

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук  
(УФИЦ РАН)

Уфимский Институт химии - обособленное структурное подразделение  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии  
наук  
(УФИХ УФИЦ РАН)

*На правах рукописи*

**Гурина Маргарита Сергеевна**

**БИОДЕГРАДИРУЕМЫЕ МИКРОЧАСТИЦЫ ПОЛИМЕР-  
КОЛЛОИДНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ОСНОВЕ НЕКОТОРЫХ  
ПОЛИСАХАРИДОВ**

04.06.01 – Химические науки

02.00.06 – Высокомолекулярные соединения

**НАУЧНЫЙ ДОКЛАД**

**Уфа – 2019**

**Работа выполнена в Уфимском Институте химии – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук**

**Научный руководитель: – Колесов Сергей Викторович**

доктор химических наук, профессор,  
заведующий лабораторией  
стереорегулярных полимеров  
Уфимского Института химии –  
обособленного структурного  
подразделения Федерального  
государственного бюджетного  
научного учреждения Уфимского  
федерального исследовательского  
центра Российской академии наук

**Рецензенты:** – **Понеделькина Ирина Юрьевна,**  
кандидат химических наук, доцент,  
старший научный сотрудник ОСП  
Института нефтехимии и катализа  
УФИЦ РАН

– **Бабунова Марина Викторовна,**  
кандидат химических наук, доцент  
кафедры ВМС и ОХТ химического  
факультета ФГБОУ ВО БашГУ

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** На протяжении последних десятилетий активно ведутся работы по изучению полиэлектролитных комплексов (ПЭК) на основе полисахаридов. Важное место среди природных полимеров занимает хитозан, который обладает большим потенциалом за счет своих полиэлектролитных свойств, высокой адсорбционной способности, биodeградации, биосовместимости и низкой токсичности. Строение и свойства ПЭК на основе полимеров зависят от природы и структуры сополиэлектролитов (молекулярных масс, плотности заряда и распределения ионогенных групп вдоль полимерной цепи), а также от условий формирования ПЭК (рН, концентрации, соотношения полимеров). Варьируя тип сополиэлектролита и условия проведения полиэлектролитной реакции, можно получить полимерные материалы в виде геля, пленок, мембран, пористых структур, жидкокристаллических дисперсий, а также нано- и микрочастиц. Среди многих видов полимерных нано- и микрочастиц внимание привлекают дисперсные системы, образующиеся в совместном растворе по механизму электростатического взаимодействия противоположно заряженных ионогенных групп с образованием солевых полиэлектролитных комплексов. Однако, на данный момент информации о влиянии тех или иных факторов на размерные характеристики частиц ПЭК явно недостаточно. Изучение этих вопросов актуально и значимо для разработки методов получения и управления характеристиками и свойствами ПЭК, как с научной, так и с практической точки зрения.

**Цель работы.** Установление закономерностей формирования агрегативно устойчивых водных систем наночастиц полиэлектролитного комплекса на основе поликатиона хитозана и полианионов N- сукцинил-хитозана, гиалуроновой кислоты.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

Исследование влияния различных факторов: мольного соотношения исходных компонентов, режима смешения, рН растворителя на размеры частиц и устойчивость дисперсий частиц ПЭК к агрегации.

Изучение влияния молекулярных характеристик полимеров на устойчивость и размерные характеристики микрочастиц на их основе.

Изучение закономерностей ферментативной деструкции ПЭК под действием ферментного препарата гиалуронидазы.

**Научная новизна.** В ходе исследования:

- впервые систематизированы и исследованы ПЭК на основе поликатиона хитозана и полианионов N- сукцинил-хитозана, гиалуроновой кислоты. Определено влияние

мольного соотношения компонентов, условий взаимодействия полимеров на размерные характеристики частиц полиэлектролитных комплексов и устойчивость дисперсий частиц ПЭК.

- исследована биodeградация частиц полимер – коллоидных комплексов в ферментсодержащей среде, что для частиц подобного вида, еще не было сделано.

**Практическая значимость.** Установлены закономерности получения ПЭК, что открывает новые возможности научно - обоснованного подхода к решению проблемы получения материалов с заранее заданными свойствами.

Полученные полиэлектролитные комплексы в виде нано- и микрочастиц, могут быть использованы в качестве перспективных носителей лекарственных соединений для адресного и пролонгированного действия.

**Степень достоверности результатов и апробация работы.** Основные результаты работы доложены на II Научно-практической конференции с международным участием «Современные технологии композитных материалов». 18 – 21 октября 2016 г., Уфа, II Всероссийской молодежной конференции «Достижения молодых ученых: химические науки». 18-21 мая 2016 г., Уфа, X Международная конференция молодых учёных по химии «МЕНДЕЛЕЕВ-2017» II школа-конференция «Направленный дизайн веществ и материалов с заданными свойствами». 3 – 7 апреля, Санкт-Петербург, 2017 г., III Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки». 18 – 19 мая, Уфа, 2017 г., III Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки». 18 – 19 мая, Уфа, 2017 г., IV Всероссийская научно-практическая молодежная конференция с международным участием «Новые материалы, химические технологии и реагенты для промышленности, медицины и сельского хозяйства на основе нефтехимического и возобновляемого сырья». 15 – 16 июня, Уфа, 2017 г., Седьмая Всероссийская Каргинская Конференция «Полимеры – 2017». 19 – 24 июня – Москва, 2017 г., 9-й Международный симпозиум «Молекулярная подвижность и порядок в полимерных системах». – Санкт-Петербург, 2017 г.

**Публикации.** По теме выпускной квалификационной работы опубликовано 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК, 2 статьи в сборниках научных статей, и тезисы 10 докладов на научных конференциях.

**Объем и структура НКР.** Выпускная квалификационная работа изложена на 66 страницах машинописного текста, содержит 14 таблицу, 14 рисунков. Состоит из введения, литературного обзора, описания теоретических методик, обсуждения результатов, заключения, выводов и списка цитируемой литературы (81 наименования).

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность выбранной темы, указаны ее цель и задачи, представлена научная новизна, практическая значимость работы.

### 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

В первой главе представлен обзор литературы о хитозане. Рассмотрено получение полиэлектролитных комплексов на основе на его основе и их применение.

### 2. МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Вторая глава содержит описание объектов и методов исследования, методики получения ПЭК на основе полисахаридов. В работе использовали полимеры природного происхождения

Полимер	[ $\eta$ ], дл/г	$M_z \times 10^{-3}$ , кДа	$M_{s[\eta]} \times 10^{-3}$ , кДа	Количество звеньев, % мол.		
				R-NH <sub>2</sub>	R-NHCOCH <sub>3</sub>	R-COOH
ХТЗ-30	0,7	-	30	75	25	-
ХТЗ-70	2.0	70*		87	13	-
ХТЗ-100	3.5	100*		87	13	-
СХТЗ-26	0,6	-	26**	20	18	62
СХТЗ-207	3.6	-	207**	20	18	62
ГК-800	21,8		800	-	50	50

Третья глава посвящена обсуждению и интерпретации полученных экспериментальных результатов.

### 3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

**3.1. Влияние различных факторов на размерные характеристики интерполиэлектролитных комплексов на основе полисахаридов.**

**3.1.1 Влияние мольных соотношений и общего концентрационного режима растворов интерполиэлектролитного комплекса хитозан – гиалуроновая кислота на размер частиц.**

Формирование интерполиэлектролитного комплекса (ИПЭК) происходит за счет электростатических взаимодействий между ионогенными группами хитозана, который является поликатионом, а гиалуроновая кислота (ГК) полианионом.

В ацетатном буфере (рН = 3.6) и в физиологическом растворе (рН = 6.5), т.е. в средах со значениями рН, находящимися в интервале рК обоих полимеров (для гиалуроновой кислоты  $pK_a = 3$ , для хитозана  $pK_a = 6.3 - 6.5$ ), наблюдаются наиболее

сильное взаимодействие между полиэлектролитами, однако это приводит к выпадению осадка. Некоторое уменьшение электростатических взаимодействий в фосфатном буфере (рН = 7.4) приводит к образованию золя при использовании сопоставимых количеств компонентов, а в случае избытка одного из компонентов раствор остается прозрачным. Известно, что хитозан не растворяется в воде (при рН ~ 7), однако соли, в том числе хлорид хитозана являются сильными полиэлектролитами и способны растворяться при рН  $\geq 7$ . При взаимодействии аммонийных групп хитозана и карбоксилатных групп гиалуроновой кислоты наблюдается образование интерполиэлектролитных комплексов в виде водных дисперсии полимер-коллоидных частиц.

