

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ»

**Физико-химические свойства *L*-(*D*-)аспарагината хитозана и наночастиц
на его основе**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студентки 2 курса 251 группы

направления 04.04.01 – Химия

Института химии

Шипенок Ксении Михайловны

Научный руководитель

д.х.н., профессор

А.Б. Шиповская

подпись, дата

Зав. кафедрой

д.х.н., профессор

А.Б. Шиповская

подпись, дата

Саратов 2024

Введение

Актуальность работы. Разработанные к настоящему времени наночастицы хитозана для доставки лекарственных средств в зону запланированной локализации или использования в качестве агронанобиохимикатов нового поколения часто теряют присущие исходному полимеру биологические свойства в процессе их формирования. Большинство существующих методов получения наночастиц предусматривает переход протонированной аминогруппы $-\text{NH}_3^+$ хитозана в основную $-\text{NH}_2$. В результате утрачивается биологическая активность полимерной системы и в структуру наночастиц необходимо вводить биологически активные вещества. Однако исходный порошкообразный хитозан проявляет широкий спектр биологически полезных свойств, поэтому разработка наночастиц на его основе с собственной биологической активностью является важной и актуальной задачей.

Ранее нами обнаружено, что процесс противоионной конденсации поликатиона хитозана с контрионами аспарагиновой кислоты приводит не только к получению солевой формы аспарагината хитозана, но и сопровождается формированием нано- и микрочастиц солевой формы этого полимера с собственной биологической активностью [1-5]. Известно также, что аспарагиновая кислота присутствует в живом организме в двух изомерных формах. В этой связи предположили, что *L*- и *D*-стереоизомеры аспарагиновой кислоты, используемой для формирования солевой формы хитозана, должны влиять на физико-химические свойства данной полимерной системы и, соответственно, наночастиц на ее основе.

Цель работы – исследование взаимодействия хитозана (CS) со стереоизомерами аспарагиновой кислоты (*L*-(*D*-)AspA), физико-химических свойств аспарагината хитозана и наночастиц на его основе.

Задачи:

1. Оценить влияние *L*- и *D*-энантиомеров аспарагиновой кислоты на химический состав, структуру и надмолекулярное упорядочение $CS \cdot L-(D-)AspA$;
2. Оценить влияние мольного соотношения кислота-полимер на степень протонирования солевой формы хитозана и pH среды;
3. Исследовать гидродинамические свойства водных растворов $CS \cdot L-(D-)AspA$;
4. Изучить водные дисперсии наночастиц аспарагината хитозана методами динамического рассеяния, оптической и ультрамикроскопии;
5. Исследовать хиро-оптические свойства наночастиц аспарагината без и с полисилоксановой оболочкой.

В качестве **объектов** исследования выбраны: порошки аспарагината хитозана, выделенные из свежеприготовленных растворов; водные растворы индивидуальных кислот *L*-(*D*-)AspA и *L*-(*D*-)аспарагината хитозана с разным мольным соотношением кислота-полимер ($[AspA]/[-NH_2]$, моль/осново·моль): свежеприготовленные со временем выдерживания $t < 1$ сут и хранившиеся в условиях комнатной атмосферы в течение $t = 4$ сут; исходные водные дисперсии наночастиц ($CS \cdot L-(D-)AspA$) с разным соотношением $[AspA]/[-NH_2]$ и $t < 1$ сут, а также хранившиеся в условиях комнатной атмосферы в течение $t = 5-7$ сут; водные дисперсии наночастиц ($CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$), модифицированные полисилоксановой оболочкой, с разным соотношением $[AspA]/[-NH_2]$: свежеприготовленные с $t < 1$ сут и хранившиеся в течение до $t = 360$ сут.

Структура и объем работы. Выпускная квалификационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, 5 обсуждения результатов, заключения и списка используемых источников, включающего 81 наименование. Работа изложена на 68 листах машинописного текста, содержит 15 рисунков, 13 таблиц.

