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	
Берлинская лазурь – СМС – ПАУ – ПА	Au	Аскорбиновая кислота	ЦВА (0.0–0.5)	–	$(0–50) \cdot 10^{-3}$	10^{-3}	114
МУН – ПДДА	C	То же	ЦВА (–0.1–0.4), АМ (0.2)	$3 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-10}–7 \cdot 10^{-8}$	–	115
Нафтол зеленый В – СДГ	ITO	»	ЦВА (0.2–0.8)	–	$(1.2–55.2) \cdot 10^{-6}$	$0.51 \cdot 10^{-6}$	116
ОУН – СО – ПП	СУЭ	»	ЦВА (нитрит, 0.0–1.2), Дофамин	–	$2 \cdot 10^{-5}–10^{-3}$	$4.6 \cdot 10^{-6}$	70
		Мочевая кислота	ЦВА (–0.2–0.5), АМ (нитрит, 0.77)	–	$1 \cdot 10^{-6}–5 \cdot 10^{-5}$	$3.8 \cdot 10^{-7}$	
МУН – ПДДА – ПСС	C	Аскорбиновая кислота	ЦВА (–0.2–0.5), АМ (0.1)	2.27	$5 \cdot 10^{-5}–10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-7}$	117
		Дофамин	АМ (0.25)	$1.237 \cdot 10^{-1}$	$(50–350) \cdot 10^{-6}$	$1.5 \cdot 10^{-7}$	
		Мочевая кислота	АМ (0.35)	2.53	$(50–800) \cdot 10^{-6}$	$8 \cdot 10^{-7}$	
НЧ Au – ПВ – Os	СУЭ	Аскорбиновая кислота	ЦВА (–0.2–0.5)	–	$(0.1–4.5) \cdot 10^{-3}$	–	118
Фитаза – ПАУ – ITO (см. ^а)	ITO	Фталевая кислотата	ЦВА (–0.1–0.9), АМ (0.6)	–	$(0.5–2) \cdot 10^{-3}$	$0.19 \cdot 10^{-3}$	119
Ni(OH) ₂ – Co(OH) ₂	ITO	Мочевина	ЦВА (–0.2–0.7), АМ (0.4)	$3.2 \cdot 10^{-3}$ (см. ^б)	–	–	120
Уреаза – хитозан – полианилин	C	pH	Потенциометрия	53 (см. ^с)	4–8 (см. ^д)	–	121
		Мочевина		70 (см. ^с)	$10^{-4}–10^{-1}$	–	
Мезопористый SiO ₂ – ПДДА	СУЭ	Нитроароматические соединения	ВА (–1.0 ÷ –0.1)	–	$10^{-9}–10^{-7}$	10^{-9}	122
НЧ Pd – ПА (см. ^а)	СУЭ	Гидразин	ЦВА (–0.5–0.5)	–	$3.0 \cdot 10^{-7}–3.5 \cdot 10^{-4}$, $5.0 \cdot 10^{-4}–1.2 \cdot 10^{-2}$	$5.0 \cdot 10^{-8}$	123
НЧ Pd – ПА	СУЭ	»	ЦВА (–0.8–0), АМ (–0.32, –0.2, 0.2)	$5.4 \cdot 10^{-2}$	$40 \cdot 10^{-6}–10^{-3}$	$0.42 \cdot 10^{-6}$	124
GOX – HRP – ПАУ – ПСС	СУЭ	Пирокатехин	АМ	$76.82 \cdot 10^{-3}$	$(6–60) \cdot 10^{-6}$	$0.9 \cdot 10^{-6}$	125
		<i>n</i> -Фенилендиамин		$1.6 \cdot 10^{-3}$	$(0.6–68.4) \cdot 10^{-6}$	$0.35 \cdot 10^{-6}$	
		<i>o</i> -Фенилендиамин		$1.30 \cdot 10^{-2}$	$(0.8–46.8) \cdot 10^{-6}$	$0.28 \cdot 10^{-6}$	
		<i>m</i> -Фенилендиамин		$8.17 \cdot 10^{-2}$	$(8.5–42.5) \cdot 10^{-6}$	$1.76 \cdot 10^{-6}$	
		Анилин		$1.29 \cdot 10^{-2}$	$(10.5–73.5) \cdot 10^{-6}$	$1.97 \cdot 10^{-6}$	
GOX – ПДДА – S/оксид графена	ITO	Органические аминокислоты	ЦВА (0.2–1.3)	–	$5.0 \cdot 10^{-7}–5.0 \cdot 10^{-4}$	10^{-9}	126
НЧ Pt – ПАМAM	ITO	Метанол	ЦВА (0–1.2)	–	–	–	127
Тирозиназа – наноцеолит – ПДДА	ITO	Фенол	АМ (–0.2)	–	$1.0 \cdot 10^{-8}–1.8 \cdot 10^{-5}$	$0.5 \cdot 10^{-9}$	128

Примечание. Приняты следующие обозначения: СМС — карбоксиметилцеллюлоза, ПВ — поливиниловый спирт, ВА — вольтамперометрия, ПА — полианилин, ПАМAM — дендример 4-полиамидамина. ^а СТБ 15 сут. ^б Размерность $A \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-2}$. ^с Размерность $\text{мВ} \cdot (\text{pH})^{-1}$. ^д В единицах pH. ^е Размерность $\text{мВ} \cdot (\text{pU})^{-1}$; pU — показатель концентрации мочевины.

Чувствительные слои таких электродов состоят в основном из наноструктурированных материалов и(или) медиаторов, так как для получения аналитического сигнала используют прямое окисление или восстановление органических соединений на поверхности электрода. Катализаторами этих процессов являются компоненты чувствительного слоя, и этим обусловлены низкие значения пределов обнаружения. В ряде случаев в состав чувствительного слоя для достижения селективности вводят ферменты.^{119, 121, 126, 128}

Такие электроды используют для определения высокоокислительных соединений (гидразина, метанола, фенола,²³⁰ ароматических, аминокислотных органических соединений), представляющих угрозу экологической безопасности. Анализ этих аналитов с применением электродов со слоями, полученными методом ПХС, показал сравнительно низкие пределы обнаружения (табл. 2), например для гидразина — на уровне $5.0 \cdot 10^{-8}$ моль \cdot л⁻¹, фенола — 0.5 нмоль \cdot л⁻¹, аминокислотных органических соединений — 10^{-9} моль \cdot л⁻¹, и высокую чувствительность — на уровне до $1.3 \cdot 10^{-8}$ А \cdot мкмоль⁻¹ \cdot л. Такие значения объясняются в основном тем, что электроды для определения данных аналитов содержат наночастицы благородных металлов (Pd, Pt) с высокой удельной поверхностью, что вследствие каталитического эффекта и большой электроактивной поверхности приводит к увеличению чувствительности и снижению пределов обнаружения.

Применение метода ПХС дает возможность улучшить аналитические характеристики сенсоров. Так, при биохимическом анализе крови для определения аскорбиновой кислоты и мочевины используют угольный электрод со слоем многослойных углеродных нанотрубок, связанных соответственно ПДДА и ПДДА–ПСС; предел обнаружения аскорбиновой кислоты составил $3 \cdot 10^{-7}$, а мочевины — $8 \cdot 10^{-7}$ моль \cdot л⁻¹ при чувствительности определения на уровне $2.53 \cdot 10^{-6}$ А \cdot мкмоль⁻¹ \cdot л (см.¹¹⁷). Применение для прямого определения аскорбиновой кислоты и мочевины углеродных нанотрубок объясняется тем, что они служат проводниками электронов от реакционных центров к электроду (обеспечивая низкий предел обнаружения), а также позволяют увеличить электроактивную поверхность, что приводит к высоким значениям чувствительности. Электрохимические сенсоры с мультислоями, синтезированными на поверхности электродов методом ПХС, превосходят даже сенсоры на основе тех же материалов, но нанесенных на электрод, например, капельным методом. В последнем случае для угольного электрода, модифицированного оксидом графена, предел обнаружения аскорбиновой кислоты составил $6.45 \cdot 10^{-6}$ моль \cdot л⁻¹ (см.²³¹), а при определении мочевины на химически синтезированных наностолбиках ZnO, модифицированных уреазой, — 10^{-5} моль \cdot л⁻¹ (см.²³²).

VII. Сенсоры на биологически активные соединения и глюкозу

Интенсивность современных исследований (прежде всего в области медицинской диагностики) методов анализа с использованием электрохимических биосенсоров объясняется рядом их преимуществ перед другими методами. К этим преимуществам относятся:

- сравнительно высокая селективность, которая достигается за счет «настраивания» состава чувствительного слоя под конкретный аналит;
- отсутствие стадии пробоподготовки;

— возможность работы с минимальными объемами биологических жидкостей;

— невысокая стоимость, позволяющая использовать биосенсоры для скрининга наиболее распространенных заболеваний.

При разработке электрохимических биосенсоров к наноматериалам в составе электродов предъявляют довольно жесткие требования, основные из которых — отсутствие денатурации биологических молекул при их иммобилизации на поверхности электрода, инертность в реакциях с анализируемым веществом и стабильность во времени. Как правило, в качестве таких материалов используют наночастицы благородных металлов (Au, Pt),^{129–132, 135, 138, 143, 145, 166, 171, 177, 185} углеродные нанотрубки,^{132, 138, 141, 144, 146–148, 162, 167, 171, 177, 185} реже — оксиды и сульфиды переходных металлов.¹³³

В случае сенсоров на биологически активные вещества чувствительный слой может содержать биоселекторы, определяемые видом биологического или биохимического взаимодействия, которое приводит к получению аналитического сигнала. Так, для анализа ДНК используют комплементарное взаимодействие с олигонуклеотидами, аптамерами,^{129, 135–138, 173} для иммунологического анализа — ген-антигенное взаимодействие,^{142, 144–149, 155, 184, 185} в ферментативном анализе используют как прямую реакцию, так и ингибирование ферментативной реакции. В литературе отсутствуют сведения о бактериальных и тканевых сенсорах, получаемых методом ПХС, что, очевидно, связано с недоступностью этих объектов для данной методики синтеза.

Биологические анализы, представленные в настоящем обзоре, проводят с целью своевременной диагностики различных заболеваний, в том числе рака, вирусных и инфекционных заболеваний. Большинство аналитов определяют в составе крови. Так, содержание дофамина контролируется с целью диагностики таких патологий, как шизофрения и болезнь Паркинсона. При использовании ИТО-электрода со слоем, состоящим из полиакриловой кислоты и наночастиц СеО₂, удалось достичь предела обнаружения дофамина 10^{-8} моль \cdot л⁻¹ и повысить чувствительность до 2.292 мкА \cdot мкмоль⁻¹ \cdot л (табл. 3). При определении дофамина с применением электрохимических сенсоров на основе наночастиц сплава Au–Pt, полученных методом импульсной лазерной абляции, предел обнаружения снизился лишь до $6 \cdot 10^{-8}$ моль \cdot л⁻¹. Пирокатехин определяют для диагностирования содержания холестерина, а также контроля образования пирокатехинаминов, способствующих предотвращению развития различных генетических заболеваний и новообразований. Предел обнаружения пирокатехина в биологических образцах при использовании электрохимических сенсоров с ИТО-электродом, модифицированным слоями бисфталоцианина лютеция и полициклическими ароматическими углеводородами, полученными в результате двух циклов ПХС, достиг $3.75 \cdot 10^{-7}$ моль \cdot л⁻¹ при чувствительности $2.0 \cdot 10^{-8}$ А \cdot мкмоль⁻¹ \cdot л. Электрохимический сенсор, изготовленный на основе нанопористого золота методом травления сплава Au–Si, имеет предел обнаружения — $5 \cdot 10^{-7}$ моль \cdot л⁻¹ (см.²³³). Детектирование альфа-1-фетопротеина проводят с целью выявления заболеваний печени (цирроза, гепатита) и для мониторинга протекания беременности у женщин. Минимальная определяемая концентрация альфа-1-фетопротеина с использованием синтезированного в результате 10 циклов ПХС Au-электрода, модифицированного наночастицами платины, берлинской

Таблица 3. Составы мультислоев, синтезированных в условиях ПХС на поверхности электродов, методы измерения и характеристики ряда электрохимических биосенсоров.

Состав мультислоя	Материал электрода-подложки	Аналит	Метод измерения, В	Характеристики сенсора				Ссылки
				S, A · моль ⁻¹ · л	СТБ, сут	ЛИ, моль · л ⁻¹	ПО, моль · л ⁻¹	
Олигонуклеотиды – НЧ Au – ПДДА	СУЭ	ДНК	ВА (0.0–0.7)	–	–	2.2 · 10 ⁻¹³ –2.2 · 10 ⁻⁹	3.20 · 10 ⁻¹⁴	129
НЧ Au-сульфанилпропионовая кислота	Au	ДНК	ПМ	–	–	–	–	130
НЧ Au – GSGHs	ITO	ДНК	ЦВА (0.1–0.7)	–	–	10 ⁻¹¹ –5 · 10 ⁻⁷	–	131
L-Лизин – Cyt c – НЧ Au – хитозан	СУЭ	ДНК	ВА (–0.4–0.0)	–	–	–	–	132
HRP – НЧ Fe ₃ O ₄ – ПДДА – ПСС	Au	ДНК	ЦВА (–0.1–1.5), АМ (–0.1 В), Кулонометрия (–0.1)	–	7	5 · 10 ⁻¹¹ –5 · 10 ⁻⁷	7.1 · 10 ⁻¹²	133
Олигонуклеотиды – НЧ Pt, С – ПДДА	Au	ДНК	АМ (–0.1)	–	–	10 ⁻¹⁵ –10 ⁻¹¹	0.6 · 10 ⁻¹⁵	135
Олигонуклеотиды – Ru ^{III} – ПДДА	СУЭ	ДНК	ВА (0.6–1.2)	–	–	–	–	136
Олигонуклеотиды – сульфанилпропионовая кислота – оксид Zr	Au	ДНК	ЦВА (–0.4 ÷ –0.1)	–	–	–	–	137
Олигонуклеотиды – МУН с тиольными группами – НЧ Au	Au	ДНК	ЦВА (–0.2 ÷ –0.6)	–	–	5 · 10 ⁻¹⁰ –1.0 · 10 ⁻¹¹	6.2 · 10 ⁻¹²	138
Холиноксидаза – MnO ₂ – ПДДА – ПАС	СУЭ	Холин	АМ (0.25; 0.45)	(59 ± 3) · 10 ⁻³ (см. ^а)	–	3.0 · 10 ⁻⁷ –1.0 · 10 ⁻⁴	300 · 10 ⁻⁹	86
Холиноксидаза – ПЭИ – ПДДА (см. ^б)	Pt	»	АМ (0.6)	3.79 · 10 ⁻³ , 9.04 · 10 ⁻³	–	5 · 10 ⁻⁷ –1.0 · 10 ⁻³	0.5 · 10 ⁻⁶	139
Холиноксидаза – 6-О-этокси-триметиламинохитозан – берлинская лазурь (см. ^с)	Pt	»	АМ (0.0)	8.86 · 10 ⁻² (см. ^а)	60	5 · 10 ⁻⁷ –1.0 · 10 ⁻⁴	5 · 10 ⁻⁷	140
МУН – ПДДА	СУЭ	Тиохолин	АМ (0.3)	–	–	1.5 · 10 ⁻⁶ –7.5 · 10 ⁻⁵	7.5 · 10 ⁻⁷	141
Интегрин β1 (антиген) – хитозан	СУЭ	<i>E. coli</i>	СЭИ	252.1 (см. ^д)	–	1.0 · 10 ⁴ –2.0 · 10 ⁶ (см. ^е)	3.5 · 10 ³ (см. ^е)	142

Таблица 3 (продолжение).

Состав мультислоя	Материал электрода-подложки	Аналит	Метод измерения, В	Характеристики сенсора				Ссылки
				$S, A \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{л}$	СТБ, сут	ЛИ, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	ПО, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	
Тионин – хитозан – НЧ Au – МУН	SiO ₂	<i>E. coli</i>	ЦВА (–0.6–0.2)	–	–	–	250 (см. ^с)	148
НЧ Au – МУН – хитозан – тионин	Au	КА	ЦВА (–0.6–0.2)	–	91	0.5–15.0 (см. ^ф); 15.0–200.0 (см. ^ф)	0.01 (см. ^ф)	144
НЧ Au – НЧ TiO ₂ – тионин	Au	КА	ЦВА (–0.4–0.2)	–	60	1.0–80.0 (см. ^ф); 0.2–80.0 (см. ^ф)	0.20 (см. ^ф); 0.07 (см. ^ф)	145
Антиген – МУН – ПДДА – ПСС	СУЭ	КА	ЦВА (–0.2–0.6)	$4.69 \cdot 10^{-6}$, $0.51 \cdot 10^{-6}$ (см. ^г)	30	0.1–2.0 (см. ^ф), 2.0–160 (см. ^ф)	0.06 (см. ^ф)	146
Антиген – щелочная фосфатаза – ОУН – ПДДА	СУЭ	КА	ЦВА (–0.3–0.3)	–	–	$(0.1–1000) \cdot 10^{-3}$ (см. ^ф)	$0.04 \cdot 10^{-3}$ (см. ^ф)	147
Антиген – берлинская лазурь – МОУН – ПЭИ – хитозан	Au	КА	ЦВА (–0.1–0.4)	–	–	0.5–2.0 (см. ^ф)	0.08 (см. ^ф)	148
Антитела – НЧ Au – Co ^{III} трисбипиридил – Нафион	Pt	Гепатит Б	ЦВА (–0.3–0.7), АМ (–0.35)	–	–	0.05–4.5 (см. ^h)	0.015 (см. ^h)	149
β-Циклодекстрин – МУН – хитозан	СУЭ	Дофамин	ЦВА (–0.1–0.5)	2.313	30	$(0.1–25) \cdot 10^{-6}$	$0.06 \cdot 10^{-6}$	132
НЧ С – (ТДА) – SiCl	ITO	»	ЦВА (–0.2–0.7), АМ (0.45)	2.51 (см. ^а)	10	$(0.4–6) \cdot 10^{-6}$	$0.135 \cdot 10^{-6}$	151
GOX – ПАДА	СУЭ	»	ЦВА (–0.2–0.6)	2.292, $8.32 \cdot 10^{-1}$	20	$(1–60) \cdot 10^{-6}$, $(1–120) \cdot 10^{-6}$	$0.02 \cdot 10^{-6}$, $0.27 \cdot 10^{-6}$	152
Полиакриловая кислота – НЧ CeO ₂	ITO	»	АМ (0.585)	–	–	$(4–16) \cdot 10^{-6}$	10^{-8}	153
Полианилин – фталоцианин (Fe, Ni, Cu)	ITO	»	ЦВА (–0.8–0.4)	–	–	–	–	154
Антитела – МУН – ПДДА	Au, Cr	МВ	ЦВА (–0.5–0.5), ИМП	–	–	–	–	155
HRP – гемоглобин – СДГ	ITO	Пирокатехин	ЦВА (–0.8–1.0)	–	–	$6.0 \cdot 10^{-6}–1.7 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-6}$	156
Бисфталоцианин Lu – ПАУ	ITO	»	ЦВА (–0.5–1.2), АМ (0.3)	$2 \cdot 10^{-2}$	–	$(0–900) \cdot 10^{-6}$	$3.75 \cdot 10^{-7}$	157
Конкавалин А – HRP	Au	»	АМ (–0.05)	1.6	–	$(6.0–48) \cdot 10^{-6}$	$0.6 \cdot 10^{-6}$	158
HRP – ПАУ	Au	»	АМ (–0.05)	$4.89 \cdot 10^{-2}$	–	$(6.0–120) \cdot 10^{-6}$	$0.7 \cdot 10^{-6}$	159
Cl-Пирокатехин – ПАМАМ	Au	»	СЭИ	–	–	–	–	160
Метиленовый синий – НЧ Au – тиомочевина	СУЭ	ХГ	ЦВА (–0.7–0.2)	–	60	–	$0.3 \text{ ME} \cdot \text{мл}^{-1}$	161
НЧ Pt – берлинская лазурь – МУН – хитозан	Au	Альфа-1-фето-протеин	ЦВА (–0.1–0.6)	$1.53 \cdot 10^{-6}$ (см. ^г), $0.11 \cdot 10^{-6}$ (см. ^г)	15	0.1–15 (см. ^ф), 15–200 (см. ^ф)	0.08 (см. ^ф)	162
НЧ CdS – поли-конго красный	СУЭ	»	ЦВА (–0.7–0.1), АМ (–0.3)	–	30	0.30–250 (см. ^ф)	0.12 (см. ^ф)	163
Ферроценметанол – ПА	C	»	ЦВА (0.0–0.5) АМ (0.025)	–	15	5–20 (см. ^ф); 20–150 (см. ^ф)	2 (см. ^ф)	164
НЧ Au – тионин – Nafion	Au	»	ЦВА (–0.6–0.2)	–	–	1–250 (см. ^ф)	0.56 (см. ^ф)	165

Таблица 3 (окончание).

Состав мультислойа	Материал электрода-подложки	Аналит	Метод измерения, В	Характеристики сенсора				Ссылки
				S, А · моль ⁻¹ · л	СТБ, с/т	ЛИ, моль · л ⁻¹	ПО, моль · л ⁻¹	
Глутаматдегидрогеназа – НЧ Pt – ПАМАМ (см. ¹)	СУЭ	ГК	ЦВА (–0.6–0.6) АМ (0.2)	–	28	(0.2–250) · 10 ⁻⁶	10 ⁻⁸	166
МУН – сульфонилированные ПДДА (см. ¹)	СУЭ	Цистеин	ЦВА (0–1.1), АМ (0.8)	2.78 · 10 ⁻⁹ 1.38 · 10 ⁻⁸	10 –	20 · 10 ⁻⁶ – 1.3 · 10 ⁻³ 230 · 10 ⁻⁶	– 0.3 · 10 ⁻⁶	167
HRP – ПСС, ПАУ	Au	»	ЦВА (–0.4–0.6) АМ (–0.15)	–	60	(0.1–23.5) · 10 ⁻⁶	0.02 · 10 ⁻⁶	168
β-Лактамаза – гематеин – МУН – хитозан	СУЭ	Пенициллин	ЦВА (–0.4–0.6) АМ (0.2)	–	–	9.3 · 10 ⁻⁶ – 1.0 · 10 ⁻³ (1.0–2.6) · 10 ⁻³	50 · 10 ⁻⁹	169
Аптамер ДНК – МУН	ITO	Тромбин Лизоцим	ЦВА (0.0–0.7)	–	24 21	0.3–165 (см. ^f) 0.2–1.66 · 10 ⁻³	0.14 (см. ^f) 0.17 (см. ^f)	170
Толуидин синий – графен – НЧ Au	СУЭ	Тромбин	ЦВА (–0.6–0.2)	–	–	(0.001–80) · 10 ⁻⁹	0.33 · 10 ⁻¹²	171
Аптамер тромбина – НЧ Au – тионин – Nafion	Au	»	ЦВА (–0.5–0.0)	–	–	(0.12–0.48) · 10 ⁻⁹	0.04 · 10 ⁻⁹	172
Ацетилхолинэстераза – ОУН – ПДДА	СУЭ	Карбарил	ЦВА (–0.2–1)	–	–	от 10 ⁻⁷ (см. ^k)	10 ⁻⁹ (см. ^k)	173
Гемин – МУН – ПАДА (см. ^j)	СУЭ	L-Тирозин	ЦВА (0.0–1.0), АМ (0.8)	3.1 · 10 ⁻¹ (см. ^a)	–	(0.1–28.8) · 10 ⁻⁶	0.01 · 10 ⁻⁶	174
МУН – ПДДА – ПСС	C	Ацетаминофен	ЦВА (–0.1–0.7), АМ (0.3)	3.35 · 10 ⁻⁶	21	–	5.0 · 10 ⁻⁷	175
Холестеринэстераза – МУН – ПДДА	C	Холестерин	ЦВА (–0.8–0.2) АМ (–0.4)	1.365 · 10 ⁻⁴	21	(0.2–1) · 10 ⁻³	30 · 10 ⁻⁶	176
Холестеринэстераза – МУН – НЧ Pt – хитозан – ПСС	Au	»	АМ (0.1)	–	–	(0.001–3) · 10 ⁻³	5 · 10 ⁻⁶	177
Холестеринэстераза – НЧ Pt – МУН	ITO	»	АМ (0.7)	8.7 · 10 ⁻³ (см. ^a)	–	(0.005–10) · 10 ⁻³	0.0028 · 10 ⁻³	178
Ацетилхолинэстераза – МУН – ПАДА – ПАМАМ – Au	СУЭ	Карбофуран	ЦВА (–0.2–0.8)	–	21	4.8 · 10 ⁻⁹ – 0.9 · 10 ⁻⁷	4.0 · 10 ⁻⁹	179
GOX – ПДДА	СУЭ	Силденафил	ЦВА (–0.2–0.5)	–	20	2.0 · 10 ⁻⁸ – 5.0 · 10 ⁻⁷ , 5.0 · 10 ⁻⁷ – 5.0 · 10 ⁻⁵	–	180
GOX	Pt	Карбамазепин	ЦВА (1.0–1.5)	–	–	10 ⁻⁵ – 5 · 10 ⁻⁴	2.75 · 10 ⁻⁵	181
Глутатионредуктазы, глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа – ПЭИ – ферроцен	СУЭ	НАДФ Глюкозо-6-фосфат	АМ (0.5)	–	–	(0–0.2) · 10 ⁻³ (0–0.16) · 10 ⁻³	– –	182
Лакказы – ПЭИ	СУЭ, Pt	n-Фенилендиамин	ЦВА (0.0–1.0)	–	–	–	–	183
Антибиотин иммуноглобулина класса G – Os – ПАУ	Au	Биотин пероксидазы хрена	ЦВА (0.0–0.5)	–	–	–	–	184
Антиальбумин – НЧ Au – политирамин	Au	Альбумин	СЭИ	–	–	6.8 · 10 ⁻¹² – 6.8 · 10 ⁻³ (см. ^k)	6.8 · 10 ⁻¹² (см. ^k)	185
МОУН	ЗУМЭ	Эстрадиол	ЦВА (0.0–0.8)	–	–	2.0 · 10 ⁻⁸ – 2.0 · 10 ⁻⁶ (см. ^k)	1.0 · 10 ⁻⁸ (см. ^k)	186

Примечание. Приняты следующие обозначения: GSGNs — мезопористый графен/кремний (нанолиты), (TDA)SiCl — хлоридтетрадецилдиметил[3-(триметоксисилил)пропиламмония, КА — карциномэмбрионный антиген, МВ — метапневмовирус, ХГ — хорионический гонадотропин, ГК — глутаминовая кислота, ЗУМЭ — золотой ультрамикрорезистор, МЕ — международная единица измерения дозы вещества, основанная на его биологической активности. ^a Размерность А · моль⁻¹ · л · см⁻². ^b ТО = 15 с. ^c ТО = 10 с. ^d Размерность Ом · (число клеток)⁻¹ · мл. ^e Число клеток в одном миллилитре. ^f Размерность нг · мл⁻¹. ^g Размерность А · нг⁻¹ · мл. ^h Размерность мкг · мл⁻¹. ⁱ ТО = 3 с. ^j ТО = 5 с. ^k Размерность мг · л⁻¹.

Таблица 4. Составы мультислоев, синтезированных в условиях ПХС на поверхности электродов, методы измерения и характеристики электрохимических сенсоров для определения глюкозы.

