

Полиэлектролитные комплексы хитозана: формирование, свойства и применение

М.А.Краюхина, Н.А.Самойлова, И.А.Ямсков

Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова Российской академии наук
119991 Москва, ул. Вавилова, 28, факс (499) 135–5085

Систематизированы и обобщены результаты исследований, посвященных полиэлектролитным комплексам хитозана. Рассмотрены комплексы хитозана с биополиэлектролитами, модифицированными природными полиэлектролитами, а также синтетическими полианионами. Обсуждено использование комплексов хитозана в медицине и биотехнологии.

Библиография — 156 ссылок.

Оглавление

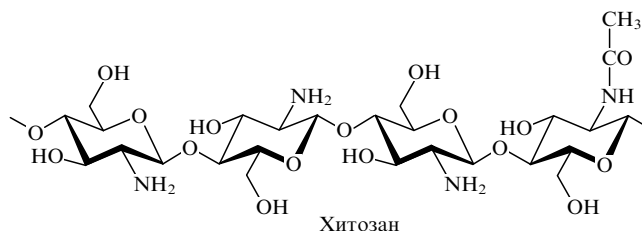
I. Введение	854
II. Общие представления о формировании полиэлектролитных комплексов	855
III. Полиэлектролитные комплексы хитозана с биополиэлектролитами и модифицированными природными полианионами	857
IV. Полиэлектролитные комплексы хитозана с синтетическими полианионами	864
V. Заключение	866

I. Введение

За последние годы опубликован ряд обзоров, в которых рассмотрены комплексы полисахарида хитозана с анионными полиэлектролитами (в основном природного происхождения), а также возможность использования композиций на основе хитозана в биомедицине, фармации, пищевой промышленности и т.д.^{1–4} В настоящем обзоре обобщены литературные данные, касающиеся получения, изучения и использования полиэлектролитных комплексов хитозана с природными, модифицированными природными и синтетическими полианионами.

Хитозан (ХЗ) — частично дезацетилированное производное природного полисахарида хитина (поли[(1 → 4)-N-ацетил-2-амино-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозы]), обладающего рядом свойств, привлекательных во многих областях науки, биотехнологии и медицины. Одним из достоинств

данного биополимера является разнообразие, возобновляемость и неограниченность его сырьевых источников.⁵



Хитозан обладает уникальными физико-химическими и биологическими свойствами, среди которых можно выделить его биосовместимость, антимикробное действие, способность активизировать макрофаги, усиливать пролиферацию фибробластов и т.д. Внимание исследователей привлекает способность ХЗ образовывать с другими полиэлектролитами нековалентные комплексы. Последние обладают специфическими свойствами, определяющими новые области их использования.² На процесс комплексообразования большое влияние оказывают конформация макромолекул ХЗ, его молекулярная масса, степень полидисперсности, степень дезацетилирования (СД), значение константы диссоциации (pK_a) протонированных аминогрупп ХЗ, распределение функциональных групп (аминогрупп и ацетамидогрупп) вдоль полимерной цепи. Степень дезацетилирования ХЗ определяет значение pK_a , которое может варьироваться в пределах от 6.46 до 7.32.⁶ Конформационное состояние и размер макромолекул ХЗ в растворах также зависят от СД и ионной силы раствора.

При СД > 80% в определенном интервале значений ионной силы кулоновское отталкивание протонированных ами-

М.А.Краюхина. Научный сотрудник лаборатории физиологически активных биополимеров ИНЭОС РАН.

Телефон: (499)135–9359, e-mail: kmalexster@gmail.com

Н.А.Самойлова. Кандидат химических наук, доцент, старший научный сотрудник той же лаборатории. Телефон: (499)135–9359, e-mail: samoilova@ineos.ac.ru

И.А.Ямсков. Доктор химических наук, профессор, заведующий той же лабораторией. Телефон: (499)135–5037, e-mail: yamskov@mail.ru

Область научных интересов авторов: высокомолекулярные и биологически активные соединения.

Дата поступления 1 октября 2007 г.

ногрупп ХЗ является доминирующим. При $50 < \text{СД} < 80\%$ дополнительный вклад в межмолекулярные взаимодействия вносят водородные связи, образующиеся с участием ацетамидных групп ХЗ. Объемность ацетамидных остатков и сетка водородных связей создают стерические затруднения и затормаживают вращение пиранозных звеньев вокруг β -гликозидной связи, в результате чего повышается жесткость полисахаридной макромолекулы. По мере уменьшения СД влияние этих эффектов возрастает, кроме того, усиливаются гидрофобные взаимодействия; все это приводит к усилению самоагрегации молекул ХЗ в растворах, которая зависит также от концентрации полимера.⁴

Таким образом, способность ХЗ к образованию полиэлектролитных комплексов зависит от целого ряда факторов: концентрации, степени ионизации и молярного соотношения образующих комплекс полиэлектролитов, плотности и распределения зарядов вдоль полимерных цепей и т.д.

II. Общие представления о формировании полиэлектролитных комплексов

Комплексные системы, образованные макромолекулами, — интерполимерные комплексы — можно классифицировать по доминирующему типу межмолекулярного взаимодействия.

1. Комплексы, образованные ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями.
2. Комплексы, образованные водородными связями между макромолекулами.
3. Координационные комплексы.
4. Ковалентные комплексы.
5. Полиэлектролитные комплексы, стабилизированные межмолекулярными ионными связями.
6. Комплексы стерического соответствия (по типу «ключ — замок»).

Кроме того, различают комбинированные типы интерполимерных комплексов, стабильность которых обусловлена кооперативным взаимодействием с участием перечисленных выше типов взаимодействий.

Подавляющее число опубликованных работ посвящено исследованию полиэлектролитного взаимодействия на уровне макромолекул (линейных, дендритных, белковых и т.д.); кроме того, описано комплексообразование полиэлектролитов с противоположно заряженными поверхностями (например, частицами латекса, монослойными липосомами)^{7,8} и макроскопическими слабосшитыми гидрогелями.^{9,10} В последнее время появились публикации, касающиеся свойств систем, которые образованы взаимодействием противоположно заряженных полиэлектролитных сеток (микродельевых частиц)¹¹ и наноразмерных частиц.¹²

Ионогенные группы, входящие в состав макромолекулярной цепи полиэлектролитов, диссоциируют в полярных средах с образованием заряженных звеньев на полимерной цепи и низкомолекулярных противоионов. Электростатическое притяжение разноименно заряженных звеньев полимеров приводит к формированию полиионных пар — полиэлектролитных комплексов (ПЭК) или, как их иногда называют, интерполиэлектролитных комплексов (см., например,¹³). В настоящем обзоре мы будем придерживаться термина ПЭК. Основополагающую роль в развитии теории образования и организации ПЭК сыграли исследования В.А.Кабанова и А.Б.Зезина.^{13–18}

Полиэлектролитные комплексы привлекают внимание исследователей ввиду уникальности их свойств и простоты

получения. Способность растворов ПЭК менять свое фазовое состояние при незначительном изменении внешних факторов (рН, ионной силы, температуры и т.д.) позволяет относить их к так называемым «умным» (smart, intelligent) полимерным системам.^{1,19}

Возможны различные подходы к классификации ПЭК:

- в соответствии с природой участвующих в образовании ПЭК полиионов различают комплексы на основе полимеров только природного или синтетического происхождения, а также ПЭК смешанного типа с участием синтетических полимеров и биомacroмолекул;
- комплексы могут формироваться сильными или слабыми полиэлектролитами;
- по составу ПЭК подразделяют на стехиометрические и нестехиометрические;
- в зависимости от условий могут образовываться растворимые и нерастворимые ПЭК.

Отличительной особенностью взаимодействия полиэлектролитов (по сравнению с процессами, протекающими между их низкомолекулярными аналогами) является кооперативный характер связей, возникающих между электростатически комплементарными анионо- и катионогенными макромолекулами, участвующими в комплексообразовании. Такой тип связи придает высокую стабильность ПЭК в широких диапазонах рН и ионной силы среды.

Образование ПЭК и изменение его состава (т.е. полиэлектролитная реакция) — процесс обратимый и контролируется многими факторами, в том числе природой полиэлектролитов, их молекулярной массой, молекулярно-массовым распределением, ионной силой и значением рН растворов полиэлектролитов и т.д. Эти же факторы, а также последовательность смешения компонентов регулируют формирование растворимых и нерастворимых, стехиометрических и нестехиометрических ПЭК.

Существует несколько способов получения ПЭК. Простейший из них — смешение водных растворов поликатионов и полианионов. Другой путь — полимеризация ионных мономеров на противоположно заряженных полиионных матрицах.¹³

При смешении растворов, содержащих противоположно заряженные полиионы, образование ПЭК происходит в результате ионообменной реакции: процесс протекает с большой скоростью даже при значительных степенях разбавления исходных растворов.

Если комплексообразование осуществляется с участием слабых полиэлектролитов (например, полиакриловой кислоты и поли(диметиламиноэтилметакрилата)), степень завершенности реакции (степень превращения ионогенных групп в так называемые «солевые» связи между двумя полиионами) можно варьировать, как правило, путем изменения рН реакционной системы. В данном случае мерой свободной энергии комплексообразования (ΔG_{cs}) служит величина ΔpH , являющаяся функцией степени ионизации (α) и степени превращения (θ) полиэлектролитов и характеризующая многоцентровое кооперативное взаимодействие противоположно заряженных звеньев полиионов при $\theta = \alpha$ (т.е. при допущении, что каждая ионогенная группа входящих в ПЭК сополиэлектролитов, заряжаясь, образует ионную связь с соответствующей противоположно заряженной группой).¹³

$$\Delta \text{pH}(\alpha, \theta) = \frac{\Delta G(\alpha) - \Delta G(\theta)}{2.3 RT} = \frac{\Delta G_{\text{cs}}}{2.3 RT},$$

где $\Delta G(\alpha)$ и $\Delta G(\theta)$ — свободные энергии ионизации слабого полиэлектролита в отсутствие и в присутствии противоположно заряженного полииона при данных α и θ .

В случае образования ПЭК путем матричной полимеризации заряженных мономеров на противоположно заряженном полиионе (матрице) изменение свободной энергии (движущей силы комплексообразования) описывается уравнением

$$\Delta G_{\text{тп}} = \Delta G_p + \Delta G_{\text{св}},$$

где ΔG_p — свободная энергия полимеризации в отсутствие матрицы. При условии термодинамического запрета на полимеризацию мономера ($\Delta G_p > 0$), но при отрицательном значении $\Delta G_{\text{св}}$ и $|\Delta G_{\text{св}}| > |\Delta G_p|$ матричный полиион сдвигает равновесие в сторону образования противоположно заряженного полииона. Следует отметить, что аналогичный фактор обуславливает кластеризацию белковых глобул противоположно заряженными полиионами с образованием белковых полиэлектролитных комплексов.

При отношении чисел ионизированных групп ($Z = m:n$) исходных полиэлектролитов, равном 1, и $\theta \rightarrow 1$ в системе образуются стехиометрические ПЭК, которые нерастворимы ни в одном растворителе, но могут ограниченно набухать в воде. Такие нерастворимые ПЭК по свойствам напоминают сшитые гидрогели. Они нашли широкое практическое применение в сельском хозяйстве, например в качестве связующих для предотвращения ветровой и водной эрозии почв; в промышленности — как эффективные коагулянты коллоидных дисперсий; в биотехнологии и медицине в качестве сорбентов, матриц для иммобилизации ферментов, био/гемосовместимых покрытий для контактирующих с кровью и другими биологическими средами медицинских материалов.^{1, 2, 5, 13}

Несмотря на длительную историю изучения ПЭК, о структуре и свойствах нерастворимых ПЭК известно гораздо меньше, чем о растворимых ПЭК. В ранних работах (см., например,²⁰) была выдвинута гипотеза, что в нерастворимых ПЭК более или менее протяженные области межцепных ионных пар сосуществуют с отдельными петлями и «хвостами», которые можно рассматривать как структурные дефекты. Чем выше степень превращения θ , тем больше число «спаренных» звеньев в ПЭК. Свободные гидрофильные звенья, локализованные в петлях и «хвостах», определяют степень набухания ПЭК в растворителях.^{18, 20}

В тех случаях, когда $Z = 1$, но $\theta < 1$ (незавершенная реакция), получаются равновесные продукты реакции комплексообразования — водорастворимые ПЭК. При этом звенья исходных полиэлектролитов, не участвующие в образовании межцепных ионных связей, играют роль лиофильных (гидрофильных) фрагментов макромолекул, способствуя удержанию частиц ПЭК в растворе. При $\theta \rightarrow 1$ водорастворимые ПЭК образуются, если в ПЭК молярное соотношение звеньев (φ) полиэлектролита, взятого в недостатке (блокирующего полиэлектролита, БПЭ), и полиэлектролита, взятого в избытке (лиофилизующего полиэлектролита, ЛПЭ), меньше 1, т.е. при молярном избытке в системе ЛПЭ. В последних работах В.А.Кабанова (см., например,¹⁹) такие образующие пару полиэлектролиты называются соответственно полиэлектролит-гость (ГПЭ) и полиэлектролит-хозяин (ХПЭ). В дальнейшем мы будем использовать эти аббревиатуры.

Как правило, при взаимодействии полиэлектролитов возможно образование равновесных систем, в которых одновременно сосуществуют нерастворимые и растворимые ПЭК. Равновесие можно сместить в сторону образования растворимого ПЭК путем введения в систему избытка лиофилизующего высокомолекулярного компонента — ХПЭ.