Основное содержание работы

1 Структурные исследования аспарагиновокислого хитозана

В ИК спектрах солевых форм CS с *L*- и *D*-AspA присутствуют все характеристические для данного полимера частоты колебаний, в частности, вовлеченных в систему внутри- и межмолекулярных водородных контактов NH- и OH-связей, -NHCO- групп (Амид I и Амид II), симметричных и ассиметричных колебаний CH- и CN-связей, валентных и деформационных колебаний фрагментов глюкопиранозного кольца. Наблюдаются также плохо разрешенные полосы с центрами при 3125 см^{-1} для порошка CS·*L*-AspA и 3115 см^{-1} для порошка CS·*D*-AspA, относящиеся к протонированным аминогруппам полимера. В спектрах *L*- и *D*-аспарагинатов CS имеются характерные для валентных колебаний ионизованных и неионизованных карбонильных групп кислотного остатка полосы поглощения: $2100, 1715, 1460, 615\text{ см}^{-1}$ для CS·*L*-AspA и $2105, 1720, 1465, 620\text{ см}^{-1}$ для CS·*D*-AspA. ИК-спектроскопия подтверждает, что взаимодействие CS с AspA идет с переносом протона кислоты на аминогруппу полимера с образованием NH_3^+ -групп и, соответственно, солевой формы полимера.

При сравнении ИК-спектров *L*- и *D*-стереомерных солей CS выявляется, что полосы поглощения валентных колебаний N-H в протонированной аминогруппе и деформационных колебаний N-H (полоса Амид II) для образца CS·*D*-AspA наблюдаются при меньших значениях волнового числа по сравнению с CS·*L*-AspA. Валентные колебания C-O ионизированных и C=O неионизированных карбоксильных групп, а также деформационные колебания O-H в -COOH для порошка CS·*D*-AspA фиксируются при более высоких значениях ν , чем для порошка CS·*L*-AspA.

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C растворов CS·*L*-(*D*-)AspA показывают все характерные для CS и AspA сигналы протонов и углеродов. Кроме сигналов протонов глюкопиранозного кольца и ацетамидной группы CS присутствует уширенный сигнал протонов α -углеродного атома и квадруплет дублетов протонов β -метиленовой группы AspA. При этом, сигнал H_2 в солевых

комплексах смещен с сторону меньших δ по сравнению с исходным CS, что свидетельствует о формировании протонированных аминогрупп.

Оценка ^1H - ^1H -связей и, соответственно, корреляции протонов с вицинальными протонами (COSY), пространственной близости удаленных протонов (ROESY) и их пространственной корреляции (NOESY) показала, что выявленные кросс-пики могут быть обусловлены не только пространственной близостью протонов CS и AspA внутри одних и тех же повторяющихся мономерных единиц, но и пространственной близостью протонов соседних цепей полимера или удалённых по цепи «изгибных» сегментов одной и той же макромолекулы. Наибольшее число взаимодействий между парами атомных ядер наблюдается для образца CS·D-AspA.

Рентгеновская дифрактометрия показала существенные различия в надмолекулярном упорядочении *L*- и *D*-аспарагината CS как в сравнении с исходным образцом, так и в отношении энантиомерных солевых форм. Рентгеновские дифрактограммы энантиомерных солей CS характеризуются уширением основных рефлексов, что свидетельствует о наличии в них меньших по размеру структурных элементов. Интенсивность первого основного рефлекса в области $2\theta \sim 11.2 - 11.6$ град повышается для обоих образцов, а второго – понижается и смещается до 18.5 град для CS·*L*-AspA и 18.7 град для CS·*D*-AspA. Обнаруживаются дополнительные рефлексы в диапазоне $2\theta \sim 21 - 23$ град, проявляющиеся для CS·*L*-AspA уширенным пиком с центром при $2\theta \sim 22.2$ град, а для CS·*D*-AspA – двумя пиками при 21.5 и 22.2 град. Слабоинтенсивные рефлексы в диапазоне $2\theta \sim 25.5 - 29.0$ град, наблюдающиеся у исходного порошка CS, на дифрактограммах его диастереомерных солей не обнаруживаются.

Степень кристалличности порошков CS·*L*-AspA и CS·*D*-AspA достаточно высока. Значения межплоскостных расстояний в кристаллической решётке, определенные при основном рефлексе $2\theta \sim 11$ град уменьшаются, а при $2\theta \sim 19$ град – увеличиваются. Обнаруженные структурные изменения наиболее

выражены для *D*-изомерных солевых комплексов CS. Наиболее высокие значения степени кристалличности также наблюдаются для *D*-аспарагината CS.