Состав мультислоя	Материал электрода-подложки	Метод измерения, В	Характеристики сенсора					Ссылки
			$S, A \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-2}$	ТО, с	СТБ, сут	ЛИ, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	ПО, $\text{моль} \cdot \text{л}^{-1}$	
GOX–НЧ Au–хитозан	Au	ЦВА (–0.1–0.7), AM (0.7)	$5.55 \cdot 10^{-4}$ (см. ^а)	–	–	–	–	187
GOX–НЧ Au–ПАМАМ–ПВС ^б	ITO	ЦВА (0.0–1.0)	$(3.36 \pm 0.02) \cdot 10^{-5}$	–	–	–	$17 \cdot 10^{-6}$	188
GOX–НЧ Au–ПАМАМ–ПВС ^б	ITO	ЦВА (–0.5–0.1), AM (0.0)	$1.11 \cdot 10^{-7}$	–	–	–	$1.9 \cdot 10^{-6}$	189, 190
НЧ Au	Au	ЦВА (–0.05–0.55)	–	–	–	–	–	191
GOX–НЧ Au	Au	AM (0.4)	–	–	–	–	–	192
GOX–НЧ Au–полиэлектролиты	Au	ЦВА (–0.2–0.8), AM (0.3)	$(1.927 \pm 0.05) \cdot 10^{-2}$	–	–	–	$2.3 \cdot 10^{-6}$	193
НЧ Au–тионин	Au	ЦВА (–0.35–0.1), AM (–0.18)	–	–	–	до $3 \cdot 10^{-3}$	$3.5 \cdot 10^{-5}$	80
Гексаацианоферрат меди	(F-Sn)-оксид	ЦВА (0.0–1.2), AM (0.0)	$0.33 \cdot 10^{-6}$	–	–	до $5 \cdot 10^{-6}$	–	81
GOX–НЧ CdS–ПАМАМ	Pt	ЦВА (–1.0–1.0), AM (0.5)	$1.83 \cdot 10^{-3}$	–	–	$10^{-6}–2.5 \cdot 10^{-3}$	10^{-6}	194
GOX–Os–ПАУ	Au	ЦВА (0.1–0.5)	–	–	–	–	–	195
GOX–НЧ Pt–хитозан	СУЭ	ЦВА (–0.6 ÷ –0.2), AM (0.3)	–	–	30	$1.2 \cdot 10^{-6}–2.0 \cdot 10^{-3}$	$4.0 \cdot 10^{-7}$	196
GOX–HRP–конканавалин А–МУН–пектин	Au	ЦВА (–0.4–0.6), AM (–0.15)	–	–	8	$2.0 \cdot 10^{-6}–1.7 \cdot 10^{-4}$	$2.5 \cdot 10^{-7}$	197
GOX–МУН–полигистидин	СУЭ	AM (0.7)	$(1.94 \pm 0.03) \cdot 10^{-3}$ (см. ^а)	12	15	$2.5 \cdot 10^{-4}–5.0 \cdot 10^{-3}$	$2.2 \cdot 10^{-6}$	198
Полилизин–лакказа–МУН	ITO	ЦВА (0.05–0.75)	–	–	–	до $30 \cdot 10^{-3}$	–	199
GOX–МУН–ПЭИ	СУЭ	ЦВА (–0.7–0.0)	$1.07 \cdot 10^{-1}$	–	–	до $0.3 \cdot 10^{-6}$	–	200
GOX–ОУН–ПВ–Os	C	ЦВА (–0.1–0.5), AM (0.3)	$1.6 \cdot 10^{-2}$	–	30	$(0.5–6.0) \cdot 10^{-3}$	$0.1 \cdot 10^{-3}$	201
ОУН–ПВ–Os	C	ЦВА (–0.1–0.5), AM (0.3)	$3.2 \cdot 10^{-2}$	–	–	$(0.3–10) \cdot 10^{-3}$	$0.3 \cdot 10^{-3}$	241
GOX–МУН	C	AM (0.6)	$3.82 \cdot 10^{-2}$ (см. ^а)	–	–	$5 \cdot 10^{-4}–1.5 \cdot 10^{-2}$	$0.9 \cdot 10^{-4}$	202
GOX–МУН–ПА	ITO	ЦВА (0.0–0.5), AM (0.4)	$3.97 \cdot 10^{-3}$ (см. ^а)	–	21	$(1–9) \cdot 10^{-3}$	$0.06 \cdot 10^{-6}$	203
ОУН–ПДДА	Au, Cr	Кондуктометрия (рН), AM (глюкоза, –1.0; –1.5)	$2.84 \cdot 10^{-2}$ (см. ^а)	–	–	$(2–10) \cdot 10^{-3}$	–	204
МУН–ПДДА	СУЭ	ЦВА (–0.5–0.5), AM (–0.1)	–	–	21–28	$15 \cdot 10^{-6}–6 \cdot 10^{-3}$	$7.0 \cdot 10^{-6}$	205
GOX–NH ₂ –МУН–аминоцистеамин	Au	ЦВА (–0.8–0.2), AM (–0.3)	$7.46 \cdot 10^{-3}$	–	21	$1–7 \cdot 10^{-6}$	$8 \cdot 10^{-6}$	206
GOX–ОУН–ПДДА	Pt	ЦВА (0.0–0.6), AM (0.6)	$6.38 \cdot 10^{-2}$	–	30	$50 \cdot 10^{-6}–12 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-6}$	207
GOX–HRP–ПАУ	ITO	–	–	–	–	–	–	208
GOX–HRP–тиомочевина	СУЭ	ЦВА (–0.65 ÷ –0.3), AM (0.3)	$5.73 \cdot 10^{-3}$	–	–	$(50–600) \cdot 10^{-6}$	$6 \cdot 10^{-6}$	209
GOX–HRP–цистеамин	Au	ЦВА (0.0–0.5), AM (0.28)	$5.11 \cdot 10^{-3}$	4	28	$(1–8) \cdot 10^{-3}$	$9 \cdot 10^{-6}$	210
GOX–ПДДА–Nafion	СУЭ, Pt, C	AM (0.6)	$9.6 \cdot 10^{-3}$	–	28	$(0.05–7) \cdot 10^{-3}$	$20 \cdot 10^{-6}$	211
GOX–ПДДА	СУЭ	ЦВА (–0.05–0.5)	–	–	–	–	–	212
GOX–додецилбензилсульфоновая кислота	Ag	AM (–0.1)	$7.2 \cdot 10^{-4}$	–	–	$(1–8) \cdot 10^{-3}$	$1.55 \cdot 10^{-4}$	213
GOX–НЧ Au–хитозан–ПА	Pt	AM (0.6)	$5.55 \cdot 10^{-4}$ (см. ^а)	–	–	$(0.5–16) \cdot 10^{-3}$	$7 \cdot 10^{-6}$	214
GOX–НЧ ZnO	ITO	AM (–0.2)	–	–	–	$(0.1–9) \cdot 10^{-3}$	$1.94 \cdot 10^{-6}$	215
GOX–ПЭИ	ПГЭ	ЦВА (–0.8–0)	$7.6 \cdot 10^{-1}$ (см. ^а)	–	–	$(0.5–8.9) \cdot 10^{-3}$	$50 \cdot 10^{-6}$	216
GOX–сульфанилпропионовая кислота–ПДДА–ПСС–МУН	Au	AM (–0.2)	–	–	–	до $5 \cdot 10^{-3}$	$58 \cdot 10^{-6}$	217

^а Размерность $A \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{л}$. ^б ПВС — поливинилсульфоновая кислота.

лазури, хитозана и многостенными углеродными нанотрубками, составила $\sim 0.08 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1}$ при чувствительности $1.53 \text{ мкА} \cdot \text{нг}^{-1} \cdot \text{мл}$. Определение альфа-1-фетопротейна на электродах, которые модифицированы гетероструктурами $\text{Au}-\text{Fe}_3\text{O}_4$, полученными методом термической деструкции, привело к снижению предела обнаружения до $2.3 \text{ пг} \cdot \text{мл}^{-1}$ (см.²³⁴).

В последние десятилетия онкологические заболевания стали одной из причин увеличения смертности людей во всем мире: ежегодное число смертей от рака превышает половину от числа вновь выявленных случаев заболевания.²³⁵ Частота заболеваний раком в период с 1975 по 2000 гг. удвоилась, а в 2000 г. 12% случаев всех летальных исходов обусловлены онкологией. Часто возможности специалистов для адекватной ранней диагностики, оперативного лабораторного контроля эффективности лечения и прогноза развития заболевания, основанного на количественных лабораторных показателях, ограничены. Несмотря на большое число исследований в этой области, прогресс в ней все еще недостаточен, в частности нет широкого использования биомаркеров на различные виды рака.^{236, 237} Одна из диагностических перспектив связана с применением в качестве биомаркера циркулирующей ДНК, которая может быть обнаружена в плазме (сыворотке) крови человека. Анализ ДНК проводят с целью выявления различных вирусов, онкологических и генетических заболеваний. Пределы обнаружения ДНК могут составлять до $0.6 \text{ фмоль} \cdot \text{л}^{-1}$. Стоит отметить, что для всех сенсоров на биологические аналиты характерны небольшой срок стабильности и экспрессность анализа.

Для диагностирования онкологических заболеваний применяют электрохимические сенсоры, аналитический сигнал которых основан на взаимодействии антитело–антиген. Так, карциноэмбрионный антиген определяют для выявления рака легких и других внутренних органов. При этом предел обнаружения на примере Au -электрода, модифицированного слоями наночастиц золота, многостенных углеродных нанотрубок, хитозана и тионина, составил $0.01 \text{ нг} \cdot \text{мл}^{-1}$, а чувствительность $\sim 4.69 \text{ мкА} \cdot \text{нг}^{-1} \cdot \text{мл}$. Данный электрохимический сенсор уступает сенсору, изготовленному на основе нанопористых структур золота и графена, для которого предел обнаружения составил $3.5 \cdot 10^{-13} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$ (см.²³⁸).

Сенсоры для определения биологически активных соединений, полученные другими способами, не уступают по аналитическим характеристикам сенсорам, полученным методом ПХС. Это можно объяснить сложностью послойной иммобилизации биоселекторов. Авторы большинства рассмотренных ниже работ методом ПХС наносили в основном слои наноструктур и связывающих реагентов, чувствительный слой наносили лишь один.

Широкое практическое применение сенсоров на глюкозу обусловлено тем, что в последние годы сахарный диабет стал прогрессирующим заболеванием. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, ~ 350 млн человек во всем мире больны диабетом, и, по прогнозам, в 2030 г. диабет будет седьмым в списке болезней, приводящих к смерти.²³⁹ Точные измерения и тщательный контроль уровня глюкозы в крови имеют важное значение для правильной диагностики и лечения сахарного диабета. Типичный анализ крови в глюкометрах проводят с небольшим объемом крови, который обычно берут из пальца. Кровь подводится к одноразовой тест-полоске под действием капиллярных сил. Большинство тест-полосок состоят из дегидрогеназы глюкозы

или глюкозооксидазы, иммобилизованных на печатном электроде, и их действие основано на ферментативных реакциях.

В последние десятилетия проводятся работы по созданию более эффективных непрерывных методов измерения глюкозы, как инвазивных, так и неинвазивных.²⁴⁰ Ферментный и бесферментный методы определения глюкозы с применением электродов, на поверхности которых присутствуют мультислой (как правило, благородных металлов и аллотропных модификаций углерода), ни в чем не уступают друг другу, однако бесферментные сенсоры обладают большей стабильностью, чем сенсоры на основе оксидов. Применение электродов со слоями, состоящими из глюкозооксидазы, пероксидазы хрена, конковалина А и многостенных углеродных нанотрубок, синтезированных в результате 10 циклов ПХС, привело к снижению предела обнаружения до $2.5 \cdot 10^{-7} \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$ и увеличению чувствительности до $\sim 0.1 \text{ А} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-2}$ (табл. 4).

VIII. Заключение

Многочисленные экспериментальные данные, обсужденные в данном обзоре, свидетельствуют о том, что для синтеза слоев на поверхности электродов могут эффективно применяться методики ПХС — ионное, ионно-коллоидное и коллоидное наслаивание. Такие методики сравнительно просты, надежны и экономически эффективны. Они позволяют создавать на поверхности электродов (в том числе микроэлектродов) мультислой, которые другими методами получены быть не могут. Мультислой могут включать слои так называемых гибридных соединений, содержащих, например, углеродные нанотрубки, графен или наночастицы различных благородных металлов. Важным моментом при создании мультислоев является возможность «корректировки» их состава и последовательности расположения отдельных слоев путем изменения программы синтеза с учетом рекомендаций, полученных после анализа результатов испытания контрольных образцов.

Метод ПХС позволяет формировать чувствительные слои для сенсоров практически на все классы аналитов. Очевидно, что дальнейшее развитие этого метода (в частности, определение условий синтеза слоев новых соединений и их мультислоев, развитие известных методик синтеза и их адаптация, например, для формирования слоев на локальной поверхности микроэлектродов) откроет возможность для создания новых высокочувствительных и селективных электрохимических сенсоров на широкий круг аналитов. Наиболее важной перспективой применения метода ПХС, по-видимому, является переход к созданию полностью готовых к использованию электрохимических сенсоров с электродами, которые включают мультислой, состоящий, например, из чувствительного слоя, медиатора, преобразователя сигнала и мембраны с заданной (с учетом максимального отклика сенсора) толщиной. Это позволит перейти в рамках одного метода синтеза от стадии исследований к разработке технологии создания высокоэффективных сенсоров.

Следует отметить, что при создании новых технологических процессов синтеза таких электродов решающей может стать важная особенность метода ПХС, заключающаяся в том, что синтез можно одновременно проводить на поверхности большого числа электродов-подложек, и это, несомненно, будет способствовать снижению стоимости конечного продукта.

Работа выполнена при финансовой поддержке СПбГУ (проект № 12.38.259.2014).

Литература

1. Patent US 5741413 A (1998)
2. Patent US 8317998 B2 (2012)
3. A.Karyakin. *Chemical and Biological Sensors Based on Electroactive Inorganic Polycrystals*. (Ed. X.Z.J.Wang). Elsevier; Academic Press, San Diego, 2008
4. M.Moreno-Bondí. In *Biosensors: Essentials*. (Ed. G.Evtugyn). Springer, Berlin; Heidelberg, 2014
5. Г.К.Зиятдинова, Г.К.Будников. В кн. *Возможности электроаналитической химии в решении проблем фармацевтического анализа*. АРГАМАК-МЕДИА, Москва, 2013
6. Л.Г.Шайдарова, Г.К.Будников. В кн. *Алперометрические сенсоры с каталитическими свойствами в органической вольтамперометрии*. Наука, Москва, 2011
7. Г.К.Будников, Г.К.Зиятдинова. В кн. *О химическом анализе в медицинской диагностике*. Наука, Москва, 2010
8. V.V.Krivetskiy, M.N.Rumyantseva, A.M.Gaskov. *Russ. Chem. Rev.*, **82**, 917 (2013) [Успехи химии, **82**, 917 (2013)]
9. K.N.Mikhelson, M.A.Peshkova. *Russ. Chem. Rev.*, **84**, 555 (2015) [Успехи химии, **84**, 555 (2015)]
10. Х.З.Брайнина, А.Н.Козицына. В кн. *Химические и биохимические сенсоры: от биосенсоров к биочипам и мультисигнальным системам*. Наука, Москва, 2011
11. N.V.Zolotareva, V.V.Semenov. *Russ. Chem. Rev.*, **82**, 964 (2013) [Успехи химии, **82**, 964 (2013)]
12. V.A.Kochemirovsky, L.G.Menchikov, S.V.Safonov, M.D.Bal'makov, I.I.Timkin, Yu.S.Tver'yanovich. *Russ. Chem. Rev.*, **80**, 869 (2011) [Успехи химии, **80**, 905 (2011)]
13. M.Y.Vagin, S.A.Trashin, E.K.Beloglazkina, A.G.Majouga. *Mendeleev Commun.*, **25**, 290 (2015)
14. Р.Ф.Шольц. В кн. *Электроаналитические методы. Теория и практика*. Бином. Лаборатория знаний, Москва, 2006
15. F.W.Campbell, R.G.Compton. *Anal. Bioanal. Chem.*, **396**, 241 (2010)
16. J.M.Pingarrón, P.Yañez-Sedeño, A. González-Cortés. *Electrochim. Acta*, **53**, 5848 (2008)
17. Y.Liu, X.Dong, P.Chen. *Chem. Soc. Rev.*, **41**, 2283 (2012)
18. J.Wang. *Microchim. Acta*, **177**, 245 (2012)
19. J.R.Siqueira Jr., L.Caseli, F.N.Crespilho, V.Zucolotto, O.N.Oliveira Jr. *Biosens. Bioelectron.*, **25**, 1254 (2010)
20. Z.Matharu, A.J.Bandodkar, V.Gupta, B.D.Malhotra. *Chem. Soc. Rev.*, **41**, 1363 (2012)
21. E.Katz, I.Willner, J.Wang. *Electroanalysis*, **16**, 19 (2004)
22. В.Б.Алесковский. *Химия надмолекулярных соединений*. Изд-во СПбГУ, Санкт-Петербург, 1996
23. В.Б.Алесковский, С.И.Кольцов. *Журн. прикл. химии*, **40**, 907 (1967)
24. С.И.Кольцов, В.Б.Алесковский. *Журн. прикл. химии*, **42**, 1950 (1969)
25. T.Suntola. *Mater. Sci. Rep.*, **4**, 261 (1989)
26. D.M.Hausmann, E.Kim, J.Becker, R.G.Gordon. *Chem. Mater.*, **14**, 4350 (2002)
27. R.K.Iler. *J. Colloid Interface Sci.*, **21**, 569 (1966)
28. Y.E.Nicolau. Patent FR 2569427 (1986)
29. В.П.Толстой, Л.П.Богданова, Г.В.Митюкова. А.с. СССР. 1386600; *Бюл. изобрет.*, (3), 114 (1988)
30. J.-D.H.G.Decher. *Makromol., Chem. Macromol. Symp.*, **46**, 321 (1991)
31. V.P.Tolstoy. *Russ. Chem. Rev.*, **62**, 237 (1993) [Успехи химии, **62**, 260 (1993)]
32. V.P.Tolstoy. *Russ. Chem. Rev.*, **75**, 161 (2006) [Успехи химии, **75**, 183 (2006)]
33. L.B.Gulina, V.P.Tolstoy, K.B.Semishchenko, E.V.Tolstobrov. *Russ. J. Gen. Chem.*, **79**, 882 (2009) [Журн. общей химии, **79**, 710 (2009)]
34. D.A.Gorin, A.M.Yashchenok, Yu.A.Koksharov, A.A.Neveshkin, A.A.Serdobintsev, D.O.Grigoriev, G.B.Khomutov. *Tech. Phys.*, **54**, 1675 (2009) [Журн. техн. физики, **79**, 113 (2009)]
35. J.B.S.G.Decher. In *Multilayer Thin Films: Sequential Assembly of Nanocomposite Materials*. Wiley, New York, 2012. P. 1112
36. T.I.Gilbert, J.W.Schwank. *Catal. Commun.*, **11**, 896 (2010)
37. B.S.Zhuchkov, V.P.Tolstoy, I.V.Murin. *Solid State Ionics*, **101–103**, 165 (1997)
38. L.Gulina, G.Korotcenkov, B.Cho, S.Han, V.Tolstoy. *J. Mater. Sci.*, **46**, 4555 (2011)
39. Y.F.Nicolau, M.Dupuy, M.Brunel. *J. Electrochem. Soc.*, **137**, 2915 (1990)
40. L.C.Clark, R.Wolf, D.Granger, Z.Taylor. *J. Appl. Physiol.*, **6**, 189 (1953)
41. Г.К.Будников. *Сорос. образоват. журн.*, **3**, 72 (1998)
42. S.Chen, R.Yuan, Y.Chai, F.Hu. *Microchim Acta*, **180**, 15 (2013)
43. C.Joachim. *Nat. Mater.*, **4**, 107 (2005)
44. J.A.del Alamo. *Nature (London)*, **479**, 317 (2011)
45. A.S.Arico, P.Bruce, B.Scrosati, J.-M.Tarascon, W.van Schalkwijk. *Nat. Mater.*, **4**, 366 (2005)
46. C.Welch, R.Compton. *Anal. Bioanal. Chem.*, **384**, 601 (2006)
47. N.Y.Stozhko, N.A.Malakhova, I.V.Byzov, K.Z.Brainina. *J. Anal. Chem.*, **64**, 1148 (2009)
48. J.M.Kahk, N.V.Rees, J.Pillay, R.Tshikhudo, S.Vilakazi, R.G.Compton. *Nano Today*, **7**, 174 (2012)
49. R.G.Compton, E.Laborda, K.R.Ward. В кн. *Understanding Voltammetry: Simulation of Electrode Processes*. Imperial College Press, London, 2013
50. D.W.M.Arrigan. *Analyst*, **129**, 1157 (2004)
51. F.Campbell, R.Compton. *Anal. Bioanal. Chem.*, **396**, 241 (2010)
52. I.Streeter, R.G.Compton. *J. Phys. Chem. C*, **111**, 18049 (2007)
53. F.W.Campbell, S.R.Belding, R. Baron, L.Xiao, R.G.Compton. *J. Phys. Chem. C*, **113**, 9053 (2009)
54. S.E.W.Jones, F.W.Campbell, R.Baron, L.Xiao, R.G.Compton. *J. Phys. Chem. C*, **112**, 17820 (2008)
55. F.-R.F.Fan, J.Kwak, A.J.Bard. *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 9669 (1996)
56. F.-R.F.Fan, A.J.Bard. *Science*, **267**, 871 (1995)
57. C.Amatore, Y.Bouret, E.Maisonhaute, J.I.Goldsmith, H.D.Abrua. *ChemPhysChem*, **2**, 130 (2001)
58. C.Amatore, F.Grün, E.Maisonhaute. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **42**, 4944 (2003)
59. T.C.Gokoglan, S.Soylez, M.Kesik, S.Toksabay, L.Toppare. *Food Chem.*, **172**, 219 (2015)
60. A.Attar, M.E.Ghica, A.Amine, C.M.A.Brett. *J. Hazard. Mater.*, **279**, 348 (2014)
61. J.Cabaj, J.Soloducho. *State of the Art in Biosensors — General Aspects. Ch. 2*. InTech, 2013
62. E.Koposova, X.Liu, A.Kisner, Y.Ermolenko, G.Shumilova, A.Offenhäusser, Y.Mourzina. *Biosens. Bioelectron.*, **57**, 54 (2014)
63. E.Koposova, G.Shumilova, Y.Ermolenko, A.Kisner, A.Offenhäusser, Y.Mourzina. *Sens. Actuators, B*, **207**, 1045 (2015)
64. D.V.Navolotskaya, H.S.Toh, C.Batchelor–McAuley, R.G.Compton. *ChemistryOpen*, **4**, 595 (2015)
65. K.Nikolaev, S.Ermakov, Y.Ermolenko, E.Averyaskina, A.Offenhäusser, Y.Mourzina. *Bioelectrochemistry*, **105**, 34 (2015)
66. K.G.Nikolaev, S.S.Ermakov, A.Offenhäusser, Y.Mourzina. *Mendeleev Commun.*, **24**, 145 (2014)
67. W.Zhao, J.-J.Xu, C.-G.Shi, H.-Y.Chen. *Langmuir*, **21**, 9630 (2005)
68. M.Ammam, B.Keita, L.Nadjo, J.Fransaer. *Talanta*, **80**, 2132 (2010)
69. L.Cui, T.Pu, Y.Liu, X.He. *Electrochim. Acta*, **88**, 559 (2013)
70. Y.Li, P.Wang, L.Wang, X.Lin. *Biosens. Bioelectron.*, **22**, 3120 (2007)
71. C.Yu, Y.Wang, L.Wang, Z.Zhu, N.Bao, H.Gu. *Colloids Surf., B*, **103**, 231 (2013)
72. E.Völker, E.J.Calvo, F.J.Williams. *J. Electroanal. Chem.*, **673**, 1 (2012)

73. S.Disawal, J.Qiu, B.B.Elmore, Y.M.Lvov. *Colloids Surf., B*, **32**, 145 (2003)
74. U.Lange, T.Hirsch, V.M.Mirsky, O.S.Wolfbeis. *Electrochim. Acta*, **56**, 3707 (2011)
75. M.M.O.Thotiyil, H.Basit, J.A.Sanchez, C.Goyer, L.Coche-Guerente, P.Dumy, S.Sampath, P.Labbe, J.C.Moutet. *J. Colloid Interface Sci.*, **383**, 130 (2012)
76. M.García, K.Carfumán, C.Díaz, C.Garrido, I.Osorio-Román, M.J.Aguirre, M.Isaacs. *Electrochim. Acta*, **80**, 390 (2012)
77. N.Anwar, T.McCormac, J.D.Compain, P.Mialane, A.Dolbecq, F.Laffir. *Electrochim. Acta*, **59**, 1 (2012)
78. X.Kong, J.Zhao, J.Han, D.Zhang, M.We, X.Duan. *Electrochim. Acta*, **56**, 1123 (2011)
79. M.Shao, J.Han, W.Shi, M.We, X.Duan. *Electrochem. Commun.*, **12**, 1077 (2010)
80. Y.Sun, Y.Bai, W.Yang, C.Sun. *Electrochim. Acta*, **52**, 7352 (2007)
81. A.P.Baioni, M.Vidotti, P.A.Fiorito, S.I.Cyrdoba de Torresi. *J. Electroanal. Chem.*, **622**, 219 (2008)
82. Y.Miao, H.Wang, Y.Shao, Z.Tang, J.Wang, Y.Lin. *Sens. Actuators, B*, **138**, 182 (2009)
83. L.S.Koodlur. *Bioelectrochemistry*, **91**, 21 (2013)
84. Z.-Q.Pan, C.-G.Shi, H.Fan, N.Bao, C.-M.Yu, Y.Liu, R.Lu, Q.H. Zhang, H.-Y.Gu. *Sens. Actuators, B*, **174**, 421 (2012)
85. J.Pillay, K.I.Ozoemena. *Electrochim. Acta*, **54**, 5053 (2009)
86. E.A.Dontsova, Y.S.Zeifman, I.A.Budashov, A.V.Eremenko, S.L.Kalnov, I.N.Kurochkin. *Sens. Actuators, B*, **159**, 261 (2011)
87. V.Hornok, I.Dekany. *J. Colloid Interface Sci.*, **309**, 176 (2007)
88. X.Miao, N.Hu. *J. Electroanal. Chem.*, **660**, 114 (2011)
89. S.Saadati, A.Salimi, R.Hallaj, A.Rostami. *Anal. Chim. Acta*, **753**, 32 (2012)
90. J.Ma, P.Cai, W.Qi, D.Kong, H.Wang. *Colloids Surf. A*, **426**, 6 (2013)
91. J.J.Feng, J.J.Xu, H.Y.Chen. *Biosens. Bioelectron.*, **22**, 1618 (2007)
92. S.Song, H.Liu, X.Guo, N.Hu. *Electrochim. Acta*, **54**, 5851 (2009)
93. X.Miao, Y.Liu, W.Gao, N.Hu. *Bioelectrochemistry*, **79**, 187 (2010)
94. M.Song, L.Ge, X.Wang. *J. Electroanal. Chem.*, **617**, 149 (2008)
95. Z.Sun, Y.Li, T.Zhou, Y.Liu, G.Shi, L.Jin. *Talanta*, **74**, 1692 (2008)
96. F.Li, C.Shan, X.Bu, Y.Shen, G.Yang, L.Niu. *J. Electroanal. Chem.*, **616**, 1 (2008)
97. H.Chang, X.Wang, K.K.Shui, Y.Zhu, J.Wang, Q.Li, B.Chen, H.Jiang. *Biosens. Bioelectron.*, **41**, 789 (2013)
98. C.Xiang, Y.Zou, L.X.Sun, F.Xu. *Talanta*, **74**, 206 (2007)
99. C.Zanardi, F.Terzi, B.Zanfagnini, L.Pigani, R.Seeber, J.Lukkari, T.Ääritalo. *Sens. Actuators, B*, **144**, 92 (2010)
100. C.Xiang, Y.Zou, L.-X.Sun, F.Xu. *Electrochem. Commun.*, **10**, 38 (2008)
101. A.K.Yagati, T.Lee, J.Min, J.W.Choi. *Colloids Surf. B*, **92**, 161 (2012)
102. L.Zhang, Q.Zhang, X.Lu, J.Li. *Biosens. Bioelectron.*, **23**, 102 (2007)
103. G.Zhao, J.-J.Xu, H.-Y.Chen. *Electrochem. Commun.*, **8**, 148 (2006)
104. J.T.Zhu, C.G.Shi, J.J.Xu, H.Y.Chen. *Bioelectrochemistry*, **71**, 243 (2007)
105. N.Alexeyeva, K.Tammeveski. *Anal. Chim. Acta*, **618**, 140 (2008)
106. G.March, F.Volatron, F.Lachaud, X.Cheng, B.Baret, M.Pinault, A.Etcheberry, H.Perez. *Electrochim. Acta*, **56**, 5151 (2011)
107. T.Balkenhohl, S.Adelt, R.Dronov, F.Lisdar. *Electrochem. Commun.*, **10**, 914 (2008)
108. J.-J.Sun, H.-Z.Zhao, Q.-Z.Yang, J.Song, A.Xue. *Electrochim. Acta*, **55**, 3041 (2010)
109. F.S.Damos, R.C.Luz, A.A.Tanaka, L.T.Kubota. *Anal. Chim. Acta*, **664**, 144 (2010)
110. M.Huang, Y.Shen, W.Cheng, Y.Shao, X.Sun, B.Liu, S.Dong. *Anal. Chim. Acta*, **535**, 15 (2005)
111. J.C.Duarte, R.C.Luz, F.S.Damos, A.A.Tanaka, L.T.Kubota. *Anal. Chim. Acta*, **612**, 29 (2008)
112. M.Ammam, B.Keita, L.Nadjo, J.Fransaer. *Sens. Actuators, B*, **142**, 347 (2009)
113. M.Ammam, B.Keita, L.Nadjo, I.-M.Mbomekalle, J.Fransaer. *J. Electroanal. Chem.*, **645**, 65 (2010)
114. B.Wang, T.Noguchi, J.Anzai. *Talanta*, **72**, 415 (2007)
115. Y.Sha, L.Qian, Y.Ma, H.Bai, X.Yang. *Talanta*, **70**, 556 (2006)
116. X.Kong, W.Shi, J.Zhao, M.We, X.Duan. *Talanta*, **85**, 493 (2011)
117. R.Manjunatha, G.S.Suresh, J.S.Melo, S.F.D'Souza, T.V.Venkatesha. *Sens. Actuators, B*, **145**, 643 (2010)
118. L.Qian, Q.Gao, Y.Song, Z.Li, X.Yang. *Sens. Actuators, B*, **107**, 303 (2005)
119. M.L.Moraes, O.N.Oliveira Jr., U.P.R.Filho, M.Ferreira. *Sens. Actuators, B*, **131**, 210 (2008)
120. M.Vidotti, M.R.Silva, R.P.Salvador, S.I.C.deTorresi, L.H.Dall'Antonia. *Electrochim. Acta*, **53**, 4030 (2008)
121. B.Lakard, D.Magnin, O.Deschaume, G.Vanlancker, K.Glinel, S.Demoustier-Champagne, B.Nysten, P.Bertrand, S.Yunus, A.M.Jonas. *Sens. Actuators, B*, **166–167**, 794 (2012)
122. G.Shi, Y.Qu, Y.Zhai, Y.Liu, Z.Sun, J.Yang, L.Jin. *Electrochem. Commun.*, **9**, 1719 (2007)
123. H.Lin, J.Yang, J.Liu, Y.Huang, J.Xiao, X.Zhang. *Electrochim. Acta*, **90**, 382 (2013)
124. V.Lyutov, V.Tsakova. *J. Electroanal. Chem.*, **661**, 186 (2011)
125. Z.Chen, F.Xi, S.Yang, Q.Wu, X.Lin. *Sens. Actuators, B*, **130**, 900 (2008)
126. G.Chen, S.Zhai, Y.Zhai, K.Zhang, Q.Yue, L.Wang, J.Zhao, H.Wang, J.Liu, J.Jia. *Biosens. Bioelectron.*, **26**, 3136 (2011)
127. F.N.Crespilho, F.Huguenin, V.Zucolotto, P.Olivi, F.C.Nart, O.N.Oliveira. *Electrochem. Commun.*, **8**, 348 (2006)
128. X.Zhou, T.Yu, Y.Zhang, J.Kong, Y.Tang, J.-L.Marty, B.Liu. *Electrochem. Commun.*, **9**, 1525 (2007)
129. Z.Chang, M.Chen, H.Fan, K.Zhao, S.Zhuang, P.He, Y.Fang. *Electrochim. Acta*, **53**, 2939 (2008)
130. M.Du, T.Yang, K.Jiao. *Talanta*, **81**, 1022 (2010)
131. Y.Du, S.Guo, S.Dong, E.Wang. *Biomaterials*, **32**, 8584 (2011)
132. M.Li, S.Huang, P.Zhu, L.Kong, B.Peng, H.Gao. *Electrochim. Acta*, **54**, 2284 (2009)
133. X.Y.Dong, X.N.Mi, B.Wang, J.J.Xu, H.Y.Chen. *Talanta*, **84**, 531 (2011)
134. R.M.Iost, F.N.Crespilho. *Biosens. Bioelectron.*, **31**, 1 (2012)
135. X.Y.Dong, X.N.Mi, L.Zhang, T.M.Liang, J.J.Xu, H.Y.Chen. *Biosens. Bioelectron.*, **38**, 337 (2012)
136. G.E.Pacey, S.D.Puckett, L.Cheng, S.Khatib-Shahidi, J.A.Cox. *Anal. Chim. Acta*, **533**, 135 (2005)
137. R.K.Shervedani, S.Pourbeyram. *Sens. Actuators, B*, **160**, 145 (2011)
138. Y.Zhang, H.Ma, K.Zhang, S.Zhang, J.Wang. *Electrochim. Acta*, **54**, 2385 (2009)
139. H.Shi, Z.Song, J.Huang, Y.Yang, Z.Zhao, J.-I.Anzai, T.Osa, Q.Chen. *Sens. Actuators, B*, **109**, 341 (2005)
140. H.Shi, Y.Yang, J.Huang, Z. Zhao, X.Xu, J.Anzai, T.Osa, Q.Chen. *Talanta*, **70**, 852 (2006)
141. S.-P. Zhang, Y.Zheng, L.-G.Shan, L.-Y.Shi, K.-L.Leng. *Appl. Surf. Sci.*, **255**, 439 (2008)
142. X.Jiang, L.Tan, B.Zhang, Y.Zhang, H.Tang, Q.Xie, S.Yao. *Sens. Actuators, B*, **149**, 87 (2010)
143. Y.Li, P.Cheng, J.Gong, L.Fang, J.Deng, W.Liang, J.Zheng. *Anal. Biochem.*, **421**, 227 (2012)
144. C.Ou, R.Yuan, Y.Chai, M.Tang, R.Chai, X.He. *Anal. Chim. Acta*, **603**, 205 (2007)
145. Y.-T.Shi, R.Yuan, Y.-Q.Chai, M.-Y.Tang, X.-L.He. *J. Electroanal. Chem.*, **604**, 9 (2007)
146. X.Gao, Y.Zhang, H.Chen, Z.Chen, X.Lin. *Anal. Biochem.*, **414**, 70 (2011)
147. Y.Xiang, Y.Zhang, B.Jiang, Y.Chai, R.Yuan. *Sens. Actuators, B*, **155**, 317 (2011)