Из литературы известно, что ИПЭК формируются в диапазоне рН, находящемся в интервале рКа обоих полимеров. гиалуроновая кислота с ММ = 800000 кДа представляет собой слабую кислоту с рКа ~ 3. Для исследуемого образца хлорида хитозана с ММ= 30000 кДа степень деацетилирования составила 75% и его рКа > 7.

При смешении растворов полиэлектролитов концентраций меньше 0.01% при любом мольном соотношении компонентов в области рН = 3.6 – 6.5 (ацетатные буферы) видимых изменений в системе не происходит, оптическая плотность остается постоянной. При увеличении концентрации до 0.1% независимо от порядка смешения и при любых мольных соотношениях компонентов выпадает осадок.

При рН = 7.4 (фосфатный буфер) система оказывается за пределами диапазона рКа обоих полиэлектролитов, и сила электростатических взаимодействий между звеньями макромолекул уменьшается. В результате в зависимости от мольного соотношения ионогенных групп наблюдается образование комплексов не только в виде осадков, но и в виде золя (табл.3.1).

Таблица 3.1 Влияние рН и состава среды на формирование ИПЭК ГК-ХТЗ

№	Растворитель	рН	Наблюдение
1	Ацетатный буфер	3.6	Осадок или раствор
2		4.5	-//-
3	Вода дистиллированная	6.5	-//-
4	Физиологический раствор	7.0	-//-
5	Фосфатный буфер	7.4	Золь (избыток хитозана)

При образовании ИПЭК в УФ-спектрах обнаружено резкое увеличение оптической плотности смеси растворов гиалуроновой кислоты и хитозана, относительно исходных растворов (рис. 3.1).

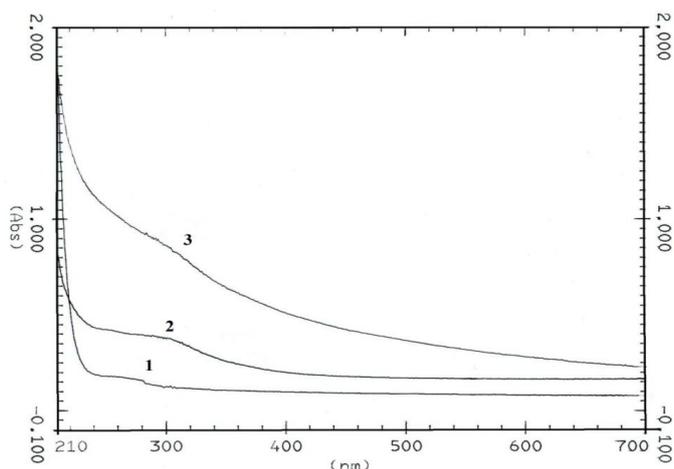


Рис. 3.1. УФ – спектры растворов в фосфатном буфере (рН = 7.4): 1 – гиалуроновая кислота ( $C_{ГК} = 0.09\%$ ), 2 – хитозан ( $C_{ХТЗ} = 0.06\%$ ), 3 – смесь хитозан – гиалуроновая кислота.

В ИК-спектре изменения в системе наблюдаются в области 1500-1700 см<sup>-1</sup>: исчезают полосы поглощения при 1640 см<sup>-1</sup> (деформационные колебания свободных первичных аминогрупп в С-2 положении) и при 1610 см<sup>-1</sup> (карбоксильные группы гиалуроновой кислоты), что свидетельствует о взаимодействии аминогрупп хитозана и карбоксильных групп гиалуроновой кислоты.

Растворы смесей полиэлектролитов оптически прозрачны до  $Z_{\min}$ , что соответствует образованию растворимых ИПЭК, при этом свободные макромолекулы несвязанного поликатиона хитозана сосуществуют в растворе с ИПЭК. При увеличении содержания полианиона - гиалуроновой кислоты в растворе выше некоторого значения мольного соотношения  $Z_{\min}$  начинается экспоненциальный рост оптической плотности и появление визуально фиксируемой опалесценции, что говорит о формировании дисперсий частиц ИПЭК. Увеличение концентрации полианиона в системе свыше некоторого мольного соотношения компонентов  $Z_{\text{пред}}$  ведет к выпадению осадка в результате агрегации частиц ИПЭК. Обнаружено, что при уменьшении концентрации обоих полиэлектролитов величина  $Z_{\min}$  практически не изменяется, а значение  $Z_{\text{пред}}$  увеличивается (табл. 3.2). В интервале мольных соотношений компонентов от  $Z_{\min}$  до  $Z_{\text{пред}}$  образуются агрегативно устойчивые ИПЭК.

Таблица 3.2. Значения  $Z_{\min}$  и  $Z_{\text{пред}}$  при различных концентрациях гидрохлорида хитозана и гиалуроновой кислоты в фосфатном буфере

$C_{ХТЗ}$ , % масс.	$C_{ГК}$ , % масс.	$Z_{\min}$	$Z_{\text{пред}}$
0.060	0.090	0.15	0.30
0.030	0.045		0.36
0.020	0.030		0.39
0.015	0.022		0.40

Исследования размеров частиц ИПЭК методом лазерного рассеяния показали, что при увеличении  $z$  от 0.15 до 0.30 растет средний размер и увеличивается доля крупных частиц (рис. 3.2).

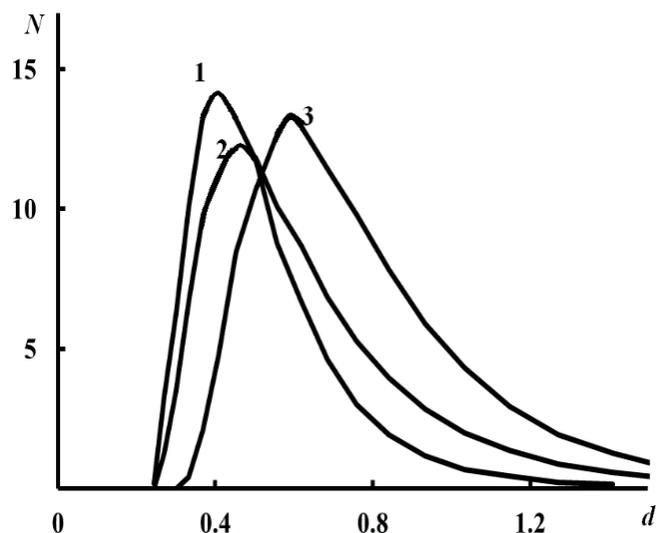


Рис. 3.2. Дифференциальные кривые распределения частиц ИПЭК по размерам  $d$  (мкм).  $N$  – количество частиц (%). Мольное соотношение  $z$ : 1– 0.15; 2 – 0.25; 3 – 0.30. Концентрации полиэлектролитов (масс. %): 0.03(хитозан); 0.045 (гиалуроновая кислота).

Обнаружено, что размер частиц ИПЭК зависит не только от мольного соотношения компонентов  $z$ , но и от общей концентрации раствора. При уменьшении концентрации полиэлектролитов при одном и том же значении  $z$  размер частиц уменьшается (рис. 3.3).