Таким образом, солевые комплексы CS·*L*-(*D*-)AspA отличаются от известных в литературе солевых комплексов CS с органическими кислотами высокоупорядоченной ориентацией макроцепей. Совокупность результатов элементного анализа, ИК и ЯМР спектроскопии, рентгеновской дифрактометрии позволяет предположить, что и развитая система меж- и внутримолекулярных контактов в надмолекулярной структуре энантиомерных солей CS и *L*-(*D*-)AspA стабилизирована посредством сложных ион-ионно-водородных контактов, включающих классические ионные и водородные связи, а также специфические ион-дипольные и ассоциировано-кулоновские взаимодействия, в которых немаловажную роль выполняет стереоизомерная форма оптических антиподов AspA. Солевой комплекс CS·*D*-AspA, в отличие от CS·*L*-AspA, характеризуется меньшим количеством кристаллизационной воды, более развитой системой меж- и внутримолекулярных контактов и более высокой степенью кристалличности.

2 Исследование водных растворов аспарагината хитозана

При растворении хитозана в аспарагиновой кислоте наблюдается процесс солеобразования полимера, который зависит от pH среды и, соответственно, диссоциации кислоты, что должно отражаться на степени протонирования аминогрупп хитозана. Установлено, что с повышением мольного соотношения [AspA]/[-NH₂] понижаются значения водородного показателя среды и степени протонирования аспарагината хитозана, диссоциация аспарагиновой кислоты смещается в сторону уменьшения в системе анионов и увеличения количества цвиттер-ионов. В совокупности указанные факторы должны затруднять процесс противоионной конденсации в исследуемой системе.

Изучение гидродинамических свойств показало, что CS·*L*-AspA и CS·*D*-AspA в водной среде проявляет свойства полиэлектролита с частично скомпенсированным зарядом. Концентрационная зависимость $\eta_{уд}/C_{CS}$ отличается от классических полиэлектролитных систем, число вязкости

которых возрастает с понижением концентрации полимера за счет отталкивания одноименно заряженных звеньев вследствие их пространственной удаленности от свободных противоионов. Это свидетельствует о смешанном полиэлектролитно-иономерном состоянии макроцепей, когда часть противоионов кислотного остатка ассоциирована с макрокатионом. При этом соотношение между свободными и связанными формами противоионов определяется балансом их трансляционной энтропии (энтропии независимого поступательного движения) и процессом образования ионных пар между $\sim\text{-NH}_3^+$ и HAsp^- .

Высокая подвижность заряженных частиц $\text{CS}\cdot\text{L-(D-)AspA}$ отразилась и на кинетической стабильности растворов. Оказалось, что выдерживание полимерной системы в условиях комнатной атмосферы сопровождается значимым понижением $\eta_{\text{уд}}/C_{\text{CS}}$, $[\eta]$, $R_{\text{эф}}$ и повышением pH, в отдельных случаях – трансформируется характер зависимости $\eta_{\text{уд}}/C_{\text{CS}} = f(C_{\text{CS}})$. На 5–6 сут выдерживания наблюдается опалесценция, при более длительном t' – фазовое разделение. Так, для системы на основе $\text{CS}\cdot\text{L-AspA}$ на ~ 7 сут фиксируется выпадение водонерастворимого хлопьевидного осадка, а на основе $\text{CS}\cdot\text{D-AspA}$ на ~ 10 сут – водонерастворимого мелкодисперсного порошка. Для исключения протекания фазового разделения исследуемой системы впервые применили золь-гель синтез с использованием фармакологически активного тетраглицеролата кремния [6].

В совокупности исследования структурных и вискозиметрических свойств системы $\text{CS} + \text{L-(D-)AspA} + \text{H}_2\text{O}$, ее кинетической стабильности подтверждают эффекты противоионной конденсации в обеих энантимерных формах солей. Вероятно, противоионам термодинамически не выгодно находиться в свободном состоянии, и они продолжают образовывать ионные пары с NH_3^+ -группами полимерных цепей, теряя трансляционную подвижность, но выигрывая в электростатическом взаимодействии с поликатионом. Это приводит к экранированию электростатического отталкивания между

одноименно заряженными звеньями макроцепи и способствует диполь-дипольному взаимодействию ионных пар, их объединению в мультиплетные структуры и, как следствие, уплотнению макроклабков с формированием наноразмерных зародышей полимерной фазы.