148. Y.Zhang, H.Chen, X.Gao, Z.Chen, X.Lin. *Biosens. Bioelectron.*, **35**, 277 (2012)
149. D.Tang, R.Yuan, Y.Chai, Y.Fu, J.Dai, Y.Liu, X.Zhong. *Biosens. Bioelectron.*, **21**, 539 (2005)
150. B.Kong, J.Zeng, G.Luo, S.Luo, W.Wei, J.Li. *Bioelectrochemistry*, **74**, 289 (2009)
151. A.Celebanska, D.Tomaszewska, A.Lesniewski, M.Opallo. *Biosens. Bioelectron.*, **26**, 4417 (2011)
152. S.Liu, J.Yan, G.He, D.Zhong, J.Chen, L.Shi, X.Zhou, H.Jiang. *J. Electroanal. Chem.*, **672**, 40 (2012)
153. X.Zhang, B.Wang, X.Zhang, T.He. *Sens. Actuators. B*, **166–167**, 695 (2012)
154. V.Zucolotto, M.Ferreira, M.R.Cordeiro, C.J.L.Constantino, W.C.Moreira, O.N.Oliveira. *Sens. Actuators. B*, **113**, 809 (2006)
155. M.Bhattacharya, S.Hong, D.Lee, T.Cui, S.M.Goyal. *Sens. Actuators. B*, **155**, 67 (2011)
156. X.Kong, X.Rao, J.Han, M.Wei, X.Duan. *Biosens. Bioelectron.*, **26**, 549 (2010)
157. E.G.Fernandes, L.C.Brazaca, M.L.Rodriguez-Mendez, J.A.Saja, V.Zucolotto. *Biosens. Bioelectron.*, **26**, 4715 (2011)
158. S.Yang, Z.Chen, X.Jin, X.Lin. *Electrochim. Acta*, **52**, 200 (2006)
159. S.Yang, Y.Li, X.Jiang, Z.Chen, X.Lin. *Sens. Actuators, B*, **114**, 774 (2006)
160. V.Zucolotto, A.P.Pinto, T.Tumolo, M.L.Moraes, M.S.Baptista, A.Riul Jr., A.P.Araujo, O.N.Oliveira Jr. *Biosens. Bioelectron.*, **21**, 1320 (2006)
161. R.Chai, R.Yuan, Y.Chai, C.Ou, S.Cao, X.Li. *Talanta*, **74**, 1330 (2008)
162. C.Ou, S.Chen, R.Yuan, Y.Chai, X.Zhong. *J. Electroanal. Chem.*, **624**, 287. (2008)
163. X.Miao, R.Yuan, Y.Chai, Y.Shi, Y.Yuan. *Biochem. Eng. J.*, **38**, 9 (2008)
164. Z.Dai, S.Serban, H.Ju, N.El Murr. *Biosens. Bioelectron.*, **22**, 1700 (2007)
165. Y.Zhuo, R.Yuan, Y.Chai, Y.Zhang, X.Li, N.Wang, Q.Zhu. *Sens. Actuators, B*, **114**, 631 (2006)
166. L.Tang, Y.Zhu, L.Xu, X.Yang, C.Li. *Talanta*, **73**, 438 (2007)
167. X.Chen, Y.Yang, M.Ding. *Anal. Chim. Acta*, **557**, 52 (2006)
168. L.Liu, X.Jin, S.Yang, Z.Chen, X.Lin. *Biosens. Bioelectron.*, **22**, 3210 (2007)
169. B.Chen, M.Ma, X.Su. *Anal. Chim. Acta*, **674**, 89 (2010)
170. Y.Du, C.Chen, B.Li, M.Zhou, E.Wang, S.Dong. *Biosens. Bioelectron.*, **25**, 1902 (2010)
171. S.Xie, R.Yuan, Y.Chai, L.Bai, Y.Yuan, Y.Wang. *Talanta*, **98**, 7 (2012)
172. Y.Yuan, R.Yuan, Y.Chai, Y.Zhuo, Z.Liu, L.Mao, S.Guan, X.Qian. *Anal. Chim. Acta*, **668**, 171 (2010)
173. S.Firdoz, F.Ma, X.Yue, Z.Dai, A.Kumar, B.Jiang. *Talanta*, **83**, 269 (2010)
174. Q.Ma, S.Ai, H.Yin, Q.Chen, T.Tang. *Electrochim. Acta*, **55**, 6687 (2010)
175. R.Manjunatha, D.H.Nagaraju, G.S.Suresh, J.S.Melo, S.F.D'Souza, T.V.Venkatesha. *Electrochim. Acta*, **56**, 6619 (2011)
176. R.Manjunatha, D.H.Nagaraju, G.S.Suresh, J.S.Melo, S.F.D'Souza, T.V.Venkatesha. *J. Electroanal. Chem.*, **651**, 24 (2011)
177. M.Yang, Y.Yang, H.Yang, G.Shen, R.Yu. *Biomaterials*, **27**, 246 (2006)
178. J.Yang, H.Lee, M.Cho, J.Nam, Y.Lee. *Sens. Actuators, B*, **171–172**, 374 (2012)
179. Y.Qu, Q.Sun, F.Xiao, G.Shi, L.Jin. *Bioelectrochemistry*, **77**, 139 (2010)
180. Y.Li, T.Wen, C.Xue, Q.Han, Y.Wang, J.Hong, X.Zhou, H.Jiang. *Biosens. Bioelectron.*, **42**, 287 (2013)
181. S.Pruneanu, F.Pogacean, A.R.Biris, M.Coros, F.Watanabe, E.Dervishi, A.S.Biris. *Electrochim. Acta*, **89**, 246 (2013)
182. S.-I.Suye, H.Zheng, H.Okada, T.Hori. *Sens. Actuators, B*, **108**, 671 (2005)
183. M.Hébert, D.Rochefort. *Electrochim. Acta*, **53**, 5272 (2008)
184. E.J.Calvo, C.Danilowicz, C.M.Lagier, J.Manrique, M.Otero. *Biosens. Bioelectron.*, **19**, 1219 (2004)
185. S.Samanman, P.Kanatharana, P.Asawatreratanakul, P.Thavarungkul. *Electrochim. Acta*, **80**, 202 (2012)
186. J.H.Xu, C.G.Hu, S.S.Hu. *Chin. Chem. Lett.*, **20**, 1248 (2009)
187. M.V.Bracamonte, S.Bollo, P.Labbé, G.A.Rivas, N.F.Ferreira. *Electrochim. Acta*, **56**, 1316 (2011)
188. F.N.Crespilho, M.E.Ghica, M.Florescu, F.C.Nart, O.N.Oliveira, C.M.A.Brett. *Electrochem. Commun.*, **8**, 1665 (2006)
189. F.N.Crespilho, F.C.Nart, O.N.Oliveira, C.M.A.Brett. *Electrochim. Acta*, **52**, 4649 (2007)
190. F.N.Crespilho, M.E.Ghica, C.Gouveia-Caridade, O.N.Oliveira Jr., C.M.Brett. *Talanta*, **76**, 922 (2008)
191. L.Deng, F.Wang, H.Chen, L.Shang, L.Wang, T.Wang, S.Dong. *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 329 (2008)
192. S.K.Dondapati, P.Lozano-Sanchez, I.Katakis. *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 55 (2008)
193. P.Si, P.Kannan, L.Guo, H.Son, D.H.Kim. *Biosens. Bioelectron.*, **26**, 3845 (2011)
194. J.Sun, Y.Zhu, X.Yang, C.Li. *Particuology*, **7**, 347 (2009)
195. V.Flexer, E.J.Calvo, P.N.Bartlett. *J. Electroanal. Chem.*, **646**, 24 (2010)
196. W.Li, R.Yuan, Y.Chai, H.Zhong, Y.Wang. *Electrochim. Acta*, **56**, 4203 (2011)
197. H.Chen, F.Xi, X.Gao, Z.Chen, X.Lin. *Anal. Biochem.*, **403**, 36 (2010)
198. P.R.Dalmasso, M.L.Pedano, G.A.Rivas. *Biosens. Bioelectron.*, **39**, 76 (2013)
199. L.Deng, L.Shang, Y.Wang, T.Wang, H.Chen, S.Dong. *Electrochem. Commun.*, **10**, 1012 (2008)
200. C.Deng, J.Chen, Z.Nie, S.Si. *Biosens. Bioelectron.*, **26**, 213 (2010)
201. Q.Gao, Y.Guo, J.Liu, X.Yuan, H.Qi, C.Zhang. *Bioelectrochemistry*, **81**, 109 (2011)
202. J.Huang, Y.Yang, H.Shi, Z.Song, Z.Zhao, J.-I.Anzai, T.Osa, Q.Chen. *Mater. Sci. Eng., C*, **26**, 113 (2006)
203. S.Komathi, A.I.Gopalan, K.P.Lee. *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 3131 (2009)
204. D.Lee, T.Cui. *Biosens. Bioelectron.*, **25**, 2259 (2010)
205. G.Liu, Y.Lin. *Electrochem. Commun.*, **8**, 251 (2006)
206. Y.Sun, H.Wang, C.Sun. *Biosens. Bioelectron.*, **24**, 22 (2008)
207. Y.Wang, X.Wang, B.Wu, Z.Zhao, F.Yin, S.Li, X.Qin, Q.Chen. *Sens. Actuators, B*, **130**, 809 (2008)
208. M.L.Moraes, L.Petri, V.Oliveira, C.A.Olivati, M.C.F.de Oliveira, F.V.Paulovich, O.N.Oliveira, M.Ferreira. *Sens. Actuators, B*, **166–167**, 231 (2012)
209. A.Salimi, A.Noorbakhsh. *Electrochim. Acta*, **56**, 6097 (2011)
210. Y.Sun, F.Yan, W.Yang, C.Sun. *Biomaterials*, **27**, 4042 (2006)
211. X.Chen, X.Yan, K.A.Khor, B.K.Tay. *Biosens. Bioelectron.*, **22**, 3256 (2007)
212. N.Ferreira, L.Coche-Guèrente, P.Labbé. *Electrochim. Acta*, **49**, 477 (2004)
213. L.Gonzalez-Macia, M.R.Smyth, A.J.Killard. *Talanta*, **99**, 989 (2012)
214. B.Y.Wu, S.H.Hou, F.Yin, J.Li, Z.X.Zhao, J.D.Huang, Q.Chen. *Biosens. Bioelectron.*, **22**, 838 (2007)
215. Y.Zhai, S.Zhai, G.Chen, K.Zhang, Q.Yue, L.Wang, J.Liu, J.Jia. *J. Electroanal. Chem.*, **656**, 198 (2011)
216. W.Zhang, Y.Huang, H.Dai, X.Wang, C.Fan, G.Li. *Anal. Biochem.*, **329**, 85 (2004)
217. H.Zhao, H.Ju. *Anal. Biochem.*, **350**, 138 (2006)
218. Z.Tang, S.T.Donohoe, J.M.Robinson, P.A.Chiarelli, H.-L.Wang. *Polymer*, **46**, 9043 (2005)
219. J.-H.Kang, Y.-J.Oh, S.-M.Paek, S.-J.Hwang, J.-H.Choy. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells*, **93**, 2040 (2009)
220. J.Stepp, J.B.Schlenoff. *J. Electrochem. Soc.*, **144**, L155 (1997)
221. R.Tipnis, S.Vaddiraju, F.Jain, D.J.Burgess, F.Papadimitrakopoulos. *J. Diabet. Sci. Technol.*, **1**, 193 (2007)
222. Y.Jin, X.Kang, Y.Song, B.Zhang, G.Cheng, S.Dong. *Anal. Chem.*, **73**, 2843 (2001)

223. H.Chai, H.Liu, X.Guo, D.Zheng, Y.Kutes, B.D.Huey, J.F.Rusling, N.Hu. *Electroanalysis*, **24**, 1129 (2012)
224. L.B.Gulina, A.A.Pchelkina, K.G.Nikolaev, D.V.Navolotskaya, S.S.Ermakov, V.P.Tolstoy. *Rev. Adv. Mater. Sci.*, **44**, 46 (2015)
225. G.Korotcenkov, B.Cho, L.Gulina, V.Tolstoy. *Sens. Actuators, B*, **141**, 610 (2009)
226. G.Korotcenkov, B.Cho, L.Gulina, V.Tolstoy. *Sens. Actuators, B*, **138**, 512 (2009)
227. G.Korotcenkov, L.Gulina, B.Cho, S.Han, V.Tolstoy. *Mater. Chem. Phys.*, **128**, 433 (2011)
228. W.B.S.Machini, M.F.S.Teixeira. *Sens. Actuators, B*, **217**, 58 (2015)
229. P.Moozarm Nia, F.Lorestani, W.P.Meng, Y.Alias. *Appl. Surf. Sci.*, **332**, 648 (2015)
230. G.K.Ziyatdinova, H.C.Budnikov. *Russ. Chem. Rev.*, **84**, 194 (2015) [*Успехи химии*, **84**, 194 (2015)]
231. S.Qi, B.Zhao, H.Tang, X.Jiang. *Electrochim. Acta*, **161**, 395 (2015)
232. R.Ahmad, N.Tripathy, Y.-B.Hahn. *Sens. Actuators, B*, **194**, 290 (2014)
233. B.T.P.Quynh, J.Y.Byun, S.H.Kim. *Sens. Actuators, B*, **221**, 191 (2015)
234. G.K.Parshetti, F.-H.Lin, R.-A.Doong. *Sens. Actuators, B*, **186**, 34 (2013)
235. D.Schottenfeld, J.F.Fraumeni. *Cancer Epidemiology and Prevention*. Oxford University Press, New York, 2006
236. Y.-C.Chen, D.J.Hunter. *CA: A Cancer J. Clin.*, **55**, 45 (2005)
237. P.Vineis, F.Perera. *Cancer Epidem. Biomarkers Prev.*, **16**, 1954 (2007)
238. G.Sun, J.Lu, S.Ge, X.Song, J.Yu, M.Yan, J.Huang. *Anal. Chim. Acta*, **775**, 85 (2013)
239. A.Alwan, T.Armstrong, D.Bettcher, F.Branca, D.Chisholm, M.Ezzati, R.Garfield, D.MacLean, C.Mathers, Sh.Mendis, V.Poznyak, L.Riley, K.C.Tang, Ch.Wild. In *Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2010*. (Ed. D.A.Alwan). World Health Organization, Rome, 2011. P. 33
240. K.Tian, M.Prestgard, A.Tiwari. *Mater. Sci. Eng. C*, **41**, 100 (2014)
241. Q.Gao, Y.Guo, W.Zhang, H.Qi, C.Zhang. *Sens. Actuators, B*, **153**, 219 (2011)

Self-healing polymers

Siyang Wang  and Marek W. Urban  

Abstract | Self-healing is the capability of a material to recover from physical damage. Both physical and chemical approaches have been used to construct self-healing polymers. These include diffusion and flow, shape-memory effects, heterogeneous self-healing systems, covalent-bond reformation and reshuffling, dynamics of supramolecular chemistry or combinations thereof. In this Review, we discuss the similarities and differences between approaches to achieve self-healing in synthetic polymers, where possible placing this discussion in the context of biological systems. In particular, we highlight the role of thermal transitions, network heterogeneities, localized chemical reactions enabling the reconstruction of damage and physical reshuffling. We also discuss energetic and length-scale considerations, as well as scientific and technological challenges and opportunities.

Biological organisms have built-in repair mechanisms to prevent them from losing their functions. The repair processes in mammals and plants occur in entirely different chemical and morphological environments, yet — in a general sense — the outcomes are similar. For example, DNA damage is a fairly common event in a cell's life that may lead to DNA mutation, uncontrollable growth (cancer) or cell death. In mammals, the key components are pro-inflammatory cytokines, transforming growth factors and angiogenic factors^{1,2}. Human skin self-heals via an inflammatory response of cells below the dermis by increasing collagen production, which regenerates epithelial cells and tissue. In plants, oligopeptides, oligosaccharides or other molecules induce changes that signal damage and initiate a sequence of chemical events leading to macroscopic repair^{3,4}. Regardless of the individual steps in any of these processes, self-healing in living systems involves a cascade of reactions, the exact chemistries of which are far from understood.

The main approaches to self-healable polymers involve either physical or chemical events at the molecular level, although there is overlap between the two approaches (FIG. 1). Examples of physical self-healing processes are interchain diffusion⁵, phase-separated morphologies^{6,7}, shape-memory effects⁸ and the introduction of superparamagnetic nanoparticles⁹. By contrast, predominantly chemical processes include the incorporation of covalent^{10–12}, free-radical^{13,14} or supramolecular^{7,15–17} dynamic bonds. Many self-healing processes involve a combination of physical and chemical events, such as taking advantage of enhanced van der Waals forces¹⁸, resulting in interdigitated copolymer morphologies — embedded, reactive, encapsulated fluids that burst open upon damage to fill up a wound and trigger chemical reactions of reactive agents to

repair damage¹⁹ — and cardiovascular networks²⁰, which use the same concept.

In this Review, we outline the physical, chemical and physico-chemical processes of self-healable polymers. We discuss how leveraging advances in synthetic materials and biological systems, while using feedback and feedforward from physico-chemical analysis and predictive computational algorithms, will lead to discoveries and technological advances. Taking self-healing materials to the next level, we discuss how exchangeable bonds triggered by thermal, chemical or other stimuli result in the development of tunable rigid or soft vitrimers.

Interchain diffusion

Early approaches for crack healing in thermoplastic polymers can be broken into five stages: segmental surface rearrangements, surface approach, wetting, diffusion and randomization^{5,21}. During surface rearrangements, factors such as topography and roughness of the surfaces, chain-end distribution and molecular-weight distribution come into play. As two surfaces come together to enable subsequent molecular-level physical and/or chemical self-healing²¹, they form an interface and wet each other before diffusion occurs. Various chemical rebonding techniques in thermosetting and thermoplastic self-repairing polymers have supplemented the diffusion phase²², but differentiation between the physical and chemical processes involved is not trivial.

Mechanical damage creates interfacial regions. Local mobility and diffusion rates in damaged areas (especially in interfacial regions) are important in the self-healing process²³. Interfacial macromolecular interpenetration was proposed in the 1960s (REF.²⁴) and typical diffusion rates in solid-state polymers are 10^{-5} m min⁻¹ (REF.²⁵). Furthermore, full recovery of mechanical strength is approximately 0.4–0.8 times the radius of gyration^{26–28},

Department of Materials
Science and Engineering,
Center for Optical Materials
Science and Engineering
Technologies (COMSET),
Clemson University, Clemson,
SC, USA.

✉e-mail: mareku@
clemson.edu

<https://doi.org/10.1038/s41578-020-0202-4>

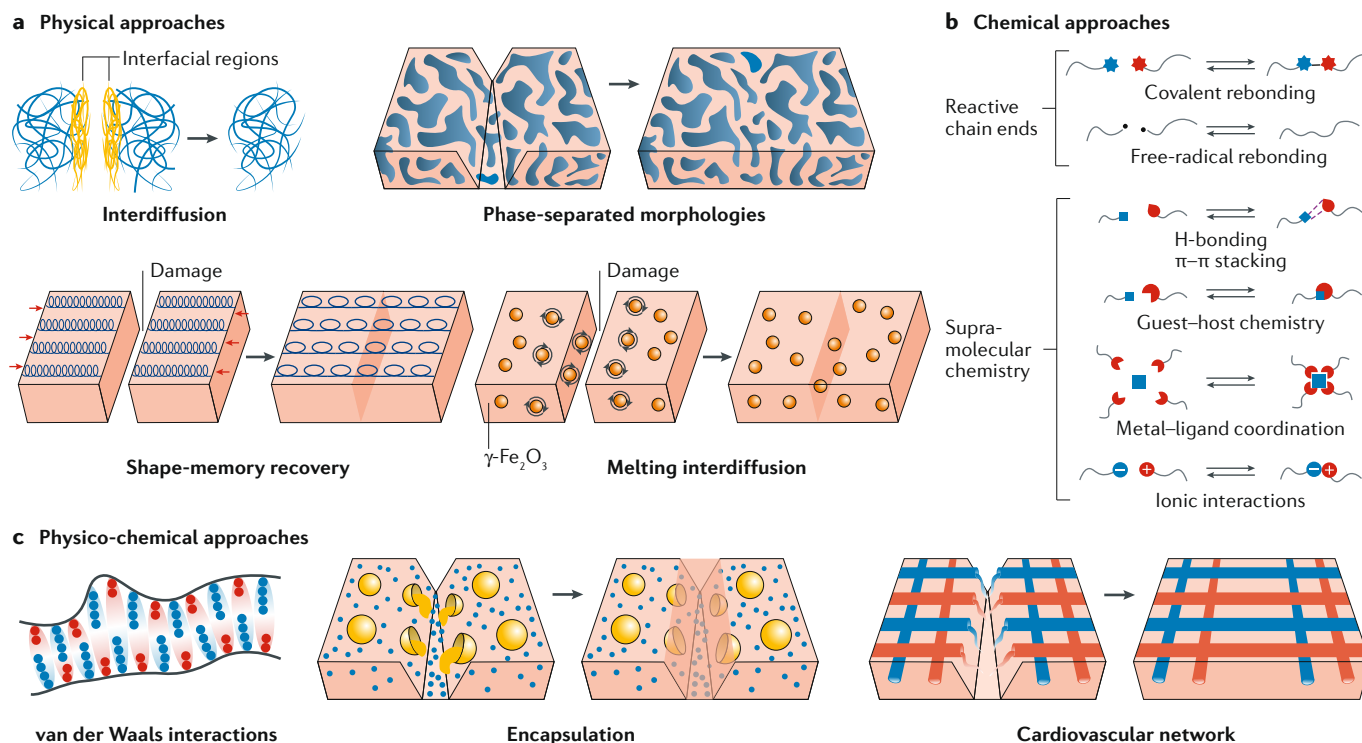


Fig. 1 | **Self-healing mechanisms.** **a** | Physical processes to realize self-healing include interdiffusion of polymer chains, the introduction of phase-separated morphologies, shape-memory effects and the introduction of active nanoparticles into a polymer matrix. **b** | Chemical processes to facilitate self-healing involve either introducing reactive chain ends or supramolecular chemistries. **c** | Physical and chemical processes can be combined to realize self-healing. Self-healing is achieved by incorporating enhanced van der Waals interactions, or encapsulating nanocapsules or microcapsules containing reactive liquids to heal a wound, or by mimicking cardiovascular architectures composed of hollow fibres filled with reactive chemicals to heal a polymer matrix.

and the average interdiffusion depth is expressed as a function of time $X(t)$ by

$$X(t) = X_{\infty} (t / T_r)^{1/4} \quad (1)$$

where T_r is the reptation time, which is proportional to the chain molecular weight to the third power^{21,28,29}. Accordingly, more flexible and shorter chains are more mobile and facilitate recovery more easily²². In contrast to the bulk, surface macromolecules exhibit high mobility, reflected in a lower glass-transition temperature (T_g), owing to their high degrees of freedom^{21,30–32}, thus facilitating enhanced diffusion. This is supported by the observation that the T_g inside a fresh cut is lower than that in an undamaged surface³³.