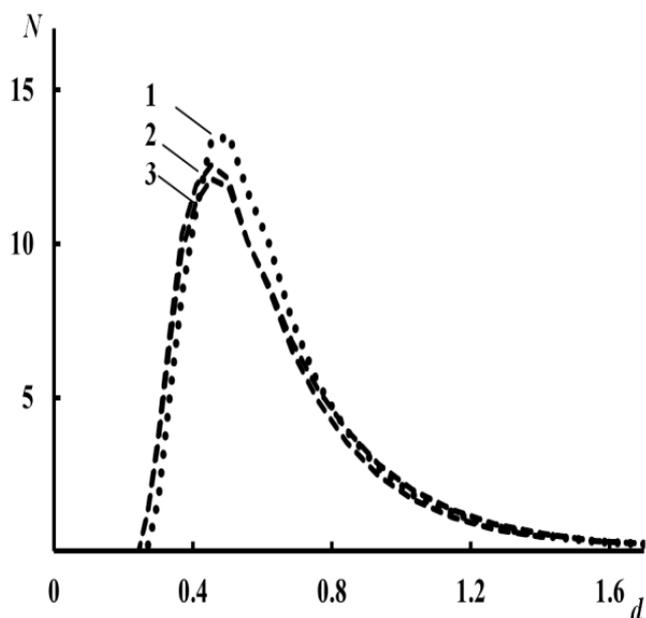


Рис. 3.3. Дифференциальные кривые распределения частиц ИПЭК при  $z = 0.25$  по размерам  $d$  (мкм).  $N$  – количество частиц (%). Общая концентрация раствора полиэлектролитов  $\omega$  (масс. %): 1 – 0.033; 2 – 0.023; 3 – 0.016.

Анализ систем с  $z = 0.25$  показал, что при значениях массовых концентраций  $\omega = 0.016$  масс. % дисперсной системы не образуется. При массовых концентрациях  $\omega = 0.016 - 0.033$  масс. % (табл. 2, рис. 3.4) распределение не меняется, однако средний размер частиц линейно растет и система становится агрегативно неустойчивой. Агрегативно устойчивые системы со средними размерами частиц от 0.355 мкм до 0.573 мкм образуются при  $\omega = 0.016 - 0.068$  масс. %. При  $\omega = 0.07$  масс. % уже в первые сутки с момента смешения полиэлектролитов образуется осадок.

Для ИПЭК со средним размером частиц 0.523 мкм исследовалась агрегативная устойчивость системы во времени. Обнаружено (рис. 3.4), что при выдержке в течение трех недель размер частиц увеличился на 22%. Следовательно, размер частиц зависит не только от мольного соотношения компонентов, но и от времени выдержки системы.

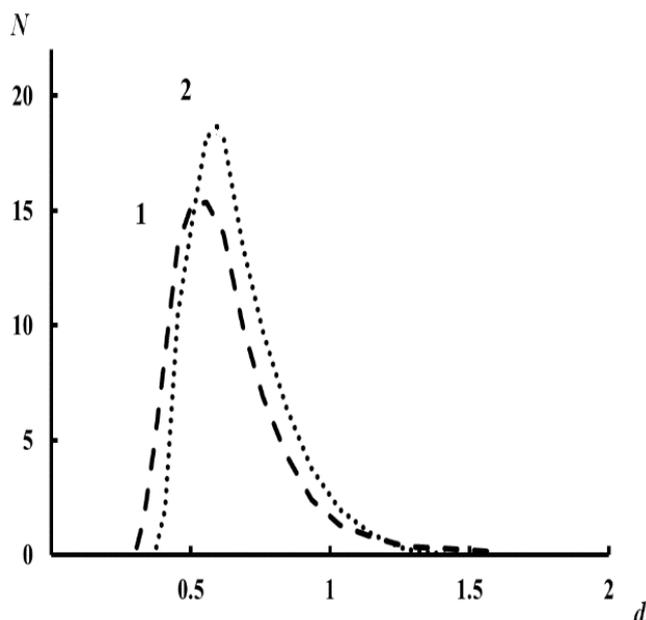


Рис. 3.4. Дифференциальные кривые распределения частиц ИПЭК при  $z = 0.25$  по размерам  $d$  (мкм).  $N$  – количество частиц (%). Общая концентрация раствора полиэлектролитов  $\omega = 0.065$  масс. %. Время выдержки смеси: 1 – 1 сутки, 2 – 3 недели.

Устойчивость к разбавлению систем, образованных ИПЭК, контролировали спектрофотометрически по изменению оптической плотности при пятикратном разбавлении системы и по изменению размеров частиц. При этом оптическая плотность растворов уменьшалась кратно разбавлению, а размеры частиц не изменялись, что свидетельствует о том, что в системе не наблюдалось каких-либо процессов связанных с диссоциацией комплекса.

### 3.1.2 Влияние мольных соотношений и общей массовой концентрации растворов интерполиэлектролитных комплексов гидрохлорида хитозана и N – сукцинил хитозана.

Взаимодействие в системе полиэлектролитов изучали по изменению оптической плотности раствора в ходе турбидиметрического титрования. На кривой турбидиметрического титрования можно выделить три концентрационные области существования ИПЭК.

Первая область, начиная с критической концентрации агрегации до момента начала роста мутности, соответствует образованию растворимых комплексов, при этом свободные молекулы ПЭ сосуществуют в растворе с частицами комплекса (рисунок 3.5, участок I). Далее при увеличении содержания БПЭ в растворе выше некоторого значения мольного соотношения компонентов  $z_{\min}$  наблюдается появление визуально фиксируемой опалесценции и по мере увеличения  $z$  укрупнение размеров частиц ИПЭК. В интервале

мольных соотношений компонентов от  $z_{\min}$  вплоть до некоторого предельного состава комплексов  $z_{\text{пред}}$  (рисунок 3.5, участок II) образуются агрегативно устойчивые частицы ИПЭК. При этом концентрация ПЭ ниже концентрации кроссовера. Увеличение количества БПЭ в системе выше  $z_{\text{пред}}$  приводит к фазовому разделению (рисунок 3.5, участок III).

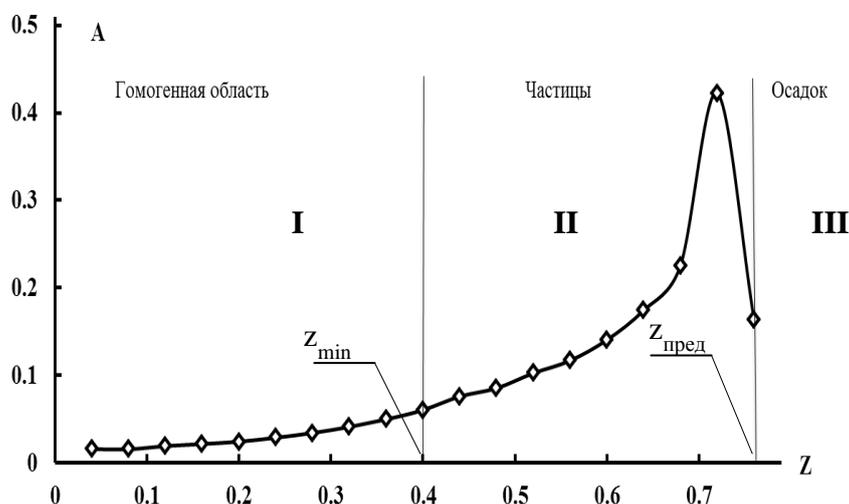


Рисунок 3.5. Концентрационные области на кривой турбидиметрического титрования раствора N-сукцинил-хитозана раствором гидрохлорида хитозана.

При формировании ИПЭК относительно высокомолекулярный полиэлектролит называется лиофилизующим (ЛПЭ), а относительно низкомолекулярный — блокирующим (БПЭ). Если при смешении ЛПЭ находится в избытке и выполняется условие  $M_{\text{ЛПЭ}} > M_{\text{БПЭ}}$  [7], при добавлении БПЭ вначале образуется водорастворимый нестехиометрический ИПЭК. Дальнейшее изменение состава, т.е. увеличение  $z$ , сопровождается образованием фазы нерастворимого ИПЭК стехиометрического состава, сосуществующего с растворимым комплексом вплоть до  $z = 1$ . Таким образом, особенностью рассматриваемой системы является то, что дисперсия частиц нерастворимого ИПЭК образуется уже при минимальном соотношении компонентов. Область существования дисперсий частиц ИПЭК ограничивается мольными соотношениями полисахаридов  $z_{\text{пред}}$ , при которых уже в процессе смешения компонентов наблюдается выпадение осадка комплекса. Другой особенностью рассматриваемых систем является то, что даже при  $z < z_{\text{пред}}$  они оказываются агрегативно неустойчивыми, и в них непрерывно развиваются процессы, ведущие к укрупнению частиц и выпадению осадка. На это указывает ряд экспериментальных результатов.

