



УДК 615.1

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1787>

Хитозан как основа стимулочувствительных систем: систематический обзор (обзор)

В. С. Пыжов, В. С. Ганыкин, Д. М. Власова, Я. Д. Петухова, А. И. Ходенюк, Е. О. Бахрушина✉

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

✉ Контактное лицо: Бахрушина Елена Олеговна. E-mail: bachrauschenh@mail.ru

ORCID: В. С. Пыжов – <https://orcid.org/0000-0003-2174-7157>;
В. С. Ганыкин – <https://orcid.org/0009-0007-1012-548X>;
Д. М. Власова – <https://orcid.org/0000-0002-9637-0502>;
Я. Д. Петухова – <https://orcid.org/0009-0005-8051-1090>;
А. И. Ходенюк – <https://orcid.org/0000-0001-8326-3292>;
Е. О. Бахрушина – <https://orcid.org/0000-0001-8695-0346>.

Статья поступила: 25.03.2024

Статья принята в печать: 21.03.2025

Статья опубликована: 21.03.2025

Резюме

Введение. Актуальным направлением современной разработки лекарственных средств является создание стимулочувствительных систем, способных к фазовому переходу «раствор – гель» в организме человека под воздействием различных физиологических факторов (ионный состав среды, температура, pH и др.). Одним из наиболее перспективных стимулочувствительных природных полимеров считается деацетилированное производное основного структурного компонента панцирей ракообразных, хитина, – хитозан. Этот полимер обладает доказанной высокой совместимостью с тканями животных, биоразлагаемостью и собственным антимикробным действием, что позволяет неограниченно его использовать в фармацевтических композициях. Также важно отметить высокую распространенность хитозана в природе, что делает его легкодоступным сырьем для создания новых лекарственных форм и, в частности, для импортозамещения зарубежных полимеров в отечественной фармацевтической технологии.

Текст. Целью представленного обзора стала систематизация информации и исследований касательно хитозана, его производства, физических и химических свойств и факторов, от которых последние зависят, и, самое важное, фармацевтических композиций на основе изучаемого полимера и его модификаций и стимулов, за счет которых происходит фазовый переход в системах доставки, включающих этот деацетилированный природный полисахарид. Хитозан – аминополисахарид, состоящий из β -(1 $\rightarrow$ 4)-связанных остатков D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина, известен в фармацевтической промышленности с середины XX века. За годы исследований были доказаны его биосовместимость, мукоадгезивность и гелеобразующие способности в водных растворах при pH в диапазоне до 6–7. В наиболее исследованные композиции на основе хитозана включались различные низкомолекулярные вспомогательные компоненты для достижения *in situ* перехода его водных растворов в физиологических условиях, однако многие сшивающие компоненты либо приводили к формированию стационарных гидрогелей, либо обладали токсичностью. Одним из самых перспективных и исследованных сочетаний на сегодняшний день представляется комбинация хитозана с бета-глицерофосфатом. Другой интересной стратегией придания хитозану стимулочувствительных свойств является модификация свободных аминогрупп цепи полимера с помощью других высокомолекулярных соединений путем их сшивания через иминные или амидные связи (как, например, в метоксиполиэтиленгликоль-хитозане), которые способны гидролизаться в среде организма. Таким образом можно повышать растворимость хитозана и достигать pH- и/или термочувствительности у изучаемых полимеров.

Заключение. В ходе написания обзора были освещены наиболее важные аспекты производства и модификации хитозана, а также продемонстрированы способы придания хитозану pH- или термочувствительных свойств посредством различных стратегий и показаны их преимущества и недостатки. Важно отметить, что не было найдено работ, которые доказывали бы наличие стимулочувствительных свойств у индивидуальных растворов хитозана.