Fickian diffusion is enhanced above the T_g owing to the excess free volume, driven by entanglement coupling and reptation^{34–36}. However, crack healing in poly(methyl methacrylate) (pMMA) was achieved by heating above the T_g under pressure, which facilitates a recovery of the fracture stresses proportional to $t^{3/4}$, where t is the heating time^{25,37}. In general, lowering the T_g enhances segmental chain mobility (which can also be achieved through the use of plasticizing solvents^{25,38}), thus promoting diffusion and inducing conformational changes, but does not assure self-healing. When liquid is dispersed in a solid matrix, diffusion favours the repair process, which will be enhanced for lower- T_g networks,

owing to the excess free volume. Because newly formed surfaces or interfaces resulting from damage exhibit liquid-like attributes, relatively slow diffusion rates ($\sim 10^{-3} \text{ m min}^{-1}$) are anticipated³⁹. Under these conditions, the reptation model (that is, a polymer chain migrating through a tube; Eq. 1) could serve to predict topological constraints imposed on a polymer backbone by the surrounding polymer chains³⁷ in the bulk. However, this model may not be applicable in the surface and/or interfacial regions, where interfacial energy may dominate chain mobility.

van der Waals interactions

van der Waals interactions have been of interest for over two centuries, and the presence of van der Waals interchain forces in polymers was established decades ago. An illustrative biological system that uses van der Waals forces to adhere to any surface is gecko setae⁴⁰. However, only recently have such interactions been recognized for their potential in designing self-healing commodity copolymers¹⁸. If perturbation of van der Waals forces upon mechanical damage is energetically unfavourable, interdigitated alternating or random copolymer motifs will self-heal to an energetically more favourable state. Molecular dynamics simulations showed that the formation of helix-like conformations depends on the copolymer composition and creates a viscoelastic response that energetically

favours self-recovery upon chain separation, owing to ‘key-and-lock’ associations of the neighbouring chains. In essence, van der Waals forces stabilize neighbouring copolymers, which is reflected in enhanced cohesive-energy density (CED) values. FIGURE 2a illustrates how induced dipole interactions for alternating or random poly(methyl methacrylate-*alt*-*ran*-*n*-butyl acrylate) (p(MMA-*alt*-*ran*-*n*BA)) copolymers owing to directional van der Waals forces may enhance the CED at equilibrium (CED_{eq}) of entangled and side-by-side copolymer chains. It is a challenge to measure van der Waals forces, and molecular-dynamics simulations are valuable for understanding and quantifying their role in self-healing. For that reason, various force fields for small molecules^{41,42} and polymers^{43,44} are useful. Although over the years they have been modified to predict polymer–polymer⁴⁵ and polymer–inorganic interactions⁴⁶, there is a need for more precise dynamic modelling of damage–repair cycles in polymers.

Shape memory

Shape-memory-assisted self-healing is commonly observed in biological systems. An example of this is wound closure in leaves, whereby, after a transversal incision, the entire leaf bends until the wound is closed.

Recent studies suggest that this is governed by a combination of hydraulic shrinking and swelling, which are the main driving forces and growth-induced mechanical prestresses in plant tissues⁴⁷.

In synthetic polymers, the shape-memory effect was discovered in the 1940s and first used in dental materials (methacrylic ester resin)⁴⁸. In the 1960s, this discovery was followed by the development of heat-shrinkable polyethylene in films, tubing and other applications^{49,50}. The response of shape-memory materials to external stimuli was largely neglected as part of self-healing processes. However, if designed properly, polymers can ‘memorize’ a permanent shape that can be manipulated to create a temporary form, and, under suitable conditions triggered by external or internal stimuli (for example, heat, light or deformation), transform back to the memorized permanent shape. Such responses manifest in conformational changes and/or chain contractions, which are typically entropy-driven, resulting in mass flow and self-healing⁵¹. One example is light-activated shape-memory polymers, which use one wavelength of light for photocrosslinking, while a second wavelength cleaves the photocrosslinked bonds to enable reversible switching between elastomers⁵². Another example is pretensioned shape-memory alloy wires⁵³ or fibres⁵⁴ in

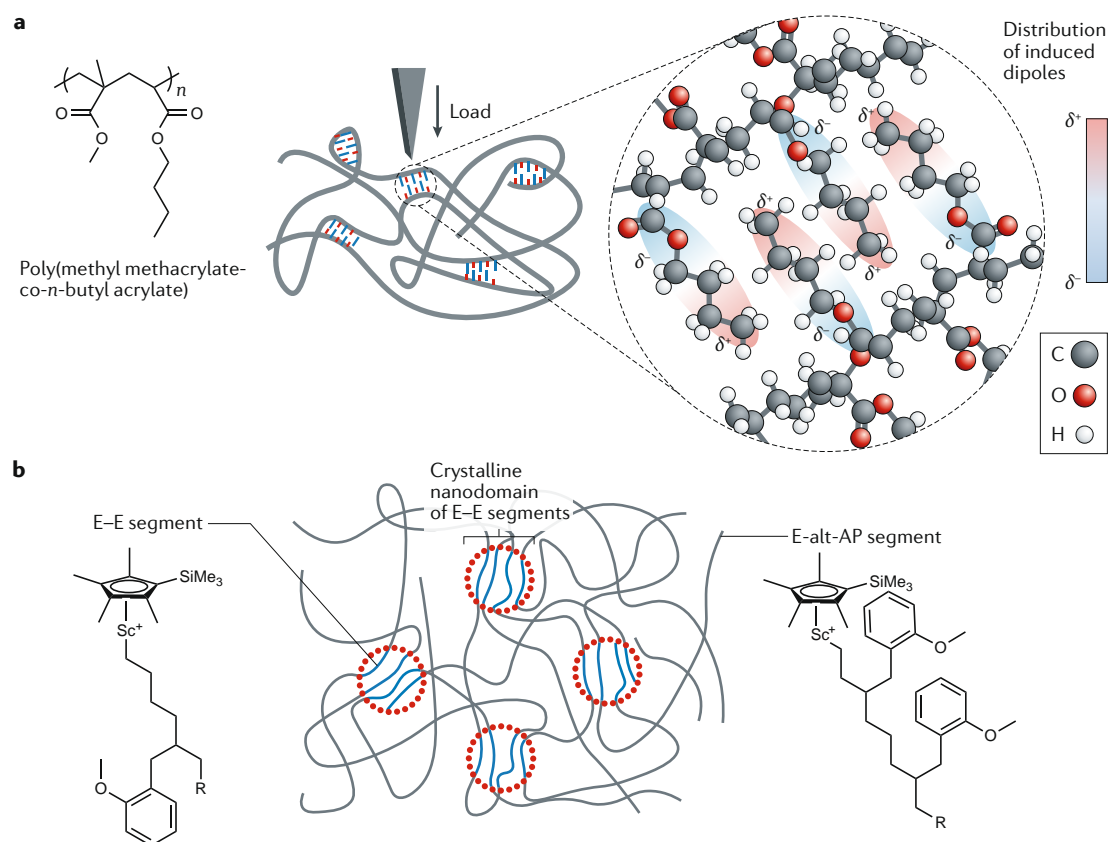


Fig. 2 | Self-healing through van der Waals forces or the shape-memory effect. a | Key-and-lock configuration in self-healing poly(methyl methacrylate-co-*n*-butyl acrylate) copolymer. Self-healing occurs in a narrow compositional range for copolymer topologies that are preferentially alternating with a random component and is attributed to favourable van der Waals forces between the polymer chains, forming key-and-lock interchain junctions. **b** | A self-healing and phase-separated copolymer system comprising ethylene(E)-*alt*-anisyl propylene (AP). Copolymers with glass-transition temperatures below room temperature are self-healable; however, the shape-memory effect is observed for copolymers with glass-transition temperatures around or above room temperature. Panel **b** (left) adapted with permission from REF.⁵⁹, ACS.

a polymer matrix. Upon activation at elevated temperature, self-healing occurs owing to forces pulling crack surfaces towards each other.

Incorporating soft and hard segments into one copolymer can lead to phase-separated morphologies. For example, a material that combines rubber elasticity and thermoplastic stiffness will expand the applications of copolymers owing to enhanced mechanical properties represented by enhanced storage and loss moduli. If stiff and tough polymers are combined with dynamic and flexible macromolecular assemblies facilitating mobility, self-healing can be achieved⁷. Such materials have been made that respond to external stimuli, including temperature, electrical or magnetic fields⁵⁵, solution concentration⁵⁶ or light⁵⁷. Notably, the action of the shape-memory effect during self-healing restores entropic energy upon the release of the force creating damage to fill an open wound in the material.

The shape-memory effect can be determined quantitatively in a single dynamic mechanical analysis that enables determination of stored conformational entropy in polymers that exhibit a T_g and a rubbery plateau⁵⁸. Although the majority of polymers exhibit some kind of shape-memory effect, they do not necessarily self-heal. An attempt was made to relate shape memory to self-healing by copolymerizing ethylene and anisyl-substituted propylenes using a sterically demanding half-sandwich scandium catalyst⁵⁹. This study showed nanodomain phase separation and self-healability for copolymers with T_g below room temperature, in particular, in aqueous environments (FIG. 2b); however, when the T_g was tuned near or above room temperature, the shape-memory effect was observed. This raises several questions, including the extent to which viscoelasticity above the T_g contributes to self-healing; how enhanced chain mobility near T_g affects self-healing locally and globally; how far from the damage area polymer chains 'feel' conformational changes; and the role of interfacial energy in self-healing near the damaged regions⁶⁰. In attempts to address these questions, two mechanisms of self-healing were identified: first, viscoelastic shape memory driven by stored conformational entropy upon damage, which is recovered to facilitate self-healing, and, second, surface-energy-driven or surface-tension-driven processes that reduce newly generated surface areas created upon damage by shallowing and widening wounds until healed⁶¹.

Heterogeneous self-healing systems

Although interest in homogeneous self-healing polymers via interchain diffusion dates back to the early 1980s, heterogeneous systems were not conceptualized and developed until the 2000s. The encapsulation of reactive fluids that are released upon damage and, hence, fill and repair the damaged area is one of the first examples of self-healing heterogeneous systems¹⁹ (FIG. 1c). Initial studies involved catalysed reactions of ring-opening metathesis polymerization of dicyclopentadiene in the presence of a ruthenium catalyst¹⁹. This approach has been reviewed elsewhere^{62,63}. The presence of nanocapsules and microcapsules with reactive ingredients that, upon cracking, fill in the damaged area resembles blood

clotting in a wound, but a technological challenge is achieving high stability of the capsules during processing and overcoming the limitation of one-time self-repair. A somewhat analogous concept to develop fibre-reinforced composites that retard failure is based on cardiovascular networks in which hollow fibres filled with reactive ingredients serve as delivery systems of chemicals to the wounded area. For this application, self-healing microfibrils with core-shell geometry containing encapsulated binary epoxies are promising materials⁶⁴. These fibres can be formed by coaxial nozzles that encapsulate epoxy resin and crosslinker in separate cores. Upon damage, epoxy and crosslinker are released from the cores of damaged fibres and self-heal. This approach is conceptually exciting if 'used' self-healing agents could be replenished after damage.

Polymers in a molten state — owing to their low viscosity and flow — may also serve as glue to repair mechanical damage. Because of interfacial diffusion in the molten state, incorporating superparamagnetic $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanoparticles into a polymer matrix facilitates repair under the application of an oscillating magnetic field⁹. As a result, the polymer matrix-nanoparticle interfacial regions melt, facilitating polymer flow and the permanent repair of physically separated polymer surfaces. Embedding physically responsive nanoparticles or microparticles has several technological advantages, particularly in materials where damage repair does not permit the use of electromagnetic radiation, heat or other stimuli. It may also be advantageous in fibre-reinforced composites, where damage may not be easily detectable and accessible, such as fibre-matrix interfaces.

Long-range sensing and signalling are intriguing properties of biological systems, but challenging to achieve in synthetic materials. One approach to address this challenge is to fabricate a Diels-Alder bond-containing polyurethane backbone with electrically conductive carbon nanotubes (CNTs), where the dynamics of Diels-Alder bond reformation enables self-healing and the CNTs confer electrical conductivity⁶⁵. In this case, when electric potential is applied to a damaged specimen, the difference in electrical resistance between the damaged and undamaged areas results in temperature differentials reflected in infrared spectroscopy thermal images, thus providing crack diagnostics. This type of composite material can also be equipped with strain-sensing capability and has potential technological applications in electronic strain sensors as an alternative to ceramic piezoelectric devices. Based on these studies, we envision that electrically, thermally or optically conductive fibres embedded into a polymer matrix may lead to a new generation of self-healing materials. An early example is CNTs dispersed in vitrimer-based epoxy, which can facilitate self-healing using photothermal energy to activate transesterification reactions⁶⁶.

Multiphase heterogeneous polymeric materials can be produced by copolymerizations. Similar to phase-separated polyurethane containing a combination of soft and hard segments, self-healing can be achieved in copolymers by combining hard polystyrene backbones with soft polyacrylate amide (PAAm) pendant groups carrying multiple H-bonding sites⁷.

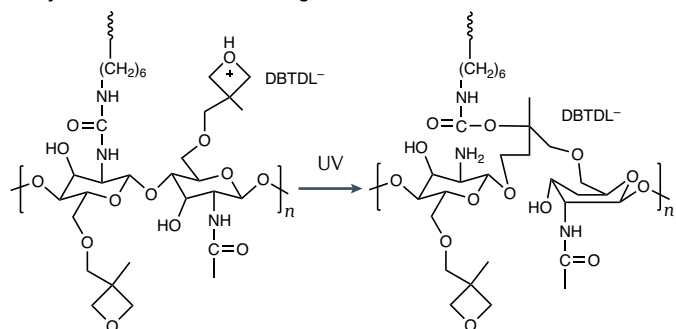
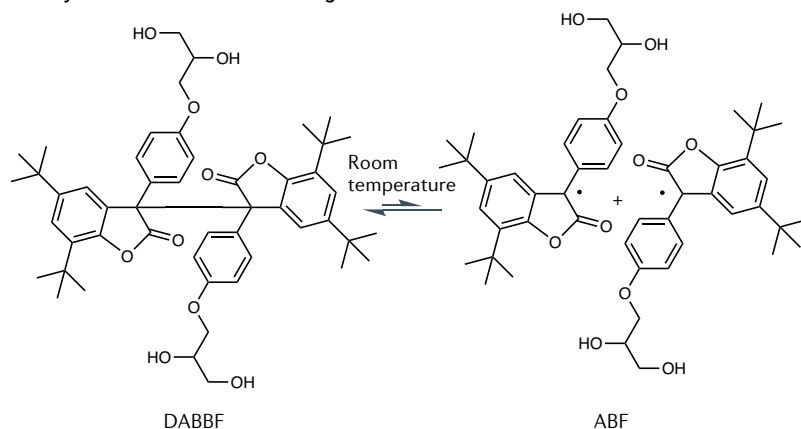
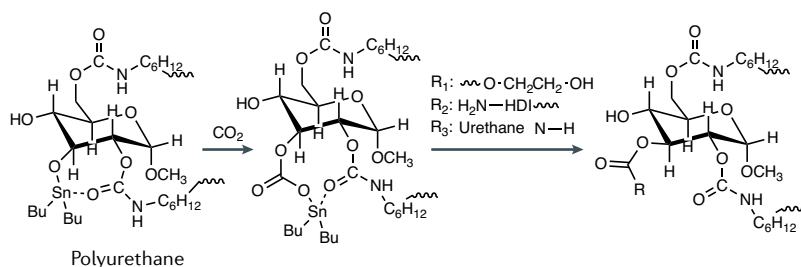
a Polyurethane-radical rebonding

b Polycarbonate-radical rebonding

c Generation of reactive groups


Fig. 3 | Reformation of covalent bonds. a,b | Free-radical rebonding^{13,14}. **a** | Upon mechanical damage of an oxetane-substituted chitosan precursor incorporated in a two-component polyurethane network, four-membered oxetane rings open to create two reactive ends. Upon exposure to ultraviolet (UV) light, chain scission of the chitosan occurs, which crosslinks with the reactive oxetane ends, thus repairing the network. **b** | Diarylbibenzofuranone (DABBF), a dimer of arylbenzofuranone (ABF) and known antioxidant, was used as a dynamic reversible covalent bond capable of self-healing at room temperature in the dark. **c** | Generation of reactive amines¹⁰ capable of self-healing. When methyl- α -D-glucopyranoside (MGP) molecules react with hexamethylene diisocyanate (HDI) and polyethylene glycol (PEG), crosslinked MGP-polyurethane networks are formed, which self-repair in air. DBTDL, dibutyltin dilaurate.

This approach relies on localized variations in T_g introduced by phase-separated high- T_g polystyrene and low- T_g PAAm segments, which facilitates network remodelling through hydrophobic and hydrophilic interactions. Taking this concept further, triblock copolymers can be prepared, benefiting from the elastomeric properties of microphase-separated thermoplastic block copolymers with the reversible H-bonding⁶⁷. This is an example of how localized compositional heterogeneities can be used in designing self-healing polymer

networks. It is worth noting, however, that commercial styrene and acrylic copolymers are non-self-healable. To achieve self-healing, the chemical make-up of the copolymer, control of the copolymer topologies and the processing conditions are crucial. For example, it was shown for PAAm that phase separation may induce gel-glass-like transitions using a combination of good and poor solvents⁶⁸. In addition, phase-separated supramolecular architectures can also facilitate self-healing, as demonstrated for acrylic or styrene-based triblock copolymers⁶⁹.

H-bonding can also be used to achieve self-healing in heterogeneous systems. For example, bio-derived carboxyl cellulose nanocrystals can be used to construct H-bonding interactions with chitosan-decorated epoxy natural rubber latex, where carboxyl cellulose nanocrystal molecular chains comprise rich carboxylic and hydroxyl groups. Moreover, chitosan molecular chains provide abundant amino, acetamide and hydroxyl groups, interacting with each other via H-bonding⁷⁰. Using condensation polymerization, elastomers composed of polytetraethylene and tetraethylene glycol have been prepared that are highly stretchable, tough and capable of self-healing⁷¹. The key interaction responsible for these properties is quadrupole H-bonding.

Covalent-bond reforming

Free-radical recoupling can reform covalent bonds in polyurethanes and polycarbonates cleaved by mechanical damage (FIG. 3a,b). The number of free radicals formed in these processes may vary depending upon their stability; for example, in polyurethanes modified by oxetanes or oxolanes, the C–O cleavage results in fairly stable free radicals. In such cases, kinetic factors are important in self-healing: if free radicals or other reactive groups remain reactive for sufficient time after bond cleavage, the chain ends terminated with free radicals will react before they are quenched by oxidative processes. Thus, stability and reactivity are important considerations. Mechanical damage resulted in cleavage of a constrained four-membered ring oxetane generating stable free radicals³³, and self-healing upon mechanical damage of a crosslinked polyurethane network can be achieved by exposing the damaged area to 302-nm ultraviolet (UV) radiation¹³ (FIG. 3a). Although mechanistically and kinetically different, self-healing was also realized with oxolane–chitosan macromonomers introduced to polyurethane networks⁷². In polycarbonates produced by heat-induced reactions and diisocyanate-terminated poly(propylene glycol)¹⁴, mechanical damage generates the arylbenzofuranone radicals produced upon the dissociation of tetrahydroxy-functionalized diarylbibenzofuranone (DABBF). For these radicals to facilitate the rebonding of polycarbonate radical (FIG. 3b), the radicals must have low or no sensitivity to oxygen to avoid radical quenching via free-radical reactions with molecular oxygen⁷³, which impede self-healing. A similar approach was developed for the reformation of polycarbonate networks by adding a base (Na_2CO_3) to introduce additional ester reactions⁷⁴. Subsequent substitutions between phenoxide and phenyl-carbonyl chain ends

along with CO₂ recombination facilitates the repair of polycarbonate network.

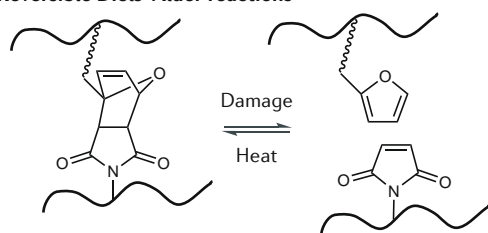
Adduct (exo or endo) formation between furan (diene) and maleimide (dienophile) groups can also facilitate self-healing, owing to covalent rebonding^{75,76}. In these studies, mechanical activation of a DABBF-based scissile using dynamic covalent mechanophores was covalently attached to the surface of cellulosic nanocrystals. The mechanically activated radicals recombined much more slowly than those formed by DABBF monomers and DABBF-containing polymers in the other environments, such as solutions, bulk and gels⁷⁷. Free-radical stability and self-healing has also been explored in self-healable alkoxyamines prepared by click chemistry, in which UV irradiation cleaved polymer crosslinks, followed by recombination of radical species⁷⁸. Similarly, multifold nitroxide-exchange reactions between tri-alkoxyamines and trinitroxide monomers form covalently crosslinked dynamic self-healable network with a tunable degree of crosslinking⁷⁹. The uniqueness of this approach is the reversibility driven by concentration changes of 2,2,6,6-tetramethylpiperidinyloxy (TEMPO) radicals.

The Calvin cycle — a biological process that converts light energy into sugars — is a sequence of reactions that includes the fixation of carbon dioxide and various enzymatic reactions⁸⁰. This sequence of reactions is driven by forming and reforming reactive groups. Achieving the fixation of carbon dioxide using synthetic materials has also been realized and, similarly, enables the reformation of bonds and the renewal of materials¹⁰. These materials are capable of self-repair in the presence of atmospheric carbon dioxide and water by

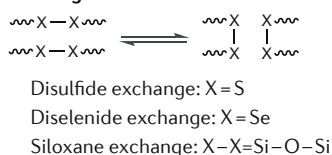
generating reactive amine functionalities that react to reform urethane and carbonate linkages. More specifically, methyl- α -D-glucopyranoside (MGP) reacts with hexamethylene diisocyanate trimer and polyethylene glycol (PEG) to form crosslinked MGP-polyurethane networks¹⁰ (FIG. 3c).

As described earlier, thermal energy and electromagnetic radiation are commonly used to initiate self-healing. It is often difficult to determine if electromagnetic radiation alone causes self-healing or if energy absorption results in temperature changes, thus leading to the same net effect — network repair. This energy conversion influences the reversibility and efficiency of self-healing reactions in reversible crosslinking via Diels–Alder reactions (for example, in epoxies^{12,81–83}, bismaleimides^{84,85}, polyurethanes^{86,87}, anthracene–maleimide-based polymers^{88,89}, caprolactones^{90,91}, poly(ethylene oxide)⁹², polyesters⁹³, crosslinked polylactic acid⁹⁴ and acrylics^{95,96}). Retro-Diels–Alder reactions offer a disconnection between diene and dienophile, but elevated temperatures reconstruct the covalent bonds to repair the crack¹² (FIG. 4a). The photochemical [2+2] cycloaddition of a 1,1,1-tris-(cinnamoyloxy-methyl) ethane (TCE) monomer can be used for self-healing reactions to form cyclobutane structures via the reversibility of cyclobutene to C=C bond conversion⁹⁷ (FIG. 4b). In this example, the cycloaddition reaction⁹⁸ capitalizes on the C–C bond cleavage of cyclobutane rings between TCE monomers induced by mechanical damage, resulting in the formation of the original cinnamoyl groups; however, healing occurs because of the reversibility of cyclobutane crosslinks of TCE via [2+2] photocycloaddition upon UV exposure. A low-temperature reversible

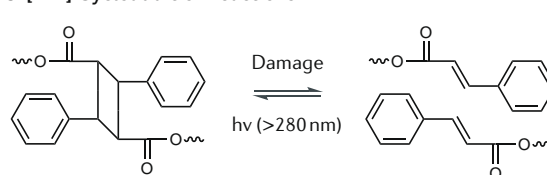
a Reversible Diels–Alder reactions



c Exchange reactions



b [2+2] Cycloaddition reactions



d Michael addition

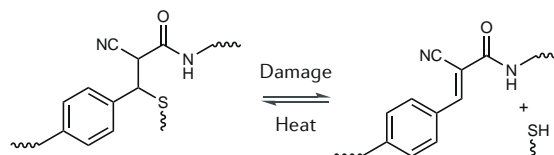


Fig. 4 | Reversible reactions enabling reformation of covalent bonds. **a** | Thermally reversible Diels–Alder reaction of furan and maleimide moieties forms a highly crosslinked network that is thermally reversible by the retro-Diels–Alder reaction¹². **b** | Cycloaddition reactions can be used to photocrosslink cinnamate monomer, such as 1,1,1-tris-(cinnamoyloxy-methyl)ethane, and uncrosslink to original cinnamoyl groups, thus facilitating crack healing⁹⁷. **c** | Three different exchange reactions can lead to self-healing. Disulfide-exchange reactions enable self-healing of *n*-butyl acrylate-based star polymers by attaching bis(2-methacryloyloxyethyl) disulfide to the arm end, resulting in a crosslinked star polymer¹⁰⁶. The presence of disulfide functional groups enabled cleavage, owing to reduction reactions at the chain ends with thiol groups. Diselenide-exchange reactions¹¹³ (dynamic diselenide bonds incorporated into polyurethanes facilitate visible-light-assisted self-healing materials). Siloxane-exchange reactions¹¹⁶ can serve in self-healing of silicone-based polymers. Under stress, siloxane bonds in the silicone networks are cleaved, but the addition of either acid or base will catalyse stress relaxation, resulting in self-healing. **d** | Michael-addition reaction¹¹⁵ between a trithiol and a bisbenzylcyanoacetamide derivative forms a self-healable dynamic network above 60 °C.

system using acid-activated dithioesters as dienophiles in hetero-Diels–Alder reactions with cyclopentadiene⁹⁹ has slow self-healing kinetics in the absence of a catalyst, but when hetero-Diels–Alder contains cyanodithioester, a catalyst is not required¹⁰⁰. Using cyanodithioester and cyclopentadiene building blocks, healing can be accelerated at 120 °C (REF.¹⁰¹). It is also well established that Diels–Alder reactions can be catalysed by antibodies and RNA¹⁰², which offers the possibility of using these reactions in chemical biology. The dynamics of Diels–Alder bonds for self-healing in polyurethane and CNT composites was also used in electrically conductive networks⁶⁵.

Sulfur and selenium chemistry, which is vital in biological systems, also enables self-healing. Particularly, the robust nature of thiol–ene chemistry has led to many synthetic opportunities^{103,104}. For example, features of reversible reshuffling reactions of S–H and S–S bonds have been used in trithiocarbonates, in which copolymerization of *n*-butyl acrylate and a trithiocarbonate crosslinker resulted in high mobility of polymer segments, triggering homolysis of C–S bonds¹⁰⁵. The reversible nature of S–S bonds, that is, reduction to form two thiol (S–H) groups, and oxidation to restore the disulfide (S–S) linkages, can be effectively used in self-healing¹⁰⁶ (FIG. 4c). Introducing reversible disulfide (S–S) crosslinks into covalently crosslinked networks can be achieved by poly(*n*-butyl acrylate)-grafted star polymers¹⁰⁷. In this example, the polymer networks originate from crosslinked cores composed of poly(ethylene glycol diacrylate) and macroinitiators for the consecutive chain extension of bis(2-methacryloyl)oxyethyl disulfide. In another example, photoinduced thiol–ene click-type radical addition, which generates lightly sulfide-crosslinked polysulfide-based networks with an excess of thiols, and the subsequent oxidation of these thiols enables the formation of dynamic disulfide crosslinks to yield dual sulfide–disulfide crosslinked networks with fast self-healing rates¹⁰⁸. Triblock copolymers with a centre poly(ethylene oxide) block and dithiolane blocks crosslinked with dithiol also enable self-healing by reversible ring opening of the pendent 1,2-dithiolanes via disulfide exchange between 1,2-dithiolanes and dithiols¹⁰⁹. Bis(4-aminophenyl) disulfide can also be effectively used as a dynamic crosslinker in self-healing poly(urea–urethane) elastomers without the use of a catalyst¹¹⁰. Disulfide chemistry was also used in self-healable polyurethanes¹¹¹. An advantage of disulfide-exchange reactions is that S–S bonds are capable of dynamic rearrangements upon heat, UV light and redox conditions, and, when incorporated into low- T_g gel networks, temperature-reversible self-healing can be achieved. The concept of disulfide links incorporated in a rubber network resulted in the restoration of mechanical properties at moderate temperatures (~60 °C)¹¹², but the main challenge is to achieve self-healing in higher- T_g networks. Applying the same exchange concept, a series of diselenide bond-containing polyurethane elastomers was prepared¹¹³. Aromatic diselenides have also been incorporated into polyurethane networks using a para-substituted amine diphenyl diselenide, resulting in faster self-healing than the corresponding

disulfide-based materials and reprocessability at temperatures as low as 100 °C (REF.¹¹⁴). Reversible thiol–ene click reactions have also been used in a Michael–addition reaction, in which trithiol was reacted with a bisbenzylcyanoacetamide derivative to generate a self-healable dynamic polymer network above 60 °C (REF.¹¹⁵) (FIG. 4d).