Выбор пары полисахаридов гидрохлорид хитозана — N-сукцинил хитозана, помимо их физиологической значимости для биомедицинского применения, обусловлен тем, что оба компонента, как отмечалось ранее, соли, хорошо растворимы в нейтральной водной

среде и выступают как сильные полиэлектролиты. Водные растворы гидрохлорида ХТЗ имеют рН = 5.6-5.8, а водные растворы СХТЗ рН = 7-7.5. Водные растворы смесей ХТЗ - СХТЗ имеют рН 6.5-7.0, т.е. вполне укладываются в диапазон физиологически приемлемых значений рН = 5.5-7.4. В условиях эксперимента в водной среде можно не брать в расчет то, что СХТЗ потенциально является полиамфолитом, способным в определенных условиях давать два типа заряженных групп  $-\text{COO}^-$  и  $-\text{NH}_3^+$ , и считать, что в нейтральном водном растворе в отсутствие протонирующих агентов он выступает в качестве сильного полианиона. Аналогично можно считать, что полимерная четвертичная аммонийная соль – гидрохлорид хитозана в нейтральной водной среде представляет собой поликатион.

Путем варьирования концентрации и мольных соотношений компонентов полиэлектролитной системы были установлены области существования устойчивых дисперсий полиэлектролитного комплекса хитозан – сукцинат хитозана

При визуальном наблюдении за фазовым поведением смесей СХТЗ с молекулярной массой 200 кДа и ХТЗ с молекулярной массой 30 кДа видно, что уже при минимальном добавлении относительно низкомолекулярного компонента – ХТЗ к раствору относительно высокомолекулярного компонента – СХТЗ образуются мутные системы (рис.3.6).

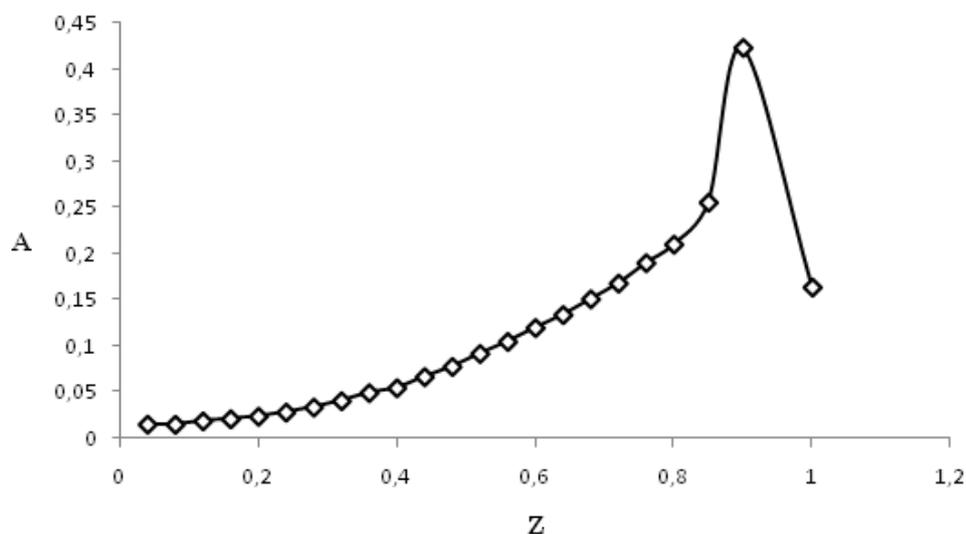


Рис. 3.6. Турбидиметрическое титрование 0.005 М раствора N-сукцинил-хитозана 0.005 М раствором гидрохлорида хитозана, T=25°C.

Влияние соотношения на размерность ИПЭК, включающей СХТЗ низкой молекулярной массы аналогично полианиону с высокой ММ. Из данных турбидиметрического титрования растворов сукцината хитозана различной молекулярной массы хлоридом хитозана следует, что лиофилизирующая способность СХТЗ

увеличивается с ростом молекулярной массы. Значения предельных составов комплексов  $z_{пред}$  при которых система остается устойчивой к агрегации увеличиваются с молекулярной массой. Так как большему значению  $z_{пред}$  соответствует большее количество полиионов СХТЗ, включенных в частицы комплексов, то и размерные характеристики образуемых частиц ИПЭК могут существенно отличаться. Уменьшение молекулярной массы полианиона способствует получению более крупных частиц по мере понижения концентрации компонентов ИПЭК, что может быть обусловлено образованием большего количества солевых связей между ионогенными группами.

Для систем, полученных при  $z < z_{пред}$  и выдержанных сутки с момента получения, определены размеры частиц дисперсной фазы (табл. 3.3).

Таблица 3.3. Влияние суммарной массовой концентрации полиэлектролитов в растворе и их мольных соотношений на размер частиц ИПЭК

$\omega$ , % масс	$z$	$D_h$ , нм	$\omega$ , % масс	$z$	$D_h$ , нм
0.10	0.5	112	0.48	0.3	112
0.10	0.6	258	0.50	0.4	258
0.10	0.7	271	0.52	0.5	271
0.11	0.8	361	0.54	0.6	361
0.21	0.2	198	0.92	0.2	363
0.22	0.4	325	0.94	0.4	340
0.22	0.6	381	1.00	0.6	312

Как видно, средние размеры частиц лежат в диапазоне  $D_{нач.} = 110-380$  нм. При этом проявляется зависимость среднего размера частиц от мольного соотношения компонентов, но зависимости для систем с разной суммарной массовой концентрацией полимеров в растворе ( $\omega$ ) различны (рис.3.7).

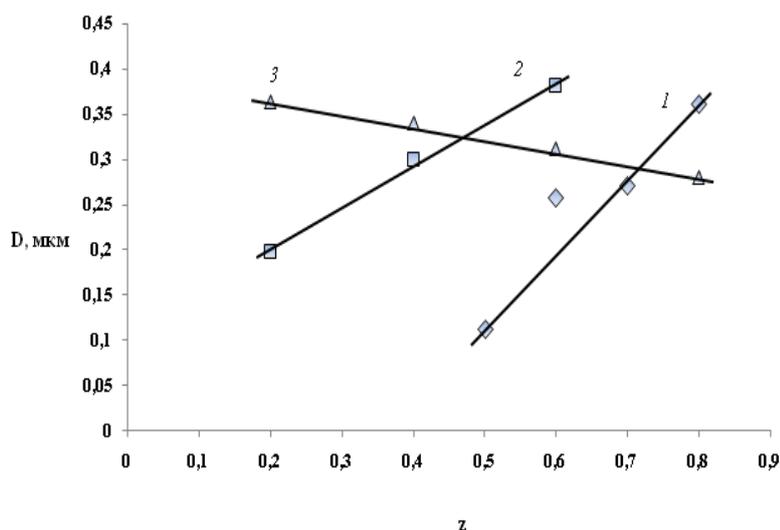


Рис. 3.7. Зависимость средних размеров частиц ИПЭК ХТЗ-30-СХТЗ-200 от мольного соотношения компонентов в смеси при различных суммарных массовых концентрациях полимеров в растворе  $\omega$ : 0.1 (1); 0.21 (2); 1.0 % масс (3).

В относительно разбавленном растворе полисахаридов при  $\omega = 0.1$  % масс. средний размер частиц линейно растет с увеличением  $z$  в интервале 0.5-0.8. Очевидно, при значительном недостатке ХТЗ-30 как блокирующего полиэлектролита образуется сравнительно небольшое число дисперсных частиц и вероятность их участия в агрегационных процессах сравнительно невелика. Увеличение соотношения ХТЗ/СХТЗ приводит к увеличению числа частиц и, соответственно, вероятности их вовлечения в образование агрегатов большего размера. Увеличение концентрации полимерного раствора в 2 раза ( $\omega = 0.2$  % масс) приводит к тому, что даже при значительном недостатке ХТЗ-30 численная концентрация дисперсных частиц возрастает, и средний размер частиц оказывается больше. Линейный рост  $D$ нач. с ростом соотношения ХТЗ/СХТЗ сохраняется, однако зависимость оказывается более слабой, чем для более разбавленного раствора. При увеличении концентрации полимерного раствора на порядок до  $\omega = 1.0$  % масс. зависимость обращается - средний размер частиц с ростом  $z$  уменьшается. Это вполне, вероятно, может быть связано с дальнейшим развитием процессов агрегации, когда наиболее крупные частицы переходят в небольшое количество тонкого осадка, способного адсорбироваться на стенках реакционного сосуда и в принятых условиях эксперимента выпадать из поля наблюдения.