Ключевые слова: *in situ* гелеобразование, стимулочувствительные полимеры, хитозан, pH-чувствительность, термочувствительность, бета-глицерофосфат, mPEG-хитозан

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Е. О. Бахрушина – руководство и разработка концепта работы, рецензирование, редактирование текста. В. С. Пыжов – написание, редактирование и перевод текста статьи, разработка концепта и оформление графического

© Пыжов В. С., Ганыкин В. С., Власова Д. М., Петухова Я. Д., Ходенюк А. И., Бахрушина Е. О., 2025

© Pyzhov V. S., Ganykin V. S., Vlasova D. M., Petukhova Ya. D., Khodenok A. I., Bakhrushina E. O., 2025

материала. А. И. Ходенюк – написание текста статьи, визуализация графического материала. В. С. Ганыкин, Д. М. Власова, Я. Д. Петухова – поиск и обработка литературных данных, написание текста статьи.

Для цитирования: Пыжов В. С., Ганыкин В. С., Власова Д. М., Петухова Я. Д., Ходенюк А. И., Бахрушина Е. О. Хитозан как основа стимулочувствительных систем: систематический обзор. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2025;14(2):88–105. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1787>

Chitosan as a basis of stimuli-sensitive systems: a systematic review (review)

Victor S. Pyzhov, Valeriy S. Ganykin, Darya M. Vlasova, Yaroslava D. Petukhova,
Angelina I. Khodenok, Elena O. Bakhrushina✉

I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Elena O. Bakhrushina. **E-mail:** bachrauschenh@mail.ru

ORCID: Victor S. Pyzhov – <https://orcid.org/0000-0003-2174-7157>;
Valeriy S. Ganykin – <https://orcid.org/0009-0007-1012-548X>;
Darya M. Vlasova – <https://orcid.org/0000-0002-9637-0502>;
Yaroslava D. Petukhova – <https://orcid.org/0009-0005-8051-1090>;
Angelina I. Khodenok – <https://orcid.org/0000-0001-8326-3292>;
Elena O. Bakhrushina – <https://orcid.org/0000-0001-8695-0346>.

Received: 25.03.2024

Accepted: 21.03.2025

Published: 21.03.2025

Abstract

Introduction. The actual trend of modern drug development is the creation of stimuli-sensitive systems capable of solution-gel phase transition in the human body under the influence of various physiological factors (ionic composition of the medium, temperature, pH, etc.). One of the most promising stimuli-responsive natural polymers is a deacetylated derivative of the main structural component of crustacean shells, chitin – chitosan. This polymer has proven high compatibility with animal tissues, biodegradability and its own antimicrobial action, which allows its non-limited use in pharmaceutical compositions. It is also worth noting the high prevalence of chitosan in nature, which makes it an easily obtainable raw material for the creation of new dosage forms and, in particular, for import substitution of foreign polymers in Russian pharmaceutical technology.

Text. The aim of the survey presented here is to systematise information and studies on chitosan, its production, physical and chemical properties and factors on which the above depend, and, most importantly, pharmaceutical compositions based on the studied polymer and its modifications and stimuli, due to which the phase transition occurs in delivery systems involving this deacetylated natural polysaccharide. Chitosan, an amino polysaccharide composed of β -(1 $\rightarrow$ 4)-linked D-glucosamine and N-acetyl-D-glucosamine residues, has been known in the pharmaceutical industry since the middle of the XX century. Over the years of research, its biocompatibility, mucoadhesiveness and gel-forming abilities in aqueous solutions at pH in the range up to 6–7 have been proven. The most investigated chitosan-based compositions included various low molecular weight auxiliary components to achieve *in situ* transition of its aqueous solutions under physiological conditions, but many crosslinking components resulted either in the formation of stationary hydrogels or possessed toxic properties. One of the most promising and investigated combinations to the present day appears to be the combination of chitosan with beta-glycerophosphate.

Another interesting strategy for providing chitosan with stimulus-sensitive properties is to modify the free amino groups of the polymer chain with other high molecular weight compounds by crosslinking them through imine or amide bonds (as in methoxypolyethylene glycol-chitosan, for example), which are able to hydrolyse in the body's environment. In such way, it is possible to increase the solubility of chitosan and to achieve pH- and/or thermosensitivity in the polymers studied.