Silicone-based polymers — owing to their dynamic network rearrangements — are perhaps the most technologically promising, yet least explored, self-healing materials¹¹⁶. For example, tetramethylammonium-silanolate-initiated ring-opening copolymerization of octamethylcyclotetrasiloxane and bis(heptamethylcyclotetrasiloxanyl)ethane produced a polymer that could self-heal, owing to its ethylene bridges and active silanolate end groups¹¹⁷. Perhaps one of the most attractive features of silicone-based materials with self-healing properties are energy^{118,119} and biomedical¹²⁰ applications. Of particular interest are self-healing dielectric-silicone-based elastomers that exhibit high dielectric permittivity. These properties can be achieved using an interpenetrating polymer network of silicone elastomer and ionic silicone polymers¹²¹. The latter are crosslinked through proton exchange between amines and acids, and are able to self-heal after electrical breakdown or mechanical damage. The self-healing is attributed to the reassembly of the ionic bonds during damage. Self-healing in silicone-based polymers was also accomplished using thiol-functionalized silicone oils containing silver¹²² and magnetic Fe₃O₄ nanoparticles containing mussel-inspired metal-coordination bonds with dopamine molecules^{123,124}.

Taking self-healing further, latexes synthesized via a simple colloidal process undergo not only self-healing but also colour changes in the damaged area¹²⁵. The synthesis of these materials was accomplished by emulsion copolymerization of a small fraction of photochromic monomer (spirooxazine) into methyl methacrylate and *n*-butyl acrylate copolymers. Upon mechanical damage, colourless damaged areas become red and, upon exposure to electromagnetic radiation, not only does self-healing occur but also the red colour in the damaged area reverts to its original colourless appearance. During repair, which is initiated by visible light, the spirooxazine rings close; however, the neighbouring copolymer segments form intermolecular H-bonding that forces the copolymer backbone to remain in an extended conformation. This network is an example of how combining covalent bonding and supramolecular chemistry may lead to self-healing and sensing.

Dynamic covalent-bond reformation

The interest in covalently bonded self-healable hydrogels is driven by its biomedical applications, which range from regenerative medicine to drug and protein delivery systems or tissue–material barriers. Self-healing in hydrogels can be achieved using reversible Schiff-base linkages¹²⁶. For example, such hydrogels can be formed from the reaction of OH-PEG with 4-formylbenzoic acid and, subsequently, glycol chitosan¹²⁷ (FIG. 5a). In this case, a large dynamic strain (300%) can change the elastic modulus from approximately 1.5 kPa to 10 Pa and

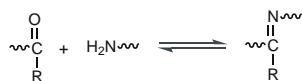
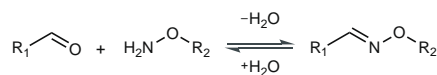
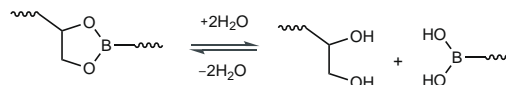
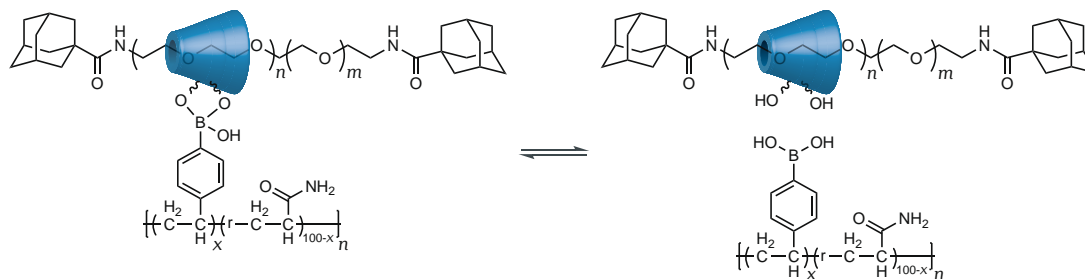
a Schiff-base bond regeneration**b Acylhydrazone rebonding****c Oxime rebonding****d Boronic-ester reformation****e Boronic-ester reformation in rotaxane-based polymers**

Fig. 5 | **The dynamic reformation of covalent bonds.** **a** | Schiff-base rebonding¹²⁷. **b** | Acylhydrazone rebonding^{108,130}. **c** | Oxime rebonding¹³¹. **d** | Radical thiol–ene click chemistry is initiated by light, which enables the reversible formation of boronic esters to yield self-healable polymers¹³⁵. **e** | Self-healing polymer gels are formed by crosslinked polyrotaxane and poly(acrylamide) with reversible boronate linkages¹⁴².

induce gel–sol transitions. When implanted into the central nervous system, neurosphere-like progenitors proliferate in the hydrogel and differentiate into neuron-like cells, causing neural repair. Schiff-base networks can also be integrated with dynamic reversible acylhydrazones via acylhydrazines and aldehyde functionalities into Diels–Alder crosslinked networks¹²⁸. A hybrid self-healing hydrogel system combining Schiff-base and amine reactions with micelles exhibits rapid self-healing, extensibility and compressibility for wound-dressing applications¹²⁹.

Hydrozenes (C=N–X)^{108,130} (FIG. 5b) and oximes¹³¹ (FIG. 5c) are commonly used conjugates labile to hydrolysis. Keto-functional copolymers can be prepared by conventional radical polymerization of *N,N*-dimethylacrylamide (DMAA) and diacetone acrylamide (DAA)¹³¹. The resulting water-soluble copolymers (p(DMAA-stat-DAA)) can be chemically crosslinked with difunctional alkoxyamines to obtain hydrogels via oxime formation and sol–gel transitions induced by the addition of excess monofunctional alkoxyamines to promote competitive oxime exchange under acidic conditions at 25 °C. The dynamic nature of oxime functionalities facilitates reversible self-healing. Similarly, polyurethane-like dynamic covalent polymers (poly(oxime-urethanes)) with self-healing at 120 °C can be prepared¹³².

Boronic acids form a variety of dynamic covalent bonds¹³³. This can be achieved, for example, through dehydration of boronic acids to form boroxines by reversible hydrolysis¹³⁴. The boroxine–boronic acid equilibrium can be shifted by adjusting the temperature, adding a Lewis base or changing the water concentration.

However, the property that makes boronic acids unique in the context of self-healing is their ability to form reversible dynamic covalent bonds with diols to form cyclic boronate esters. For example, photoinitiated radical thiol–ene click chemistry was used to form hydrogels capable of repeated healing under ambient conditions¹³⁵ (FIG. 5d). In another approach, combining reversible and dynamic boronate ester and disulfide chemistries facilitated the development of pH-responsive, glucose-responsive, redox-responsive and self-healable properties in hydrogels¹³⁶. Self-healable hydrogels can also be prepared by covalent transesterification reactions of boronic acid with diols¹³⁷. These boronate-ester-crosslinked hydrogels are capable of self-healing under neutral and acidic conditions, owing to the presence of an intramolecular coordinating boronic-acid monomer, 2-acrylamidophenylboronic acid¹³⁸. Synthetic hydrogels functionalized with boronic acid can also be used as matrices for 3D cell culture¹³⁹, and those generated by boronic-ester and disulfide-exchange chemistry can self-heal in response to several stimuli¹³⁶.

In addition to boronic acid and boronate ester, self-healing gels with dynamic covalent bonds can be formed from a range of other reactive groups. For example, alkoxyamines with dynamic covalent bonds can facilitate self-healing, although the sensitivity of atmospheric oxygen at elevated temperatures (90–130 °C) leads to C–ON bond dissociations¹⁴⁰. Another approach is the photoinduced [2+2] cycloaddition of cinnamoyl groups to reversibly form cyclobutene-derivative polymer gels⁹⁷. This mechanism is driven by trithiocarbonate units that undergo reshuffling reactions; these units are

particularly attractive as photoinitiators in reversible addition–fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization¹⁰⁵. This concept was expanded to self-healing networks using trithiocarbonate as photoresponsive units to achieve remarkable self-healing properties¹⁴¹. The latter is an excellent example of how covalently crosslinked polymers, through light stimulation and macroscopic fusion of separate pieces, synchronize self-healing events. Moreover, polyrotaxanes crosslinked by reversible bond reformation between ring molecules and vinyl polymers using boronic linkages are another example of rapid self-recovery upon damage¹⁴² (FIG. 5e). Hydrogels with double networks were also developed to achieve toughness comparable to that of rubber¹⁴³, but many applications require the material to withstand repeated loading–unloading cycles in a short time, along with self-healing upon injury. To tackle this challenge, polyurethane-based hydrogels with enhanced dipole–dipole and H-bonding interactions were prepared¹⁴⁴. These materials have superior mechanical properties to conventional double-network hydrogels and are also capable of self-healing.

Supramolecular dynamic chemistry

Supramolecular chemistry is non-covalent bonding represented by hydrogen bonding, metal–ligand coordination, π – π , ionic, guest–host and van der Waals interactions^{145,146}. Although these interactions are relatively weak compared with covalent bonding, collectively, they form mechanically strong and very dynamic systems. Many biological assemblies are based on the principles of supramolecular chemistry. Accordingly, supramolecular processes are typically bottom-up and involve non-equilibrium states.

The field of supramolecular chemistry has been around for several decades^{147,148} and is attractive for development of self-healing materials because of its reversibility, directionality and sensitivity. In contrast to covalent bonding, networks held together with non-covalent bonds can be remodelled reversibly — from fluid-like, low-density and high-free-volume states to solid-like, low-free-volume, elastic and plastic networks. Supramolecular polymers usually exhibit low T_g , which results in soft polymers, making them popular in the development of hydrogels. Hydrogels based on supramolecular chemistry have been used in applications such as injectable bioimplants, printable biological compounds and artificial skin.

In this section, we cover the different supramolecular interactions and chemistries used to produce self-healing materials, namely, those based on H-bonding, metal–ligand, ionic, host–guest and π – π interactions.

Designs based on H-bonding. H-bonding is typically among the strongest of non-covalent interactions and its directionality and high per-volume concentration confers acceptable mechanical strength. Owing to these attributes and reversibility, it can be used in self-healing of thermoplastic polymers^{149,150}. For example, high-segmental-mobility polyisobutylenes functionalized with thymine and 2,6-diaminotriazine end groups assemble into strong rubber-like materials by

forming triple hydrogen bonds (FIG. 6a). When supramolecular polyisobutylene networks are equipped with directional associative end groups, tunable dynamic behaviour, including self-healing, can be achieved¹⁵¹. Combining four hydrogen bonds offers high association constants^{152,153}. An example of this is a functional unit of urea isopyrimidone with enhanced association strength between units when incorporated in polysiloxanes, polyethers and polyesters^{154–156}. In contrast to bis-urea H-bonding, which leads to crystallization or clustering, resulting in brittle materials, applying thiourea moieties leads to zigzag H-bonded arrays, which eliminate unfavourable crystallization¹⁵⁷. The dense H-bonds between thiourea appear to be ideal to crosslink low-molecular-weight polymers to achieve tough, room-temperature self-healable materials. In another example, dual-amide H-bonds doped with poly(3,4-ethylenedioxythiophene)–poly(styrene sulfonate) (PEDOT–PSS) offer another venue for fabrication of self-healing hydrogels¹⁵⁸, whereas integrating DNA-grafted polypeptides and DNA linkers provides reversible DNA recognition for self-healing¹⁵⁹. Also, sacrificial H-bonding was introduced by incorporation of secondary amide side chains into olefin-containing networks to achieve self-healing¹⁶⁰.

As a consequence of dynamic association–dissociation, H-bonding plays a role in tuning mechanical properties. Supramolecular polymers based on bifunctional ureidopyrimidinone derivatives behave like mechanically stable, high-molecular-weight thermoplastic polymers; however, their mechanical properties, such as Young's modulus and tensile strength, exhibit a strong temperature dependence, owing to H-bonding dissociations¹⁶¹. Along the same lines, polysiloxane elastomers containing a mixture of strong and weak H-bonding (FIG. 6b) offer tunable mechanical properties, including stretchability, toughness and autonomous self-healing ability, even under water¹⁶². Owing to the presence of H-bonding of different strengths, these self-healable elastomers can distinguish external signals of different strength, thus opening the possibilities for applications in human–machine interactions.

Fatty diacids and triacids from renewable resources have been used in a two-step synthetic route (FIG. 6c) to form self-healing networks by bringing together two cut ends at room temperature, without external heat¹⁵. Condensation polymerization of acid groups with an excess diethylenetriamine and subsequent reactions with urea involving amidoethyl imidazolidone, diamidoethyl urea and diamido tetraethyltriurea groups resulted in an oligomer mixture with excessive H-bonding. In another example, which took advantage of variable-strength H-bonding and segmental mobility of hydrogels, self-healing could be switched on or off by adjusting temperature or pH¹⁶³.

Using the crosslinker 2-ureido-4-pyrimidone-4-hydroxybutyl acrylate (UPyHCBA), which consists of an acrylic head, a hydrophobic alkyl spacer connected by carbamate and a 2-ureido-4-pyrimidone tail, both hydrophobic association and H-bonding can be achieved. Sodium dodecyl sulfate micelles can provide a hydrophobic environment for the UPyHCBA

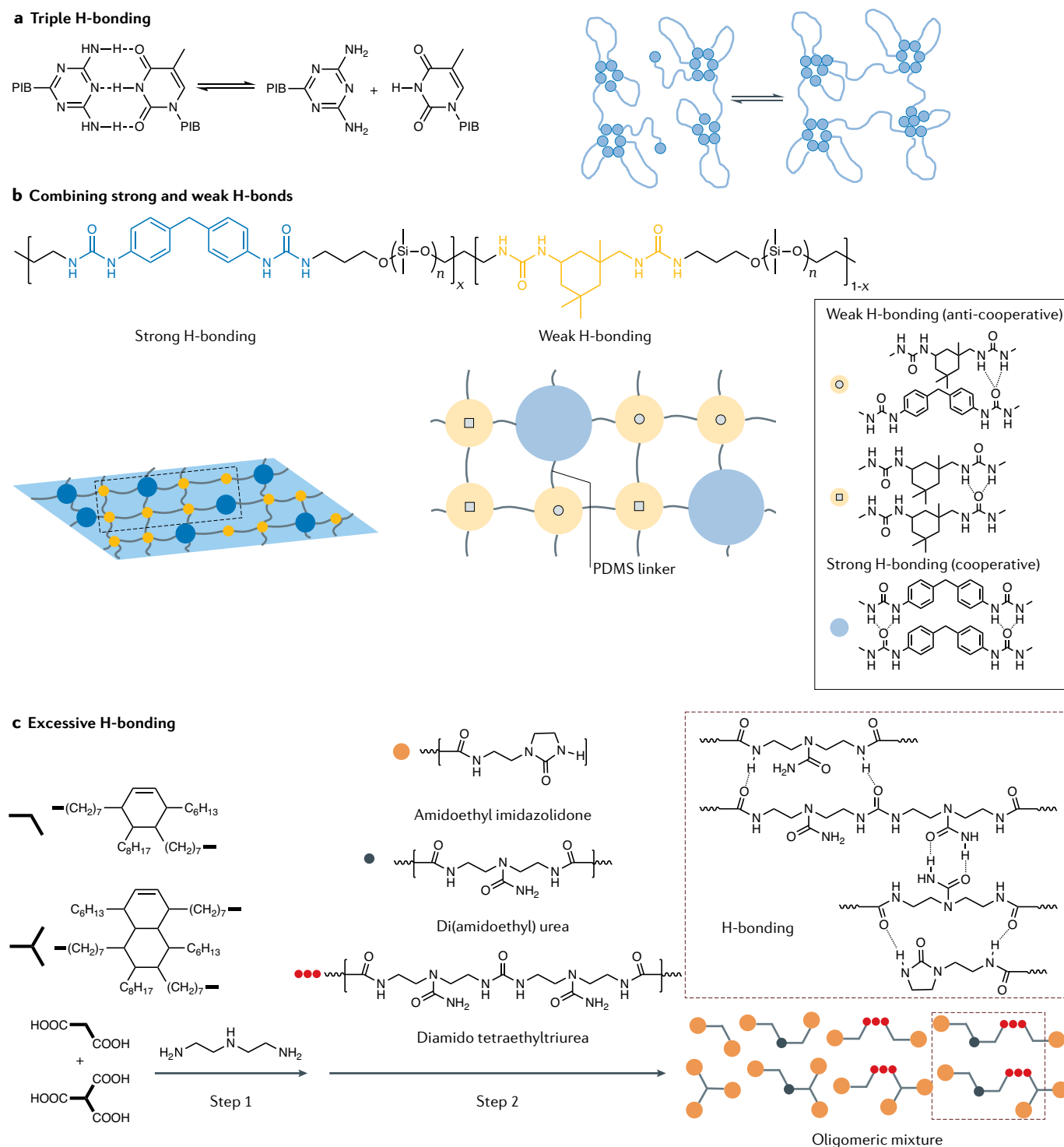


Fig. 6 | **Examples of hydrogen bonding in self-healing polymers.** **a** | Triple H-bonds between thymine and 2,6-diaminotriazine form self-healable supramolecular networks. **b** | The combination of strong and weak hydrogen bonding in polydimethylsiloxane (PDMS)-4,4'-methylenebis(phenylurea) form self-healable networks. **c** | A mixture of fatty diacid and triacid reacts with diethylenetriamine to form self-healable copolymers. Subsequent reactions with urea form oligomeric networks with strong hydrogen bonds. PIB, polyisobutylene. Panel **a** adapted with permission from REF.¹⁵¹, RSC. Panel **b** adapted with permission from REF.¹⁶², Wiley-VCH. Panel **c** adapted from REF.¹⁵, Springer Nature Limited.

prepared by micellar polymerization of UPyHCBA and acrylamide¹⁶⁴. Another useful self-healing mechanism is the formation of urea-water clusters in urea-based polyurethanes in the presence of moisture¹⁶⁵.

Metal-ligand interactions. When metal ions and appropriate ligands — either at the end of a polymer chain or as a pendent group — are brought together, they form a coordination complex, linking the polymer chains

together. Metal–ligand complexes have advantages associated with their ability to coordinate different metal ions and ligand substitutes, thus leading to different association strengths. When mechanical forces are applied, such complexes dissociate, and their reformation results in self-healing. Another appealing feature is minimal or no side reactions during repeated damage–repair cycles. Reversibility upon mechanical damage is facilitated by metal-ion–ligand dissociations, with reforming triggered by exposure to electromagnetic radiation or elevated temperatures.

Exemplifying a temperature-responsive system, when hydroxyl ethylene diamine triacetic acid is used to control the molecular weight and crosslinker density in the presence of terpyridine–Ru, temperature changes decouple Ru metal from the ligand, resulting in bonding and debonding¹⁶⁶. In a metallosupramolecular system, the terpyridine–Fe²⁺ complexation pair with poly(alkyl methacrylate) accomplishes self-healing at elevated temperature¹⁶⁷, although, in this case, the elevated temperatures may lead to adverse effects, such as polymer degradation. In a chemically different, photoresponsive metallosupramolecular system, polymers comprising an amorphous poly(ethylene-co-butylene) core with 2,6-bis(1-methylbenzimidazolyl)pyridine ligands can form metal–ion binding, which, upon mechanical damage, can be mended through exposure to light¹⁶ (FIG. 7a). Because exposure to UV light causes the metal–ligand coordination to be electronically excited via the absorption process, the desorption of energy may lead to heat dissipation and temporary cleavage of the metal–ligand linkages. Other examples of the formation of self-healing complexes are N-heterocyclic carbenes and transition metals¹⁶⁸. However, a drawback of these examples is the substantial external energy input required.

It is important to match the electronic network properties and excitation sources when designing self-healing polymer networks using metal–ligand coordination chemistry. An example of this is polyethylenimine–copper supramolecular polymer networks with reversible UV-induced self-healing by the reformation of Cu–N coordination bonds¹⁶⁹. This system experiences virtually no temperature change during exposure to electromagnetic radiation, providing high photon efficiency without side reactions. The network undergoes square-planar-to-tetrahedral ($D_{4h} \rightarrow T_d$) symmetry changes at the C_2H_5N –Cu coordination complex centre without side reactions facilitated by charge transfer between $\sigma(N)$ bonding and $d_{x^2-y^2}(Cu)$ antibonding orbitals. Combining the properties of polyurethane and polydimethylsiloxane (PDMS) networks into one supramolecular and covalently crosslinked system catalysed by $CuCl_2$, this system reforms both coordination and covalent bonds¹⁷⁰.

Other pathways to self-healing in metal–ligand coordination systems are shown in FIG. 7b,c. For example, a self-healing dielectric elastomer has been synthesized using 2'-bipyridine-5,5'-dicarboxylic amide as ligand and Fe²⁺ and Zn²⁺ with various counter anions in which metal–ligand coordination serve as crosslinking sites in non-polar PDMS¹⁷¹ (FIG. 7b). The kinetically labile coordination between Zn²⁺ and bipyridine

endows fast self-healing under ambient conditions. In the second example, the coordination between Fe³⁺ and catechol ligands resulted in a pH-induced crosslinked self-healing polymer with near-covalent elastic modulus¹⁷² (FIG. 7c). The uniqueness of this approach is the ability of mono-catechol–Fe³⁺, bis-catechol–Fe³⁺ or tris-catechol–Fe³⁺ formation at different pH values, thus providing control of crosslinking without Fe³⁺ precipitation¹⁷³. Incorporating Eu–iminodiacetate coordination with hydrophilic poly(*N,N*-dimethylacrylamide)¹⁷⁴ and dynamic ionic interactions between carboxylic acid groups of poly(acrylic acid) (PAA) and ferric ions¹⁷⁵ or polyelectrolytes¹⁷⁶ are other examples of self-healable hydrogels^{177,178}.

Nature offers opportunities for designing self-healing systems. Inspired by catechol-containing biopolymers that mimic sea-mussel adhesives, crosslinked hydrogels were prepared by the complexation of branched catechol-derivatized PEG with 1,3-benzenediboric acid. This material exhibits tunable, covalently bonded gel behaviour under alkaline pH, but dissociates into a viscous liquid under neutral and acidic conditions^{168,179}. It has been used in surface modifications of synthetic polyacrylate and polymethacrylate materials with mussel-inspired catechols, which resulted in self-healing initiated and accelerated by H-bonding between interfacial catechol moieties¹⁸⁰.

Finally, tuning the strength of metal–ligand interactions has implications for the dynamic mechanical properties of supramolecular elastomers. For example, when 2,6-pyridinedicarboxamide ligands are incorporated along PDMS backbones, complexation of the polymer with Fe(III) (FIG. 7d) results in an elastic material that self-heals at room temperature. This behaviour is attributed to the bonding energies of Fe(III)–N_{pyridyl}, Fe(III)–N_{amido} and Fe(III)–O_{amido}, which may range from strong to weak. The weaker bonds are responsible for energy dissipation on stretching and on-demand self-healing, whereas the metal ions maintain their location near the ligands, thus resulting in stronger interactions and rapid bond reformation¹⁸¹.

Host–guest interactions. Guest–host chemistry is commonly used in fabricating hydrogels. For example, hydrophobic cavities in β -cyclodextrin can accommodate a variety of guest moieties^{182–185}. If one surface contains a cyclodextrin host and the other guest molecules, host–guest interactions will result in bonding¹⁷. The supramolecular polymers shown in FIG. 8a are equipped with multipoint molecular recognition sites achieved by various water-soluble polymer backbones modified with β -cyclodextrin hosts and hydrophobic adamantane as the guest at the side chain. This simple method produces a transparent, flexible and tough hydrogel that self-heals in both wet and dry states¹⁸⁶. Because of their amenability to chemical modifications and biocompatibility, supramolecular hydrogels composed of modified hyaluronic acid with either adamantane or β -cyclodextrin are able to rapidly form intermolecular host–guest bonds^{187,188}. The mechanical properties of this system can be tuned by changing the concentration and ratio of the guest-to-host moieties.

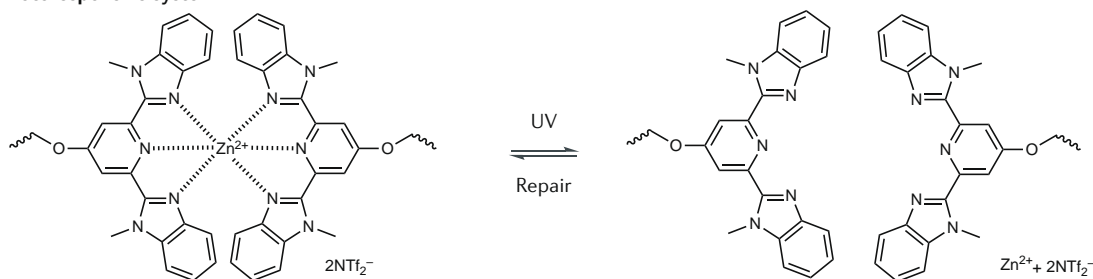
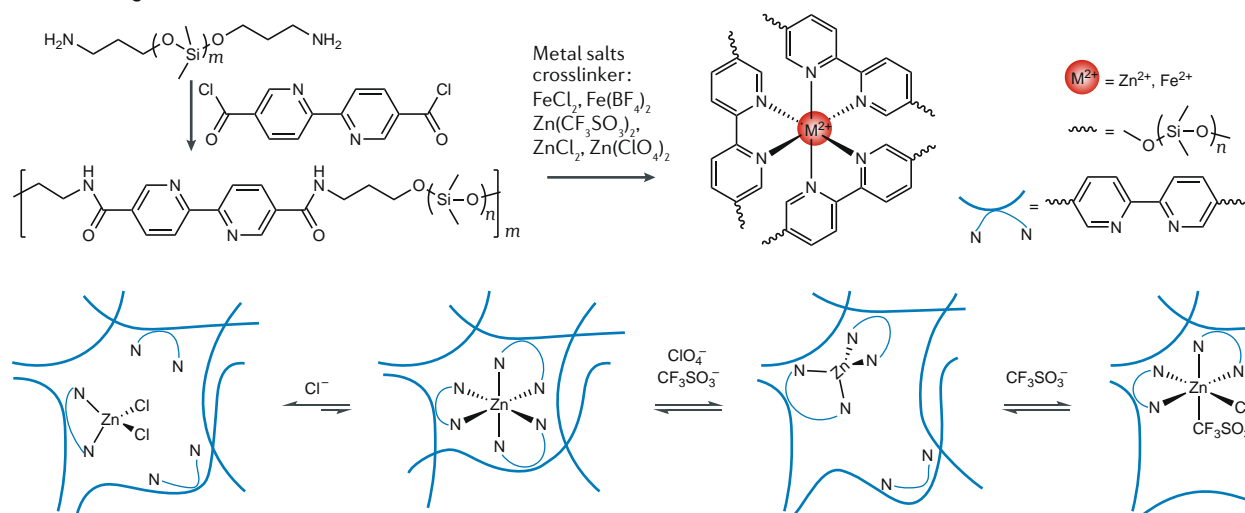
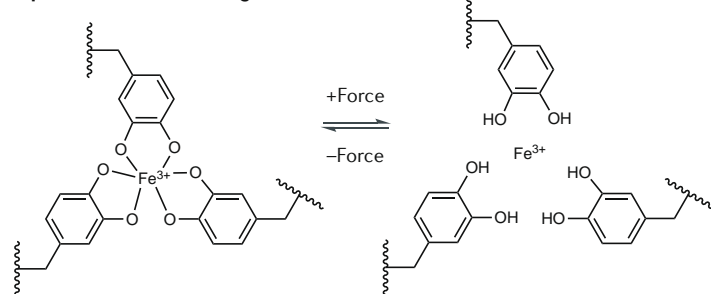
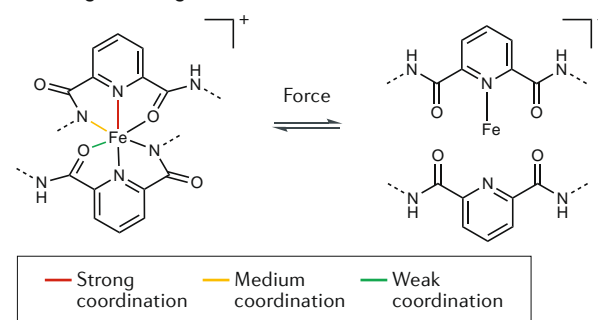
a Photoresponsive system**b Self-healing dielectric elastomer****c pH-induced self-healing****d Tuning metal–ligand interactions**

Fig. 7 | Self-healing using metal–ligand coordination chemistry. **a** | Coordination of $\text{Zn}(\text{NTf}_2)_2$ and 2,6-bis(1-methylbenzimidazolyl)pyridine ligands responsible for self-healing in poly(ethylene-co-butylene)¹⁶. **b** | Synthetic route to prepare Zn^{2+} - or Fe^{2+} -containing crosslinked polydimethylsiloxane networks and a schematic illustration of the dynamic interactions within the Zn^{2+} -ligand complex, counter anions polymer system under mechanical stress¹⁷¹. **c** | Reversible tris-catechol- Fe^{3+} complex¹⁷². **d** | Reversible coordination complexes with 2,6-pyridinedicarboxamide ligands and $\text{Fe}(\text{III})$ centre as crosslinker for self-healable polydimethylsiloxane network¹⁸¹.