Если степень полимеризации ХПЭ не ниже степени полимеризации ГПЭ, образуются растворимые продукты. Критическое значение (φ_c) определяет предельную степень заселенности ХПЭ цепями ГПЭ, выше которой гидрофильность избыточных однотяжных сегментов недостаточна для удержания частиц ПЭК в растворе, и, как следствие, в системе наступает фазовое разделение.^{16, 18} Для большинства изученных систем значения φ_c находятся в интервале 0.2–0.6 и в основном зависят от химической природы полиэлектролитов. Растворимые равновесные ПЭК, состав которых находится в интервале $0 < \varphi < \varphi_c$, в разбавленных растворах ведут себя как индивидуальные полиэлектролиты с различной плотностью заряда.

Поведение в растворах нестехиометрических ПЭК, образованных линейными полиионами ХПЭ с высокой степенью полимеризации и небольшими заряженными частицами ГПЭ (катионными дендримерами, глобулярными белками и т.д.), аналогично поведению нестехиометрических ПЭК, состоящих из линейных полиэлектролитов. Нестехиометрические ПЭК, содержащие гидрофильные однопетлевые сегменты ХПЭ и относительно гидрофобные двухцепные домены ГПЭ–ХПЭ, рассматривают как своеобразные блок-сополимеры.²¹

Еще одно семейство растворимых ПЭК — так называемые блок-иономерные комплексы (БИК), которые в качестве одного из компонентов включают блок-сополимер, состоящий из ионного и неионного блоков.^{22–26} Такие комплексы сохраняют растворимость даже при $Z = \varphi = 1$. Например, известен БИК на основе диблок-сополимера полиметакрилат–блок-полиэтиленоксида и поливинилпирролидона (ПВП).²⁴ При $Z = \varphi = 1$ юнимер БИК содержит гидрофобный домен стехиометрического комплекса полиметилакрилат–ПВП, ковалентно связанный с гидрофильным блоком полиэтиленоксида, и, таким образом, представляет собой амфифильную макромолекулу. Поведение подобных соединений сходно с поведением поверхностно-активных веществ: при концентрациях выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ) образуются полимерные мицеллы с водонерастворимым ядром (блоки ПЭК) и гидрофильной «коронай» (полиэтиленоксидные блоки), придающей мицеллам растворимость в воде и агрегативную стабильность. При добавлении низкомолекулярных солей, в отличие от классических полимерных мицелл, они дезагрегируют из-за разрушения ядра, вызванного электростатическим экранированием заряда.

Приведенные выше закономерности образования и поведения ПЭК характерны для систем, в которых доминирует кулоновское взаимодействие. Поведение ПЭК, в которых наряду с электростатическим взаимодействием существуют гидрофобные, донорно-акцепторные, диполь-дипольные взаимодействия, образуются водородные связи, носит более сложный характер. Закономерности комплексообразования таких многофакторных полиэлектролитных систем в данном обзоре не обсуждаются. Основное внимание будет уделено структурной организации, физико-химическим свойствам и практическому применению ПЭК хитозана.

III. Полиэлектrolитные комплексы хитозана с биополиэлектrolитами и модифицированными природными полианионами

1. Полиэлектrolитные комплексы хитозана с полисахаридами

Наибольшее количество опубликованных работ посвящено исследованиям поликомплексов ХЗ с другими полисахаридами. Все полисахариды условно подразделяют на четыре группы: фитополисахариды, зоополисахариды, полисахариды микроорганизмов и синтетические полисахариды. Типичные представители фитополисахаридов — целлюлоза, гемицеллюлозы, ксиланы, глюкоманнаны, галактаны, пектины, крахмал, полисахариды водорослей (агар, каррагинан, фукан, галактаны и др.); зоополисахариды — хитин, гликоген, гликозаминогликаны соединительной ткани (гепарин, гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, кератансульфаты); наиболее известные полисахариды микроорганизмов — декстраны и маннаны, гиалуроновая кислота из стрептококков А и С и т.д.²⁷

Полисахариды проявляют высокую биологическую активность, при этом они являются низкотоксичными, биосовместимыми и биodeградируемыми веществами. Такое сочетание свойств полисахаридов позволяет использовать их в различных научных и практических целях, в частности для конструирования различного рода biomатериалов путем комплексообразования с противоположно заряженными biomолекулами.

Наиболее изучены ПЭК хитозана с зоополисахаридами, в том числе с гликозаминогликанами (ГАГ). Как известно, ГАГ играют важную роль в живых организмах. Так, мукополисахарид кератансульфат входит в состав протеогликанового комплекса, который может образовывать комплексы с гиалуроновой кислотой, и участвует в формировании стенок кровеносных сосудов.^{28, 29} Гепарин может ускорять размножение одних клеток и ингибировать рост других, стабилизировать ростовой фактор; кроме того, гепарин обладает антикоагулянтными, антисклеротическими, противовоспалительными свойствами и относится к наиболее часто применяемым в медицине препаратам для лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. В свою очередь, хитозан является биосовместимым, биорезорбируемым полимером; он цитосовместим с кератиноцитами, фибробластами, адгезия и пролиферация которых на ХЗ зависит от СД: чем выше СД, тем лучше адгезия клеток. При этом фибробласты адгезируют лучше, чем кератиноциты, однако пролиферация последних тем быстрее, чем выше СД хитозана.³⁰ В живом организме ХЗ может связываться с ГАГ (в частности, с хондроитинсульфатом, гиалуроновой кислотой)²⁸ с образованием устойчивых ПЭК.

В работах^{31–34} описаны ПЭК ХЗ с гиалуроновой кислотой, хондроитин-4-сульфатом, хондроитин-6-сульфатом, гепарином, сульфированной целлюлозой. Установлено, что стехиометрический ПЭК гликольхитозана с гиалуроновой кислотой³² может быть получен при pH 6.0. В структуре ХЗ на одно пиранозное кольцо приходится одна аминогруппа, обладающая свойствами слабого основания, а в структуре гиалуроновой кислоты на два пиранозных кольца приходится одна карбоксильная группа со свойствами слабой кислоты (т.е. число аминогрупп не эквивалентно числу карбоксильных групп). Кроме того, существуют стерические затруднения для вращения пиранозных колец. Этим авторы

исследования объясняли отклонение от стехиометрического состава при низких значениях pH. В отличие от гиалуроновой кислоты в молекуле гепарина на два пиранозных кольца приходится две сильнокислотные (сульфонатные) и одна слабokислотная (карбоксильная) группы, поэтому при формировании ПЭК с ХЗ при низких значениях pH наблюдалось соответствие расчетных и экспериментальных данных.³²

Процесс комплексообразования между гепарином, хондроитинсульфатом А, хондроитинсульфатом С с *N*-ацилированными производными ХЗ (*N*-бензоилхитозаном, *N*-миристоилхитозаном, *N*-пропаноилхитозаном и др.) с различными степенями замещения исследовали в работе³⁵. Отмечено, что с ростом степени ацилирования ХЗ увеличивалось значение максимальной мутности системы, которое после выдерживания системы в течение 24 ч снижалось до минимума вследствие выпадения ПЭК в осадок. Показано, что при pH 2.8 и 4.5 возможно образование стехиометрических ПЭК хондроитинсульфатов А и С с ХЗ и *N*-бензоилхитозаном.

В работах^{33, 34} рассмотрены физико-химические аспекты взаимодействия высокодезацетилированных образцов ХЗ (СД 98%) с хондроитин-4-сульфатами (55 и 70% сульфогрупп, молекулярная масса 45.5 кДа), хондроитин-6-сульфатом (90% сульфогрупп, 59 кДа) и гиалуроновой кислотой. Как и ожидалось, степень электростатического связывания зависела от степени ионизации полиэлектrolитов, природы ионогенных групп, плотности зарядов.

При формировании ПЭК ХЗ с хондроитин-4- и хондроитин-6-сульфатом результат не зависел от положения сульфогруппы в звеньях полисахарида. При смещении солевой (натриевой) формы хондроитинсульфата с ХЗ максимум осаждения наблюдали при молярном отношении (ρ) остатков глюкозамина и остатков сульфо- и карбоксильных групп, равном 1. Полученные данные находились в согласии с результатами ранее опубликованных работ^{31, 32}. В случае использования кислотной формы хондроитинсульфата точка эквивалентности соответствовала $\rho = 0.75$; при этом NH_3^+ -группы ХЗ образовывали ионную связь со всеми сульфогруппами хондроитинсульфата (которые были полностью диссоциированы) и только с половиной карбоксильных групп. Комплексообразование ХЗ и с солевой, и с кислотной формами гиалуроновой кислоты приводило к формированию ПЭК состава 1 : 1.³³ Изучение влияния СД ХЗ на устойчивость получаемых комплексов с гиалуронатом показало, что с ростом СД (плотности заряда) стабильность ПЭК увеличивалась и возрастала степень кооперативности электростатического взаимодействия.³⁴ В процессе образования ПЭК ХЗ с кислотными формами ГАГ индуцировалось депротонирование карбоксильных остатков полиэлектrolитов, степень которого зависела от их pK_a (частичное в случае хондроитинсульфата и полное в случае гиалуроновой кислоты, имеющей более низкое значение pK_a).³³ Порядок добавления полиэлектrolитов не влиял на образующиеся комплексы. Прочные и стабильные в широких диапазонах pH и ионной силы ПЭК были получены при взаимодействии ХЗ с ГАГ как в кислотной, так и в солевой формах.

Материалы на основе таких биodeградируемых полимеров, как хитозан и ГАГ, обладают полезными биологическими свойствами: они цитосовместимы, могут стимулировать процессы ранозаживления, индуцировать пролиферацию клеток для восстановления хрящевой, кожной ткани и т.д. В частности, в работах^{28, 36} были изучены гидролиз комплексов специфическими ферментами (хондроитиназой, гиалуронидазой) и цитосовместимость biomатериалов на

основе ХЗ и ГАГ по отношению к кератиноцитам и хондроцитам. Показано, что ХЗ в ПЭК оказывал протекторное действие против гидролитического расщепления ГАГ. Однако авторы отмечают, что ХЗ показал лучшие результаты в экспериментах по исследованию клеточной адгезии и пролиферации, а также в серии экспериментов *in vivo*, где была продемонстрирована его большая, по сравнению с ПЭК ХЗ–ГАГ, эффективность в процессах ранозаживления.

Пленки ПЭК ХЗ–гиалуроновая кислота в растворах NaCl могут обратимо изменять свою форму под действием электрического поля,³⁷ при этом угол изгиба можно регулировать, варьируя ионную силу солевого раствора и напряженность электрического поля. Такие «электрочувствительные» ПЭК перспективны для применения в качестве составляющих искусственных органов (например, в качестве сократительных структур, имитирующих работу мускулов), сенсоров, систем, регулирующих выделение лекарств (on-off switches) и т.д.

На основе ХЗ были получены пористые конструкции³⁸ (мембраны, блоки, трубки и т.д.) с контролируемым (путем варьирования условий замораживания – высушивания образцов) размером пор (от 1–250 мкм). Такие структуры далее использовали для формирования ПЭК ХЗ–ГАГ (гепарин). Отмечено, что комплексообразование не нарушало внутренней микроструктуры пор.

Гликозаминогликаны, в частности гепарин и гепарансульфат, обладают способностью связывать ростовые факторы и цитокины, а также инициировать или усиливать их синтез. Таким образом, конструкции, содержащие комплексы ХЗ–ГАГ, могут использоваться в качестве систем, способных к удержанию и накоплению необходимых факторов, выделяемых колонизирующимися клетками, и даже ростовых факторов из окружающих ткани жидкостей. Подобные конструкции предлагаются как потенциальные имплантаты в тканевой инженерии.^{38–40}

Ряд работ^{41–46} посвящен ПЭК хитозана с каррагинанами — анионными линейными сульфатированными полисахаридами, содержащими остатки D-галактопиранозы, соединенные регулярно чередующимися $\alpha(1\rightarrow3)$ - и $\beta(1\rightarrow4)$ -связями. Молекулы ι - и κ -каррагинанов включают остатки 3,6-ангидро-D-галактопиранозы и имеют конформацию двойной спирали в водных растворах, что определяет их способность к гелеобразованию. λ -Каррагинан отличается высоким содержанием сульфогрупп и отсутствием остатков ангидрогалактозы; кроме того, он не способен к формированию гелей. Каррагинаны нетоксичны, биосовместимы и благодаря этому применяются в пищевой и фармакологической промышленности.

При комплексообразовании ХЗ с κ -, ι - и λ -каррагинанами тип получаемых ПЭК определяется плотностью заряда на молекулах полисахаридов, их концентрацией и конформацией макромолекул каррагинанов (глобулярная или спиральная).⁴⁶ В Институте химии ДВО РАН были получены ПЭК ХЗ с ι -, κ - и λ -каррагинанами,⁴² предназначенные для медико-биологических применений. Авторы отмечали, что при концентрациях водных растворов ХЗ выше 0.1%, а λ -каррагинана выше 0.3% ПЭК формировались в виде гелей во всем объеме раствора, а при меньших концентрациях полимеров образовывались нерастворимые ПЭК. Возможно получение комплексов из концентрированных (4%) и высококонцентрированных (20%) систем полисахаридов, смешение которых, как правило, приводило к осаждению комплексов.^{43–46}

Структурная организация гелей, а следовательно, их механические и реологические свойства зависели от содержания в ПЭК молекул ХЗ и природы каррагинанов.⁴² λ -Каррагинан не оказывал существенного влияния на свойства ПЭК, а играл лишь второстепенную роль как сополиэлектrolит, необходимый для получения ПЭК с ХЗ. Большее значение имело участие в комплексообразовании ι - и κ -каррагинанов: их гели с ХЗ были термочувствительны, что объясняется термообратимым конформационным переходом спираль – клубок молекул каррагинанов, который происходил при понижении температуры и проявлялся как переход золь – гель.