Conclusion. In the write-up of this review, the most important aspects of chitosan production and modification have been highlighted, and ways to impart pH- or thermosensitive properties to chitosan through different strategies have been demonstrated and their advantages and disadvantages have been shown. Significantly, no work was found to prove the presence of stimulus-sensitive properties in individual chitosan solutions.

Keywords: *in situ* gelation, stimulus sensitive polymers, chitosan, pH-sensitivity, thermosensitivity, beta-glycerophosphate, mPEG-chitosan

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Elena O. Bakhrushina – guidance and development of the paper concept, reviewing, editing of the text. Victor S. Pyzhov – writing, editing and translation of the text, development of the concept and design of graphic material. Angelina I. Khodenok – writing of the text, visualisation of graphic material. Valeriy S. Ganykin, Darya M. Vlasova, Yaroslava D. Petukhova – search and processing of literature data, writing the text of the review.

For citation: Pyzhov V. S., Ganykin V. S., Vlasova D. M., Petukhova Ya. D., Khodenok A. I., Bakhrushina E. O. Chitosan as a basis of stimulus-sensitive systems: a systematic review. *Drug development & registration*. 2025;14(2):88–105. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-2-1787>

ВВЕДЕНИЕ

Согласно последним исследованиям в области фармацевтической разработки все более актуальным становится включение в состав лекарственных форм природных полимеров. Одним из них является хитозан – деацетилированное производное хитина, являющееся вторым по распространенности природным полимером после целлюлозы [1, 2]. К уникальным свойствам хитозана, делающим его привлекательным для дальнейших разработок, стоит отнести отсутствие токсичности, биоразлагаемость, мукоадгезивность, антимикробное действие и др. [3–5].

Многие исследователи отмечают большой потенциал применения так называемых смарт-полимеров, осуществляющих изменение физико-химических свойств под действием различных факторов [4–6].

В зависимости от воздействующего на полимер стимула выделяют три основные категории: термочувствительные, pH-зависимые и ион-регулируемые [6]. Среди систем, образующихся *in situ* (на месте применения), pH- и термочувствительные гидрогели более привлекательны из-за отсутствия каких-либо токсичных сшивающих агентов или внешних факторов, таких как УФ-излучение или возможное неблагоприятное воздействие на окружающие клетки [7].

Присутствие в элементарном звене хитозана – поли[β -(1 $\rightarrow$ 4)-2-амино-2 дезокси-D-глюкана] – аминогрупп и гидроксигрупп определяет перспективность создания на его основе pH- и термочувствительных гидрогелей, биосовместимых с тканями живого организма. Гидрогели на основе хитозана могли бы широко применяться в качестве мембран, ионообменных композиций, сорбентов для аналитических и препаративных целей, имплантируемых в организм протезов, ранозаживляющих покрытий и т. д. [8–14].

Целью данной работы была систематизация имеющейся информации о хитозане: структуре, получении и физико-химических свойствах, а также освещение проблемы использования хитозана и его производных в pH-чувствительных и термочувствительных *in situ* системах на основе анализа современных разработок.

Хитозан

Получение хитозана

Хитозан представляет собой природный полисахарид с прямой цепью (1 $\rightarrow$ 4)-связанной 2-амино-2-дезокси-D-глюкопиранозы с некоторыми остаточными звеньями D-глюкозамина [5]. Он сочетает широкий спектр физико-химических и биологических свойств, благодаря чему интерес к нему с каждым годом только возрастает. По данным аналитической компании Grand View Research [2017], области применения этого полисахарида постоянно расширяются и уже сейчас он широко используется на мировом рынке в различных отраслях промышленности – пи-

щевой, косметической, сельском и водном хозяйстве, медицине и др. [15].

Основным источником получения хитозана является более распространенный и возобновляемый хитин – структурообразующий биополимер панциря ракообразных, наружного скелета насекомых и клеточной стенки грибов [16].

От способа получения хитозана будут зависеть его конечные свойства. В целом способы получения хитозана можно разделить на две группы: химические и биологические [17].