Another well-known host is cucurbit[8]uril (FIG. 8b), which has high molecular weight and sufficient chain entanglement for physical crosslinking, and can accept two guests, naphthyl and viologen¹⁸⁹. Some seminal studies using self-assembled peptides have demonstrated the potential of these interactions in biomedical applications^{190,191}. At low concentration (2.5 mol%), dynamic cucurbit[8]uril-mediated non-covalent crosslinking yields extremely stretchable and tough supramolecular polymer networks, exhibiting remarkable self-healing capability at room temperature. These ionically

conductive and transparent networks can be stretched to 100 times their original length and hold objects 2,000 times their own weight¹⁹². Although this example and those above are remotely related to self-healing, if applied in the host–guest environments, potential applications in self-healing of materials are feasible.

Ionic interactions. Ions have a key role in many biological processes. For example, molecular motors are powered by chemical processes that result in the swelling and shrinkage of macromolecular segments, thus

causing motion. These processes are often attributed to the imbalance between osmotic and entropic forces resulting from stored energy between electrostatic repulsions and negatively charged filaments. Ionic interactions also influence polymer networks and are primarily manifested by the formation of ionomers¹⁹³; however, only some ionomers self-heal. For example, poly(ethylene-co-methacrylic acid) (pEMAA) and poly(ethylene-*g*-poly(hexylmethacrylate)) (pEHMA) self-repair (FIG. 9a) under ambient conditions and at elevated temperatures upon projectile puncture testing¹⁹⁵. Moreover, a ballistic puncture in low-density polyethylene does not heal, whereas a puncture in pEMAA does¹⁹⁴. This is a two-stage process whereby projectile impact disrupts the ionomeric network and the heat generated by friction during damage is transferred to polymer matrix surroundings, resulting in a localized melt state. The molten polymer surfaces fuse via interdiffusion to seal the puncture, followed by rearrangement of the ionic clustered regions and long-term network relaxation.

As a consequence of electrostatic interactions, macromolecules carrying opposite charges form neutrally charged polyelectrolyte complexes. Stiff and self-healing gels can be fabricated with the polyelectrolyte complexation of polyamines with phosphate-bearing multivalent anions¹⁹⁶ (FIG. 9b). Self-healing is also exhibited in polyelectrolyte complexes synthesized from (PAA)/poly(allylamine hydrochloride) (PAH) pairs and NaCl, with the self-healing efficiency increasing with NaCl concentration¹⁹⁷ (FIG. 9c). In this case, self-healing originates from the disturbance of ionic interactions by adding salt, resulting in enhanced chain mobility.

Although ionic bonds may be more difficult to break than covalent bonds, they can be disrupted by introducing strong electrostatic interactions (for example, dissociations upon addition of water or adding strong polar salts or solvent). Therefore, the addition of water, salt or polar solvents will influence self-healing. In the presence of water, polyelectrolyte multilayered assemblies also exhibit self-healing upon mechanical damage. An example of this is polyampholyte self-healing hydrogels

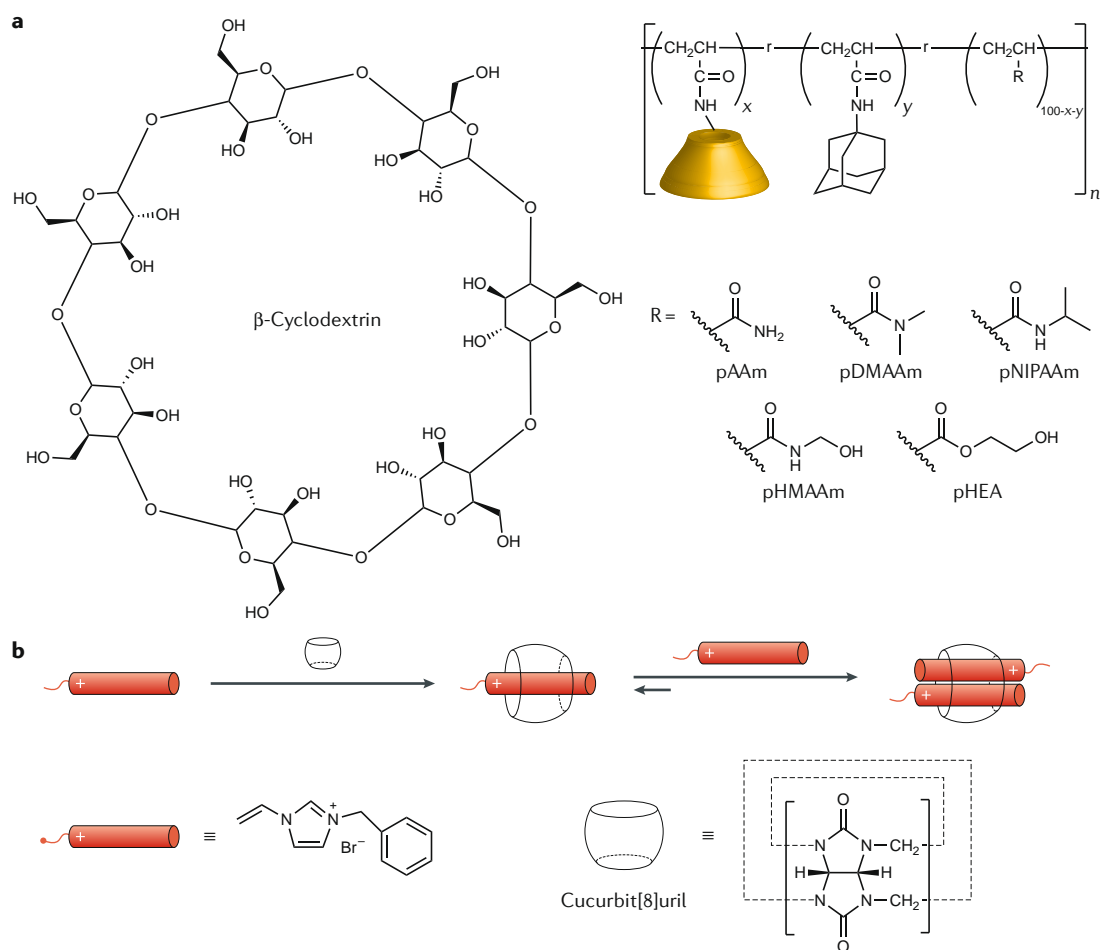


Fig. 8 | Host-guest chemistry in self-healing systems. a | Water-soluble polymer backbones modified with β -cyclodextrin as host and hydrophobic adamantane as guest at the side chain. Polymers selected to form the water-soluble backbone of the system include poly(acrylamide) (pAAm), poly(*N,N*-dimethylacrylamide) (pDMAAm), poly(*N*-isopropylacrylamide) (pNIPAAm), poly(hydroxymethylacrylamide) (pHMAAm) and poly(hydroxyethylacrylate) (pHEA)¹⁸⁶. **b** | Stepwise formation of ternary host-guest supramolecular complexation with cucurbit[8]uril and guest molecule with macrocyclic host cucurbit[8]uril and polymerizable guest molecules (1-benzyl-3-vinylimidazolium) and acrylamide¹⁹². Panel **b** adapted with permission from REF.¹⁹², Wiley-VCH.

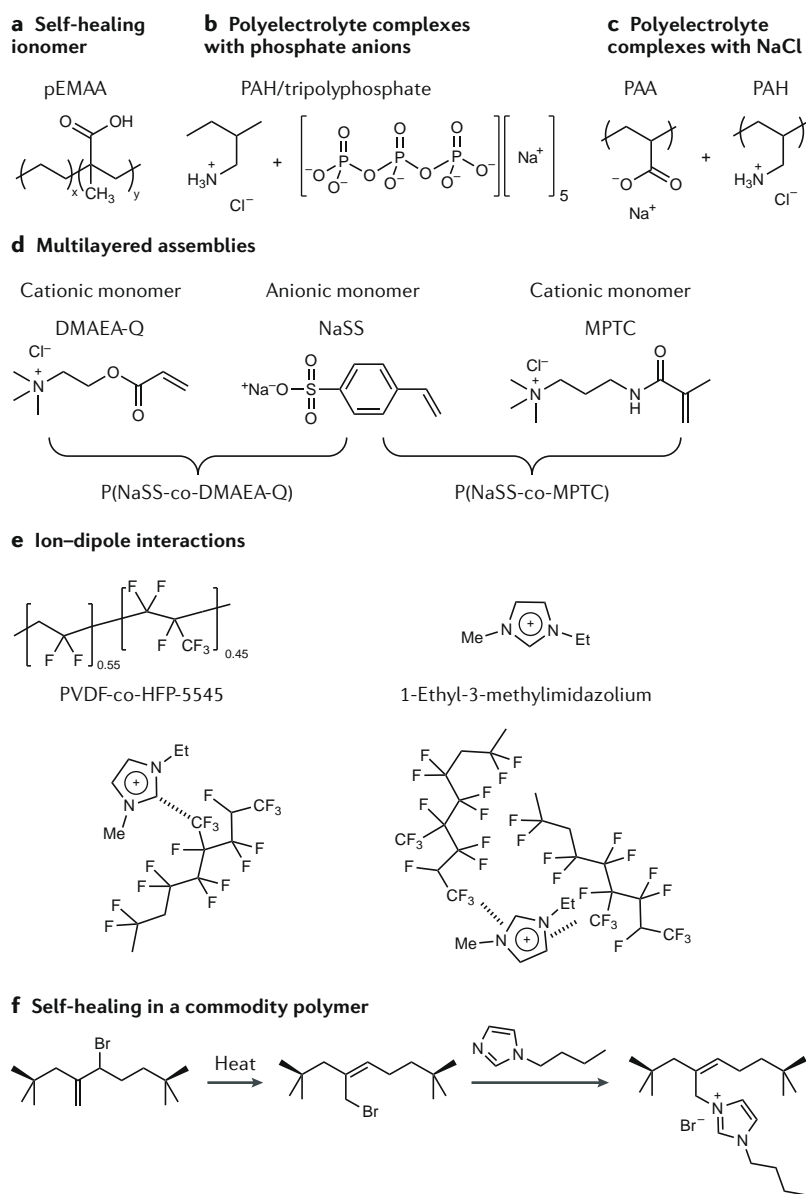


Fig. 9 | Examples of ionic interactions applied in self-healing. **a** | An early example of a self-healing ionomer, namely, poly(ethylene-co-methacrylic acid) (pEMA)¹⁹⁴. **b** | Polyelectrolyte complexes with phosphate anions, for example, poly(allylamine hydrochloride) (PAH)/tripolyphosphate ionic gel¹⁹⁶. **c** | Polyelectrolyte complexes can be formed by ultracentrifugation with NaCl, for example, poly(acrylic acid) (PAA)/PAH¹⁹⁷. **d** | Chemical structures of anionic monomer sodium 4-styrenesulfonate (NaSS), cationic monomers acryloyloxyethyltrimethyl ammonium chloride (DMAEA-Q) and [3-(methacryloylamino)propyl]trimethylammonium chloride (MPTC) used for synthesizing polyampholyte hydrogels, p(NaSS-co-DMAEA-Q) and p(NaSS-co-MPTC)¹⁹⁸. **e** | Ionic conductor fabrication using ion-dipole interactions between poly-(vinylidene fluoride-co-hexafluoropropylene) (PVDF-co-HFP) and 1-ethyl-3-methylimidazolium, where PVDF-co-HFP is the polar polymer network comprising VDF (which is crystalline and less polar) and HFP (which is amorphous and highly polar)²⁰⁰. **f** | Reversible ionic transformation between the bromine functionalities of bromobutyl rubber and ionic imidazolium bromide groups results in self-healing rubber material²⁰¹.

(90% healing efficiency) and tougher hydrogels (0.2 MPa stress at break)¹⁹⁸ (FIG. 9d). In this system, high density of weak bonds facilitates bond reforming, but the softness enhances contact across the interface, thereby increasing the self-healing efficiency. In another example, star-shaped PEG chains functionalized with alendronate

form reversible crosslinked networks when triggered by Ca ions¹⁹⁹. Mechanically and electrically self-healing hydrogels can be obtained using dynamic ionic interactions between carboxylic groups of PAA and ferric ions¹⁷⁸. Moreover, stretchable, transparent, self-healable ionic conductors can be formed based on ion-dipole interactions²⁰⁰ (FIG. 9e). In these systems, the polar polymer network is usually composed of poly-(vinylidene fluoride-co-hexafluoropropylene) (PVDF-co-HFP). This copolymer, which contains two building units, VDF (crystalline and less polar) and HFP (amorphous and highly polar), is capable of room-temperature self-healing without external stimulus.

Moving towards commodity self-healable polymers, ionic interactions may be important in the optimization and modification of commercial rubber. Commercially popular and inexpensive butyl rubber can be modified into a self-healing product by ionic modifications without the addition of conventional curatives or vulcanizing agents. For example, the mechanical properties of bromobutyl rubber (which is conventionally sulfur-cured) can be improved by transforming its bromine functionalities into ionic imidazolium bromide groups (FIG. 9f), resulting in reversible ionic associations that exhibit physical crosslinking²⁰¹. In summary, ionic interactions in polymers may provide a unique opportunity for the development self-healable commodity materials.

π - π interactions. π - π interactions are often viewed as an extension of coordination chemistry. As the name implies, these interactions are facilitated by π orbitals, which are strongly dependent on chemical structure and stereochemistry. π - π interactions are well-documented in many biological studies of peptides, interactions of aromatic side groups in proteins, and nucleic acids or DNA. Using a combination of π - π , metal-coordination chemistry and/or H-bonding, several self-healing elastomers have been developed. For example, combining Pt...Pt and π - π interactions between a cyclometalated platinum(II) complex and a PDMS backbone enables high stretchability and self-healing²⁰². Composites with metal nanoparticles can also be commonly applied. For example, the blend of pyrene-functionalized polyamide (π -electron donor), polydiimide (π -electron acceptor) and pyrene-functionalized gold nanoparticles can produce thermally induced π - π stacking interactions between functionalized gold nanoparticles and the polymer matrix, resulting in self-healing²⁰³. Combining π - π and H-bonding interactions can lead to thermally triggered, self-healable, tweezer-shaped structures consisting of bis-pyrenyl end groups and naphthalene-diimide chains, along with a non-tweezer combination of naphthalene-diimide end groups and mono-pyrenyl groups²⁰⁴. Incorporating an ionic moiety into the same π - π stacking system may provide technological opportunities for the development of conductive self-healing polymers, such as a cathode in lithium-sulfur batteries²⁰⁵.

Regardless of the chemical reactions involved in the self-healing of polymers, the main challenge is the ability of the network to rearrange upon mechanical damage. With a few exceptions — such as some heterogeneous networks²⁰⁶ — recent studies have focused on low- T_g

polymers. Another challenge is to achieve self-healing in higher- T_g polymers, in which the limited free volume diminishes the segmental mobility of macromolecular chains and diffusion is unfavourable. Thus, the presence of localized low- T_g and high- T_g components may be necessary for achieving self-healing in functional materials.

Vitrimers

Vitrimers are a relatively new class of synthetic material that resemble enzymatic cleavage of linkers in biological systems. Their characteristic feature is exchangeable covalent bonds, which, upon cleavage, can reshuffle^{207,208}. The exchange may be triggered by thermal, chemical or other stimuli, and rigidity and plasticity are tunable²⁰⁹. Vitrimers form covalent networks capable of changing their topology through thermoactivated bond-exchange reactions (FIG. 10a). At high temperatures, they flow and behave like viscoelastic liquids; however, at low temperatures, slow exchange reactions result in thermoset-like

properties. The network rearrangements impart high mechanical recyclability and the ability to undergo thermal healing, as well as rapid stress relaxations, which are not found in conventional crosslinked thermoset polymers. These networks can also exhibit shape-memory properties, allowing for autonomous arrangement into complex shapes through dynamic crosslinks by the introduction of exchangeable chemical bonds. A unique property of epoxy-based vitrimers is that their T_g can be controlled by tuning the rates of transesterification²¹⁰ (FIG. 10b). An alternative to transesterification is catalyst-free transamidation exchange reactions. Because amide groups are thermodynamically more stable than esters, the resulting vitrimer networks are less susceptible to hydrolysis²⁰⁸ (FIG. 10c).

Another attractive class of vitrimers is based on bis(cyclic carbonate)s, which can react with triamines or hydroxyl groups²¹¹ (FIG. 10d). Using transamination reactions (FIG. 10e), vinylogous urethane networks can be produced via the condensation reaction between acetoacetates

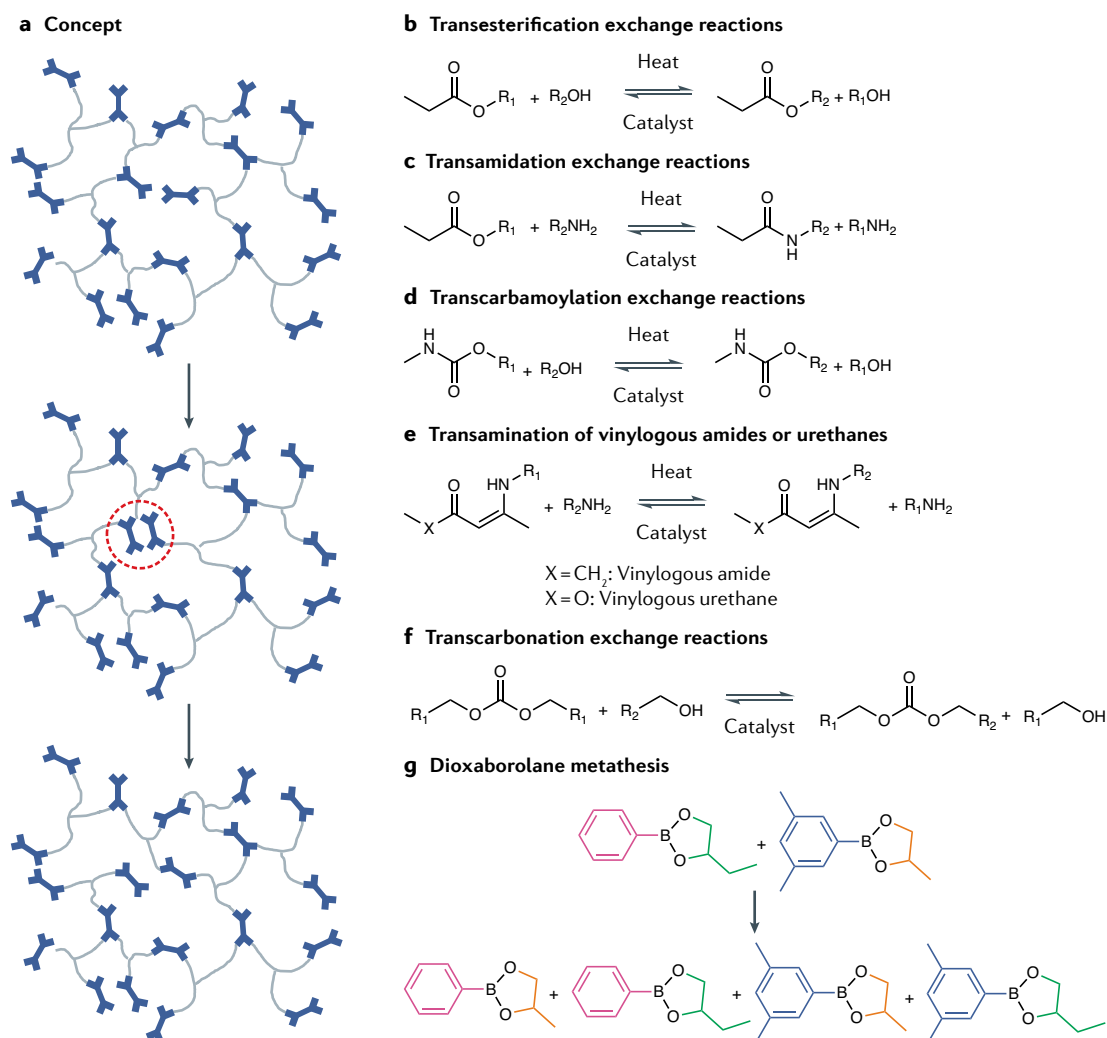


Fig. 10 | **Vitrimer systems.** **a** | General concept of topological rearrangements through exchange reactions in vitrimers. **b** | Transesterification of hydroxy-ester networks²⁰⁷. **c** | Transamidation exchange reactions in polyhydroxyurethane networks²⁰⁸. **d** | Transcarbamoylation reactions leading to polyhydroxyurethanes²¹¹. **e** | Transamination of vinylogous amides or urethanes²⁰⁸. **f** | Transcarbonation reactions leading to polycarbonates²¹². **g** | Dioxaborolane metathesis reactions²¹³. Panel **a** reprinted with permission from REF.²⁰⁷, AAAS.

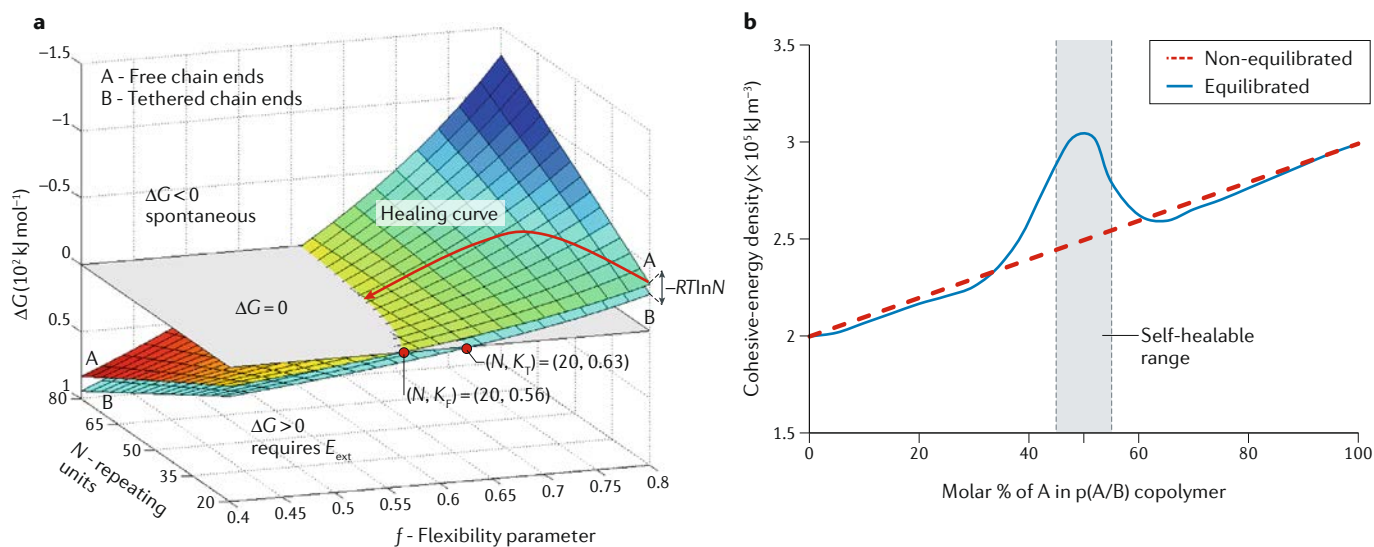


Fig. 11 | **Energy considerations of self-healing.** **a** | A plot of the change in Gibbs free energy ($\Delta G = -T\Delta S$) as a function of the number of segments (N) in a polymer chain and the flexibility parameter (f) for free and tethered chain ends (surfaces A and B, respectively). At equilibrium, $\Delta G = 0$. The space above this plane ($\Delta G < 0$) represents spontaneous repair, whereas below it ($\Delta G > 0$), self healing will not occur. The red dots mark the critical f values for free (K_f) and tethered (K_t) chain ends for $N = 20$. The solid red curve shows how ΔG is influenced by N . E_{ext} is the external energy input. **b** | Cohesive-energy density (CED) as a function of molar ratio for non-equilibrated and equilibrated copolymers. Panel **a** adapted with permission from REF.²², RSC.

and amines²⁰⁸. The bisacetoacetate monomers can be prepared from readily available diol monomers and their combination with commercially available polyamine monomers allows tunability of the mechanical properties of the poly(vinylurethane) polymers. Another example of a vitrimer system is the reaction of bis(cyclic carbonate) and diols²¹² (FIG. 10f). The problem, however, with the aforementioned examples is their need for a catalyst. By contrast, polyhydroxyurethane vitrimers can be formed without a catalyst²¹¹, as can those formed via metathesis reactions of dioxaborolanes²¹³ (FIG. 10g).

Vitrimers can either be introduced to other polymer networks or have additives added to them to improve their properties. For example, vitrimer-based liquid-crystalline elastomers exhibit processability owing to monodomain alignments, thus allowing robust construction of actuators with complex 3D structures; however, the stability of these elastomers needs to be improved²¹⁴. Introducing oligoaniline into vitrimer networks resulted in a covalently crosslinked material that can respond to heat, light, pH, voltage, metal ions and redox chemicals²¹⁵. This material exhibited shape memory, self-healing, recyclability, electrochromism and adsorption of metal ions. As mentioned earlier, CNTs embedded in common vitrimers are able to remotely trigger localized transesterification⁶⁶ and, more interestingly, induce fast exchange reactions in crosslinked liquid-crystalline elastomers, thus allowing spatial control of the alignment and fabrication of dynamic 3D constructs in a short time²¹⁶.

The main challenge is designing self-healable polymers with high thermal resistance. These materials typically exhibit high T_g s. However, in the design of vitrimer polymers, two transitions should be taken into account: T_g (glassy to rubbery state) and topology-freezing

transition (T_v) (viscoelastic solid to viscoelastic liquid), both controlled by crosslink density, monomer rigidity, the kinetics of exchange reactions and the concentration of exchangeable bonds²¹⁷. The presence of the two transitions is an opportunity for developing self-healable polymers using the exchange-reactions concept. One can envision that, if localized damage generates a sufficient amount of heat to reach a T_v , thus triggering exchange reactions, self-healing may occur for high- T_g polymers, as long as local damage generates sufficient segmental chain mobility to facilitate, for example, wound closure.

Energetic considerations

During the damage–repair cycle, a polymer's response is in non-equilibrium state. One example is phase-separated morphologies, where each phase responds at different rates to damage, thus resulting in gradients of local volume expansion and different rates of filling the empty space. To understand these processes, knowledge of the rates of response for each phase is required. Assuming that mechanical damage causes chain cleavage or slippage near newly created surfaces, loose chain ends may or may not reform. A Gibbs free energy (ΔG) < 0 will favour recombination if the entropy (ΔS) > 0 . Assuming that the damage–repair cycle is a transition from a non-equilibrium to an equilibrium state achieved by a series of infinitely small equilibrated steps described by the recoupling lattice model^{22,218}, chain flexibility — macroscopically reflected by the T_g — will influence the number of chain configurations. To predict self-healing, a recoupling lattice model (FIG. 11a) can be used. This relates Flory's flexibility parameter to the number of repeating units needed for a given ΔG (REF.²¹⁹). Self-repair is favourable when the enthalpy (ΔH) < 0 , implying that exothermic processes are dominated

by macromolecular miscibility and favourable intermolecular and intramolecular chains (defined by the Flory–Huggins parameter²¹⁸).

In copolymers, the composition determines the CED — the minimal amount of energy required to remove (or add) a macromolecular chain from a surrounding network. CED values plotted as a function of the copolymer composition predict a linear dependence in the non-equilibrated state (FIG. 11b). These predictions show that when the molar fraction of A in the p(A/B) copolymer (A with higher T_g and B with lower T_g) increases, the CED values gradually increase, owing to the larger content of B units in the chain. However, when the system is equilibrated, taking into account composition-dependent conformations, a maximum CED value is reached in the vicinity of the self-healing composition¹⁸. The maximum molar ratio corresponds to copolymer conformations that preferentially exhibit helical configurations (self-healing is typically not observed for other copolymer compositions or for homopolymer blends of the same compositions). One can envision a copolymer backbone with a helical topology as a spring, which, upon compression, is distorted. When an external force is released, the ‘spring’ decompresses, bringing the cleaved ends together to self-heal. If low T_g was the only driving force for self-healing, compositions with the higher B content would also exhibit self-healing characteristics; however, they do not and, instead, they may form sticky, flowing films. These materials are commercially known as pressure-sensitive adhesives.