3 Исследование водных дисперсий наночастиц аспарагината хитозана

Для характеристики систем $CS \cdot L-(D-)AspA$ и $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ проведено более 50 повторных экспериментов. Исследования свежеприготовленных исходных дисперсий частиц методом ДРС показали, что в системе на основе $CS \cdot L-AspA$ формируются микрочастицы размером $d \sim 1200 \pm 300$ нм, $Q \sim 70-90\%$, $P_i \sim 0.6 \pm 0.2$, а в $CS \cdot D-AspA$ – $d \sim 750 \pm 150$ нм, $Q \sim 90-95\%$, $P_i \sim 0.9 \pm 0.1$ ($t = 1$ сут, $[AspA]/[-NH_2] = 1.69$ моль/осново·моль).

Диаметр частиц в стабилизированной системе на основе $CS \cdot L-AspA \cdot Si$ составил $d \sim 1500 \pm 100$ нм, $CS \cdot D-AspA \cdot Si$ – $d \sim 1000 \pm 100$ нм, что свидетельствует о формировании защитной оболочки толщиной ~ 0.5 мкм. Во времени диаметр модифицированных частиц аспарагината хитозана практически не изменяется и варьируется в диапазоне $d \sim 1000 - 1500$ нм ($t \sim 300$ сут), что свидетельствует об агрегативной и седиментативной устойчивости дисперсий. Как и для исходных дисперсий $CS \cdot L-(D-)AspA$, для системы $CS \cdot D-AspA \cdot Si$ диаметр частиц меньше, чем для системы $CS \cdot L-AspA \cdot Si$. Результаты коррелируют с данными структурных и гидродинамических исследований, показывающих более развитую систему Н-связей и меньший размер макромолекулярного клубка.

Установлено, что численная концентрация частиц в водных дисперсиях $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ составляет порядка 10^{10} . Для системы с $C_{CS} = 0.3$ г/дл с повышением мольного соотношения кислота-полимер численная концентрация наночастиц увеличивается. Это может быть связано с увеличением в системе протонов и ускорением процесса противоионной конденсации, что приводит к формированию большего количества частиц. Непосредственная визуализация дисперсий аспарагината хитозана показала, что частицы имеют сферическую форму.

Методом FIB-СЭМ определено, что наибольший средний характерный эффективный диаметр наночастиц CS·L-AspA составил 17.02 ± 1.25 нм, наименьший – 13.65 ± 1.28 нм, наночастиц CS·D-AspA – 16.25 ± 3.50 нм и 14.84 ± 1.50 нм, соответственно. Элементный состав (СЭМ-EDX) наноразмерной полимерной фазы показал содержание $42.95 \pm 1.2\%$ углерода, $21.09 \pm 0.9\%$ азота и $35.96 \pm 1.0\%$ кислорода. Это подтверждает предположение, что наночастицы представлены солевой формой полимера – L-(D-)аспарагинатом CS.

На АСМ-фотографиях проб также наблюдаются дискретные и агрегированные сферические наноструктуры. Морфологическая картина СЭМ- и АСМ-изображений образцов одинаковая и во всех случаях средний эффективный диаметр наночастиц CS·D-AspA меньше, чем CS·L-AspA. Это коррелирует с результатами вискозиметрических измерений и динамического рассеяния света свежеприготовленных растворов CS·L-(D-)AspA. Несмотря на более высокие значения $[\eta]$ и $R_{\text{эф}}$ свежеприготовленных растворов CS·D-AspA, протекающие во времени ассоциативные процессы вызывают более значимое уплотнение макрокластеров, чем в растворах CS·L-AspA. Это создает наиболее благоприятные стерические условия для формирования более уплотненной структуры и, соответственно, приводит к формированию наночастиц меньшего размера.

Расхождения в размере частиц, определенных методами динамического рассеяния света и FIB-СЭМ, являются типичными и обусловлены разными условиями оценки размерных характеристик. Так, исследования ДРС проводились с дисперсиями гидратированных частиц в воде, а исследования FIB-СЭМ – с воздушно-сухими образцами. Предположительно такие частицы можно отнести к типу сфер, то есть состоящих из ядра, богатого сегрегированным нерастворимым материалом, окруженного растворимыми кластерами в форме геля богатых водой.