К группе химических методов получения хитозана относится распространенная реакция деацетилирования, в ходе которой ацетамидная группа хитина, расположенная у второго углеродного атома, превращается в первичную аминогруппу, а хитин – в хитозан. Как правило, данную реакцию проводят в жестких условиях при добавлении концентрированных гидроксидов натрия и калия (40–60 %) при температуре около 100 °С. Продолжительность реакции деацетилирования может достигать 6 ч, при этом получают хитозан с высокой степенью деацетилирования (88–98 %).

К примеру, С. Yong и др. описывают получение хитозана из личинок *Zophobas morio* с использованием 1,0 М раствора хлористоводородной кислоты при 35 °С в течение 30 мин на этапе деминерализации и различных концентраций гидроксида натрия (0,5 М, 1,0 М и 2,0 М) на этапе депротеинизации при 80 °С в течение 20 ч. Экстрагированный хитин деацетилировали 50%-м раствором гидроксида натрия на водяной бане при температуре 90 °С в течение 30 ч [18].

Показано, что реакция деацетилирования сопровождается не только отщеплением ацетильных групп, но и одновременным разрывом гликозидных связей полимера. Это приводит к изменению таких физико-химических свойств хитозана, как молекулярная масса, надмолекулярная структура, степень кристалличности, характеристическая вязкость и т. д. [15].

По этой причине во Всероссийском научно-исследовательском институте рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО) разработали «холодный» способ получения хитозана из различного хитинсодержащего сырья. Предложенный способ позволил снизить степень деструкции хитозана, увеличить молекулярную массу и, как следствие, вязкость получаемых композиций. При этом степень деацетилирования была снижена до 75 %. Необходимо отметить, что деацетилирование согласно описываемому способу проводилось в течение 20–25 суток, что создает трудности в трансфере и масштабировании разработанной технологии получения.

Известны работы по модификации методики «холодного» деацетилирования, разработанной во ВНИРО. В работе Е. Ежовой и др. описывался двух-

этапный способ деацетилирования хитина. Первоначально хитин обрабатывали 40%-м раствором гидроксида натрия при 50–60 °С в течение 2–3 ч, после чего его промывали дистиллированной водой. Авторам метода удалось сократить время реакции до 15 суток и получить хитозан с высокой степенью деацетилирования (~80 %) [15].

Стоит отметить, что для получения хитозана используется и другое сырье. Так, М. Тели и др. проводили экстракцию хитозана из панцирей, полученных в ходе переработки креветок. Порошок панцирей креветок замачивали в 1,0 М растворе гидроксида натрия в течение 24 ч, промывали и сушили. Затем порошок деминерализовывали 1,0 М раствором хлорноводородной кислоты, депротеинизировали 1,0 М раствором щелочи и обесцвечивали с помощью перманганата калия и щавелевой кислоты. Полученный хитин затем повторно деацетилировали 50%-м раствором гидроксида для получения более высокой степени деацетилирования хитозана [19].

Химические методы имеют свои особенности: изменение физико-химических свойств хитина и снижение молекулярной массы и степени ацетилирования хитозана; экологическое воздействие на сточные воды, содержащие некоторые реагенты; увеличение стоимости процессов очистки полимера [20]. Как упоминалось ранее, характеристики экстрагируемого хитозана различаются в зависимости от метода экстракции и источника, из которого выделен хитин. Обычно химические методы предполагают использование сильных кислот и оснований при высокой температуре. В этих процессах экстракции использование высокой температуры имеет тенденцию увеличивать степень деацетилирования, а затем и растворимость, но происходит термическая дегградация хитозана, и молекулярные цепи быстро разрушаются, тем самым уменьшая молекулярную массу [21].

К группе биологических методов относятся ферментативный и ферментационный способы получения.

При ферментативном деацетилировании различные хитиндеацетилазы (ЕС 3.5.1.41 – chitin deacetylase) катализируют гидролиз N-ацетамидных связей в хитине с образованием хитозана [20]. Несмотря на более мягкие параметры реакции, ферментативные методы имеют существенные ограничения по сравнению с химическими методами. Самым большим из них является стоимость получения, особенно для промышленного производства. Это связано с тем, что используемые ферменты значительно дороже, чем реагенты, используемые в химических методах. При этом ферментативные методы менее эффективны, чем химические, из-за неспособности устранить конечные остаточные 10 % белков оболочек при депротеинизации, а степень деацетилирования при ферментативном методе еще ниже [17].