Таким образом, характерной особенностью взаимодействия электростатически комплементарных полиэлектролитов - гидрохлорида ХТЗ и N-сукцинил-хитозана в нейтральном водном растворе является образование дисперсных систем с разбавленной дисперсной фазой частиц стехиометрических ИПЭК, начиная с самых малых мольных соотношений компонентов в смеси. Характерной чертой всех полученных дисперсных систем является их неустойчивость, проявляющаяся в непрерывном развитии во времени

процессов агрегации частиц, приводящих к распаду систем с образованием осадка нерастворимого ИПЭК.

Средний размер частиц в области относительной агрегативной устойчивости дисперсных систем составляет 100-380 нм, что учитывая высокую биологическую активность исследуемых полисахаридов, их биосовместимость и биodeградируемость создает перспективы для их использования в качестве носителей лекарственных сред для их адресного транспорта в организме.

### **3.1.3 Влияние молекулярной массы N-сукцинил-хитозана и гидрохлорида хитозана на размерные характеристики частиц и устойчивость полимер-коллоидных комплексов на их основе**

При рассмотрении взаимодействия исследуемых полисахаридов при смешении их растворов необходимо иметь в виду, что сами растворы индивидуальных полимеров в зависимости от концентрации могут иметь сложную надмолекулярную структуру. Так, при исследовании растворов высокомолекулярных образцов ХТЗ в термодинамически хороших растворителях показано, что уже разбавленные растворы с концентрациями полимера ниже точки кроссовера  $C^* = 1/[\eta]$  являются структурированными системами. В случае ХТЗ с молекулярной массой 100 кДа точка кроссовера составляет 0.3 % масс., для СХТЗ с молекулярной массой 207 кДа в водном растворе значение  $C^* = 0.27$  % масс., т.е. в растворах с концентрацией  $> 0.3$  % масс. СХТЗ-207 кДа и ХТЗ-100 кДа представляют собой ассоциированные системы взаимодействующих между собой макромолекул. В случае сравнительно низкомолекулярных полисахаридов точки кроссовера для растворов индивидуальных полимеров составляют 1.7 % масс. для СХТЗ-26 кДа и 1.4 % масс. для ХТЗ-30 кДа. В растворах неионогенных полимеров после превышения  $C^*$  начинается формирование трехмерной флуктуационной сетки зацеплений, в которой узлами контактов являются зацепления участков макромолекул. Однако особенностью растворов заряженных макромолекул является наличие протяженной концентрационной области полуразбавленных растворов, в которых макромолекулярные клубки уже соприкасаются, а сетки зацеплений еще нет, что является следствием электростатического отталкивания одноименно заряженных звеньев цепей. Соответственно, при рассмотрении процессов формирования частиц дисперсной фазы ПЭК следует исходить из того, что даже в разбавленных по каждому компоненту растворах сравнительно низкомолекулярных полимеров СХТЗ-26 кДа и ХТЗ-30 кДа во взаимодействии между собой участвуют не только отдельные макромолекулы ПЭ, но и находящиеся с ними в равновесии объемные макромолекулярные ассоциаты. В этом случае солевые связи образуют только доступные к взаимодействию заряженные группы на поверхности ассоциатов. Каждый ассоциат

имеет большое число поверхностных зарядов, что обеспечивает ему возможность связываться с несколькими комплементарно заряженными ассоциатами. Очевидно, именно это обуславливает формирование достаточно крупных частиц, быстро теряющих седиментационную устойчивость. В растворах смесей СХТЗ-26 кДа и ХТЗ - 30 кДа с общей массовой концентрацией полимеров  $\omega = 0.17-0.56$  % масс. при  $z \leq z_{\text{пред.}}$  выпадение осадка ПЭК наблюдается в течение дня с момента их получения. Размеры частиц ПЭК, определенные в течение 1-2 часов с момента смешения, лежат в интервале  $D_{\text{нач.}} = 200-281$  нм (табл.3.4).

Таблица 3.4 Влияние суммарной массовой концентрации полиэлектролитов СХТЗ-26 и ХТЗ- 30 в растворе и их мольных соотношений на размер частиц ПЭК

$\omega$ , % масс.			$z$	$D_{\text{нач.}}$ , нм
общая	СХТЗ-26	ХТЗ-30		
0.17	0.16	0.008	0.5	219
0.18	0.16	0.016	0.6	204
0.20	0.16	0.036	0.7	266
0.21	0.16	0.048	0.8	242
0.42	0.4	0.02	0.2	200
0.44	0.4	0.04	0.4	206
0.46	0.4	0.06	0.6	240
0.48	0.4	0.08	0.8	281
0.50	0.4	0.10	0.2	216
0.52	0.4	0.12	0.4	239
0.54	0.4	0.14	0.6	252
0.56	0.4	0.16	0.8	264

При этом прослеживается слабая прямая зависимость размера частиц от мольного соотношения полиэлектролитов в растворе.

К аналогичному результату должно приводить и повышение концентрации полимеров в растворе, увеличивающее общее число взаимодействующих объектов. Однако влияние концентрации раствора заряженных макромолекул представляется более сложным. В показано, что введение в раствор ХТЗ отрицательно заряженных коллоидных частиц (золя AgJ) приводит к более раннему формированию сетки зацеплений, вырождению концентрационной области, отвечающей контактирующим, но не зацепленным макромолекулам, вследствие нейтрализации заряда ХТЗ с образованием межцепных

ионных связей. Формирование флуктуационной сетки зацеплений, т.е. структурирование раствора вследствие появления дополнительной сетки с узлами ПЭК, приводит к смене механизма массопереноса в системе с трансляционного на репутационный. Очевидно, уже по этой причине время массопереноса в процессе формирования седиментационно неустойчивых частиц должно увеличиваться и в течение этого времени в объеме жидкой фазы будут обнаруживаться микрочастицы ПЭК. При увеличении концентрации полимерного раствора смеси СХТЗ-26 и ХТЗ-30 до  $\omega \approx 2.0$  % масс. время до выпадения осадка ПЭК увеличивается до 3 дней, а начальные размеры частиц возрастают до 350-450 нм (табл. 3.5).

Таблица 3.5. Размер частиц ПЭК для систем СХТЗ-26 и ХТЗ-30

$\omega$ , % масс.			z	D, нм после выдерживания, дней	
				в день получения	3
общая	СХТЗ-26	ХТЗ-30			
2.05	2.0	0.05	0.2	353	369
2.10	2.0	0.10	0.4	371	367
2.15	2.0	0.15	0.6	392	394
2.20	2.0	0.20	0.8	450	438

В смесях СХТЗ-207 и ХТЗ-100, различающихся по молекулярной массе, при  $z < z_{\text{пред}}$  также сразу образуются мутные системы, которые в случае разбавленных по каждому компоненту растворов быстро распадаются с образованием осадков, как и в случае низкомолекулярных ПЭ. Однако, если хотя бы один компонент использован в виде полуразбавленного раствора, в общей смеси, вероятно, происходит структурирование раствора вследствие появления дополнительной сетки с узлами ПЭК, что, как отмечено выше, ведет к увеличению времени до распада системы. В данном случае до 7 дней (табл.3.6).

Таблица 3.6. Размер частиц ПЭК для систем СХТЗ-207 и ХТЗ-100

$\omega$ , % масс.			z	D, нм после выдерживания, дней	
				1	7
общая	СХТЗ-207	ХТЗ-100			
0.48	0.40	0.08	0.3	146	185
0.50	0.40	0.10	0.4	215	339
0.52	0.40	0.12	0.5	235	349
0.54	0.40	0.14	0.6	241	*

\* Выпал осадок

При этом прослеживается прямая зависимость начального размера частиц от мольного соотношения полиэлектролитов в смеси.