Наименее вязкие гели формировались с использованием λ -каррагинана. При переходе к ι - и κ -каррагинанам наблюдали значительный рост статической вязкости. В результате гели ХЗ, образованные с κ -каррагинаном, имели большую жесткость. Причина обнаруженных особенностей, вероятно, связана с образованием дополнительных сшивок за счет двойных спиралей, которые формировались в системах с ι - и κ -каррагинанами и отсутствовали в случае λ -каррагинана.

Описаны⁴¹ pH-чувствительные полиэлектролитные комплексные гидрогелевые системы ХЗ с карбоксиметилцеллюлозой (КМЦ) и κ -каррагинаном; гомогенность и набухаемость таких гидрогелей зависела от соотношения ХЗ: каррагинан: КМЦ, а также от содержания низкомолекулярных солей в растворах полимеров. Авторами были выявлены пороговые значения соотношений полиэлектролитов и солей, при которых образовывались гомогенные или гетерогенные гели либо гелеобразование отсутствовало. Степень набухания триполимерных гелей ХЗ – каррагинан – КМЦ снижалась пропорционально уменьшению содержания каррагинана в ПЭК вследствие падения осмотического давления и достигала максимума при pH 11–12; аналогичная зависимость наблюдалась и для биполимерных ПЭК ХЗ – каррагинан.

Полиэлектролитные комплексы ХЗ с фитополисахаридами (альгиновой кислотой, пектином, каррагинаном) широко используются, в частности, для создания систем с контролируемым выделением лекарственных веществ.^{47–58} На основе комплексов ХЗ–каррагинан (при исходных концентрациях каррагинана в растворах 0.1–4.0%) получали пленочные,⁵⁴ микрокапсулированные,⁵⁵ таблетированные^{49, 56, 57} формы. Одной из важнейших характеристик таких систем является набухаемость, которая определяет степень выделения лекарственных препаратов. Набухаемость лекарственных матриц на основе ПЭК ХЗ–альгинат и ХЗ–каррагинан была проанализирована с помощью модели Хопфенберга,⁴⁹ позволяющей оценить вклад различных физико-химических процессов (диффузии, релаксации, сорбции – пенетрации и т.д.). Отмечено, что вследствие большей способности каррагинанов связывать воду (в отличие от, например, гидроксипропилметилцеллюлозы⁵⁷ или альгината⁴⁹ при одинаковом содержании полианиона в ПЭК) таблетированные формы были подвержены быстрой (менее чем за 30 с) дезинтеграции после стадии набухания.

Таким образом, системы ХЗ–каррагинан оказались менее предпочтительными матрицами для получения лекарственных средств пролонгированного действия по сравнению с ПЭК ХЗ–альгинат.⁴⁹

На основе поперечно сшитого генипином ПЭК ХЗ–альгинат натрия был получен иммобилизованный индометацин.⁵⁸ Набухаемость описываемых систем понижалась по мере уменьшения pH и уменьшения концентрации альгината в гелеобразующем растворе. Кроме того, данный параметр

зависел и от степени сшивки. Как и следовало ожидать, с ростом степени протонирования аминогрупп ХЗ степень сшивки уменьшалась (вследствие ингибирования нуклеофильной атаки дигидропиранового цикла генипина), в результате скорость выделения индометацина из частиц ПЭК с низкой степенью сшивки (сформированных при меньших значениях pH) была более высокой.

Получены^{59–61} ПЭК хитозана с его сульфатированным производным (некоторые биологические свойства которого аналогичны свойствам гепарина), полистиролсульфонатом⁵⁹ и альгиновой кислотой.^{60,61} Изучено влияние СД и молекулярной массы ХЗ на прочность образующихся комплексов, которая тем выше, чем выше СД и ниже молекулярная масса. Авторы работы⁶¹ исследовали ПЭК альгината натрия (100 кДа) с образцами ХЗ (СД 95%) низкой (НМХЗ, 130 кДа), средней (530 кДа) и высокой (ВМХЗ, 1000 кДа) молекулярных масс. Комплекс ВМХЗ с альгинатом формировал гелеобразные крупные коацерваты, в то время как частицы ПЭК НМХЗ – ПАК были более мелкодисперсными. Из ПЭК данного типа получали наиболее однородные пленки с наибольшей водопроницаемостью в нейтральной среде.

Синтезированы ПЭК альгината натрия с ХЗ (3.5 и 29 кДа) и альгината натрия с графт-сополимером ХЗ и винилового спирта (легкорастворимого при физиологических значениях pH 6.5–7.2). Разработаны и оптимизированы⁶² методы получения микрокапсул на основе этих ПЭК, получены стабильные при хранении и устойчивые к изменению ионной силы среды микрокапсулы с полупроницаемой полиэлектролитной мембраной для иммобилизации опухолевых клеток; в таких «микроконтейнерах» в результате длительного культивирования *in vitro* наблюдали образование мультиклеточных опухолевых сфероидов. Полученные объекты представляют собой новую модель *in vitro* малых солидных (твердых) опухолей; они предлагаются к использованию для изучения новых видов противоопухолевой терапии, а также для исследования механизмов действия новых форм цитостатиков.

Взаимодействие в системах ХЗ – пектин и свойства полученных ПЭК изучали во многих работах.^{63–68} Например, получены⁶⁶ наночастицы ПЭК ХЗ с пектином из лимона при различных соотношениях исходных компонентов и концентрациях полимеров под воздействием осадителя и ультразвука. Мембраны и фунгистатические ламинированные пленки на основе ПЭК ХЗ – пектин^{67,68} обладали перапорационными свойствами. Изменяя состав и pH среды, можно регулировать набухаемость пленок таких ПЭК,⁶⁵ причем ее наибольшие значения достигались при pH < 2 и > 7.

В работах^{44,69–74} сообщалось об исследовании ПЭК ХЗ с декстрансульфатом натрия (ДСН). Полученные ПЭК были чувствительны к изменению pH и ионной силы раствора.⁴⁴ При pH 10.5 степень набухания была максимальна, увеличение ионной силы раствора вызывало ее понижение. При варьировании pH, молекулярной массы, скорости и порядка смешения полиэлектролитов получались ПЭК с молярным отношением ХЗ : ДСН от 0.8 до 2.5.^{69,70} При этом возможно формирование ПЭК двух типов,⁷⁰ различающихся молекулярной структурой и свойствами: в первой серии (А) ПЭК получали смешением растворов ХЗ и ДСН равной концентрации ($1 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) в 2%-ной уксусной кислоте при объемных соотношениях 4:1 и 1:4; во второй серии (В) смешивали равные объемы растворов полимеров одинаковой концентрации в 1%-ной соляной кислоте. В результате ПЭК серии А характеризовались большим числом солевых связей между группами $-\text{NH}_3^+$ и $-\text{OSO}_3^-$, чем ПЭК серии В. Кроме того,

гематологические тесты показали, что ПЭК серии А проявляли антикоагулянтные (антитромбогенные) свойства, в то время как ПЭК серии В усиливали коагуляцию крови. Комплексы с низкомолекулярным ДСН сильнее по сравнению с ПЭК с высокомолекулярным ДСН⁶⁹ ингибировали гемокоагуляцию. Порядок смешения также оказывал влияние на антикоагулянтные свойства ПЭК: при добавлении ХЗ к ДСН формировались ПЭК с более выраженным тромбогенным действием, чем комплексы, полученные смешением компонентов в обратном порядке.

Исследованы⁷² нерастворимые ПЭК ХЗ и карбоксиметилдекстрана, антитромбогенные свойства которых зависели от pH смешиваемых растворов полимеров: при pH 5.5 получали менее тромбогенные продукты, чем при pH 3.5. Такие эффекты авторы объясняли различиями в молекулярной структуре ПЭК и присутствием в них остаточных карбоксильных групп.

Нестехиометрические растворимые ПЭК ХЗ и ДСН получали смешением растворов хлоргидрата ХЗ с молярным избытком ДСН в присутствии мочевины.^{73,74} Для образования равновесной системы с минимальной мутностью использовали раствор ХЗ с pH 6.5 (50% ионизированных аминогрупп). При pH 5 (т.е. при большей степени протонирования аминогрупп) мутность раствора ПЭК повышалась из-за неравновесного характера системы, что подтверждалось наличием гистерезисной петли при обратном титровании раствора. При изменении соотношения исходных компонентов изменялись как состав ПЭК, так и их гидродинамические характеристики: по мере увеличения доли ХЗ в ПЭК уменьшалась характеристическая вязкость растворов и увеличивался параметр гибкости цепи. Исследованные ПЭК образовывали частицы размером 60–130 нм в зависимости от ионной силы раствора и природы низкомолекулярного противоиона. Исследования растворов ПЭК ДСН и спинеченого ХЗ методом ЭПР показали, что с ростом доли ХЗ в ПЭК внутримолекулярная подвижность аминополисахарида снижалась. При добавлении в систему 2 М раствора NaCl межмолекулярные связи разрушались и локальная подвижность макромолекул ХЗ восстанавливалась.

В случае комплексообразования ХЗ с низкомолекулярным гепарином сегментальная подвижность первого заметно понижалась, однако ее зависимость от состава ПЭК сохранялась. Снижение подвижности звеньев ХЗ в ПЭК с гепарином объясняется^{73,74} повышенной жесткостью макромолекул гепарина по сравнению с высокомолекулярным ДСН.

Исследованы способность полученных ПЭК связывать липопротеин и их антикоагулянтная активность, обнаружена нелинейная зависимость этих параметров от состава ПЭК. Установлено, что ПЭК ХЗ – ДСН обладали селективной комплексообразующей способностью в отношении липопротеинов низкой плотности (ЛНП), причем с ростом соотношения ПЭК : ЛНП селективность сорбции снижалась. При взаимодействии ПЭК с гепарином в зависимости от концентрации ПЭК и соотношения ПЭК : гепарин наблюдали различные эффекты: при концентрациях ПЭК до $10 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ и равным или меньшим содержанием гепарина в плазме крови — усиление действия гепарина, при повышенных концентрациях ПЭК до $100 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ — антигепариновый эффект.

При оптимальном соотношении компонентов комплекс ХЗ – ДСН проявлял большую антикоагулянтную и антихолестериновую активность по сравнению с индивидуальным ДСН. Эффект повышения активности ДСН в комплексе с

ХЗ объясняли^{73,74} оптимизацией (при химическом модифицировании хитозаном макромолекул ДСН) его физико-химических параметров, в частности снижением плотности отрицательного заряда и появлением гибкости макромолекул ДСН.

Таким образом, удалось показать^{73,74} эффективность модифицирования анионных полисахаридов хитозаном в результате нестехиометрического комплексообразования и возможность регулирования определенных биологических свойств ПЭК.

На основе пленок ПЭК ХЗ (550 кДа, СД 87%) с карбоксиметилхитином (КМХТ, 60 кДа, содержание карбоксиметильных групп 1.17 на звено), обладающих специфической структурой, стабилизированной системой ионных и водородных связей, получены высокоселективные мембраны для разделения водно-органических смесей и для гемодиализа.⁷⁵ Состав ПЭК ХЗ–КМХТ, использованных для отлива пленок, варьировался в пределах 0.5–4.0 (ХЗ:КМХТ) и определял (наряду с условиями дополнительных водно-температурных обработок) основные физико-химические показатели пленок: набухаемость, сорбционную емкость, механические и транспортные свойства и т.д. С повышением содержания ХЗ в пленках набухаемость в воде резко увеличивалась. При этом пленки стехиометрического состава обладали наименьшим набуханием. Термообработка пленок приводила к дегидратации межцепных солевых связей с образованием ковалентных сшивок (амидных связей). Полученные частично сшитые пленки ПЭК набухали хуже во всех исследованных средах и теряли растворимость в кислых средах (в отличие от термически необработанных ПЭК).

Система ионных и водородных связей в ПЭК ХЗ–КМХТ, по мнению авторов исследования, обеспечивала формирование более жесткой (по сравнению с ХЗ), напряженной и хрупкой структуры. Приближение состава пленок ПЭК к стехиометрическому приводило к снижению их сорбционной емкости и незначительному повышению прочности и жесткости. Термообработанные ПЭК стехиометрического состава, имеющие большее по сравнению с остальными исследованными нестехиометрическими ПЭК число солевых и ковалентных сшивок, продемонстрировали наибольшую селективность при перфазном разделении водно-органических смесей и высокую проницаемость. Однако отмечено, что по разделяющей способности обогащенных водой смесей вода–изопропиловый спирт пленки ПЭК ХЗ–КМХТ уступали пленкам ПЭК ХЗ–ПАК.^{76,77} Этот эффект объяснили⁷⁵ наличием в макромолекуле КМХТ двух объемных заместителей, из-за чего структура ПЭК ХЗ–КМХТ, возможно, имела меньшую плотность упаковки, чем структура ПЭК ХЗ–ПАК, несмотря на более высокую стерическую комплементарность сополиэлектролитов в случае ХЗ и КМХТ.