В большинстве публикаций, использующих биологические методы получения хитозана, вместо ферментативных способов используются методы ферментации [22, 23], среди которых методы молочно-кислой ферментации и методы немолочнокислой ферментации, выделяемые в зависимости от того, секретируют ли используемые в исследованиях микробные штаммы молочную кислоту или другие органические кислоты для реакции деминерализации. В существующих исследованиях преимущественно используются методы молочнокислой ферментации, когда побочные продукты обработки панцирей омаров использовались в качестве источников хитозана. Однако процессы ферментации обычно занимают от семи дней, при этом выделение побочных продуктов лактата кальция (образующихся в результате молочнокислого брожения) от хитозанового продукта считается сложной задачей [24, 25].

Физико-химические свойства хитозана

Как было сказано ранее, хитозан обладает широким спектром свойств, которые делают его перспективным объектом для использования в различных областях. Большой потенциал применения полимера обусловлен возможностью получения различных производных полисахарида за счет реакционноспособных функциональных групп [первичная аминогруппа, расположенная у второго углеродного атома (C2), а также две гидроксильные группы, одна из которых (у C3) – вторичная, а вторая (у C6) – первичная] [15, 26]. Физико-химические свойства хитозана будут напрямую зависеть от способа получения, степени деацетилирования, величины молекулярной массы, а также качества хитина, из которого его получают (рисунок 1) [15].

Одна из главных целей исследователей – получить хитозан с предельно высокой степенью деацетилирования и высокой, не изменяющейся в процессе получения молекулярной массой [27].

Степень деацетилирования – важный параметр хитозана. В проведенных ранее исследованиях показано, что хитозан с более высокой степенью деацетилирования демонстрирует более сильные биологические эффекты, а также повышенную растворимость в воде [20]. Это объясняется тем, что более высокая степень деацетилирования указывает на более высокую концентрацию аминогрупп в молекуле, а протонирование функциональной группы $-\text{NH}_2$ имеет жизненно важное значение для проявления биологических эффектов хитозана и его растворимости в воде [28]. Одновременно несколькими авторами отмечается, что большинство коммерчески доступных видов хитозана имеют значение степени деацетилирования от 70 до 90 % [29–31]. В работах отмечена и корреляция между молекулярной массой хитозана и его растворимостью в воде: чем меньше молекулярная масса, тем более высокую растворимость будет иметь биополимер [20]. Хито-

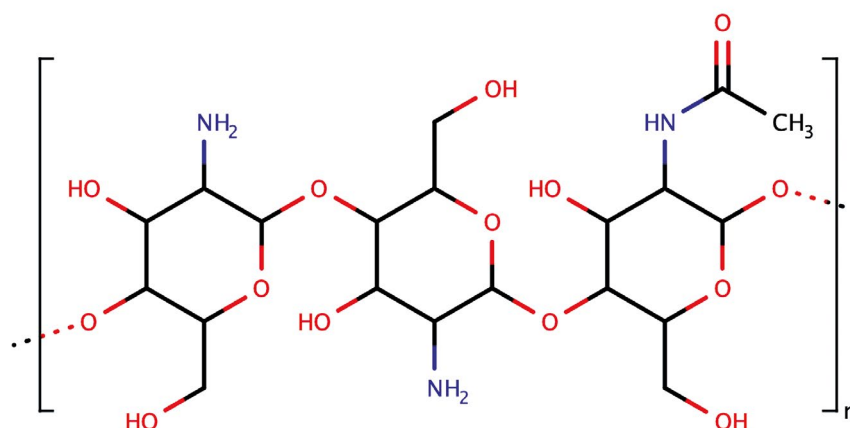


Рисунок 1. Структурная формула хитозана

Figure 1. Structural formula of chitosan

зан с молекулярной массой менее 30 кДа растворим в воде в форме свободного амина без необходимости подкисления [32, 33]. Однако следует отметить, что даже в диапазоне менее 30 кДа хитозан с молекулярной массой более 22 кДа демонстрирует лишь ограниченную растворимость, тогда как хитозан с молекулярной массой менее 9 кДа демонстрирует значительно лучшую растворимость в воде [34]. Когда молекулярная масса хитозана превышает 30 кДа, для растворения хитозана в воде фактически необходимо протонирование аминогруппы кислотой [17].