Система СХТЗ-207 и ХТЗ-30 имеет наибольшее различие молекулярных масс. Это, вероятно, и обусловило возможность получения наибольшей относительной агрегативной устойчивости в ряду исследованных систем (до 30 суток). На примере систем СХТЗ-207 - ХТЗ-30 проявляется сильная зависимость агрегативной устойчивости систем от условий их получения. Развивающиеся во времени процессы, проявляются не только в величине интервала до момента осадкообразования, но и в относительном изменении размеров частиц, вплоть до момента образования осадка, в зависимости от мольного соотношения компонентов смеси и концентрационного режима общего раствора. Начальные размеры частиц  $D_{нач}$  определены для систем, полученных при  $z < z_{пред}$  и выдержанных сутки с момента получения (табл. 3.7).

Таблица 3.7. Влияние суммарной массовой концентрации полиэлектролитов СХТЗ-207 и ХТЗ-30 в растворе и их мольных соотношений на размер частиц ПЭК

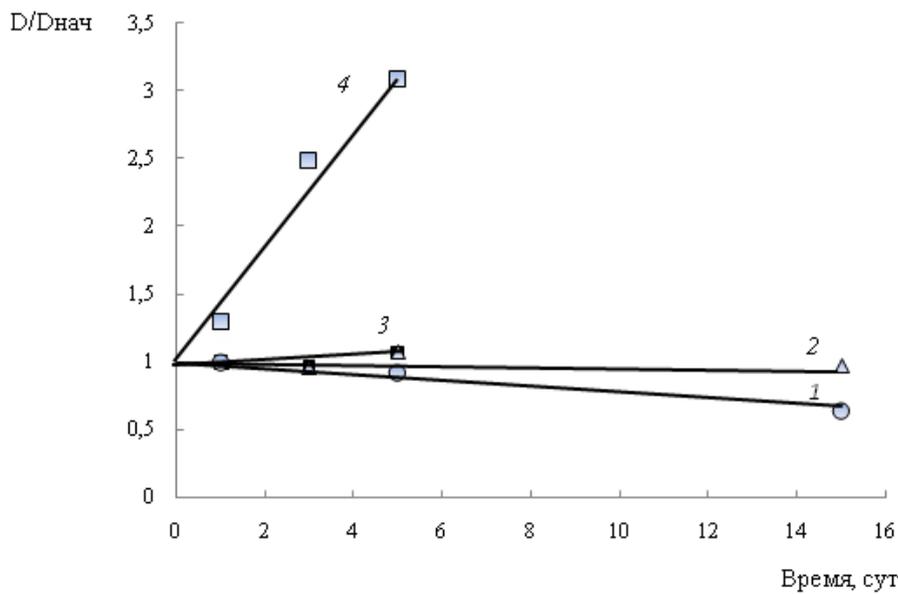
$\omega$ , % масс			$z$	$D$ , нм после выдерживания, дней				
общая	СХТЗ-2	ХТЗ-1		1	3	5	15	30
0.096	0.08	0.016	0.5	112	279	346	*	*
0.100	0.08	0.02	0.6	258	256	276	*	*
0.104	0.08	0.024	0.7	271	264	293	266	*
0.108	0.08	0.028	0.8	361	306	335	223	*
0.50	0.40	0.10	0.4	258	259	253	255	256
0.52	0.40	0.12	0.5	271	270	266	263	264
0.54	0.40	0.14	0.6	361	324	326	288	210
0.92	0.80	0.12	0.2	363	350	298	260	223
0.94	0.80	0.14	0.4	340	308	290	276	232
0.96	0.80	0.16	0.6	312	300	284	280	272

\* Выпал осадок

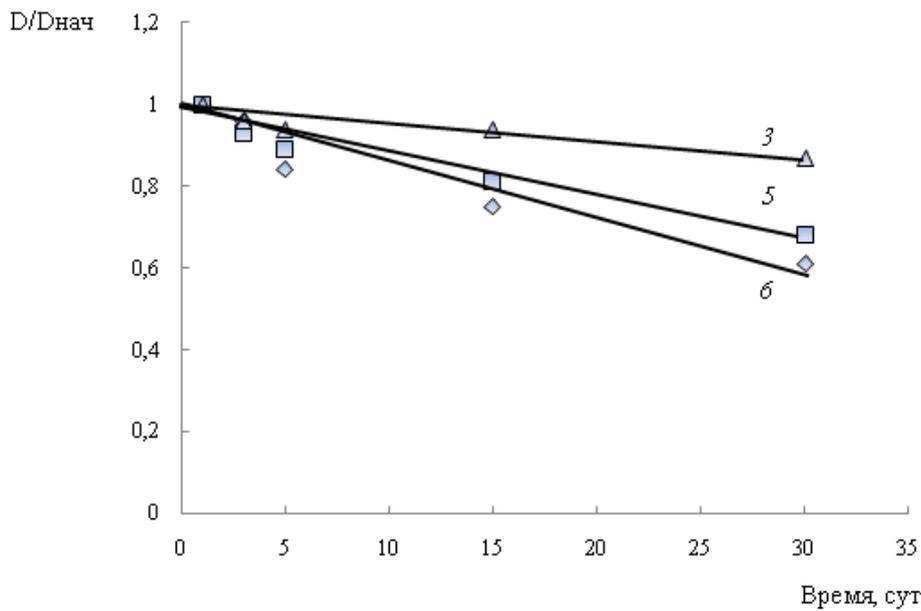
Как видно начальные средние размеры частиц лежат в диапазоне  $D_{нач} = 110-360$  нм. При этом, как и в выше описанных системах, проявляются прямые зависимости среднего размера частиц от мольного соотношения компонентов, но зависимости для систем с разной концентрацией высокомолекулярного СХТЗ-207 в растворе различны. В разбавленных по СХТЗ-207 растворах полисахаридов с  $\omega = 0.08$  % масс. средний размер частиц линейно растет с увеличением  $z$  в интервале 0.5-0.8. Очевидно, при значительном

недостатке ХТЗ как блокирующего полиэлектролита образуется сравнительно небольшое число дисперсных частиц и вероятность их участия в последующих агрегационных процессах сравнительно невелика. Увеличение соотношения ХТЗ/СХТЗ приводит к увеличению числа частиц и соответственно вероятности их вовлечения в образование агрегатов большего размера.

В растворах любой концентрации при одном и том же значении  $z$  во времени развиваются процессы, проявляющиеся в относительном изменении размеров частиц  $D/D_{нач.}$ , вплоть до момента образования осадка (рис.1). В разбавленном растворе полисахаридов при значительном недостатке ХТЗ ( $z = 0.5$ ) как блокирующего полиэлектролита образуются частицы с наименьшим в данной системе размером, и во времени наблюдается увеличение размеров частиц в 3 раза к моменту образования осадка (рис.3.8 а) при сравнительно небольшом времени до образования осадка - 5 дней. При увеличении содержания ХТЗ сразу образуются частицы сравнительно большого размера, а относительный размер частиц в объеме раствора перестает изменяться во времени ( $z = 0.6$ ) или несколько уменьшается ( $z = 0.7-0.8$ ) при этом время до образования осадка увеличивается до 15 дней. В концентрированных по СХТЗ-2 растворах наблюдается только относительное уменьшение размера частиц во времени (рис. 3.8 б). При этом стабильность систем увеличивается до 30 дней.



*a*



*б*

Рис 3.8. Относительное изменение размеров частиц ПЭК ХТЗ-2 – СХТЗ-1 от времени выдержки при различных мольных соотношениях компонентов в смеси  $z$  и различной суммарной массовой концентрацией полимеров в растворе  $\omega$ . Мольное соотношение  $z$ : 1- 0.8; 2 – 0.7; 3 – 0.6; 4 – 0.5; 5 – 0.4; 6 – 0.2. Массовая концентрация полимеров в растворе  $\omega$ , % масс.: а – 0.10–0.11; б – 0.92-0.96.

Таким образом, характерным для взаимодействия гидрохлорида ХТЗ и N-сукцинил ХТЗ в нейтральном водном растворе является образование неустойчивых систем с дисперсной фазой частиц ПЭК, в которых непрерывно развиваются во времени процессы, приводящие к изменению размеров частиц и, в конечном счете, к распаду систем с образованием осадка.