Стехиометрические комплексы ХЗ с карбоксиметилцеллозой, альгиновой и полигалактуроновой кислотами были получены при эквимолярном соотношении компонентов;^{78–81} наибольшую степень набухания ПЭК наблюдали при pH 4.0–5.8 (см.⁸¹).

Комплексообразование ХЗ (230 кДа, СД 80%) с полигалактуроновой кислотой (ПГК, 102 кДа, 87.5% галактуроновой кислоты) изучали методом кондуктометрии.⁸² Фиксировали значения проводимости системы при титровании натриевой соли ПГК растворами солянокислой соли ХЗ; изменение наклона кондуктометрической кривой свидетельствовало о полном завершении процесса образования ПЭК. В точке эквивалентности формировался стехиометрический

ПЭК (ХЗ:ПГК = 0.98 ± 0.04), что было подтверждено несколькими независимыми методами (вискозиметрией, потенциометрией, турбидиметрией, гравиметрией), причем положение точки эквивалентности не зависело от порядка смешения полиэлектролитов. Установлена степень превращения полиэлектролитов (степень комплексообразования), которая зависела от молярного соотношения реагирующих компонентов. Выявленные зависимости свидетельствовали о том, что в выбранных условиях комплексообразование в системе ХЗ–ПГК носило кооперативный характер.

Описаны ПЭК ХЗ (370 кДа, СД 82%) с карбоксиметилированной камедью кешью (*Anacardium occidentale*)⁸³ и карбоксиметилглюкоманнаном, выделенным из клубней *Amorphophallus konjac*.⁸⁴ Наибольший выход продукта достигался при соотношении ХЗ:камедь кешью, равном 25:75.⁸³ Авторами работы был проведен термогравиметрический и ИК-спектрометрический анализ полученных ПЭК, определены энергии активации термической деструкции и температуры деградации полисахаридов и их комплексов. Установлено снижение термической стабильности ПЭК по сравнению с исходными полисахаридами. На основе ПЭК ХЗ с карбоксиметилглюкоманнаном⁸⁴ получали нано- и микрочастицы, размер которых варьировался от 50 нм до 1.2 мкм в зависимости от исходных концентраций полисахаридов, pH и ионной силы растворов. Продемонстрирована эффективность использования наночастиц на основе ПЭК ХЗ–карбоксиметилглюкоманнан в качестве систем для инкапсуляции водорастворимых лекарственных веществ.

Предложено использовать ПЭК для иммобилизации ферментов. Например, описаны ПЭК ХЗ–альгинат с иммобилизованной уреазой,⁸⁵ тройные ПЭК ХЗ–полианион–глюкоамилаза.⁸⁶ В качестве полианионов использовали ДСН, поливинилсульфат, гепарин.⁸⁶ Нерастворимый ПЭК получали соосаждением фермента при смешении (в определенных условиях) растворов ХЗ с полианионами. На состав образующихся ПЭК присутствие фермента не влияло. При этом ферментативная активность по отношению к субстрату зависела от типа ПЭК. Так, в нерастворимом ПЭК ХЗ–ДСН глюкоамилаза проявляла активность 100%, а в ПЭК ХЗ с поливинилсульфатом и гепарином активность снижалась на 16 и 54% соответственно.⁸⁶ При иммобилизации уреазы в ПЭК ХЗ–альгинат отмечалось увеличение термической стабильности фермента, а также стабильности при хранении: после 70 сут каталитическая активность составляла 48% от первоначального уровня, в то время как нативная уреазы дезактивировалась на 50% в течение 7 сут и на 100% в течение 20 сут. Наблюдаемые эффекты авторы объяснили появлением многоточечного ионного взаимодействия между иммобилизованным ферментом и ПЭК — матрицей, придающей высокую конформационную стабильность макромолекуле уреазы.⁸⁵

Еще один интересный тип комплексов ХЗ — ПЭК с липополисахаридами (ЛПС), одной из составляющих внешней мембраны грамотрицательных бактерий. Липополисахариды состоят из трех различных по структуре участков: липида А, имеющего низкую структурную вариабельность; высоковариабельной О-специфичной полисахаридной цепи и менее вариабельного олигосахаридного участка (кора). В шероховатых мутантах (R-формах) полисахаридная цепь отсутствует. Липид А является наиболее консервативной частью липополисахаридов и имеет сходную структуру у большинства изученных микроорганизмов. Липополисахариды играют важную роль в физиологическом функционировании бактерий: они участвуют в транспорте через

мембрану различных соединений, являются эндотоксинами, антигенами (так называемыми О-антигенами), а также рецепторами бактериофагов, при этом являясь первичной мишенью атаки антибактериальных препаратов и иммуноглобулинов. Полисахаридная цепь ЛПС ориентирована в сторону окружающей среды, ее тонкая структура определяет узнавание бактерий и специфичность иммунного ответа у высших животных и человека. Липид А, находящийся в тесной ассоциации с белками, способствует сохранению целостности и стабильности клеточной мембраны — уменьшает ее проницаемость и увеличивает устойчивость к гидрофобным агентам; он же ответствен за токсические свойства липополисахаридов.^{4,87} Гибель грамотрицательных бактерий в результате воспалительных реакций, действия антибиотиков и т.д. приводит к высвобождению большого количества эндотоксинов. Как известно, эндотоксины (ЛПС и, конкретно, липид А) оказывают пирогенное действие на живой организм, пораженный бактериальной инфекцией, вызывая, в частности, сильнейшую интоксикацию (так называемую эндотоксемию) и эндотоксический шок.⁸⁸ В связи с этим особый интерес вызывают исследования, направленные на поиск веществ, которые способны снизить токсичность ЛПС.

Молекулы ЛПС, несущие на поверхности отрицательный заряд (благодаря наличию фосфатных, пиррофосфатных и карбоксильных групп), взаимодействуют с поликатионами (например, с макромолекулами ХЗ), образуя малотоксичные комплексы ХЗ–ЛПС различной стехиометрии — перспективные иммуностимуляторы.^{89–93} Механизм такого комплексообразования изучали с помощью различных методов. Установлено, что процесс связывания ХЗ с эндотоксином является сложным и в значительной степени зависит от макромолекулярной организации эндотоксинов, молекулярной массы и СД ХЗ, концентрации реагентов, температуры и времени проведения реакции.^{89–92} Образование комплекса осуществляется не только посредством ионного связывания, но с участием и других типов взаимодействия. Стабильные комплексы ХЗ–ЛПС получались только после предварительного инкубирования взаимодействующих компонентов при 37°C. Процесс комплексообразования сопровождался, по мнению авторов исследования, дополнительной диссоциацией агрегатов ЛПС, в результате формировался комплекс с ХЗ, достаточно стабильный в течение длительного промежутка времени в растворах с высокой ионной силой.^{89–91} Электронно-микроскопическое исследование комплексов выявило значительное влияние ХЗ на морфологию ЛПС. Это влияние проявлялось в нарушении ультраструктурной организации эндотоксина и диссоциации агрегатов, образованных гранулярными частицами ПЭК. При этом было замечено, что морфологическая неоднородность зависит от концентраций исходных компонентов и их соотношения и, вероятно, связана с концентрационной зависимостью надмолекулярной структуры ЛПС, в свою очередь оказывающей влияние на его связывание с ХЗ.⁹³

Установлено, что образцы ХЗ с меньшей молекулярной массой и степенью ацетилирования обладали большим сродством к ЛПС, что можно объяснить большей гибкостью макромолекул ХЗ с меньшей молекулярной массой. В результате стерические препятствия при связывании высокомолекулярных лигандов уменьшаются, а следовательно, растет доступность мест связывания. С увеличением длины О-специфических полисахаридных цепей ЛПС возрастало сродство к ХЗ, что приводило к усилению взаимодействия компонентов (увеличению констант связывания), а количество мест связывания уменьшалось; в результате, по мнению

авторов, уменьшалось количество связанного ЛПС. Причем чем меньше концентрация ЛПС в растворе, тем больше эндотоксина могло связываться с ХЗ. Стехиометрия формирующихся комплексов в значительной степени определялась концентрацией ЛПС в растворе.^{90–92}

В серии биологических опытов было показано, что комплексообразованием ЛПС с ХЗ достигалось эффективное снижение токсичности эндотоксинов.^{90,91}

2. Полиэлектrolитные комплексы хитозана с ДНК

Одним из перспективных направлений биотехнологии является создание невирусных векторов передачи специфической генетической информации в клетки. Такие искусственные вирусы могут быть успешно использованы в генной терапии для лечения болезней, вызванных нарушениями функций генов. Лечебное действие достигается экспрессией гена-вектора, который заменяет дефектный ген или, наоборот, подавляет излишнюю активность, например, трансформирующего гена, или вводит новый ген с целью вакцинации.

В настоящее время для введения ДНК в клетки используют⁹⁴ вирусные векторы, разнообразные варианты липосомального транспорта, специально сконструированные белковые или пептидные векторы, в том числе адресованные по принципу лиганд–рецептор или антиген–антитело к определенным линиям клеток, векторы с позитивно заряженными пептидами типа ВИЧ–ТАТ.

Один из подходов⁹⁵ для повышения эффективности доставки генного материала в клетку основан на использовании растворимых ПЭК ДНК с поликатионами. Включение молекул ДНК в состав ПЭК способствует ее компактизации, повышению стабильности к расщеплению нуклеазами, усилению взаимодействия с клеточной мембраной и повышению трансформирующей активности по отношению к прокариотическим и животным клеткам. Модифицирование поликатионов селективными лигандами, способными к специфическому связыванию и эндоцитозу, обеспечивает клеточный захват полученной генной конструкции и адресную доставку включенной в ПЭК информации к клеткам-мишеням.

В качестве поликатионов для создания невирусных генных конструкций используют полиэтиленмин, полифосфазен, полилизин, полибрен, полиамидаминные дендримеры и другие синтетические полимеры. Они легко синтезируются, у них низкая иммуногенность, однако они токсичны и обладают низкой биосовместимостью, что ограничивает их практическое применение. Кроме того, эффективность доставки ими генетического материала в клетки невысока.⁹⁶

С целью получения эффективных нетоксичных и биосовместимых переносчиков ДНК разрабатываются новые системы с использованием полимеров природного происхождения, в частности хитозана и его модифицированных производных. В полученных ПЭК положительный заряд аминогрупп ХЗ нейтрализуется отрицательным зарядом ДНК, что приводит к компактизации молекулы последней, а также защищает ее от расщепления эндонуклеазами и обеспечивает проникновение гена через клеточную мембрану. Недавние исследования⁹⁷ на моделях мембранного строения показали, что хитозан способен проникать в клетку, нарушая двойной липидный слой клеточной мембраны, индуцировать формирование транспортных каналов в ней и, таким образом, пролонгировать поступление в клетку ДНК и лекарственных веществ.

Трансфекция комплекса ХЗ–люциферазная плаزمид (pGL3-Luc) была изучена с помощью метода лазерной микроскопии с использованием FITC-меченой плазмиды (FITC — флуоресцеинизотиоцианат) и Texas Red-меченого хитозана (Texas Red — сульфородамин 101).⁹⁸ Установлено, что на трансфекционную активность и эффективность введения в клетку оказывает влияние молекулярная масса ХЗ, стехиометрия комплексов, величина рН среды. Наибольший уровень трансфекции хитозан-плазмидного комплекса наблюдали при использовании ХЗ с молекулярными массами 40 и 84 кДа, соотношении азота ХЗ и фосфора ДНК (N:P), равном 5, содержании сыворотки в трансфекционной среде 10% и рН 7. Изучение механизма трансфекции показало, что комплекс ХЗ–плазида формировал агрегаты размером 5–8 мкм, которые адсорбировались на поверхности клетки и в результате эндоцитоза проникали в нее, в дальнейшем выделяясь из эндосом под воздействием гидролитических ферментов лизосом. Кроме того, были получены комплексы ХЗ–ДНК в виде наноразмерных частиц (38 ± 4 нм (см.⁹⁹), 200–400 нм (см.¹⁰⁰)) с целью применения их в генной терапии. Авторы работы¹⁰⁰ отметили, что при использовании ХЗ с молекулярной массой 10 кДа формировались крупные частицы размером 600–1000 нм. Увеличение молекулярной массы ХЗ (до 40–150 кДа) позволяло получать частицы ПЭК размером 200–400 нм; в указанном интервале молекулярных масс СД и соотношение N:P не оказывали значимого влияния на размер получаемых агрегатов.

В качестве невирусных векторов для трансфекции люциферазной плазмиды pGL3 в опухолевые клетки использовали хитозан и полигалактозамин.¹⁰¹ Установлено, что хитозан в несколько раз эффективнее полигалактозамина при доставке плазмидного комплекса к клеткам-мишеням. При этом эффективность трансфекции зависела от стехиометрии комплекса ХЗ–плазида, рН культуральной среды, молекулярной массы ХЗ. Оптимальными явились соотношение ХЗ:плазида, равное 5:1, и рН 6.9. Люциферазная активность и эффективность экспрессии гена для систем, содержащих ХЗ с молекулярными массами 15 и 52 кДа, была выше, чем для систем с ХЗ молекулярной массы ≥ 100 кДа. Гептамер ХЗ (1.3 кДа) не вызывал генной экспрессии.