Обычно с повышением температуры вязкость раствора полимера снижается. Однако изменение pH раствора полимера может дать разные результаты в зависимости от типа используемых кислот. В случае уксусной кислоты вязкость хитозана имеет тенденцию увеличиваться с уменьшением pH, тогда как вязкость при добавлении более сильной HCl уменьшается.

Кингле-Штерцер и др. изучали длину персистентности молекул хитозана в разбавленном растворе. Они указали, что характеристическая вязкость хитозана зависит от степени ионизации, а также от ионной силы. Увеличение ионизации хитозана или ионной силы приведет к снижению характеристической вязкости раствора полимера [35]. На основании своих исследований авторы предположили, что хитозан в разбавленном растворе ведет себя как непроницаемая червеобразная молекула, а его молекулярная конфигурация определяется электростатическими взаимодействиями между полиионными противоионами [36].

Хитозан практически нерастворим при физиологических значениях pH, однако в разбавленных кислых растворах при pH раствора менее 6 первичные аминогруппы хитозана переходят в протонированную форму, в результате чего образуется растворимый в воде поликатион. Поликатионная природа хи-

тозана также обуславливает его взаимодействие с отрицательно заряженными клеточными мембранами микроорганизмов и объясняет его антимикробные эффекты и мукоадгезивные свойства [4, 37]. Уксусная и муравьиная кислоты являются двумя наиболее широко используемыми кислотами для растворения хитозана. Некоторые разбавленные неорганические кислоты (например, азотную, соляную, хлорную, фосфорную) также можно использовать для приготовления раствора хитозана, но только после длительного перемешивания и нагревания. Однако иногда после растворения полимера в растворе азотной кислоты образуется белый гелеобразный осадок. Помимо кислот, хорошими растворителями хитозана являются также такие смеси, как диметилформид с тетраоксидом азота в соотношении 3:1 [37].

Наконец, хитозан является хорошим коагулянтом и флокулянтом благодаря высокой плотности аминогрупп, которые могут взаимодействовать с отрицательно заряженными веществами, такими как белки, твердые вещества, красители и полимеры. Однако хитозан ведет себя совершенно иначе по отношению к ионам переходных металлов. Азот в аминогруппе молекулы хитозана выступает донором электронов и, предположительно, ответственен за селективное хелатирование с ионами металлов. Комплексообразование азота хитозана с ионами металлов было подтверждено Цезосом и Огавой. Была выдвинута гипотеза о том, что ион металла (т.е. ион меди) может координироваться с четырьмя аминогруппами в остатке димерного D-глюкозамина цепи хитозана [37, 38]. Считалось, что свободная аминогруппа хитозана гораздо более эффективно связывает ионы металлов, чем ацетильные группы хитина [38]. Это позволяет предположить, что более высокое содержание свободных аминогрупп в хитозане должно приводить к более высокой скорости адсорбции ионов металлов. Однако Курита и др. указали, что адсорбцион-

ная способность хитозана зависит от многих других факторов, таких как кристалличность, деацетилирование и сродство к воде. В своих исследованиях они обнаружили, что наибольшую адсорбционную способность проявляют образцы с 55%-м деацетилированием, приготовленные методом гомогенного гидролиза [39].