Агрегативную устойчивость водных дисперсий ИПЭК оценивали по изменению размеров частиц в течение 3-х недель с момента получения комплекса средние размеры частиц при  $z = 0.60$  увеличились на ~40%, а при более длительном хранении ПЭК теряет устойчивость и происходит процесс агрегации частиц с последующим выпадением осадка ИПЭК. В работе [Yuliana Monsalve, Ligia Sierra,\* Betty L. L «Preparation and Characterization of Succinyl-Chitosan Nanoparticles for Drug Delivery» *Macromol. Symp.* 2015, 354, 91–98 .DOI: 10.1002/masy.201400128] также наблюдалась продолжительная устойчивость наночастиц системы хитозан-сукцинат хитозана в течение 30 дней в области pH 4.5 при 4<sup>0</sup>C с размерами в области 140-250 нм.

### 3.1.4 Ферментативная устойчивость нанодисперсий полиэлектролитного комплекса п-сукцинил-хитозана и гидрохлорида хитозана на размерные характеристики частиц и устойчивость полимер-коллоидных комплексов

При сливании растворов ХТЗ и СХТЗ образуется дисперсная система микрочастиц ПЭК, что обнаруживается по появлению опалесценции смеси. В настоящей работе исследовали дисперсную систему, образующуюся при  $z = 0.4$  в растворе с общей концентрацией по сумме полимеров 0.94 % масс. При этом парциальная концентрация СХТЗ в растворе составила 0.80 % масс., соответственно ХТЗ - 0.14 % масс. В этой системе образуются микрочастицы, которые имеют начальный средний размер порядка 340 нм. Система относительно устойчива и сохраняет дисперсное состояние в течение 30 дней, хотя в ней непрерывно идут процессы, приводящие к изменению размеров частиц (табл. 3.8). Через 30 дней в системе происходит фазовый распад с образованием осадка.

Таблица 3.8

Изменение размеров частиц ПЭК ХТЗ - СХТЗ-2 во времени

ω, % масс			z	D, нм после выдерживания, дней				
Общая	СХТЗ-2	ХТЗ		1	3	5	15	30
0.94	0.80	0.14	0.4	340	308	290	276	232

В присутствии фермента происходит деструкция цепей полисахаридов, формирующих частицы ПЭК, результатом чего является уменьшение размеров частиц во времени (табл. 3.9). Так, при исследовании растворов высокомолекулярных образцов ХТЗ в термодинамически хороших растворителях показано, что уже разбавленные растворы с концентрациями полимера ниже точки кроссовера  $C^* = 1/[\eta]$  являются структурированными системами. В случае СХТЗ с молекулярной массой 207 кДа в водном растворе значение  $C^* = 0.27$  % масс., т.е. растворы с концентрацией  $> 0.3$  % масс. являются ассоциированными системами взаимодействующих между собой макромолекул.

Соответственно, при рассмотрении процесса формирования частиц дисперсной фазы ПЭК следует исходить из того, что во взаимодействии между собой участвуют не только отдельные макромолекулы полиэлектролитов, но и находящиеся в равновесии с ними объемные макромолекулярные ассоциаты. В этом случае солевые связи образуют только доступные к взаимодействию заряженные группы на поверхности ассоциатов.

Таблица 3.9. Изменение размера частиц ПЭК ХТЗ-30 – СХТЗ-207 во времени в процессе ферментативной деструкции в растворе с массовой концентрацией полимеров 0.94 % и  $Z = 0.4$  при 25°C

C <sub>ф</sub> , %	Время экспозиции, мин										
	0	5	10	20	30	60	90	120	180	360	400
масс.	Размер, частиц <i>D</i> , нм										
0.005	198	185	183	160	150	75	75	75	75	40	осадок
0.012	193	100	93	-	15	15	15	15	15	15	осадок
0.054	193	163	17	осадок							
0.120	193	178	55	осадок							

Соответственно можно предположить существование периферийных областей частиц ПЭК, состоящих из неплотно упакованных участков цепей полисахаридов каждого вида. Очевидно, именно это обуславливает формирование достаточно крупных частиц ПЭК с одной стороны, и доступность звеньев цепей для взаимодействия с ферментом, с другой стороны. «Выкусывание» ферментом участков рыхло упакованных цепей приводит к более или менее быстрому (в зависимости от соотношения  $C_{пол}/C_{ф}$ ) уменьшению наблюдаемого размера частиц, по всей вероятности, до размера плотно упакованных областей частицы ПЭК, стабилизированных солевыми связями.

Появление в растворе свободных фрагментов комплементарных по заряду полиэлектролитов создает возможность их повторного участия в полиэлектролитных взаимодействиях с образованием ПЭК. Однако при рассмотрении такой возможности следует учесть, что во взаимодействие вступают деструктурированные макромолекулы значительно меньших молекулярных масс, в сравнении с исходными полиэлектролитами.

Отдельный эксперимент показывает, что если во взаимодействие вводить ХТЗ-30 и СХТЗ -26 с относительно малыми сопоставимыми молекулярными массами, то образуются крайне неустойчивые дисперсные системы, в которых быстро происходит

фазовое разделение с образованием осадка ПЭК. Так, в растворах смесей ХТЗ-30 и СХТЗ-26 выпадение осадка ПЭК наблюдается уже через несколько часов с момента их получения. Размеры частиц ПЭК, определенные в течение 1-2 часов с момента смешения, лежат в интервале  $D_{нач.} = 206-370$  нм (табл. 3.10).

Очевидно, именно по этой причине после достижения размеров частиц порядка 15-50 нм (соответственно, накопления достаточного количества низкомолекулярных полисахаридов) в ферментосодержащих системах происходит образование осадка ПЭК. При соотношении  $C_{пол.}/C_{ф} \approx 10^2$  это достигается за 6 часов, а при  $C_{пол.}/C_{ф} \approx 10$  за 2 часа экспозиции.

Таблица 3.10. Размер частиц ПЭК для систем ХТЗ-30 - СХТЗ-26

$\omega$ , % масс.	z	D., нм после выдерживания, дней	
		В день получения (1 час)	3
0.44	0.4	206	осадок
0.52	0.4	239	осадок
1.00	0.4	267	осадок
2.10	0.4	371	367

Таким образом, микрочастицы ПЭК, образованного хитозаном и сукцинамидом хитозана, подвергаются ферментативному разрушению под действием гиалуронидаз, следствием чего является уменьшение размера частиц во времени. Однако в условиях эксперимента не обнаружилось полного разрушения микрочастиц. Особенностью процесса оказалось то, что полимерные фрагменты, образующиеся при разрыве макромолекул сформировавших ПЭК полисахаридов, могут вступать в последующие полиэлектролитные взаимодействия. В результате этого процесс ферментализации дисперсии микрочастиц в условиях эксперимента сопровождается не полным разрушением частиц, а образованием «вторичного» ПЭК в виде осадка.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявлена возможность получения полиэлектролитных комплексов в виде частиц с заданными составом, размерами, молекулярной массой и физико-химическими свойствами на основе биополимеров поликатиона хитозана и полианионов N-сукцинил хитозана, гиалуроновая кислота, показано, агрегативно устойчивые частицы ПЭК образуются при мольном соотношении  $z$  хитозан/N-сукцинил хитозана, гиалуроновая кислота в интервале  $z_{\min} < z < z_{\text{пред}}$  и формируются в случае хитозан/N-сукцинил хитозана в дистиллированной воде при  $z$  в избытке N-сукцинил хитозана. В паре хитозан/ гиалуроновая кислота частицы формируются в фосфатном буфере. в избытке хитозана. В работе было показано, что во всем рассмотренном диапазоне экспериментальных условий эти полиэлектролиты образуют агрегативно неустойчивые дисперсные системы. Относительная агрегативная устойчивость систем (время до образования осадка полиэлектролитного комплекса) растет при увеличении разницы в молекулярных массах полимеров, с ростом мольного соотношения компонентов, концентрации полимеров в растворе и достигает 30 дней. Показано, что частицы ПЭК подвергаются ферментативной деструкции под действием гиалуронидазы, результатом чего является достаточно быстрое уменьшение их размера, которое может быть связано с отщеплением под действием фермента свободных лиофилизующих фрагментов цепей и выделением гидрофобного ядра наночастиц, составленного плотно упакованными лестничными последовательностями пар звеньев электростатически комплементарных полиэлектролитов, связанных солевыми связями. Агрегация деструктированных частиц за счет гидрофобных взаимодействий приводит к последующему росту размеров частиц вплоть до потери ими седиментационной устойчивости и выпадения осадков, причем более быстрому, чем в случае не деструктированных дисперсий наночастиц ПЭК.