Исследования (см., например,¹⁰²) в которых изучалось комплексообразование ДНК с N-алкилированным, а также немодифицированным хитозаном (50 кДа, СД 99%), показали, что ПЭК ХЗ–ДНК образовывались при зарядовом соотношении 1:1, в то время как ПЭК гидрофобно модифицированный хитозан–ДНК — при соотношении 1:4. Введение алкильного заместителя (от C₄ до C₁₆) способствовало более легкому проникновению ДНК через клеточную мембрану благодаря гидрофобным взаимодействиям и более легкой «распаковке» ДНК из носителя в результате ослабления электростатических взаимодействий между гидрофобно модифицированным хитозаном и ДНК. Эффективность трансфекции возрастала при увеличении длины углеводородного фрагмента в интервале C₄–C₈, затем ее уровень изменялся незначительно. Помимо облегчения проникновения плазмиды в клетку, гидрофобный кор полученного плазмидного комплекса выполнял защитную функцию, а именно, предохранял молекулу ДНК от действия дезоксирибонуклеаз.

В настоящее время развивается методический подход, в котором для придания комплексам ДНК специфичности доставки к клеткам-мишеням используют модифицирование хитозана низкомолекулярными специфическими лигандами.

Таким образом искусственные вирусы становятся «узнаваемыми» определенными клетками. Например, низкомолекулярный хитозан модифицировали¹⁰³ остатками галактозы для «узнавания» вектора клетками печени, имеющими специфические рецепторы к галактозе. Галактозилированный хитозан использовали *in vitro* для трансфера репортерного гена pSV-β-галактозидазы в клетки гепатокарциномы человека (HepG2, SMMC-7721) и гепатоциты линии L-02. Отмечено, что полученный комплекс обладал низкой цитотоксичностью, высокой селективностью к гепатоцитам, при этом эффективность трансфекции гена возрастала с ростом степени галактозилирования хитозана.

Следует отметить работы, посвященные изучению свойств жидкокристаллических комплексов, образованных молекулами хитозана с линейными двухцепочечными молекулами нуклеиновых кислот (НК) В- и А-семейств, а также с двухцепочечными синтетическими полирибонуклеотидами (ПРН).^{96, 104–106} Хитозан при взаимодействии с молекулами НК переводит систему в жидкокристаллическое состояние, причем конкретная форма определяется молекулярной массой хитозана, а также значениями СД, рН и ионной силы растворов.

Комплекс ХЗ–НК получали добавлением (при перемешивании) водных растворов низкомолекулярных фракций хитозана (2–31 кДа) с различным содержанием аминогрупп (46–85%) к водно-солевым растворам НК. Спектрально регистрировали образование дисперсий ПЭК. Исследования полученных дисперсий методом кругового дихроизма (КД) показали, что результатом взаимодействия ХЗ с ДНК является формирование жидкокристаллических дисперсий с характерной спирально-закрученной (холестерической) пространственной структурой. Классические холестерики, образованные при фазовом исключении двухцепочечных молекул ДНК В-формы, обладают аномальной отрицательной полосой в спектре КД, что свидетельствует о левой закрутке пространственной холестерической структуры. В дисперсиях ПЭК ХЗ–ДНК наблюдали аномальную положительную полосу в спектре КД, соответствующую холестерической правозакрученной структуре. Молекулы ПЭК, сформированные ХЗ и двухцепочечными молекулами ДНК А-формы, образовывали холестерическую дисперсию с левозакрученной пространственной структурой, как и молекулы «чистой» ДНК.

Исследования условий формирования жидкокристаллических дисперсий ПЭК ХЗ–НК показали, что существует определенное значение молекулярной массы ХЗ, начиная с которого ПЭК образовывался кооперативно, при этом аномальная оптическая активность дисперсий ПЭК ХЗ–ДНК и ХЗ–ПРН по-разному зависела от молекулярной массы ХЗ. При значении рН ~ 6.8 (соответствующем значению рK_a ХЗ в водно-солевых растворах) образовывалась оптимальная холестерическая упаковка ПЭК ХЗ–ДНК. В данных условиях степень ионизации ХЗ составляет 50%. При рН < 7 и рН > 7 образовывались два типа жидкокристаллических дисперсий ХЗ–ДНК, различающихся упаковкой молекул: для дисперсий первого типа характерна аномальная положительная полоса в спектре КД, в то время как для дисперсий второго типа изменения в спектрах КД не наблюдали. Для каждого образца ХЗ с определенной СД существует определенный интервал значений ионной силы, в пределах которого возможно формирование ПЭК ХЗ–ДНК с аномальной полосой в спектрах КД. Вне этого интервала жидкокристаллическая дисперсия не образовывалась. Кроме того, аномальные оптические свойства жидких кристаллов исследуе-

мых ПЭК зависели от расстояния между аминогруппами в молекулах ХЗ и ионной силы раствора: варьирование этих двух параметров приводило к образованию жидкокристаллических дисперсий с отрицательной или положительной полосой в спектрах КД либо не проявляющих аномальной оптической активности.

Для оценки стерических и энергетических характеристик комплексообразования ХЗ с ДНК в растворах разной ионной силы был разработан теоретический подход, позволивший построить математическую модель связывания указанных полиэлектролитов, которая удовлетворительно описывает экспериментальные данные.¹⁰⁶ В рамках этого подхода была рассчитана константа связывания и показано ее уменьшение при возрастании ионной силы раствора.

Следует отметить, что обработка дисперсии ПЭК ХЗ–ДНК дауномицином (ДАУ), молекулы которого интеркалируют между парами оснований ДНК, приводила к образованию холестерических дисперсий, чья первоначальная правая закрутка пространственной структуры менялась на левую. Однако, несмотря на инверсию знака аномальной полосы в спектре КД, рентгенографические параметры фаз ПЭК ХЗ–ДНК и ХЗ–ДАУ–ДНК совпадали, т.е. введение ДАУ в ПЭК не влияло на расстояние между молекулами ДНК в образующейся дисперсии.

Установленный факт зависимости оптических свойств жидкокристаллических дисперсий ПЭК ХЗ–ДНК от ряда параметров предоставляет возможность использования оптических свойств данных ПЭК в качестве тестеров качества препаратов ХЗ, применяемых в медицине и биотехнологии. В дальнейшем авторы исследования планировали изучить механизм перехода в жидкокристаллическое состояние плазмидных ДНК при комплексообразовании их с ХЗ, а также свойства полученных ПЭК с разной закруткой холестерической структуры с целью последующего их использования для трансфекции генов.

3. Полиэлектrolитные комплексы хитозана с белками

Ассоциация молекул белков и полисахаридов посредством кулоновских и некулоновских взаимодействий приводит к образованию ПЭК.¹⁰⁷ При определенных условиях белки (природные полиамфолиты) могут проявлять свойства как поликислот, так и полиоснований; очевидно, что для комплексообразования с ХЗ белок должен выступать в роли кислоты.

Получены^{108, 109} ПЭК полностью дезацетилированного хитозана с бычьим ателоколлагеном. С применением различных методов доказано строение ПЭК, в которых связывание сополиэлектролитов осуществлялось электростатическим взаимодействием. Отмечено, что при выбранных условиях получения ПЭК конкурировали процессы гелеобразования коллагена и его комплексообразования с ХЗ. Оказалось, что невозможно подобрать условия, при которых взаимодействие коллагена с ХЗ протекало бы исключительно по механизму ионного комплексообразования. При повышенной температуре, когда индуцировалась денатурация белка, авторы исследования приблизились к получению поликаатион-полианионного комплекса стехиометрического состава. При большом избытке ХЗ удалось достичь доминирования процесса комплексообразования, но в данном случае помимо электростатического взаимодействия между белком и полисахаридом образовывались водородные связи. На основе сшитого глутаральдегидом ПЭК ХЗ с коллагеном¹¹⁰ были получены биосовместимые мембраны из нановолокон

комплекса, которые по своим ранозаживляющим свойствам превосходили широко применяемые коллагеновые губки.

В работах^{111, 112} описаны ПЭК ХЗ с легином кормовых бобов и с продуктом его частичного трипсинового протеолиза — легином-Т. Показана возможность регулирования функциональных свойств растительных белков посредством комплексообразования с заряженными полисахаридами: комплексообразование придавало растворимость осажденным молекулам белков вблизи их изоэлектрической точки, что позволяло контролировать растворимость осажденных глобулинов в слабых и слабосредних средах. Кроме того, образование ПЭК легинов с ХЗ существенно повышало стабильность белковых эмульсий.

Комплексы хитозан–овальбумин, полученные в виде коацерватов в воде в узком диапазоне условий (при низких значениях ионной силы (0.005–0.03 М NaCl), pH 5.8–6.4 и массовой доле ХЗ в смеси 0.05–0.15), предназначались для использования в качестве эффективных инкапсулянтов липофильных соединений.¹¹³

На основе ПЭК ХЗ с желатином были разработаны пористые монослойные и бислойные биомиметические структуры, свойства которых позволяют рекомендовать их для использования в тканевой инженерии.^{114, 115} Трубочатые сэндвичевые структуры на основе ПЭК ХЗ–желатин (4:1 по массе) с толщиной стенок 1 мм и порозностью 81.2% предназначались для тканевой реконструкции кровеносных сосудов.¹¹⁶ При этом показано, что на данных полиэлектролитных структурах выстилались и успешно росли сосудистые гладкомышечные клетки. Авторы работы¹¹⁷ получали пленки ПЭК ХЗ–кератин, которые по сравнению с пленками из исходных полиэлектролитов отличались улучшенными механическими свойствами (гибкостью, эластичностью, прочностью) и способностью набухать в кислой, нейтральной и щелочной средах (показано для pH 4.0, 6.3, 8.9), обусловленной свойствами входящих в ПЭК биополимеров — кислотным белком кератином с pI 4.9–6.1, осаждающимся в кислых средах, и основным полисахаридом хитозаном с pK 6.3, осаждающимся в щелочных средах. Установлено, что хитозан–кератиновые пленки проявляют антибактериальную активность, присущую хитозановым пленкам, стимулируют прикрепление и пролиферацию фибробластов и являются хорошим субстратом для клеток млекопитающих.

С целью исследования методом флуоресцентной поляризации молекулярного механизма взаимодействия ХЗ с муцинами был синтезирован FITC-меченый хитозан (FITC-ХЗ).¹¹⁸ Муцины представляют особый подкласс гликопротеинов с высокими молекулярными массами и высоким содержанием углеводов (до 50–80% от массы молекулы), которые образуют разветвленные олигосахаридные цепи, связанные O-гликозидной связью с белковой частью макромолекулы. Аминокислотный состав муцинов характеризуется высоким содержанием серина, треонина, пролина, а углеводный состав представлен в основном четырьмя моносахаридами (D-галактозой, L-фукозой, N-ацетилглюкозамином, N-ацетилгалактозамином) и сialовыми кислотами. Моносахаридные остатки образуют олигосахаридные цепочки, связанные с белком O-гликозидной связью, в образовании которой участвуют N-ацетилгалактозамин и гидроксильная группа боковой цепи серина или треонина.¹¹⁹

В работе¹¹⁸ методом флуоресцентной поляризации изучено влияние молекулярной массы ХЗ (70, 750, 2000 кДа), pH (2.9–5.0) и ионной силы (0.01–1.0 М NaCl) среды на процесс комплексообразования с бычьим подчелюстным

муцином (400 кДа), содержащим 12% остатков сиаловой кислоты. В качестве сополиэлектролитов сравнения муцин заменяли на декстрансульфат или альбумин. При комплексообразовании FITC-X3 с муцином степень поляризации возрастала по мере роста молярного соотношения муцин : хитозан и увеличения ионной силы раствора. Например, при соотношении муцин : FITC-X3 = 19 : 1 (750 кДа) и pH 2.9 (0.1 М уксусная кислота) степень поляризации возрастала на 61%. Кроме того, установлено, что увеличение молекулярной массы X3 также приводило к увеличению степени поляризации, как и рост содержания доли муцина в комплексе. Таким образом, с увеличением молекулярной массы X3 возрастало число сайтов, способных присоединять муцин. Высказано предположение, что с молекулой X3 может быть связано более одной молекулы муцина, в то время как связывание X3 с декстрансульфатом протекало по типу «один к одному», а комплексообразование X3 с альбумином в данных условиях не происходило вообще. Максимальное изменение степени поляризации при взаимодействии X3 с муцином наблюдали при более низких значениях pH (до pH 2.9, когда степень ионизации X3 практически равна 100%, а степень ионизации остатков сиаловой кислоты была наименьшей — 20%), что свидетельствует о доминирующем влиянии X3 на взаимодействие с муцином.

Проведенные исследования позволили сделать вывод, что в связывании двух молекул полимеров помимо электростатического взаимодействия между остатками D-глюкозамина X3 и остатками сиаловой кислоты муцина участвуют водородные связи и гидрофобные взаимодействия.

Комплексы X3 – муцин предназначались авторами исследования для создания pH-чувствительных лекарственных форм с целью локализованной доставки лекарственных веществ в желудочно-кишечный тракт.