Polymer-chain separation or rupture — an outcome of physical damage — creates isolated chain ends, which can be in a form of loose chain ends, free radicals (depending on the polymer) or other reactive groups. The repair process begins longitudinally along the bottom of a scratch owing to energetically favourable interactions, manifested by lower near-surface T_g . During this process, a percolation transition (that is, the minimum threshold of reconnected ends or recombined chains) occurs after a given number of macromolecules are connected longitudinally. The driving force is high interfacial energy in the smaller-curvature areas at the bottom of a scratch²²⁰, which leads to close physical proximity, high segmental mobility and entropic energy storage during damage. If the interfacial energy and entropy can be recovered during repair, the material will autonomously self-heal.

If polymer chains are in extended conformations, mechanical damage may lead to their compression. Upon release of an applied force, decompression driven by stored entropic and interfacial energies of spring-like copolymer segments will restore their initial state. The spring model of the shape-memory effect resulting from entropy storage during mechanical damage may also explain the driving force for self-healing behaviour; however, validation requires quantitative analysis. In fact, the maximum storable strain (and, thus, shape-memory storage capacity) can be accurately predicted using the junction density (that is, chemical or physical crosslinks) and shape-memory factor²²¹.

We anticipate that high-junction-density polymers (that is, those with a high number of entanglements and

high molecular weight) will self-heal via shape-memory effects owing to their ability to store entropic energy, but that low-junction-density polymers will self-heal as a consequence of surface-tension effects. For example, in thermoresponsive polyurethanes formed via the Diels–Alder reaction between furan and maleimide moieties, the shape-memory effect facilitated self-healing without the need for an external force (in contrast to other self-healing polymers)⁸⁶. Expanding the application temperature range to 130 °C and thermal stability to 250 °C (compared with 60 °C for more common self-healing polymers based on polycaprolactone²²²) makes these materials particularly attractive.

Self-healing is a local phenomenon with macroscopic consequences. If polymer components exhibit localized, endothermic, stimuli-responsive transitions^{223,224} below the T_g at or near the damaged surface, macromolecular flow will occur^{225,226} and repair may occur. In the presence of localized heterogeneities, such as in elastomers, concurrent H-bonding and covalent-like bonded polyvalent clusters introduce balance between the steady state and non-equilibrium states¹⁵. The term autonomous self-healing is often used to emphasize self-healing under ambient conditions, which implies a bulk phenomenon. However, the local dynamics of macromolecular segments, reactivity of reactive components (such as catalysts or reactive groups) and/or stereospecificity are responsible for temperature-dependent entropic and enthalpic contributions to the Gibbs free energy, leading to self-healing.

From molecular to microrepair

Self-healing in biological systems occurs across all length scales. At the molecular level, biological systems use metabolic processes, such as in autophagy, to self-heal²²⁷. Self-healing materials can have similar metabolic character if ‘outdated’ or degradation products are replaced by new components, eliminating undesirable by-products. A problem is that side reactions may lead to undesirable products and are not easily controllable. However, combining the attributes of two or more self-healing motives in synthetic materials may lead to autonomous self-healing with a metabolic character. The future of self-healing polymer networks may comprise controllable supramolecular networks or van der Waals interactions, which do not generate side reactions or involve covalent rebonding.

At the atomic scale of the covalent bond length in synthetic and natural materials, cleavage of aliphatic chains leads to the formation of CH or CH₂ free radicals, or slippage of polymer chains. For chain cleavage, simple geometrical considerations indicate that, relative to terminal –CH₃, represented by sp³ hybridization, CH and CH₂ free radicals adopt more directional sp and sp² hybridizations. The distances between the free radicals to initiate coupling are roughly 2.35–3.44 Å, and an energy of ~20 kcal mol⁻¹ is typically required. When radical coupling occurs, the bonding distances decrease to 0.95–1.60 Å and the energy required decreases to ~10 kcal mol⁻¹. For radical recoupling to occur, inter-chain diffusion should occur, which is often driven by the access of interfacial energy in the damaged area and the T_g -dependent kinetics of interdiffusion (Eq. 1).

At the nanometre scale of skeletal muscle fibres, mesogenic precursors are activated in the site of an injured fibre, leading to the proliferation of myoblasts, which repair damage by differentiating into multinucleated myocytes². By analogy with supramolecular self-healing chemistry, satellite and myelomonocytic cells also contribute to repair processes, in which dysferlin acts as a Ca^{2+} sensor of the muscle membrane damage, triggering vesicle fusion and directing Ca^{2+} along the membrane to seal the lesion by sending messages to neutrophils for repair^{3,4}.

An example of cascading processes at the micrometre and millimetre scales are skin-injury wounds, which penetrate into the dermis layer of skin, to which the red blood cells transfer as a result of rupture of blood vessels. Platelets and inflammatory cells or cytokines rush to the site of the injury and receptors signal the event by activating fibroblasts and other connective-tissue cells to deposit collagen. As a result, new tissue at the injury site and wound healing occurs⁵. The cascading processes leading to such self-healing (not just in mammals but also in plants) brings a different perspective to designing self-healing in synthetic materials. However, it is necessary to answer fundamental questions of how localized individual reactions are capable of generating cascading microscale responses leading to macroscale self-healing. This requires the measurement of the molecular-level events — usually inside a scratch — responsible for self-healing of materials.

Tools for studying self-healing

Self-healing is typically measured by bulk mechanical analysis, in which properties before and after damage are assessed (ideally, these should match). Although useful, this analysis does not reveal the molecular processes responsible for self-healing. To identify mass transport during the damage–repair cycle, atomic force microscopy may be useful if acquisition times are fast enough to capture self-healing. The same is applicable to optical microscopy.

Many self-healing mechanisms are not trivial to study experimentally. For detecting local molecular events, the most sensitive spectroscopic tools are infrared²²⁸ and Raman spectroscopy²²⁹, which provide satisfactory spatial resolution. By contrast, electron paramagnetic resonance²³⁰ and NMR spectroscopy^{231,232}, in particular, nuclear Overhauser effect spectroscopy (NOESY) and correlated spectroscopy (COSY) 2D ^1H NMR exhibit decent sensitivity but insufficient spatial resolution. A promising approach for monitoring self-healing events in polymers is dynamic nuclear polarization (DNP) NMR spectroscopy, if it were applied to assess conformational changes of dangling chain ends at the interfacial regions generated during damage. In fact, the DNP approach has the potential to improve the sensitivity of ^1H NMR spectroscopy up to ~660-fold. Solid-state DNP ^{13}C spectroscopy has been used in microporous organic polymers²³³ but requires an external bis-nitroxide radical-polarizing agent. Other intrinsic radicals as polarizing agents can also be used^{234,235}.

Computational research is increasingly important to predict or explain observed self-healing behaviour.

For example, the rolling motion of microcapsules was modelled using Brownian dynamics on an adhesive-coated substrate to design particle-filled microcapsules that heal cracks in the substrate²³⁶. To model fracture and self-healing, most models adopt continuum-damage approaches in which cracking and healing are considered as the degradation and recovery of materials properties. By contrast, cohesive-zone approaches treat damage as a discrete event, allowing explicit modelling of crack evolution²³⁷, including simulation of property recovery over repeated healing events. Looking forwards, there are opportunities for using and developing computational models that could tackle 3D self-healing in heterogeneous systems. Collectively, computer simulations and modelling are useful for answering many of the puzzling questions that are not easily experimentally measured, particularly for predicting dynamic materials properties^{238–240}.

Outlook

The past couple of decades have brought remarkable advances in the controllable synthesis of self-healing polymers and the development of ‘living-like’ programmable polymeric materials. The synthetic capabilities afforded by continuously improving polymerizations provide access to new, controlled-architecture macromolecules with precision placement of the functionality needed for self-healing. New strategies for installing self-healable moieties into existing commodity polymers have further expanded the preparation toolbox. Further manipulation of molecular weight and molecular-weight distribution, molecular architecture, functional-group placement and precise copolymer compositions will yield self-healing polymers with new properties. However, the technological success of self-healing polymers will depend on how commodity (co)polymers can be cost-effectively converted into their self-healable counterparts via precisely controllable and affordable polymerization processes, and how the structural understanding can be translated into specific functionalities and applications.

In addition to one-time and repeated-cycle self-healing, there are opportunities and challenges in the development of sequential and parallel reactions that may lead to physical remodelling at macroscopic scales. Localized heterogeneous macromolecular networks capable of transient communication and signalling of damage that enable synchronous macroscopic rearrangements will become increasingly important in the development of self-healing materials. Localized T_g gradients and associated local stimuli-responsive transitions^{241,242} will become crucial for achieving reasonable self-healing kinetics. It is interesting to note that some of the observations and questions from the late 1970s and early 1980s remain unanswered. For example, for PMMA slightly above T_g , a diffusional interpenetration of chain segments occurs, but after short penetration times (~5 min), fracture toughness is regained in short-term experiments, but long-term properties cannot be restored²⁴³.

The ultimate challenge will be to produce polymer networks with metabolic and anabolic characteristics,

whereby synchronized events between sequential or concurrent self-healing paths occur. An approach in this direction is combining phase-separated supramolecular and covalent bonding with hydrophilic and hydrophobic interactions. For example, learning from nature, when a protein composed of a hydrophobic packed interior and hydrophilic exterior is placed in an aqueous environment and exposed to hydrostatic pressure (or cutting), water molecules are forced into the protein interior by filling cavities and breaking up the hydrophobic structure^{244,245}. When the forces are removed, hydrophobic interactions prevail and the protein regains its structural and functional features. There are opportunities for further advances when hydrophobic and hydrophilic interactions in synthetic polymers compete during the damage–repair cycle. Similar to biological systems, the key to controlling these macromolecular interactions is precise molecular DNA-like sequencing. From a macroscopic view, the formation of self-knotted polymer-chain topologies promises the ability of self-healing of fibres in composites.

Applications of self-healing polymers are likely to be found in agriculture, the food industry, medicine, transportation, recycling and upcycling. All these sectors face challenges to meet new requirements and regulations, and polymers with upcycling and self-healing attributes may become a new standard for many industries. Despite the urgency of agricultural needs, our understanding of how plants and other species transport nutrients to their destinations *in vivo* is still largely unanswered. Similarly, there are many unanswered or unasked questions in self-healing polymers. One such question is how the shape and symmetry of a structure will determine the arrangements of the building blocks enabling self-healing through internal actuation

mechanisms leading to macroscopic reconfiguration of the materials. The challenge is how to implement internal directional actuation mechanisms while retaining physical and chemical stability. If answered, technological advances may enable new strategies for materials developments. It is not hard to envision that hip or other body part replacements may have extended lifetimes when self-healing materials are used. Biological sensing and signalling pathways are mediated by interfacial processes linked to biological growth and development. One can envision that self-healing will be crucial for interactions between synthetic and biological systems. To achieve this, we need to better understand the molecular processes that govern biosynthetic signalling and decision-making processes in synthetic materials. Using the analogy of metabolic processes in cells, we envision that, if repeating units of a copolymer represent a heritable genetic identity derived during its growth, different interfacial interactions (the ‘genotype’) will lead to different materials ‘phenotypes’.

Overall, the outcomes will be less energy used and less waste generated. Self-healable polymers with more tunable time-sensitive properties are needed; a grocery bag does not have to last more than a day or two, but paint on a bridge or vehicle needs to last much longer. An ultimate goal of future studies should lead to the development of organism-like materials with encoded molecular features that dictate their growth and structural assembly in response to the environment. Organism-like materials will consist of elements responsible for autonomous and adaptive properties enabling the creation of synthetic integrated systems and devices.

Published online 5 June 2020

- Diegelmann, R. F. & Evans, M. C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Front. Biosci.* **9**, 283–289 (2004).
- Han, R. & Campbell, K. P. Dysferlin and muscle membrane repair. *Curr. Opin. Cell Biol.* **19**, 409–416 (2007).
- Paris, R., Lamattina, L. & Casalougué, C. A. Nitric oxide promotes the wound-healing response of potato leaflets. *Plant Physiol. Biochem.* **45**, 80–86 (2007).
- Biggs, A. Suberized boundary zones and the chronology of wound response in tree bark. *Phytopathology* **75**, 1191–1195 (1985).
- Wool, R. P. & O’Connor, K. M. A theory crack healing in polymers. *J. Appl. Phys.* **52**, 5953–5963 (1981).
- Yang, Y., Davydovich, D., Hornat, C. C., Liu, X. & Urban, M. W. Leaf-inspired self-healing polymers. *Chem* **4**, 1928–1936 (2018).
- Chen, Y., Kushner, A. M., Williams, G. A. & Guan, Z. Multiphase design of autonomic self-healing thermoplastic elastomers. *Nat. Chem.* **4**, 467–472 (2012).
- Nji, J. & Li, G. A biomimic shape memory polymer based self-healing particulate composite. *Polymer* **51**, 6021–6029 (2010).
- Corten, C. C. & Urban, M. W. Repairing polymers using oscillating magnetic field. *Adv. Mater.* **21**, 5011–5015 (2009).
- Yang, Y. & Urban, M. W. Self-repairable polyurethane networks by atmospheric carbon dioxide and water. *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 12142–12147 (2014).
- Ying, H., Zhang, Y. & Cheng, J. Dynamic urea bond for the design of reversible and self-healing polymers. *Nat. Commun.* **5**, 3218 (2014).
- Chen, X. et al. A thermally re-mendable cross-linked polymeric material. *Science* **295**, 1698–1702 (2002).
- Ghosh, B. & Urban, M. W. Self-repairing oxetane-substituted chitosan polyurethane networks. *Science* **323**, 1458–1460 (2009).
- Imato, K. et al. Self-healing of chemical gels cross-linked by diarylbibenzofuranone-based trigger-free dynamic covalent bonds at room temperature. *Angew. Chem. Int. Ed.* **51**, 1138–1142 (2012).
- Cordier, P., Tournilhac, F., Soulié-Ziakovic, C. & Leibler, L. Self-healing and thermoreversible rubber from supramolecular assembly. *Nature* **451**, 977–980 (2008).
- Burnworth, M. et al. Optically healable supramolecular polymers. *Nature* **472**, 334–337 (2011).
- Nakahata, M., Takashima, Y., Yamaguchi, H. & Harada, A. Redox-responsive self-healing materials formed from host–guest polymers. *Nat. Commun.* **2**, 511 (2011).
- Urban, M. W. et al. Key-and-lock commodity self-healing copolymers. *Science* **362**, 220–225 (2018).
- White, S. R. et al. Autonomic healing of polymer composites. *Nature* **409**, 794–797 (2001).
- Kessler, M. R., Sottos, N. R. & White, S. R. Self-healing structural composite materials. *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.* **34**, 743–753 (2003).
- Wool, R. P. Self-healing materials: a review. *Soft Matter* **4**, 400–418 (2008).
- Yang, Y. & Urban, M. W. Self-healing polymeric materials. *Chem. Soc. Rev.* **42**, 7446–7467 (2013).
- Prager, S. & Tirrell, M. The healing process at polymer–polymer interfaces. *J. Chem. Phys.* **75**, 5194–5198 (1981).
- Voyutskii, S. S. *Autohesion and Adhesion of High Polymers* (Interscience Publishers, 1963).
- Grinstead, R. A., Clark, L. & Koenig, J. L. Study of cyclic sorption-desorption into poly(methyl methacrylate) rods using NMR imaging. *Macromolecules* **25**, 1235–1241 (1992).
- Kim, K. D., Sperling, L. H., Klein, A. & Hammouda, B. Reptation time, temperature, and cosurfactant effects on the molecular interdiffusion rate during polystyrene latex film formation. *Macromolecules* **27**, 6841–6850 (1994).
- Wool, R. P. *Polymer Interfaces: Structure and Strength* (Hanser Publishers, 1995).
- Sperling, L. H. in *Introduction to Physical Polymer Science* Ch. 4.4 (John Wiley & Sons, 2005).
- Welp, K. A. et al. Direct observation of polymer dynamics: mobility comparison between central and end section chain segments. *Macromolecules* **32**, 5127–5138 (1999).
- Ellison, C. J. & Torkelson, J. M. The distribution of glass-transition temperatures in nanoscopically confined glass formers. *Nat. Mater.* **2**, 695–700 (2003).
- Bodiguel, H. & Fretigny, C. Reduced viscosity in thin polymer films. *Phys. Rev. Lett.* **97**, 266105 (2006).
- Fakhraai, Z. & Forrest, J. A. Measuring the surface dynamics of glassy polymers. *Science* **319**, 600–604 (2008).
- Ghosh, B., Chellappan, K. V. & Urban, M. W. Self-healing inside a scratch of oxetane-substituted chitosan-polyurethane (OXE-CHI-PUR) networks. *J. Mater. Chem.* **21**, 14473–14486 (2011).
- de Gennes, P.-G. Reptation of a polymer chain in the presence of fixed obstacles. *J. Chem. Phys.* **55**, 572–579 (1971).
- Klein, J. Evidence for reptation in an entangled polymer melt. *Nature* **271**, 143–145 (1978).
- Roland, C. M. & Ngai, K. L. Segmental relaxation and the correlation of time and temperature dependencies in poly(vinyl methyl ether)/polystyrene mixtures. *Macromolecules* **25**, 363–367 (1992).
- Kim, Y. H. & Wool, R. P. A theory of healing at a polymer-polymer interface. *Macromolecules* **16**, 1115–1120 (1983).
- Lin, C., Lee, S. & Liu, K. Methanol-induced crack healing in poly(methyl methacrylate). *Polym. Eng. Sci.* **30**, 1399–1406 (1990).
- Jud, K., Kausch, H. H. & Williams, J. G. Fracture mechanics studies of crack healing and welding of polymers. *J. Mater. Sci.* **16**, 204–210 (1981).

40. Autumn, K. et al. Evidence for van der Waals adhesion in gecko setae. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **99**, 12252–12256 (2002).
41. Buckingham, A., Fowler, P. & Hutson, J. M. Theoretical studies of van der Waals molecules and intermolecular forces. *Chem. Rev.* **88**, 963–988 (1988).
42. Brunauer, S., Deming, L. S., Deming, W. E. & Teller, E. On a theory of the van der Waals adsorption of gases. *J. Am. Chem. Soc.* **62**, 1723–1732 (1940).
43. Dzyaloshinskii, I. E., Lifshitz, E. M., Pitaevskii, L. P. & Priestley, M. G. in *Perspectives in Theoretical Physics* (ed. Pitaevskii, L. P.), translated from Russian by Sykes, J. B. & ter Haar, D.) 443–492 (Elsevier, 1992).
44. Sun, H. COMPASS: an ab initio force-field optimized for condensed-phase applications overview with details on alkane and benzene compounds. *J. Phys. Chem. B* **102**, 7338–7364 (1998).
45. Bharadwaj, R. K., Berry, R. J. & Farmer, B. L. Molecular dynamics simulation study of norbornene-POSS polymers. *Polymer* **41**, 7209–7221 (2000).
46. Prathab, B., Subramanian, V. & Aminabhavi, T. Molecular dynamics simulations to investigate polymer-polymer and polymer-metal oxide interactions. *Polymer* **48**, 409–416 (2007).
47. Speck, O., Schlechtendahl, M., Borm, F., Kampowski, T. & Speck, T. Humidity-dependent wound sealing in succulent leaves of *Delosperma cooperi*—An adaptation to seasonal drought stress. *Beilstein J. Nanotechnol.* **9**, 175–186 (2018).
48. Vernon, L. B. & Vernon, H. M. Process of manufacturing articles of thermoplastic synthetic resins. US Patent 2234993 (1941).
49. Rainer, W. C., Redding, E. M., Hitov, J. J., Sloan, A. W. & Stewart, W. D. Heat-shrinkable polyethylene. US Patent 3144398 (1964).
50. Perrone, R. J. Silicone-rubber, polyethylene composition; heat shrinkable articles made therefrom and process therefor. US Patent 3326869 (1967).
51. Cussler, E. L. *Diffusion: Mass Transfer in Fluid Systems* 3rd edn Ch. 5 (Cambridge Univ. Press, 2009).
52. Habault, D., Zhang, H. & Zhao, Y. Light-triggered self-healing and shape-memory polymers. *Chem. Soc. Rev.* **42**, 7244–7256 (2013).
53. Kirkby, E. L. et al. Embedded shape-memory alloy wires for improved performance of self-healing polymers. *Adv. Funct. Mater.* **18**, 2253–2260 (2008).
54. Li, G. & Shojaei, A. A viscoplastic theory of shape memory polymer fibres with application to self-healing materials. *Proc. R. Soc. A* **468**, 2319–2346 (2012).
55. Mohr, R. et al. Initiation of shape-memory effect by inductive heating of magnetic nanoparticles in thermoplastic polymers. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **103**, 3540–3545 (2006).
56. Huang, W. M., Yang, B., An, L., Li, C. & Chan, Y. S. Water-driven programmable polyurethane shape memory polymer: demonstration and mechanism. *Appl. Phys. Lett.* **86**, 114105 (2005).
57. Lendlein, A., Jiang, H., Jünger, O. & Langer, R. Light-induced shape-memory polymers. *Nature* **434**, 879–882 (2005).
58. Hornat, C. C., Yang, Y. & Urban, M. W. Quantitative predictions of shape-memory effects in polymers. *Adv. Mater.* **29**, 1603334 (2017).
59. Wang, H. B. et al. Synthesis of self-healing polymers by scandium-catalyzed copolymerization of ethylene and anisylpropylenes. *J. Am. Chem. Soc.* **141**, 3249–3257 (2019).
60. Hornat, C. C. & Urban, M. W. Shape memory effects in self-healing polymers. *Prog. Polym. Sci.* **102**, 101208 (2020).
61. Hornat, C. C. & Urban, M. W. Entropy and interfacial energy driven self-healable polymers. *Nat. Commun.* **11**, 1028 (2020).
62. Murphy, E. B. & Wudl, F. The world of smart healable materials. *Prog. Polym. Sci.* **35**, 223–251 (2010).
63. Yang, Y., Ding, X. & Urban, M. W. Chemical and physical aspects of self-healing materials. *Prog. Polym. Sci.* **49–50**, 34–59 (2015).
64. Lee, M. W., Yoon, S. S. & Yarin, A. L. Solution-blown core-shell self-healing nano- and microfibrils. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **8**, 4955–4962 (2016).
65. Pu, W. et al. Realizing crack diagnosing and self-healing by electricity with a dynamic crosslinked flexible polyurethane composite. *Adv. Sci.* **5**, 1800101 (2018).
66. Yang, Y. et al. Carbon nanotube-vitrimer composite for facile and efficient photo-welding of epoxy. *Chem. Sci.* **5**, 3486–3492 (2014).
67. Chen, Y. & Guan, Z. Multivalent hydrogen bonding block copolymers self-assemble into strong and tough self-healing materials. *Chem. Commun.* **50**, 10868–10870 (2014).
68. Sato, K. et al. Phase-separation-induced anomalous stiffening, toughening, and self-healing of polyacrylamide gels. *Adv. Mater.* **27**, 6990–6998 (2015).
69. Chen, S., Mahmood, N., Beiner, M. & Binder, W. H. Self-healing materials from V- and H-shaped supramolecular architectures. *Angew. Chem. Int. Ed.* **54**, 10188–10192 (2015).
70. Cao, J. et al. Multiple hydrogen bonding enables the self-healing of sensors for human-machine interactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **56**, 8795–8800 (2017).
71. Yan, X. et al. Quadruple H-bonding cross-linked supramolecular polymeric materials as substrates for stretchable, antitearing, and self-healable thin film electrodes. *J. Am. Chem. Soc.* **140**, 5280–5289 (2018).
72. Ghosh, B., Chellappan, K. V. & Urban, M. W. UV-initiated self-healing of oxolane-chitosan-polyurethane (OXO-CHI-PUR) networks. *J. Mater. Chem.* **22**, 16104–16113 (2012).
73. Korth, H. G. Carbon radicals of low reactivity against oxygen: radically different antioxidants. *Angew. Chem. Int. Ed.* **46**, 5274–5276 (2007).
74. Takeda, K., Unno, H. & Zhang, M. Polymer reaction in polycarbonate with Na₂CO₃. *J. Appl. Polym. Sci.* **93**, 920–926 (2004).
75. Stevens, M. P. & Jenkins, A. D. Crosslinking of polystyrene via pendant maleimide groups. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.* **17**, 3675–3685 (1979).
76. Liu, Y. L. & Chen, Y. W. Thermally reversible cross-linked polyamides with high toughness and self-repairing ability from maleimide and furan-functionalized aromatic polyamides. *Macromol. Chem. Phys.* **208**, 224–232 (2007).
77. Imato, K. et al. Dynamic covalent diarylbenzofuranone-modified nanocellulose: Mechanochromic behaviour and application in self-healing polymer composites. *Polym. Chem.* **8**, 2115–2122 (2017).
78. Tellit, S. et al. Introduction of self-healing properties into covalent polymer networks via the photodissociation of alkoxyamine junctions. *Polym. Chem.* **5**, 921–930 (2014).
79. An, Q. et al. Recycling and self-healing of dynamic covalent polymer networks with a precisely tuneable crosslinking degree. *Polym. Chem.* **10**, 672–678 (2019).
80. Raines, C. A. The Calvin cycle revisited. *Photosynth. Res.* **75**, 1–10 (2003).
81. Bai, N., Saito, K. & Simon, G. P. Synthesis of a diamine cross-linker containing Diels-Alder adducts to produce self-healing thermosetting epoxy polymer from a widely used epoxy monomer. *Polym. Chem.* **4**, 724–730 (2013).
82. Peterson, A. M., Jensen, R. E. & Palmese, G. R. Reversibly cross-linked polymer gels as healing agents for epoxy-amine thermosets. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **1**, 992–995 (2009).
83. Tian, Q., Yuan, Y. C., Rong, M. Z. & Zhang, M. Q. A thermally remendable epoxy resin. *J. Mater. Chem.* **19**, 1289–1296 (2009).
84. Chen, X., Wudl, F., Mai, A. K., Shen, H. & Nutt, S. R. New thermally remendable highly cross-linked polymeric materials. *Macromolecules* **36**, 1802–1807 (2003).
85. Billiet, S., Van Camp, W., Hillewaere, X. K. D., Rahier, H. & Du Prez, F. E. Development of optimized autonomous self-healing systems for epoxy materials based on maleimide chemistry. *Polymer* **53**, 2320–2326 (2012).
86. Heo, Y. & Sodano, H. A. Self-healing polyurethanes with shape recovery. *Adv. Funct. Mater.* **24**, 5261–5268 (2014).
87. Du, P. et al. Synthesis and characterization of linear self-healing polyurethane based on thermally reversible Diels-Alder reaction. *RSC Adv.* **3**, 15475–15482 (2013).
88. Syrett, J. A., Mantovani, G., Barton, W. R., Price, D. & Haddleton, D. M. Self-healing polymers prepared via living radical polymerisation. *Polym. Chem.* **1**, 102–106 (2010).
89. Yoshie, N., Saito, S. & Oya, N. A thermally-stable self-healing polymer networked by Diels-Alder cycloaddition. *Polymer* **52**, 6074–6079 (2011).
90. Sugane, K., Yoshioka, Y., Shimasaki, T., Teramoto, N. & Shibata, M. Self-healing 8-armed star-shaped ϵ -caprolactone oligomers dually crosslinked by the Diels-Alder and urethanization reactions. *Polymer* **144**, 92–102 (2018).
91. Raquez, J. M. et al. Design of cross-linked semicrystalline poly(ϵ -caprolactone)-based networks with one-way and two-way shape-memory properties through Diels-Alder reactions. *Chem. Eur. J.* **17**, 10135–10143 (2011).
92. Sedaghat-Herati, R., Chacon, A., Hansen, M. E. & Yalaoui, S. New poly(oxyethylene) derivatives from Diels-Alder reactions of 3-[methoxypoly(oxyethylene)] methylene furan. *Macromol. Chem. Phys.* **206**, 1981–1987 (2005).
93. Watanabe, M. & Yoshie, N. Synthesis and properties of readily recyclable polymers from bisfuranic terminated poly(ethylene adipate) and multi-maleimide linkers. *Polymer* **47**, 4946–4952 (2006).
94. Yamashiro, M., Inoue, K. & Iji, M. Recyclable shape-memory and mechanical strength of poly(lactic acid) compounds cross-linked by thermo-reversible Diels-Alder reaction. *Polym. J.* **40**, 657–662 (2008).
95. Kavitha, A. A. & Singha, N. K. “Click chemistry” in tailor-made polymethacrylates bearing reactive furfuryl functionality: a new class of self-healing polymeric material. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **1**, 1427–1436 (2009).
96. Kavitha, A. A. & Singha, N. K. Smart “all acrylate” ABA triblock copolymer bearing reactive functionality via atom transfer radical polymerization (ATRP): demonstration of a “click reaction” in thermoreversible property. *Macromolecules* **43**, 3193–3205 (2010).
97. Chung, C.-M., Roh, Y.-S., Cho, S.-Y. & Kim, J.-G. Crack healing in polymeric materials via photochemical [2+2] cycloaddition. *Chem. Mater.* **16**, 3982–3984 (2004).
98. Egerton, P. L. et al. Photocycloaddition in liquid ethyl cinnamate and in ethyl cinnamate glasses. The photoreaction as a probe into the micromorphology of the solid. *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 3859–3863 (1981).
99. Guimard, N. K. et al. Harnessing entropy to direct the bonding/debonding of polymer systems based on reversible chemistry. *Chem. Sci.* **4**, 2752–2759 (2013).
100. Oehlenschlaeger, K. K. et al. Fast and catalyst-free hetero-Diels-Alder chemistry for on demand cyclable bonding/debonding materials. *Polym. Chem.* **4**, 4348–4355 (2013).
101. Oehlenschlaeger, K. K. et al. Adaptable hetero Diels-Alder networks for fast self-healing under mild conditions. *Adv. Mater.* **26**, 3561–3566 (2014).
102. Stocking, E. M. & Williams, R. M. Chemistry and biology of biosynthetic Diels-Alder reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* **42**, 3078–3115 (2003).
103. Hoyle, C. E., Lee, T. Y. & Roper, T. Thiol-ene: chemistry of the past with promise for the future. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **42**, 5301–5338 (2004).
104. Kade, M. J., Burke, D. J. & Hawker, C. J. The power of thiol-ene chemistry. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **48**, 743–750 (2010).
105. Nicolay, R., Kamada, J., Van Wassen, A. & Matyjaszewski, K. Responsive gels based on a dynamic covalent trithiocarbonate cross-linker. *Macromolecules* **43**, 4355–4361 (2010).
106. Kamada, J. et al. Redox responsive behavior of thiol/disulfide-functionalized star polymers synthesized via atom transfer radical polymerization. *Macromolecules* **43**, 4133–4139 (2010).
107. Yoon, J. A. et al. Self-healing polymer films based on thiol-disulfide exchange reactions and self-healing kinetics measured using atomic force microscopy. *Macromolecules* **45**, 142–149 (2011).
108. Kuhl, N. et al. Acylhydrazones as reversible covalent crosslinkers for self-healing polymers. *Adv. Funct. Mater.* **25**, 3295–3301 (2015).
109. Barcan, G. A., Zhang, X. Y. & Waymouth, R. M. Structurally dynamic hydrogels derived from 1,2-dithiolanes. *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 5650–5653 (2015).
110. Rekondo, A. et al. Catalyst-free room-temperature self-healing elastomers based on aromatic disulfide metathesis. *Mater. Horiz.* **1**, 237–240 (2014).
111. Xu, Y. & Chen, D. A novel self-healing polyurethane based on disulfide bonds. *Macromol. Chem. Phys.* **217**, 1191–1196 (2016).
112. Canadell, J., Goossens, H. & Klumperman, B. Self-healing materials based on disulfide links. *Macromolecules* **44**, 2536–2541 (2011).
113. Ji, S., Cao, W., Yu, Y. & Xu, H. Visible-light-induced self-healing diselenide-containing polyurethane elastomer. *Adv. Mater.* **27**, 7740–7745 (2015).
114. An, X. et al. Aromatic diselenide crosslinkers to enhance the reprocessability and self-healing of polyurethane thermosets. *Polym. Chem.* **8**, 3641–3646 (2017).