4 Исследование оптических свойств наночастиц аспарагината хитозана

Исследования в видимой области спектра показали, что кривые ДОВ водных растворов CS·L-AspA и CS·D-AspA характеризуются левым вращением плоскости поляризации, плавные и относятся к нормальному типу: отрицательные значения $[\alpha]$ монотонно убывают по модулю с увеличением λ . Наблюдаемый характер ДОВ для CS·L-(D-)AspA обусловлен, с одной стороны, преобладающим вкладом в суммарную оптическую активность полимерной системы молекулярной и структурно-конформационной хиральности солевой формы CS. При формировании по поверхности наночастиц аспарагината хитозана полисилоксановой оболочки наблюдается понижение модуля $[\alpha]$. Связанное с экранированием хиро-оптических свойств.

Кривые КД водных дисперсий CS·L-AspA и CS·D-AspA обнаруживают в УФ-области спектра положительный и отрицательный, соответственно, эффект Коттона. Он является результатом возбуждения связи C=C аминоксарагинатного хромофора и соответствует $\pi \rightarrow \pi^*$ переходу. О взаимодействии NH_3^+ -групп аминополисахаридной цепи с HAsp^- свидетельствует о батохромном смещении максимума дихроичного поглощения дисперсий CS·L-(D-)AspA по сравнению с L-(D-)AspA. С увеличением мольного соотношения кислота-полимер максимум дихроичной полосы батохромно и гиперхромно смещается.

Таким образом, наиболее значимый вклад в суммарную оптическую активность исследуемых объектов вносят индуцированные асимметрические хромофоры $(-\text{NH}_3^+ \cdot \text{HAsp}^-)$ полимерной цепи. При этом ансамбль возбужденных молекул CS·L-AspA проявляет положительный дихроичный эффект круговой поляризации, CS·D-AspA – отрицательный. На хиро-оптические характеристики исследуемых водных дисперсий влияет концентрация компонентов в исходном растворе и, соответственно, мольное соотношение кислота-полимер, а также функционализация поверхности частиц полисилоксановой оболочкой.

5 Ростостимулирующая активность

В настоящей работе для оценки ростостимулирующей активности наноструктурированных дисперсий использовали другой агротехнический прием возделывания сельскохозяйственных культур, основанный на оценке влияния модификации почвогрунта исследуемыми препаратами на рост и вегетацию тест-растений. При выращивании гороха *Pisum sativum* в почвогрунте «Добрый помощник универсальный», обработанном наноструктурированной водной дисперсией CS·L-(D-)AspA, по сравнению с немодифицированным почвогрунтом (контроль) наблюдается повышение всхожести тест-семян, зеленой массы, урожайности.

Заключение

Установлено, что диастереомерные солевые комплексы CS с *L*-(*D*-)AspA отличаются от известных солевых комплексов CS с органическими кислотами упорядоченной ориентацией макроцепей. Методами элементного анализа, ИК и ЯМР спектроскопии, рентгеновской дифракции показано наличие в надмолекулярной структуре энантиомерных солей CS·*L*-(*D*-)AspA развитой системы меж- и внутримолекулярных контактов, реализующихся посредством классических ионных и водородных связей, а также ион-дипольных и ассоциировано-кулоновских взаимодействий. При этом солевой комплекс CS·*D*-AspA характеризуется меньшим количеством кристаллизационной воды, более развитой системой меж- и внутримолекулярных связей и более высокой степенью кристалличности.

Исследования гидродинамических свойств системы CS + *L*-(*D*-)AspA + H₂O и ее кинетической стабильности подтверждают эффекты противоионной конденсации в обеих энантиомерных формах солей. Противоионы образуют ионные пары с NH₃⁺-группами полимерных цепей. Это приводит к экранированию электростатического отталкивания между одноименно заряженными звеньями макроцепей, способствует уплотнению макроклабков и формированию наноразмерных зародышей полимерной фазы. Обнаружено, что с увеличением мольного соотношения [AspA]/[-NH₂] диссоциация AspA смещается в сторону уменьшения анионов и увеличения цвиттер-ионов, что приводит к понижению pH среды и уменьшению степени протонирования полимера.