IV. Полиэлектролитные комплексы хитозана с синтетическими полианионами

Наибольшее число литературных ссылок, касающихся ПЭК хитозана с анионами синтетических поликислот, приходится на работы, посвященные изучению ПЭК X3 с полиакриловой кислотой (ПАК).^{76, 77, 120–123}

Исследованы¹²¹ нерастворимые ПЭК X3 (220 кДа) с ПАК (202 кДа) различного состава, полученные в интервале pH 3–6. Установлено, что ионная сила раствора в исследуемых пределах (0.025–0.3) не оказывала влияния на формирование ПЭК. Отмечено, что при pH < 3 нерастворимые ПЭК X3–ПАК не образовывались. Величина pH определяла ионизацию реагирующих макромолекул (плотность распределения зарядов по цепи), а следовательно, и состав ПЭК: с ростом значений pH увеличивалось содержание полисахарида в нерастворимых фракциях ПЭК. Таким образом, найденные закономерности комплексообразования позволили получать ПЭК контролируемого состава и свойств.

В работе¹²² изучено формирование и строение ПЭК X3 (190 кДа, СД 80%) с ПАК (500 кДа). Методом потенциометрического титрования исследована зависимость степени комплексообразования и состава полученных ПЭК от pH. Показано, что при небольших степенях превращения образовывались нерастворимые ПЭК, обогащенные ПАК. При дальнейшем протекании реакции частицы ПЭК обогащались хитозаном, при этом в нейтральных средах образовывался стехиометрический ПЭК, в который количественно входили оба полиэлектролита. В щелочных средах комплекс разрушался с высвобождением из частиц ПЭК полиакрилат-анио-

нов и выделением нерастворимой фракции ПЭК, обогащенной X3.

Поведение ПЭК водорастворимого X3 (СД 50%) с ПАК изучено в работе¹²³. Гидродинамические исследования показали, что с ростом доли X3 в ПЭК происходит компактизация частиц комплекса, которая приводит к снижению характеристической вязкости растворов, причем минимальная вязкость соответствует составу $[X3] : ([X3] + [ПАК]) = 1 : 2$. В кислых средах (при pH < 2) ПЭК полностью диссоциированы на исходные полиэлектролиты, а в основных растворах (при pH > 8) происходит уменьшение величины оптического пропускания со 100 до 70% вследствие частичной преципитации X3, что характерно для поведения водорастворимых ПЭК X3. Авторы подчеркивают, что наряду с электростатическими взаимодействиями, играющими главную роль в формировании ПЭК, значителен также вклад водородных связей в стабилизацию комплекса.

Одно из важнейших применений ПЭК X3–ПАК — получение полупроницаемых мембран, широко используемых в пищевой промышленности, в медицине (при очистке крови, плазмы, кровезаменителей), в производстве фармацевтических препаратов, для очистки сточных вод, нефтепродуктов и т.д. Полупроницаемые мембраны должны обладать высокой разделяющей способностью (селективностью), высокой проницаемостью, устойчивостью к действию разделяемой среды, достаточной механической прочностью. Следует отметить, что полупроницаемые мембраны могут служить моделями биологических мембран, характеризующихся высокой биологической и химической селективностью, поэтому их изучение важно и в научных целях.

Структура пленок ПЭК X3–ПАК, их механические и физико-химические свойства, а также возможность использования в качестве мембран для первапорации описаны, в частности, в работах^{76, 77, 124–126}. При изучении механических свойств пленок X3–ПАК установлено¹²⁵ возрастание прочности на разрыв и уменьшение относительного удлинения при разрыве образца по сравнению с пленками исходных полимеров. Такой результат объясняется наличием ионной сшивки между макромолекулярными цепями в ПЭК. О лабильности полученных (при различных соотношениях полиэлектролитов) ПЭК в зависимости от pH среды судили по изменению степеней набухания пленок и с помощью ИК-спектроскопии. Так, для ПЭК состава X3 : ПАК = 1 : 1 зафиксирован рост степени набухания при pH 3 и 9, при pH 7 набухаемость имела минимальное значение. При этом в ИК-спектрах пленок после набухания при pH 3 исчезала характеристическая полоса поглощения карбоксильной группы ПАК при 1610 см^{-1} , при pH 9 наблюдалась полоса при 1590 см^{-1} , соответствующая колебаниям карбоксилат-иона ПАК, а при pH 7 происходило смещение абсорбционного пика, характерного для валентных колебаний C=O, вследствие образования комплекса X3–ПАК. Пervaпорационные свойства полученных мембран были исследованы с использованием различных водно-органических смесей, при этом показано, что эффективность первапорации зависела от состава ПЭК.^{77, 125}

Образцы пленок ПЭК X3 (190 кДа, СД 80%) с ПАК (200 кДа) различного состава (отношение X3 : ПАК в диапазоне 0.25–0.67) были получены методом полива из муравьинокислых растворов полимеров (pH 2). Изучены свойства приготовленных на их основе первапорационных мембран для разделения водно-органических смесей.⁷⁷ Установлено, что механическая прочность пленок возрастала по мере обогащения ПЭК жесткими цепями X3. Пленки сохраняли

устойчивость в нейтральных и слабощелочных средах (в отличие от ПЭК на основе гибкоцепных синтетических полимеров) и демонстрировали высокие транспортные и сорбционные характеристики. Материалы с такими свойствами востребованы во многих областях; например, их используют в фармакологии при создании систем с контролируемым выделением лекарственных веществ, для создания конструкций с определенными хемомеханическими свойствами^{107, 127, 133} и т.д.

В работе¹²⁶ ПЭК получали смешением эквимольных количеств уксуснокислого раствора ХЗ (300 кДа, СД 86%) с водным раствором ПАК (230 кДа). После проведения ковалентной сшивки глутаральдегидом на основе ПЭК были получены рН-чувствительные мембраны. Серия тестов показала, что исходный ПЭК ХЗ–ПАК диссоциировал при $\text{pH} < 2$ и демонстрировал высокую набухаемость в области $\text{pH} > 7$. В это же время мембраны ХЗ–ПАК при $\text{pH} < 2$ сильно набухали, с ростом pH степень набухания резко снижалась вплоть до $\text{pH} 8$, а затем возрастала и достигала максимума при $\text{pH} 11$. Набухаемость мембран в солевых растворах увеличивалась с ростом ионной силы, а при постоянном ее значении зависела от валентности катионов (М) соли: была максимальна в растворах солей трехвалентных металлов ($\text{M} = \text{Al}$) и постепенно уменьшалась при переходе к двухвалентным ($\text{M} = \text{Ca}, \text{Mg}$ и др.) и одновалентным металлам ($\text{M} = \text{K}, \text{Na}$). Следует отметить обратимость механических свойств мембран при попеременной их обработке растворами KCl и CaCl_2 при равных ионных силах: при обработке мембран раствором CaCl_2 происходило увеличение их размеров, а затем в растворе KCl — сжатие. Такое поведение обусловлено ионообменными свойствами ПАК.

Особо следует отметить работы, в которых ПЭК получали свободно-радикальной полимеризацией ионизованных мономеров на полимерной матрице.^{129–132} Например, самополимеризующиеся мембраны ХЗ–ПАК были изготовлены с использованием реакции свободнорадикальной полимеризации акриловой кислоты на матрице ХЗ при невысоких температурах (37°C).¹³² Строение полиэлектролитных мембран подтверждено методом ИК-спектроскопии. Установлено, что степень набухания мембран зависит от pH и композиционного состава: с увеличением значений pH от 5 до 10 и ростом содержания ПАК в ПЭК степень набухания возрастала. Термогравиметрические исследования показали образование межцепных амидных связей в мембранах при воздействии на них высоких температур (начиная от 100°C). Последующая термообработка при повышенных температурах приводила к дальнейшей дегидратации ионных связей между макромолекулами ХЗ и ПАК в ПЭК, потере массы и, в конечном итоге, к деградации ПЭК.

В ряде исследований в состав комплексов вводили и другие синтетические полианионы; например, получали ПЭК ХЗ с поливинилсульфатом,⁸⁶ полистиролсульфонатом,^{59, 134} поли- γ -глутаминовой кислотой¹³⁵ (о чем кратко упоминалось в предыдущем разделе). Описаны¹³⁶ интерполимерные комплексы хитозана с поли(метакрилоиламидобензойной) кислотой, полученные смешением эквимольных количеств полиэлектролитов с последующим упариванием растворителей. Дальнейшая их термообработка при 120°C приводила к образованию ковалентных межцепных амидных связей. Комплексы проявляли типичные для сшитых гелей физико-химические свойства, в частности, степень набухания коррелировала со степенью дегидратации системы в процессе термообработки.

Комплексообразование ХЗ с триполифосфатом используют для иммобилизации ферментов, например липаз.^{137, 138} Липазы широко применяются в биотехнологии для разделения энантиомеров, гидролиза жиров до жирных кислот, катализа расщепления эфиров глицерина и карбоновых кислот на поверхности раздела фаз липид–вода и т.д. Использование этих ферментов ограничивается их нестабильностью, узким интервалом условий (pH , температуры) биокаталитической активности. Под действием липаз возможно разрушение внешнего слоя клеточных мембран микробов. Однако вследствие того, что их оболочка содержит воскоподобные липиды, фагоцитоз бактерий не может осуществляться макрофагами. Одно из решений данной проблемы состоит в иммобилизации липаз на полимерных носителях, способных преодолеть клеточный барьер. С этой целью ионным желатинированием растворов ХЗ с триполифосфатом были получены микрокапсулы на основе ПЭК хитозана, которые использовались для иммобилизации липазы из *Candida rugosa*. Оказалось, что ферментативная активность липазы, заключенной в хитозановые микрокапсулы, в пять раз превышала активность фермента альгинатных микрокапсул. Молекулярная масса образцов ХЗ, использованных для микрокапсулирования, не оказывала заметного влияния на ферментативную активность получаемых препаратов. При этом было установлено, что для максимальной эффективности высвобождения липазы из капсул необходимо, чтобы СД хитозана была $> 90\%$.

На основе ПЭК ХЗ и сополимеров алкиленоксида (этиленоксида или сополимера этиленоксида с пропиленоксидом) с малеиновой кислотой получены^{139, 140} так называемые «переключаемые» (on-off switches) рН- и температурно-лабильные пленки для направленного транспорта лекарственных веществ. Такие пленки набухают при низких значениях pH и температур, причем они обладают свойством обратимо и быстро изменять степень набухания в ответ на изменение pH и температуры окружающей среды. Изучены закономерности введения и выделения модельных лекарственных соединений (салициловой кислоты, фенола и глюкозы) из пленок в зависимости от величины pH (3.8, 6.2, 7.2) и температуры (25 и 50°C), а также молекулярной массы лекарственного соединения. С повышением температуры и уменьшением pH (от 7.2 до 3.8), а также при меньших молекулярных массах модельных субстанций скорость их проникновения в пленки увеличивалась, в то время как скорость выделения лекарственных веществ возрастала с увеличением pH и температуры. Такой эффект авторы объяснили усилением (с ростом pH) электростатического отталкивания между карбоксильными группами сополимеров алкиленоксида с малеиновой кислотой и анионными группами модельных соединений (фенола или салициловой кислоты), а также увеличением коэффициента диффузии. Кроме того, скорость выделения действующих веществ зависела от микроскопической структуры пленок, степени гидрофобности образцов сополимеров алкиленоксида.

В работах^{141–145} изучены условия получения, свойства и структура ПЭК хитозана с полианионными сополимерами на основе малеиновой кислоты. В качестве сомономеров малеиновой кислоты использовали *N*-винилпирролидон, стирол и этилен. В состав комплекса вводили также модифицированное полимерное производное — сополимер *N*-винилпирролидона с мономалеамидом, содержащим остаток аминокислоты лизина. Предложены новые подходы к получению биоспецифических полимерных материалов (тромбо-резистентных покрытий для изделий, контактирующих с

кровью, аффинных сорбентов для выделения лектина зародышей пшеницы).

Выбор сополимеров малеиновой кислоты в качестве сополиэлектролитов хитозана для получения на их основе ПЭК продиктован наличием регулярной структуры у этих полимеров (строгое чередование мономерных звеньев), а также возможностью перевода остатков малеиновой кислоты в реакционноспособные ангидридные группы, которые реагируют (в мягких условиях) с амино- и гидроксисодержащими лигандами, тем самым обеспечивая возможность легкого модифицирования поликислоты до или после комплексообразования. Перечисленные свойства отсутствуют у описанных в литературе сополиэлектролитов хитозана. Кроме того, несомненный интерес представляет изучение формирования таких ПЭК на молекулярном уровне (на уровне полимерного звена) с учетом межзатомных расстояний в реагирующих группах и конформационных особенностей строения используемых полимеров.¹⁴²

V. Заключение

Представленный в обзоре материал убедительно демонстрирует, что ПЭК хитозана имеют большое практическое значение и широко используются в научных исследованиях, медицине, биотехнологии, пищевой и текстильной промышленности и т.д. Основные применения таких ПЭК в медицине и биотехнологии обобщены в табл. 1.

К настоящему времени изучены ПЭК хитозана с широким рядом полианионов природного и синтетического происхождения. Установлено, что комплексообразование между противоположно заряженными полиэлектролитами является сложным процессом, зависящим от многих параметров. Следует подчеркнуть, что в ПЭК хитозана, как правило, реализуются различные типы связывания: помимо электростатического взаимодействия между полиэлектролитами образуются водородные связи, а также осуществляется межмолекулярное гидрофобное взаимодействие.

Таблица 1. Применение ПЭК хитозана в медицине и биотехнологии.