115. Kuhl, N. et al. Self-healing polymer networks based on reversible Michael addition reactions. *Macromol. Chem. Phys.* **217**, 2541–2550 (2016).
116. Kantor, S. W., Grubb, W. T. & Osthoff, R. C. The mechanism of the acid- and base-catalyzed equilibration of siloxanes. *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 5190–5197 (1954).
117. Zheng, P. & McCarthy, T. J. A surprise from 1954: siloxane equilibration is a simple, robust, and obvious polymer self-healing mechanism. *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 2024–2027 (2012).
118. Wang, C. et al. Self-healing chemistry enables the stable operation of silicon microparticle anodes for high-energy lithium-ion batteries. *Nat. Chem.* **5**, 1042–1048 (2013).
119. Xu, Z. et al. Silicon microparticle anodes with self-healing multiple network binder. *Joule* **2**, 950–961 (2018).
120. Brochu, A. B. W., Craig, S. L. & Reichert, W. M. Self-healing biomaterials. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **96**, 492–506 (2011).
121. Madsen, F. B., Yu, L. & Skov, A. L. Self-healing, high-permittivity silicone dielectric elastomer. *ACS Macro Lett.* **5**, 1196–1200 (2016).
122. Martin, R. et al. Room temperature self-healing power of silicone elastomers having silver nanoparticles as crosslinkers. *Chem. Commun.* **48**, 8255–8257 (2012).
123. Jin, B., Liu, M., Zhang, Q., Zhan, X. & Chen, F. Silicone oil swelling slippery surfaces based on mussel-inspired magnetic nanoparticles with multiple self-healing mechanisms. *Langmuir* **33**, 10340–10350 (2017).
124. Ogliani, E., Yu, L., Javakishvili, I. & Skov, A. L. A thermo-reversible silicone elastomer with remotely controlled self-healing. *RSC Adv.* **8**, 8285–8291 (2018).
125. Ramachandran, D., Liu, F. & Urban, M. W. Self-repairable copolymers that change color. *RSC Adv.* **2**, 135–143 (2012).
126. Zhao, X. et al. Antibacterial anti-oxidant electroactive injectable hydrogel as self-healing wound dressing with hemostasis and adhesiveness for cutaneous wound healing. *Biomaterials* **122**, 34–47 (2017).
127. Tseng, T. C. et al. An injectable, self-healing hydrogel to repair the central nervous system. *Adv. Mater.* **27**, 3518–3524 (2015).
128. Yu, F., Cao, X. D., Du, J., Wang, G. & Chen, X. F. Multifunctional hydrogel with good structure integrity, self-healing, and tissue-adhesive property formed by combining Diels–Alder click reaction and acylhydrazone bond. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **7**, 24023–24031 (2015).
129. Ou, J. et al. Antibacterial adhesive injectable hydrogels with rapid self-healing, extensibility and compressibility as wound dressing for joints skin wound healing. *Biomaterials* **183**, 185–199 (2018).
130. Ono, T., Nobori, T. & Lehn, J.-M. Dynamic polymer blends — component recombination between neat dynamic covalent polymers at room temperature. *Chem. Commun.* 1522–1524 (2005).
131. Mukherjee, S., Hill, M. R. & Sumerlin, B. S. Self-healing hydrogels containing reversible oxime crosslinks. *Soft Matter* **11**, 6152–6161 (2015).
132. Liu, W.-X. et al. Oxime-based and catalyst-free dynamic covalent polyurethanes. *J. Am. Chem. Soc.* **139**, 8678–8684 (2017).
133. Niu, W., Smith, M. D. & Lavigne, J. J. Self-assembling poly(dioxaborole)s as blue-emissive materials. *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 16466–16467 (2006).
134. De, P., Condi, S. R., Roy, D. & Sumerlin, B. S. Boronic acid-terminated polymers: synthesis by RAFT and subsequent supramolecular and dynamic covalent self-assembly. *Macromolecules* **42**, 5614–5621 (2009).
135. Cash, J. J., Kubo, T., Bapat, A. P. & Sumerlin, B. S. Room-temperature self-healing polymers based on dynamic-covalent boronic esters. *Macromolecules* **48**, 2098–2106 (2015).
136. Guo, R. et al. Facile access to multisensitive and self-healing hydrogels with reversible and dynamic boronic ester and disulfide linkages. *Biomacromolecules* **18**, 1356–1364 (2017).
137. Cromwell, O. R., Chung, J. & Guan, Z. Malleable and self-healing covalent polymer networks through tunable dynamic boronic ester bonds. *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 6492–6495 (2015).
138. Deng, C. C., Brooks, W. L. A., Abboud, K. A. & Sumerlin, B. S. Boronic acid-based hydrogels undergo self-healing at neutral and acidic pH. *ACS Macro Lett.* **4**, 220–224 (2015).
139. Smithmyer, M. E. et al. Self-healing boronic acid-based hydrogels for 3D co-cultures. *ACS Macro Lett.* **7**, 1105–1110 (2018).
140. Yuan, C., Rong, M. Z., Zhang, M. Q., Zhang, Z. P. & Yuan, Y. C. Self-healing of polymers via synchronous covalent bond fission/radical recombination. *Chem. Mater.* **23**, 5076–5081 (2011).
141. Yamamoto, Y., Kamada, J., Otsuka, H., Takahara, A. & Matyjaszewski, K. Repeatable photoinduced self-healing of covalently cross-linked polymers through reshuffling of trithiocarbonate units. *Angew. Chem. Int. Ed.* **50**, 1660–1663 (2011).
142. Nakahata, M., Mori, S., Takashima, Y., Yamaguchi, H. & Harada, A. Self-healing materials formed by cross-linked polyrotaxanes with reversible bonds. *Chem* **1**, 766–775 (2016).
143. Gong, J. P. Why are double network hydrogels so tough? *Soft Matter* **6**, 2583–2590 (2010).
144. Jia, H. et al. Unconventional tough double-network hydrogels with rapid mechanical recovery, self-healing, and self-gluing properties. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **8**, 31339–31347 (2016).
145. Webber, M. J., Appel, E. A., Meijer, E. & Langer, R. Supramolecular biomaterials. *Nat. Mater.* **15**, 13–26 (2016).
146. Herbst, F., Döhler, D., Michael, P. & Binder, W. H. Self-healing polymers via supramolecular forces. *Macromol. Rapid Commun.* **34**, 203–220 (2013).
147. Pedersen, C. J. Cyclic polyethers and their complexes with metal salts. *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 7017–7036 (1967).
148. Kyba, E. P., Siegel, M. G., Sousa, L. R., Sogah, G. D. & Cram, D. J. Chiral, hinged, and functionalized multiteromacrocycles. *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 2691–2692 (1973).
149. Brunsveld, L., Folmer, B., Meijer, E. W. & Sijbesma, R. Supramolecular polymers. *Chem. Rev.* **101**, 4071–4098 (2001).
150. Fyfe, M. C. & Stoddart, J. F. Synthetic supramolecular chemistry. *Acc. Chem. Res.* **30**, 393–401 (1997).
151. Herbst, F., Seiffert, S. & Binder, W. H. Dynamic supramolecular poly(isobutylenes) for self-healing materials. *Polym. Chem.* **3**, 3084–3092 (2012).
152. Sijbesma, R. P. et al. Reversible polymers formed from self-complementary monomers using quadruple hydrogen bonding. *Science* **278**, 1601–1604 (1997).
153. Aida, T., Meijer, E. & Stupp, S. Functional supramolecular polymers. *Science* **335**, 813–817 (2012).
154. Hirschberg, J. K. et al. Supramolecular polymers from linear telechelic siloxanes with quadruple-hydrogen-bonded units. *Macromolecules* **32**, 2696–2705 (1999).
155. Folmer, B. J. B., Sijbesma, R. P., Versteegen, R. M., van der Rijt, J. A. J. & Meijer, E. W. Supramolecular polymer materials: Chain extension of telechelic polymers using a reactive hydrogen-bonding synthon. *Adv. Mater.* **12**, 874–878 (2000).
156. Bosman, A. W., Sijbesma, R. P. & Meijer, E. W. Supramolecular polymers at work. *Mater. Today* **7**, 34–39 (2004).
157. Yanagisawa, Y., Nan, Y. L., Okuro, K. & Aida, T. Mechanically robust, readily repairable polymers via tailored noncovalent cross-linking. *Science* **359**, 72–76 (2018).
158. Wu, Q. et al. A robust, highly stretchable supramolecular polymer conductive hydrogel with self-healability and thermo-processability. *Sci. Rep.* **7**, 41566 (2017).
159. Li, C. et al. A writable polypeptide–DNA hydrogel with rationally designed multi-modification sites. *Small* **11**, 1138–1143 (2015).
160. Neal, J. A., Mozhdehi, D. & Guan, Z. Enhancing mechanical performance of a covalent self-healing material by sacrificial noncovalent bonds. *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 4846–4850 (2015).
161. Feldman, K. E. et al. Polymers with multiple hydrogen-bonded end groups and their blends. *Macromolecules* **41**, 4694–4700 (2008).
162. Kang, J. H. et al. Tough and water-insensitive self-healing elastomer for robust electronic skin. *Adv. Mater.* **30**, 1706846 (2018).
163. Phadke, A. et al. Rapid self-healing hydrogels. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **109**, 4383–4388 (2012).
164. Jeon, I., Cui, J. X., Illeperuma, W. R. K., Aizenberg, J. & Vlassak, J. J. Extremely stretchable and fast self-healing hydrogels. *Adv. Mater.* **28**, 4678–4683 (2016).
165. Willocq, B. et al. Mechanistic insights on spontaneous moisture-driven healing of urea-based polyurethanes. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **11**, 46176–46182 (2019).
166. Heller, M. & Schubert, U. S. Polystyrene with pendant mixed functional ruthenium(II)-terpyridine complexes. *Macromol. Rapid Commun.* **23**, 411–415 (2002).
167. Bode, S. et al. Self-healing polymer coatings based on crosslinked metallo-supramolecular copolymers. *Adv. Mater.* **25**, 1634–1638 (2013).
168. Williams, K. A., Boydston, A. J. & Bielawski, C. W. Towards electrically conductive, self-healing materials. *J. R. Soc. Interface* **4**, 359–362 (2007).
169. Wang, Z. & Urban, M. W. Facile UV-healable polyethylenimine–copper (C₂H₅N–Cu) supramolecular polymer networks. *Polym. Chem.* **4**, 4897–4901 (2013).
170. Wang, Z. H., Yang, Y., Burtovyy, R., Luzinov, I. & Urban, M. W. UV-induced self-repairing polydimethylsiloxane–polyurethane (PDMS–PUR) and polyethylene glycol–polyurethane (PEG–PUR) Cu-catalyzed networks. *J. Mater. Chem. A* **2**, 15527–15534 (2014).
171. Rao, Y. L. et al. Stretchable self-healing polymeric dielectrics cross-linked through metal–ligand coordination. *J. Am. Chem. Soc.* **138**, 6020–6027 (2016).
172. Ceylan, H. et al. Mussel inspired dynamic cross-linking of self-healing peptide nanofiber network. *Adv. Funct. Mater.* **23**, 2081–2090 (2013).
173. Zeng, H., Hwang, D. S., Israelachvili, J. N. & Waite, J. H. Strong reversible Fe³⁺-mediated bridging between dopa-containing protein films in water. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **107**, 12850–12853 (2010).
174. Weng, G. S., Thanneeru, S. & He, J. Dynamic coordination of Eu–iminodiacetate to control fluorochromic response of polymer hydrogels to multistimuli. *Adv. Mater.* **30**, 1706526 (2018).
175. Liu, S. L., Oderinde, O., Hussain, I., Yao, F. & Fu, G. D. Dual ionic cross-linked double network hydrogel with self-healing, conductive, and force sensitive properties. *Polymer* **144**, 111–120 (2018).
176. Luo, F. et al. Oppositely charged polyelectrolytes form tough, self-healing, and rebuildable hydrogels. *Adv. Mater.* **27**, 2722–2727 (2015).
177. Zhong, M., Liu, Y. T. & Xie, X. M. Self-healable, super tough graphene oxide–poly(acrylic acid) nanocomposite hydrogels facilitated by dual cross-linking effects through dynamic ionic interactions. *J. Mater. Chem. B* **3**, 4001–4008 (2015).
178. Darabi, M. A. et al. Skin-inspired multifunctional autonomic-intrinsic conductive self-healing hydrogels with pressure sensitivity, stretchability, and 3D printability. *Adv. Mater.* **29**, 1700533 (2017).
179. He, L., Fullenkamp, D. E., Rivera, J. G. & Messersmith, P. B. pH responsive self-healing hydrogels formed by boronate–catechol complexation. *Chem. Commun.* **47**, 7497–7499 (2011).
180. Ahn, B. K., Lee, D. W., Israelachvili, J. N. & Waite, J. H. Surface-initiated self-healing of polymers in aqueous media. *Nat. Mater.* **13**, 867–872 (2014).
181. Li, C.-H. et al. A highly stretchable autonomous self-healing elastomer. *Nat. Chem.* **6**, 618–624 (2016).
182. Li, Z. O., Wang, G. N., Wang, Y. G. & Li, H. R. Reversible phase transition of robust luminescent hybrid hydrogels. *Angew. Chem. Int. Ed.* **57**, 2194–2198 (2018).
183. Rodell, C. B., Dusat, N. N., Highley, C. B. & Burdick, J. A. Injectable and cyto-compatible tough double-network hydrogels through tandem supramolecular and covalent crosslinking. *Adv. Mater.* **28**, 8419–8424 (2016).
184. Loebel, C., Rodell, C. B., Chen, M. H. & Burdick, J. A. Shear-thinning and self-healing hydrogels as injectable therapeutics and for 3D-printing. *Nat. Protoc.* **12**, 1521–1541 (2017).
185. Chen, H., Ma, X., Wu, S. F. & Tian, H. A rapidly self-healing supramolecular polymer hydrogel with photostimulated room-temperature phosphorescence responsiveness. *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 14149–14152 (2014).
186. Nakahata, M., Takashima, Y. & Harada, A. Highly flexible, tough, and self-healing supramolecular polymeric materials using host–guest interaction. *Macromol. Rapid Commun.* **37**, 86–92 (2016).
187. Burdick, J. A. & Prestwich, G. D. Hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications. *Adv. Mater.* **23**, H41–H56 (2011).
188. Highley, C. B., Rodell, C. B. & Burdick, J. A. Direct 3D printing of shear-thinning hydrogels into self-healing hydrogels. *Adv. Mater.* **27**, 5075–5079 (2015).
189. Janeček, E. R. et al. Hybrid supramolecular and colloidal hydrogels that bridge multiple length scales. *Angew. Chem. Int. Ed.* **54**, 5383–5388 (2015).
190. Matson, J. B. & Stupp, S. I. Self-assembling peptide scaffolds for regenerative medicine. *Chem. Commun.* **48**, 26–33 (2012).

191. Webber, M. J., Kessler, J. & Stupp, S. I. Emerging peptide nanomedicine to regenerate tissues and organs. *J. Intern. Med.* **267**, 71–88 (2010).
192. Liu, J. et al. Tough supramolecular polymer networks with extreme stretchability and fast room-temperature self-healing. *Adv. Mater.* **29**, 1605325 (2017).
193. Eisenberg, A. (ed.) *Ions in Polymers* (American Chemical Society, 1980).
194. Kalista, S. J. Jr & Ward, T. C. Thermal characteristics of the self-healing response in poly(ethylene-co-methacrylic acid) copolymers. *J. R. Soc. Interface* **4**, 405–411 (2007).
195. Kalista, S. J. Jr, Ward, T. C. & Oyetunji, Z. Self-healing of poly(ethylene-co-methacrylic acid) copolymers following projectile puncture. *Mech. Adv. Mater. Struct.* **14**, 391–397 (2007).
196. Huang, Y., Lawrence, P. G. & Lapitsky, Y. Self-assembly of stiff, adhesive and self-healing gels from common polyelectrolytes. *Langmuir* **30**, 7771–7777 (2014).
197. Reisch, A. et al. On the benefits of rubbing salt in the cut: Self-healing of saloplastic PAA/PAH compact polyelectrolyte complexes. *Adv. Mater.* **26**, 2547–2551 (2014).
198. Bin Ihsan, A. et al. Self-healing behaviors of tough polyampholyte hydrogels. *Macromolecules* **49**, 4245–4252 (2016).
199. Lopez-Perez, P. M. et al. Self-healing hydrogels formed by complexation between calcium ions and bisphosphonate-functionalized star-shaped polymers. *Macromolecules* **50**, 8698–8706 (2017).
200. Cao, Y. et al. A transparent, self-healing, highly stretchable ionic conductor. *Adv. Mater.* **29**, 1605099 (2017).
201. Das, A. et al. Ionic modification turns commercial rubber into a self-healing material. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **7**, 20623–20630 (2015).
202. Mei, J.-F. et al. A highly stretchable and autonomous self-healing polymer based on combination of Pt²⁺···Pt and π - π interactions. *Macromol. Rapid Commun.* **37**, 1667–1675 (2016).
203. Vaiyapuri, R., Greenland, B. W., Colquhoun, H. M., Elliott, J. M. & Hayes, W. Molecular recognition between functionalized gold nanoparticles and healable, supramolecular polymer blends: a route to property enhancement. *Polym. Chem.* **4**, 4902–4909 (2013).
204. Burattini, S. et al. A supramolecular polymer based on tweezer-type π - π stacking interactions: molecular design for healability and enhanced toughness. *Chem. Mater.* **23**, 6–8 (2011).
205. Qin, J. et al. Tuning self-healing properties of stiff, ion-conductive polymers. *J. Mater. Chem. A* **7**, 6773–6783 (2019).
206. Hentschel, J., Kushner, A. M., Ziller, J. & Guan, Z. Self-healing supramolecular block copolymers. *Angew. Chem. Int. Ed.* **51**, 10561–10565 (2012).
207. Montarnal, D., Capelot, M., Tournilhac, F. & Leibler, L. Silica-like malleable materials from permanent organic networks. *Science* **334**, 965–968 (2011).
208. Denissen, W. et al. Vinylogous urethane vitrimers. *Adv. Funct. Mater.* **25**, 2451–2457 (2015).
209. Denissen, W. et al. Chemical control of the viscoelastic properties of vinylogous urethane vitrimers. *Nat. Commun.* **8**, 14857 (2017).
210. Demongeot, A., Mognier, S. J., Okada, S., Soulié-Ziakovic, C. & Tournilhac, F. Coordination and catalysis of Zn²⁺ in epoxy-based vitrimers. *Polym. Chem.* **7**, 4486–4493 (2016).
211. Fortman, D. J., Brutman, J. P., Cramer, C. J., Hillmyer, M. A. & Dichtel, W. R. Mechanically activated, catalyst-free polyhydroxyurethane vitrimers. *J. Am. Chem. Soc.* **137**, 14019–14022 (2015).
212. Snyder, R. L., Fortman, D. J., De Hoe, G. X., Hillmyer, M. A. & Dichtel, W. R. Reprocessable acid-degradable polycarbonate vitrimers. *Macromolecules* **51**, 389–397 (2018).
213. Röttger, M. et al. High-performance vitrimers from commodity thermoplastics through dioxaborolane metathesis. *Science* **356**, 62–65 (2017).
214. Chen, Q. et al. Durable liquid-crystalline vitrimer actuators. *Chem. Sci.* **10**, 3025–3030 (2019).
215. Chen, Q. et al. Multi-stimuli responsive and multi-functional oligoaniline-modified vitrimers. *Chem. Sci.* **8**, 724–733 (2017).
216. Yang, Y., Pei, Z., Li, Z., Wei, Y. & Ji, Y. Making and remaking dynamic 3D structures by shining light on flat liquid crystalline vitrimer films without a mold. *J. Am. Chem. Soc.* **138**, 2118–2121 (2016).
217. Denissen, W., Winne, J. M. & Du Prez, F. E. Vitrimers: permanent organic networks with glass-like fluidity. *Chem. Sci.* **7**, 30–38 (2016).
218. Yang, Y. & Urban, M. W. in *Healable Polymer Systems* (eds Hayes, W. & Greenland, B. W.) 126–148 (Royal Society of Chemistry, 2013).
219. Flory, P.-J. Statistical thermodynamics of semi-flexible chain molecules. *Proc. R. Soc. A* **234**, 60–73 (1956).
220. Adamson, A. W. & Gast, A. P. *Physical chemistry of surfaces* Vol. 15 (Interscience, 1967).
221. Hornat, C. C. et al. Quantitative predictions of maximum strain storage in shape memory polymers (SMP). *Polymer* **186**, 122006 (2020).
222. Rodriguez, E. D., Luo, X. & Mather, P. T. Linear/network poly(ϵ -caprolactone) blends exhibiting shape memory assisted self-healing (SMASH). *ACS Appl. Mater. Interfaces* **3**, 152–161 (2011).
223. Liu, F., Jarrett, W. L. & Urban, M. W. Glass (T_g) and stimuli-responsive (T_{sr}) transitions in random copolymers. *Macromolecules* **43**, 5330–5337 (2010).
224. Liu, F., Jarrett, W. L. & Urban, M. W. Synergistic temperature and pH effects on glass (T_g) and stimuli-responsive (T_{sr}) transitions in poly(*N*-acryloyl-*N*'-propylpiperazine-co-2-ethoxyethyl methacrylate) copolymers. *Polym. Chem.* **2**, 963–969 (2011).
225. Priestley, R. D., Ellison, C. J., Broadbelt, L. J. & Torkelson, J. M. Structural relaxation of polymer glasses at surfaces, interfaces, and in between. *Science* **309**, 456–459 (2005).
226. O'Connell, P. A. & McKenna, G. B. Rheological measurements of the thermoviscoelastic response of ultrathin polymer films. *Science* **307**, 1760–1763 (2005).
227. Rabinowitz, J. D. & White, E. Autophagy and metabolism. *Science* **330**, 1344–1348 (2010).
228. Otts, D. B., Zhang, P. & Urban, M. W. High fidelity surface chemical imaging at 1000 nm levels: internal reflection IR imaging (IRIRI) approach. *Langmuir* **18**, 6473–6477 (2002).
229. Urban, M. W. *Vibrational Spectroscopy of Molecules and Macromolecules on Surfaces* (Wiley, 1993).
230. Hinderberger, D. in *EPR Spectroscopy: Applications in Chemistry and Biology* (eds. Drescher, M. & Jeschke, G.) 67–89 (Springer, 2011).
231. Schmidt-Rohr, K. & Spiess, H. W. *Multidimensional Solid-State NMR and Polymers* Chs 3–5 (Academic, 2012).
232. Bovey, F. A. & Mirau, P. A. *NMR of Polymers* (Academic, 1996).
233. Blanc, F. et al. Dynamic nuclear polarization NMR spectroscopy allows high-throughput characterization of microporous organic polymers. *J. Am. Chem. Soc.* **135**, 15290–15293 (2013).
234. Casabianca, L. B., Shames, A. I., Panich, A. M., Shenderova, O. & Frydman, L. Factors affecting DNP NMR in polycrystalline diamond samples. *J. Phys. Chem. C* **115**, 19041–19048 (2011).
235. Cassidy, M. C., Ramanathan, C., Cory, D. G., Ager, J. W. & Marcus, C. M. Radical-free dynamic nuclear polarization using electronic defects in silicon. *Phys. Rev. B* **87**, 161306 (2013).
236. Verberg, R., Dale, A. T., Kumar, P., Alexeev, A. & Balazs, A. C. Healing substrates with mobile, particle-filled microcapsules: designing a 'repair and go' system. *J. R. Soc. Interface* **4**, 349–357 (2006).
237. Ponnusami, S. A., Krishnasamy, J., Turteltaub, S. & van der Zwaag, S. A cohesive-zone crack healing model for self-healing materials. *Int. J. Solids Struct.* **134**, 249–263 (2018).
238. Tiwary, P. & Parrinello, M. From metadynamics to dynamics. *Phys. Rev. Lett.* **111**, 230602 (2013).
239. Valsson, O., Tiwary, P. & Parrinello, M. Enhancing important fluctuations: rare events and metadynamics from a conceptual viewpoint. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **67**, 159–184 (2016).
240. Bochicchio, D. & Pavan, G. M. Molecular modelling of supramolecular polymers. *Adv. Phys. X* **3**, 1436408 (2018).
241. Lu, C. & Urban, M. W. Stimuli-responsive polymer nano-science: shape anisotropy, responsiveness, applications. *Prog. Polym. Sci.* **78**, 24–46 (2018).
242. Liu, F. & Urban, M. W. New thermal transitions in stimuli-responsive copolymer films. *Macromolecules* **42**, 2161–2167 (2009).
243. Jud, K. & Kausch, H. H. Load transfer through chain molecules after interpenetration at interfaces. *Polym. Bull.* **1**, 697–707 (1979).
244. Gross, M. & Jaenicke, R. Proteins under pressure: the influence of high hydrostatic pressure on structure, function and assembly of proteins and protein complexes. *Eur. J. Biochem.* **221**, 617–630 (1994).
245. Hummer, G., Garde, S., Garcia, A. E., Paulaitis, M. E. & Pratt, L. R. The pressure dependence of hydrophobic interactions is consistent with the observed pressure denaturation of proteins. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **95**, 1552–1555 (1998).

Acknowledgements

This work was supported by the National Science Foundation under awards DMR 1744306 and partial OIA-1655740. The J.E. Sirrine Foundation Endowment at Clemson University is also acknowledged for partial support of this work.

Author contributions

S.W. wrote and edited the article. M.W.U. conceptualized, wrote and edited the article.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Publisher's note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

© Springer Nature Limited 2020