Методом динамического рассеяния света установлено, что в свежеприготовленной системе на основе CS·*L*-AspA формируются частицы со средним эффективным диаметром $d \sim 1200 \pm 300$ нм, объемная доля которых составляет $Q \sim 70-90\%$, индекс полидисперсности $P_i \sim 0.6 \pm 0.2$, ζ-потенциал 38 ± 3 мВ, а на основе CS·*D*-AspA – $d \sim 750 \pm 150$ нм, $Q \sim 90-95\%$, $P_i \sim 0.9 \pm 0.1$, ζ-потенциал 36 ± 1 мВ. Формирование на поверхности частиц полисилоксановой оболочки приводит к агрегативной и седиментационной устойчивости

дисперсии вплоть до $t = 360$ сут, что подтверждается постоянством значений дзета-потенциала и удельной электропроводности, а также отсутствием фазового разделения полимерной системы.

Анализ воздушно-сухих проб дисперсий $CS \cdot L-(D-)AspA$ методами FIB-СЭМ и АСМ показал, что среднее значение d частиц $CS \cdot L-AspA$ составляет 15 ± 2 (FIB-СЭМ) и 85 ± 15 нм (АСМ), $CS \cdot D-AspA$ – 15 ± 1 и 65 ± 15 нм, соответственно. На основании методов динамического светорассеяния и оптической микроскопии сделан вывод, что в водной среде наночастицы аспарагината хитозана гидратированы и, вероятнее всего, имеют форму полых сфер.

Непосредственная визуализация дисперсий наночастиц аспарагината хитозана методом ультрамикроскопии подтвердила наличие в исследуемых образцах хитозановых частиц сферической формы. Численная концентрация наночастиц в водных дисперсиях $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ составляет порядка 10^{10} шт/мл.

Выявлено, что исходные наночастицы аспарагината хитозана и функционализированные полисилоксановой оболочкой оптически активны. В видимой области спектра дисперсия оптического вращения водных дисперсий $CS \cdot L-AspA$ и $CS \cdot D-AspA$ характеризуется левым вращением плоскости поляризации, плавная и относится к нормальному типу: отрицательные значения удельного оптического вращения $[\alpha]$ монотонно убывают по модулю с увеличением λ . Модификация наночастиц полисилоксановой оболочкой приводит к понижению модуля $[\alpha]$.

Методом кругового дихроизма установлено, что в УФ-области спектра значимый вклад в суммарную оптическую активность исследуемых объектов вносят индуцированные асимметрические хромофоры $(-NH_3^+ \cdot HAsp^-)$ полимерной цепи. При этом ансамбль возбужденных молекул $CS \cdot L-AspA$ проявляет положительный дихроичный эффект круговой поляризации, $CS \cdot D-AspA$ – отрицательный.

Выявлена высокая ростостимулирующая активность наноструктурированных дисперсий аспарагината хитозана.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Lugovitskaya T.N. Physicochemical properties of aqueous solutions of L-aspartic acid containing chitosan / Shipovskaya A.B. // Russ. J. Gen. Chem. – 2017. – 87(4). – 782–787.
2. Lugovitskaya T.N. Formation, structure, properties of chitosan aspartate and metastable state of its solutions for obtaining nanoparticles / Shipovskaya A.B., Shmakov S.L., Shipenok X.M. // Carbohydr Polym. – 2022. – 277. – 118773.
3. Lugovitskaya T.N. Kinetic instability of a chitosan – aspartic acid – water system as a method for obtaining nano- and microparticle / Shipovskaya A.B., Shipenok X.M. // Chimica Techno Acta. – 2021. – 8(4). – 20218405.
4. Lugovitskaya T.N. Obtaining and properties of L-aspartic acid solutions of chitosan / Zudina I.V., Shipovskaya A.B. // Russ. J. Appl. Chem. – 2020. – 93(1). – 80–88.
5. Shipovskaya A. Self-assembling nano- and microparticles of chitosan L- and D-aspartate: preparation, structure, and biological activity / Shipenok X., Lugovitskaya T., Babicheva T. // Materials Proceedings. – 2023. – 14(1). – 31.
6. Khonina T.G. Silicon-hydroxyapatite–glycerohydrogel as a promising biomaterial for dental applications / Chupakhin O.N., Nikitina E.Y., Shur V.Y., Turygin A.P., Sadovsky V.V., Mandra Y.V., Sementsova E.A., Kotikova A.Y., Legkikh A.V., Bogdanova E.A., Sabirzyaniv N.A. // Colloids and Surfaces B. – 2020. – 189. – 110851.