Применение	Сополиэлектролит ХЗ в ПЭК	Ссылки
Специфические (био)сорбенты	Сополимеры малеиновой кислоты с <i>N</i> -винилпирролидоном, стиролом или этиленом	141, 143 – 145
Иммобилизация БАС по принципу полиэлектролитного взаимодействия	Антигены	146, 147
Пленки и пермепарационные мембраны	Поли(4-стиролсульфонат)	59, 134
	Альгинат натрия	61, 148 – 150
	Пектин	65 – 68
	Карбоксиметилхитин	74 – 76
	Полиакриловая кислота	76, 77, 121 – 126
Гемосовместимые и тромборезистентные материалы	Каррагинан	54
	Сополимер <i>N</i> -винилпирролидона с <i>N</i> _ε -лизинмоноамалеамидом	143 – 145
	Карбоксиметилдекстран	72, 150
	Карбоксиметилцеллюлоза	151
	Декстрансульфат	70, 73, 74
Подложки для иммобилизации БАС и лекарственные формы с направленным и пролонгированным транспортом БАС	Гепарин	152
	Декстрансульфат	86
	Полифосфорная кислота	137, 138
	Альгиновая кислота	47, 49 – 51, 53, 58, 61, 85
	Пектин	48, 52, 53
	Каррагинан	49, 55 – 57
	Карбоксиметилглюкоманнан	84
	Муцин	118
	Сополимер алкиленоксида с малеиновой кислотой	139, 140
	Поливинилсульфат	86
Биоконструкционные материалы для замены кожных покровов, кровеносных сосудов, костной ткани	Гепарин	86
	Гликозаминогликаны	28, 31 – 34, 36, 37, 39, 40, 153 – 155
	Желатин	114 – 116
Невирусные векторы переноса генетической информации	Кератин	117
	ДНК	98 – 103, 156
Комплексообразование для снижения токсичности	Эндотоксин	89 – 93

Примечание. БАС — биологически активные соединения.

Строение и свойства ПЭК хитозана зависят от природы и структуры сополиэлектролитов (молекулярных масс, конформаций макромолекул, плотности заряда и распределения ионизированных групп вдоль полимерной цепи), а также от условий формирования ПЭК (рН и ионной силы раствора, температуры, концентрации и соотношения полимеров). При определенных сочетаниях перечисленных факторов формируются растворимые или нерастворимые, стехиометрические или нестехиометрические ПЭК.

Варьируя тип сополиэлектролита и условия проведения полиэлектролитной реакции, можно получить ПЭК хитозана в виде геля, нано- и микрочастиц, пленок и мембран, пористых структур, жидкокристаллических дисперсий. Наиболее подробно изучены ПЭК с природными анионными полиэлектролитами, однако не меньший интерес представляют ПЭК с синтетическими полианионами, в том числе блок-сополимерами, поскольку расширяют возможности целенаправленного регулирования свойств получаемых ПЭК.

Литература

1. M.N.V.Ravi Kumar, R.A.A.Muzzarelli, C.Muzzarelli, H.Sashiwa, A.J.Domb. *Chem. Rev.*, **104**, 6017 (2004)
2. J.Berger, M.Reist, J.M.Mayer, O.Felt, R.Gurny. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **57**, 35 (2004)
3. K.A.Janes, P.Calvo, M.J.Alonso. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **47**, 83 (2001)
4. А.В.Ильина, В.П.Варламов. *Прикл. биохим. микробиол.*, **41**, 9 (2005)
5. К.Г.Скрябин, Г.А.Вихорева, В.П.Варламов. *Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение*. Наука, Москва, 2002
6. P.Sorlier, A.Denuzière, C.Viton, A.Domard. *Biomacromolecules*, **2**, 765 (2001)
7. V.A.Kabanov, A.A.Yaroslavov, S.A.Sukhishvili. *J. Controlled Release*, **39**, 173 (1996)
8. A.A.Yaroslavov, E.G.Yaroslavova, A.A.Rakhnyanskaya, F.M.Menger, V.A.Kabanov. *Colloids Surf., B*, **16**, 29 (1999)
9. А.М.Чупятов, В.Б.Рогачева, А.Б.Зезин, В.А.Кабанов. *Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **36**, 212 (1994)
10. V.A.Kabanov, A.B.Zezin, V.B.Rogacheva, V.A.Previs. *Makromol. Chem.*, **190**, 2211 (1989)
11. Е.А.Карпушкин, А.С.Кечежян, А.Б.Зезин. *Высокомолекулярные соединения. Сер. Б*, **48**, 2053 (2006)
12. А.М.Калсин, В.Кowalczyk, S.K.Smoukov, R.Klajn, V.A.Grzybowski. *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 15046 (2006)
13. В.А.Кабанов. *Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **36**, 183 (1994)
14. В.А.Кабанов, И.М.Паписов. *Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **21**, 243 (1979)
15. А.Б.Зезин, В.А.Кабанов. *Успехи химии*, **51**, 1447 (1982)
16. В.А.Кабанов, А.Б.Зезин. В кн. *Органическая химия. Т. 5. (Итоги науки и техники)*. Изд-во ВИНТИ, Москва, 1984. С. 131
17. В.А.Изумрудов, А.Б.Зезин, В.А.Кабанов. *Успехи химии*, **60**, 1570 (1991)
18. В.А.Кабанов. *Успехи химии*, **74**, 5 (2005)
19. В.А.Изумрудов, А.В.Собачин. *Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **48**, 1849 (2006)
20. А.Б.Зезин, В.Б.Рогачева. В кн. *Успехи химии и физики полимеров*. Химия, Москва, 1973. С. 3
21. V.A.Kabanov, A.B.Zezin. *Makromol. Chem. (Suppl.)*, **6**, 259 (1984)
22. A.V.Kabanov, S.V.Vinogradov, Yu.G.Suzdaltseva, V.Yu.Alakhov. *Bioconjugate Chem.*, **6**, 639 (1995)
23. A.Harada, K.Kataoka. *Macromolecules*, **28**, 5294 (1995)
24. A.V.Kabanov, T.K.Bronich, V.A.Kabanov, K.Yu, A.Eisenberg. *Macromolecules*, **29**, 6797 (1996)
25. K.Kataoka, H.Togawa, A.Harada, K.Yasugi, T.Matsumoto, S.Katayose. *Macromolecules*, **29**, 8556 (1996)
26. Е.Ю.Крамаренко, А.Р.Хохлов. *Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **49**, 1712 (2007)
27. Н.К.Кочетков, А.Ф.Бочков, Б.А.Дмитриев, А.И.Усов, О.С.Чижов, В.Н.Шибяев. *Химия углеводов*. Химия, Москва, 1967
28. A.Denuzière, D.Ferrier, A.Domard. *Ann. Pharm. Fr.*, **58**, 47 (2000)
29. M.Kuberka, I.Heschel, B.Glasmacher, G.Rau. *Biomed. Tech.*, **47**, 485 (2002)
30. C.Chatelet, O.Damour, A.Domard. *Biomaterials*, **22**, 261 (2001)
31. K.Shinoda, A.Nakajima. *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.*, **53**, 400 (1975)
32. K.Shinoda, A.Nakajima. *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ.*, **53**, 392 (1975)
33. A.Denuzière, D.Ferrier, A.Domard. *Carbohydr. Polym.*, **29**, 317 (1996)
34. L.Rusu-Balaita, J.Desbrieres, M.Rinaudo. *Polym. Bull.*, **50**, 91 (2003)
35. S.Hirano, C.Mizutani, R.Yamaguchi, A.Miura. *Biopolymers*, **17**, 805 (1978)
36. A.Denuzière, D.Ferrier, O.Damour, A.Domard. *Biomaterials*, **19**, 1275 (1998)
37. S.J.Kim, S.G.Yoon, K.B.Lee, Y.D.Park, S.I.Kim. *Solid State Ionics*, **164**, 199 (2003)
38. V.M.Sundararajan, W.T.M.Howard. *Biomaterials*, **20**, 1133 (1999)
39. L.Shahabeddin, O.Damour, F.Berthod, P.Rousselle, G.Saintigny, C.Collombel. *J. Mater. Sci., Mater. Med.*, **2**, 222 (1991)
40. G.Kratz, M.Back, C.Arnander, O.Larm. *Scand. J. Plast. Reconst. Surg. Hand Surg.*, **32**, 381 (1998)
41. T.Mitsumata, Y.Suemitsu, K.Fujii, T.Fujii, T.Taniguchi, K.Koyam. *Polymer*, **44**, 7103 (2003)
42. Е.В.Шумилина, Ю.А.Щипунов. *Коллоид. журн.*, **64**, 413 (2002)
43. M.D.Beaumont, D.Knorr. *Biotechnol. Lett.*, **9**, 377 (1987)
44. T.Sakiyama, C.-H.Chu, T.Fujii, T.Yano. *J. Appl. Polym. Sci.*, **50**, 2021 (1993)
45. T.Sakiyama, H.Takata, M.Kikuchi, K.Nakanishi. *J. Appl. Polym. Sci.*, **73**, 2227 (1999)
46. A.Hugerth, N.Caram-Lelham, L.O.Sundelof. *Carbohydr. Polym.*, **34**, 149 (1997)
47. A.Mitrevej, N.Sinchaipanid, Yu.Rungvejhavuttivittaya, V.Kositichaiyong. *Pharm. Dev. Technol.*, **6**, 385 (2001)
48. T.H.Kim, Y.H.Park, K.J.Kim, C.S.Cho. *Int. J. Pharm.*, **250**, 371 (2003)
49. C.Tapia, Z.Escobar, E.Costa, J.Sapag-Hagar, F.Valenzuela, C.Basualto, M.N.Gai, M.Yazdani-Pedram. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **57**, 65 (2004)
50. M.L.Gonzales-Rodriguez, M.A.Holgado, C.Sanches-Lafuente, A.M.Rabasco, A.Fini. *Int. J. Pharm.*, **232**, 225 (2002)
51. K.Y.Lee, W.H.Park, W.S.Ha. *J. Appl. Polym. Sci.*, **63**, 425 (1997)
52. M.M.Meshali, K.E.Gab. *Int. J. Pharm.*, **89**, 177 (1993)
53. C.Muzzarelli, V.Stanic, L.Gobbi, G.Tosi, R.A.A.Muzzarelli. *Carbohydr. Polym.*, **57**, 73 (2004)
54. S.Y.Park, B.I.Lee, S.T.Jung, H.J.Park. *Mater. Res. Bull.*, **36**, 511 (2001)
55. A.Bartkowiak, D.Hunkeler. *Colloids Surf., B*, **21**, 285 (2001)
56. A.Bani-Jaber, M.Al-Ghazawi. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, **31**, 241 (2005)
57. K.S.Bhise, R.S.Dhumal, B.Chauhan, A.Paradkar, S.S.Kadam. *AAPS PharmSciTech.*, **8**, 44 (2007)
58. F.-L.Mi, H.-W.Sung, S.-S.Shyu. *Carbohydr. Polym.*, **48**, 61 (2002)
59. G.Berth, A.Voigt, H.Dautzenberg, E.Donath, H.Möhwald. *Biomacromolecules*, **3**, 579 (2002)