## ВЫВОДЫ

1. При изучении влияния условий образования дисперсно-устойчивых частиц полимер-коллоидных комплексов гиалуроновая кислота – гидрохлорил хитозана в фосфатном буфере ( $pH = 7.4$ ) было показано, что:
  - при мольном отношении гиалуроновая кислота / хитозан в интервале  $z = 0.15 - 0.30$  образуются устойчивые дисперсии частиц полимер-коллоидных комплексов со средними размерами 355 - 573 нм и массовой концентрации комплекса в растворе 0,015- 0,7 масс. %;
2. При изучении влияния условий образования дисперсно-устойчивых частиц полимер-коллоидных комплексов N – сукцинил хитозана – гидрохлорил хитозана в солевых формах в водном растворе было показано, что:
  - образуются неустойчивые дисперсии микрочастиц ПЭК, в которых непрерывно развиваются процессы агрегации частиц во времени, завершающиеся распадом систем с образованием осадка комплекса.
  - время до распада систем с образованием осадка зависит, главным образом, от разницы молекулярных масс лиофилизирующего и блокирующего полиэлектролитов и суммарной концентрации полимеров в растворе.
3. Агрегативно устойчивые системы частиц образуются при значительной разнице молекулярных масс и мольном соотношении ( $z$ ) СХТЗ / ХТЗ в интервале  $z_{\min} < z < z_{\text{пред}}$  и общей концентрации  $\geq 0.5$  % масс. можно получить системы, в которых дисперсная фаза микрочастиц в растворе сохраняется до 30 дней. Средний размер частиц СХТЗ-207 – ХТЗ-30 составляет 100-380 нм.
4. Средний размер частиц полимер-коллоидных комплексов, полученных при  $z_{\min} < z < z_{\text{пред}}$ , дисперсных систем СХТЗ-207 – ХТЗ-100 составляет 146-241 нм. Агрегативная устойчивость таких систем сохраняется до 7 дней.
5. Средний размер частиц полимер-коллоидных комплексов, полученных при  $z_{\min} < z < z_{\text{пред}}$ , дисперсных систем СХТЗ-26 – ХТЗ-30 составляет 200-281 нм. Агрегативная устойчивость таких систем сохраняется до 3 дней.
6. Микрочастицы ПЭК, образованного N – сукцинил хитозана – гидрохлорил хитозана, подвергаются ферментативному разрушению под действием гиалуронидаз, следствием чего является уменьшение размера частиц во времени.

**Основное содержание выпускной квалификационной работы изложено в следующих публикациях:**

1. Badykova L.A., Mudarisova R.K., **Gurina M.S.**, Borisov I.M. Preparation of new cefazolin-containing films based on chitosan and carboxyarabinogalactan. *Russian Journal of Applied Chemistry*, **2016**, 89(7), 1126-1131.
2. **Гурина М.С.**, Вильданова Р.Р., Бадыкова Л.А., Власова Н.М., Колесов С.В. Микрочастицы на основе интерполиэлектrolитного комплекса хитозан - гиалуроновая кислота, обеспечивающие стабильность водных дисперсий. *Журнал прикладной химии*, **2017**, 90(2), 197–202.
3. Колесов С.В., **Гурина М.С.**, Мударисова Р.Х. Ферментативная устойчивость нанодисперсий полиэлектrolитного комплекса "хитозан-сукцинамид хитозана". *Вестник Башкирского университета*, **2018**, 23 (3), 716–720.
4. Колесов С.В., **Гурина М.С.**, Мударисова Р.Х. Закономерности и особенности образования водных нанодисперсий интерполиэлектrolитных комплексов на основе хитозана и сукцинамида хитозана. *Журнал общей химии*, **2018**, 88(8). 1376-1380.
5. Колесов С.В., **Гурина М.С.**, Мударисова Р.Х. Об устойчивости водных нанодисперсий полиэлектrolитных комплексов на основе хитозана и п-сукцинилхитозана. *Высокомолекулярные соединения. Серия А*, **2019**, 61(3). 195-202.
6. Бадыкова Л.А., Мударисова Р.Х. **Гурина М.С.** Полиэлектrolитные комплексы карбокси-арабиногалактана с хитозаном // Тезисы докладов II Всероссийской молодежной конференции «Достижение молодых ученых: химические науки». Уфа. – 2016. – С.292-294.
7. Бадыкова Л.А., Мударисова Р.Х. **Гурина М.С.** Получение лекарственных пленок с 4-аминосалициловой кислотой // Тезисы докладов IV Всероссийской научной конференции «Теоретические и экспериментальные исследования процессов синтеза, модификации и переработки полимеров». Уфа. – 2016. – С.143-144.
8. **Гурина М.С.**, Вильданова Р.Р., Бадыкова Л.А., Колесов С.В. Наноразмерная система полиэлектrolитного комплекса на основе полимеров природного происхождения // Тезисы докладов IV Всероссийской научной конференции «Теоретические и экспериментальные исследования процессов синтеза, модификации и переработки полимеров». Уфа. – 2016. – С.158.
9. **Гурина М.С.**, Вильданова Р.Р. Наночастицы интерполиэлектrolитных комплексов на основе полимеров природного происхождения // Сборник материалов II Научно-практической молодежной конференции с международным участием «Современные технологии композиционных материалов». Уфа. – 2016. – С.303-304.
10. Вильданова Р.Р., **Гурина М.С.** Интерполиэлектrolитные комплексы на основе гиалуроновой кислоты и хитозана // Тезисы докладов IX Международной школы-

- конференции для студентов, аспирантов и молодых ученых «Фундаментальная математика и ее приложения в естествознании». Уфа. – 2016. – С.177-180.
11. **Гурина М.С.**, Вильданова Р.Р., Колесов С.В. Частицы микро- и наноразмера на основе хитозана и его модификаций // Сборник материалов IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Новые материалы, химические технологии и реагенты для промышленности, медицины и сельского хозяйства на основе нефтехимического и возобновляемого сырья». Уфа. – 2017. – С.66-70.
  12. **Гурина М.С.**, Махмутов Т.Ф., Вильданова Р.Р., Колесов С.В. Водные дисперсии на основе интерполиэлектrolитных комплексов хитозана // Тезисы докладов III Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки». Уфа. – 2017. – С.388-389.
  13. Махмутов Т.Ф., **Гурина М.С.**, Вильданова Р.Р., Колесов С.В. Кватернизованный хитозан и полиэлектrolитные комплексы на его основе // Тезисы докладов III Всероссийская молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки». Уфа. – 2017. – С.399-400.
  14. **Гурина М.С.**, Вильданова Р.Р., Создание системы доставки лекарственных препаратов на основе природных полисахаридов // Тезисы докладов X Международная конференция молодых учёных по химии «МЕНДЕЛЕЕВ-2017» II школа-конференция «Направленный дизайн веществ и материалов с заданными свойствами. Санкт-Петербург. – 2017. – С.179
  15. Вильданова Р.Р., **Гурина М.С.**, Бадыкова Л.А., Колесов С.В. Нано- и микрочастицы на основе интерполиэлектrolитных комплексов гиалуроновой кислоты, хитозана и его модификаций // Тезисы докладов VII Всероссийской Каргинской Конференции «Полимеры – 2017». Москва. – 2017. – С.267
  16. Vildanova R.R., Sigaeva N.N., **Gurina M.S.**, Kolesov S.V. Drug delivery systems based on natural polysaccharides for different medical applications // Book of abstracts 9 th International Symposium Molecular Mobility and Order in Polymer Systems. St.Petersburg. – 2017. – P.102
  17. **Gurina M.S.**, Vildanova R.R., Sigaeva N.N., Kolesov S.V. Pectin – chitosan hydrogels for drug delivery in ophthalmology // Book of abstracts 9 th International Symposium Molecular Mobility and Order in Polymer Systems. St.Petersburg. – 2017. – P.315