60. X.L.Yan, E.Khor, L.Y.Lim. *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)*, **58**, 358 (2001)
61. X.L.Yan, E.Khor, L.Y.Lim. In *Chitosan – Alginate PEC Films Prepared from Chitosan of Different Molecular Weights. (Adv. Chitin Sci. Vol. 4)*. (Eds M.G.Peter, A.Domard, R.A.A.Muzzarelli). University of Potsdam, Potsdam, 2000. P. 473
62. Д.С.Зайцева-Зотова, Г.В.Хмелев, Ф.О.Чернышенко, Т.А.Акопова, А.Н.Зеленецкий, Т.Н.Ерохина, Е.А.Марквичева. В кн. *Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. (Тез. докл. VIII Междунар. конф.)*. Казань, 2006. С. 200
63. S.Sh.Rashidova, R.Yu.Milusheva, L.N.Semenova, M.Yu.Mukhamedjanova, N.L.Voropaeva, S.Vasilyeva, R.Faizieva, I.N.Ruban. *Chromatographia*, **59**, 779 (2004)
64. K.Ofori-Kwakye, J.T.Fell, S.L.Kipo. *J. Sci. Technol. (Ghana)*, **26** (2), 66 (2006)
65. K.D.Yao, J.Liu, G.X.Cheng, X.D.Lu, H.-L.Tu, J.A.L.da Silva. *J. Appl. Polym. Sci.*, **60**, 279 (1996)
66. С.Ш.Рашидова, Р.Ю.Милушева, Н.Л.Воропаева, Г.В.Никонович, Н.Д.Бурханова, С.М.Югай, Ш.Максудова, И.Н.Рубан. В кн. *Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. (Тез. докл. VIII Междунар. конф.)*. Казань, 2006. С. 124
67. P.Bernabé, C.Peniche, W.Argüelles-Monal. *Polym. Bull.*, **55**, 367 (2005)
68. P.D.Noagland, N.Parris. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 1915 (1996)
69. Y.Kikuchi, H.Fukuda. *Makromol. Chem.*, **175**, 3593 (1974)
70. H.Fukuda, Y.Kikuchi. *Makromol. Chem.*, **178**, 2895 (1977)
71. A.Drogoz, L.David, C.Rochas, A.Domard, T.Delair. *Langmuir*, **23**, 10950 (2007)
72. Y.Kikuchi, T.Takewayashi. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **55**, 2307 (1982)
73. С.М.Насибов. Дис. канд. хим. наук. ИНЭОС АН СССР, Москва, 1996
74. А.И.Гамзазаде. Дис. д-ра хим. наук. ИНЭОС РАН, Москва, 2005
75. Е.П.Агеев, Г.А.Вихорева, Л.С.Гальбрайх, Н.Н.Матушкина, Е.М.Чайка, И.В.Яминский. *Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **40**, 1198 (1998)
76. Е.П.Агеев, С.Л.Котова, Е.Е.Скорикова, А.Б.Зезин. *Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **38**, 323 (1996)
77. Е.Е.Скорикова, Р.И.Калужная, Г.А.Вихорева, Л.С.Гальбрайх, С.Л.Котова, Е.П.Агеев, А.Б.Зезин, В.А.Кабанов. *Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **38**, 61 (1996)
78. R.Srinivasan, R.Kamalam. *Biopolymers*, **21**, 251 (1982)
79. R.Srinivasan, R.Kamalam. *Biopolymers*, **21**, 265 (1982)
80. W.Arguelles-Monal, M.Garciga, C.Peniche-Covas. *Polym. Bull.*, **23**, 307 (1990)
81. W.Arguelles-Monal, O.L.Hechavarria, L.Rodrigues, C.Peniche-Covas. *Polym. Bull.*, **31**, 471 (1993)
82. W.Arguelles-Monal, G.Cabrera, C.Peniche, M.Rinaudo. *Polymer*, **41**, 2373 (2000)
83. J.S.Maciél, D.A.Silva, C.B.Haroldo Paula, R.C.M.de Paula. *Eur. Polym. J.*, **41**, 2726 (2005)
84. J.Du, R.Sun, S.Zhang, L.F.Zhang, C.D.Xiong, Y.X.Peng. *Biopolymers*, **78**, 1 (2005)
85. F.Kara, G.Demirel, H.Tümtürk. *Bioproc. Biosyst. Eng.*, **29**, 207 (2006)
86. R.Yamaguchi, J.Arai, S.Hirano, T.Ito. *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1297 (1978)
87. Ю.А.Книрель. В кн. *Прогресс химии углеводов*. Наука, Москва, 1985. С. 54
88. K.Brandenburg, J.Andrä, M.Müller, M.H.J.Koch, P.Garidel. *Carbohydr. Res.*, **338**, 2477 (2003)
89. V.N.Davidova, I.M.Yermak, V.I.Gorbach, T.F.Solovieva. *Membr. Cell Biol.*, **13**, 49 (1999)
90. В.Н.Давыдова, И.М.Ермак, В.И.Горбач, И.Н.Красикова, Т.Ф.Соловьева. *Биохимия*, **65**, 1278 (2000)
91. I.M.Yermak, V.N.Davidova, V.I.Gorbach, P.A.Luk'yanov, T.F.Solov'eva, A.J.Ulmer, U.Buwitt-Beckmann, E.T.Rietschel, Y.S.Ovodov. *Biochimie*, **88**, 23 (2006)
92. В.Н.Давыдова, Г.А.Набережных, И.М.Ермак, В.И.Горбач, Т.Ф.Соловьева. *Биохимия*, **71**, 417 (2006)
93. И.М.Ермак, А.В.Реунов, Л.А.Лапшина, В.Н.Давыдова, Т.Ф.Соловьева. *Биол. мембраны*, **22**, 117 (2005)
94. V.P.Torchilin. *Ann. Rev. Biomed. Eng.*, **8**, 343 (2006)
95. А.В.Кабанов, В.А.Кабанов. *Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **36**, 198 (1994)
96. Ю.М.Евдокимов. В кн. *Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение*. Наука, Москва, 2002. С. 178
97. F.Yang, X.Cui, X.Yang. *Biophys. Chem.*, **99**, 99 (2002)
98. T.Ishii, Y.Okahata, T.Sato. *Biochim. Biophys. Acta*, **1514**, 51 (2001)
99. A.Masotti, F.Bordi, G.Ortaggi, F.Marino, C.Palocci. *Nanotechnology*, **19**, 055302 (2008)
100. M.Lavertu, S.Méthot, N.Tran-Khanh, M.D.Buschmann. *Biomaterials*, **27**, 4815 (2006)
101. T.Sato, T.Ishii, Y.Okahata. *Biomaterials*, **22**, 2075 (2001)
102. W.G.Liu, X.Zhang, S.J.Sun, G.J.Sun, K.D.Yao, D.C.Liang, G.Guo, J.Y.Zhang. *Bioconjug. Chem.*, **14**, 782 (2003)
103. S.Gao, J.Chen, X.Xu, Z.Ding, Y.-H.Yang, Z.Hua, J.Zhang. *Int. J. Pharm.*, **255**, 57 (2003)
104. В.И.Салянов, А.В.Ильина, В.П.Варламов, Ю.М.Евдокимов. *Мол. биология*, **36**, 699 (2002)
105. Yu.M.Yevdokimov, V.I.Salyanov. *Liq. Cryst.*, **30**, 1057 (2003)
106. Е.А.Воробьев, Ю.Д.Нечипуренко, В.И.Салянов, Ю.М.Евдокимов. *Биофизика*, **52**, 636 (2007)
107. K.de Kruif, F.Weinbreck, R.de Vries. *Complex Coacervation of Proteins and Anionic Polysaccharides. (Lecture notes, NIZO Food Research BV, Ede Van't Hoff Laboratory)*. Utrecht University; Wageningen University, Netherlands, 2004
108. M.N.Travel, A.Domard. *Biomaterials*, **14**, 930 (1993)
109. M.N.Travel, A.Domard. *Biomaterials*, **16**, 865 (1995)
110. J.-P.Chen, G.-Y.Chang, J.-K.Chen. *Colloids Surf., A*, **313–314**, 183 (2008)
111. E.E.Braudo, I.G.Plashchina, K.D.Schwenke. *Nahrung/Food*, **45**, 382 (2001)
112. I.G.Plashchina, T.A.Mrachkovskaya, A.N.Danilenko, G.O.Kozhevnikov, N.Y.Starodubrovskaya, E.E.Braudo, K.D.Schwenke. In *Food Colloids, Fundamentals for Mulation*. (Eds E.Dickinson, R.Miller). Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2001. P. 332
113. Т.А.Мрачковская, А.С.Клемешов, П.В.Якимович, И.Г.Плещина. В кн. *Биотехнология — состояние и перспективы развития. Ч. 2. (Тез. докл. 2-го Междунар. конгресса)*. Москва, 2003. С. 117
114. F.Shen, Y.L.Cui, L.F.Yang, K.D.Yao, X.H.Dong, W.Y.Jia, H.D.Shi. *Polym. Int.*, **49**, 1596 (2000)
115. J.S.Mao, L.G.Zhao, Y.J.Yin, K.D.Yao. *Biomaterials*, **24**, 1067 (2003)
116. L.Zhang, Q.Ao, A.Wang, G.Lu, L.Kong, Y.Gong, N.Zhao, X.Zhang. *J. Biomed. Mater. Res.*, **77**, 277 (2006)
117. T.Tanabe, N.Okitsu, A.Tachibana, K.Yamauchi. *Biomaterials*, **23**, 817 (2002)
118. R.B.Qaqish, M.M.Amiji. *Carbohydr. Polym.*, **38**, 99 (1999)
119. J.G.Beeley. *Glycoprotein and Proteoglycan Techniques. (Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology)*. Vol. 16. (Eds R.H.Burdon, P.H.van Knippenberg). Elsevier, Amsterdam; New York; Oxford, 1985
120. A.Perez-Gramatges, W.Argelles-Monal, C.Peniche-Covas. *Polym. Bull.*, **37**, 127 (1996)
121. V.Chavasit, C.Kienle-Sterzer, J.A.Torres. *Polym. Bull.*, **19**, 223 (1988)
122. Е.Е.Скорикова, Г.А.Вихорева, Р.И.Калужная, А.Б.Зезин, Л.С.Гальбрайх, В.А.Кабанов. *Высокомолекулярные соединения. Сер. А*, **30**, 44 (1988)

123. H.Wang, W.Li, Yu.Lu, Zh.Wang, W.Zhong. *J. Appl. Polym. Sci.*, **61**, 2221 (1996)
124. J.J.Shieh, R.U.M.Huang. *J. Membr. Sci.*, **127**, 185 (1987)
125. S.Y.Nam, V.M.Lee. *J. Membr. Sci.*, **135**, 161 (1997)
126. H.Wang, W.Li, L.Yu, Zh.Wang. *J. Appl. Polym. Sci.*, **65**, 1445 (1997)
127. V.Crescenzi, G.Paradossi, P.Desideri, M.Dentini, F.Cavalieri, E.Honici, R.Lisi. *Polym. Gels Networks*, **5**, 225 (1997)
128. G.Staikos, C.Tsitsilians. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2**, 867 (1991)
129. H.Hoffmann, U.Kastner, R.Donges, R.Ehrel. *Polym. Gels Networks*, **4**, 509 (1996)
130. K.Kobayashi, A.Tsuhida, T.Usui, T.Akaike. *Macromolecules*, **30**, 2016 (1997)
131. P.Cerai, G.D.Guerra, M.Tricoli, S.Maltinti, N.Barbani, L.Petarca. *Macromol. Chem. Phys.*, **197**, 3567 (1996)
132. C.Peniche, W.Arguelles-Monal, N.Davidenko, R.Sastre, A.Gallardo, J.San Roman. *Biomaterials*, **20**, 1869 (1999)
133. S.Torrado, P.Prada, P.M.de la Torre, S.Torrado. *Biomaterials*, **25**, 917 (2004)
134. P.M.Budd, N.Ricardo, J.J.Jafar, B.Stephenson, R.Hughes. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **43**, 1863 (2004)
135. H.-S.Kang, S.-H.Park, Y.-G.Lee, T.-I.Son. *J. Appl. Polym.*, **103**, 386 (2006)
136. C.Peniche, C.Elvera, J.San Roman. *Polymer*, **39**, 6549 (1998)
137. S.S.Betigeri, S.H.Neau. *Biomaterials*, **23**, 3627 (2002)
138. I.A.Alsarraa, S.S.Betigeri, H.Zhanga, B.A.Evansb, S.H.Neau. *Biomaterials*, **23**, 3637 (2002)
139. T.Yoshizawa, Y.Shin-ya, K.-J.Hong, T.Kajiuchi. *J. Membr. Sci.*, **241**, 347 (2004)
140. T.Yoshizawa, Y.Shin-ya, K.-J.Hong, T.Kajiuchi. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **59**, 307 (2005)
141. Н.А.Самойлова, М.А.Краюхина, И.А.Ямсков. *Прикл. биохим. микробиол.*, **38**, 447 (2002)
142. Н.А.Самойлова, М.А.Краюхина, И.А.Ямсков. *Журн. физ. химии*, **76**, 1660 (2002)
143. М.А.Краюхина, Н.А.Самойлова, С.П.Новикова, М.В.Соколов, Н.В.Васильев, И.А.Ямсков. *Бюл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН*, **4**, 75 (2003)
144. N.A.Samojlova, M.A.Krayukhina, I.A.Yamakov. *J. Chromatogr., B*, **800**, 263 (2004)
145. N.A.Samoilova, M.A.Krayukhina, S.P.Novikova, T.A.Babushkina, I.O.Volkov, L.I.Komarova, L.I.Moukhametova, R.B.Aisina, E.A.Obratsova, I.V.Yaminsky, I.A.Yamakov. *J. Biomed. Mater. Res., Part A*, **82**, 589 (2007)
146. A.Vila, A.Sánchez, K.Janes, I.Behrens, T.Kissel, J.L.Vila Jato, M.J.Alonso. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **57**, 123 (2004)
147. L.Illum, I.Jabbal-Gill, M.Hinchcliffe, A.N.Fisher, S.S.Davis. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **51**, 81 (2001)
148. C.Wang, S.Ye, L.Dai, X.Liu, Z.Tong. *Biomacromolecules*, **8**, 1739 (2007)
149. S.-G.Kim, K.-S.Lee, K.-H.Lee. *J. Appl. Polym. Sci.*, **103**, 2634 (2006)
150. H.Fukuda, Y.Kikuchi. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 1142 (1978)
151. H.Fukuda. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **53**, 837 (1980)
152. A.P.Zhu, Z.Ming, S.Jian. *Appl. Surf. Sci.*, **241**, 485 (2005)
153. J.-K.F.Suh, H.W.T.Matthew. *Biomaterials*, **21**, 2589 (2000)
154. A.Gutowska, B.M.Jeong, M.Jasionowski. *Anat. Rec.*, **263**, 342 (2001)
155. T.Majima, T.Irie, N.Sawaguchi, T.Funakoshi, N.Iwasaki, K.Harada, A.Minami, S.-I.Nishimura. *J. Eng. Med.*, **221**, 537 (2007)
156. G.Maurstad, S.Danielsen, B.T.Stokke. *Biomacromolecules*, **8**, 1124 (2007)

POLYELECTROLYTE COMPLEXES OF CHITOSAN: FORMATION, PROPERTIES, AND APPLICATIONS

M.A.Krayukhina, N.A.Samoilova, I.A.Yamakov

*A.N.Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds, Russian Academy of Sciences
28, Ul. Vavilova, 119991 Moscow, Russian Federation, Fax +7(499)135-5085*

The results of studies devoted to polyelectrolyte complexes of chitosan are generalised and described systematically. Chitosan complexes with biopolyelectrolytes, modified natural polyelectrolytes and synthetic polyanions are considered. The use of chitosan complexes in medicine and biotechnology is discussed.

Bibliography — 156 references.

Received 1st October 2007