Таким образом, аминогруппы превращают хитозан в катионный полиэлектролит ($pK_a \approx 6.5$), один из немногих, который встречается в природе и обладает особыми свойствами: он растворим в водных кислых средах при $pH < 6.5$ и при растворении обладает высоким положительным зарядом за счет наличия большого количества $—NH_3^+$ -групп; хитозан адсорбируется на отрицательно заряженных поверхностях, агрегирует с полианионными соединениями и хелатами, ионами тяжелых металлов. Стоит отметить, что растворимость в кислых растворах и агрегация с полианионами придает хитозану гелеобразующие свойства [40].

Актуальной задачей на сегодняшний день является изыскание способа получения хитозана, растворимого при нейтральных значениях pH и обладающего при этом более высокой биологической активностью по сравнению с высокомолекулярным хитозаном. Основным препятствием для широкого использования хитозана является его низкая растворимость в воде, неустойчивость в кислых растворах и низкая механическая прочность и плохая пластичность при его использовании в виде пленок [41]. Снижение молекулярной массы полимера путем его деполимеризации – один из подходов к повышению его растворимости. В данном направлении проведено много исследований, где деполимеризация исходного хитозана проводилась с помощью химических реагентов или ферментов [15, 42]. Одним из самых эффективных методов улучшения физико-химических свойств хитозана считается получение его сополимеров.

Применение хитозана в *in situ* системах

pH-чувствительные in situ системы на основе хитозана

В молекулярной цепи хитозана присутствует большое количество гидроксильных и аминогрупп, что делает его чувствительным к pH и перспективным для включения в стимулочувствительные *in situ* системы.

Как было сказано ранее, хитозан плохо растворим при физиологических значениях pH среды. Плохая растворимость обуславливается его структурой и высокой кристалличностью межмолекулярных и внутримолекулярных водородных связей [43].

Хитозан может превращаться в гель за счет физических, химических или координационных связей. Гелеобразование происходит в результате электростатических и гидрофобных взаимодействий, а также

благодаря водородным связям. Этот полимер способен образовывать гель самостоятельно, без добавок [44]. Кислые растворы хитозана при воздействии щелочной среды обуславливают снижение плотности полимера и появление гелей за счет гидрофобных взаимодействий и водородных связей [45]. pH-зависимое поведение хитозана также можно объяснить, как говорилось ранее, наличием первичных аминогрупп, образующих катионную гидрогелевую сетку в воде. Набухание происходит при кислом pH ($pH < pK_a$), а сжатие – при основном pH ($pH > pK_a$) [46]. Из-за своей катионной природы хитозан демонстрирует золь-гель переход при pH 6,5 [45].

Для создания pH-чувствительного гидрогеля на основе хитозана необходимо учитывать его способность к набуханию при различных pH. Набухание чувствительных к pH гидрогелей контролируется по изменению электростатического заряда ионизированных боковых участков полимеров, что приводит к электростатическому отталкиванию. Чувствительные к pH гидрогели, имеющие анионные боковые группы, например карбоксильные и сульфатированные группы, называются анионными гидрогелями, тогда как гидрогели, в которых участвуют катионные боковые группы (например, амины), называются катионными гидрогелями. Анионные гидрогели (такие как карбоксиметилхитозан) набухают при повышении pH выше pK_a , что возможно для доставки лекарств при высоком pH (например, pH кишечника составляет 7,4). С другой стороны, катионные гидрогели (такие как хитозан) набухают при низком pH под действием pK_b после возникновения ионизации и полезны для доставки лекарств при кислом pH, например в желудок (рисунки 2–5) [47, 48].

Так, например, в исследовании С. Аффеса показано, что все пленки на основе хитозана набухали сильнее в кислой среде (pH 1,2), чем в фосфатном буфере (pH 7,4). Данный механизм, по-видимому, связан с превращением функциональной аминогруппы в кислой среде в аммониевую путем протонирования, вызывая электростатическое отталкивание между положительно заряженными группами – NH_3^+ . Такое отталкивание приводит к уменьшению плотности сшивки в кислом растворе и тем самым увеличивает набухание пленок. В то же время низкий уровень степени набухания при нейтральном pH (pH 7,4) можно объяснить увеличением плотности сшивки в пленках в результате депротонирования хитозана и его деполимеризованных производных в таких условиях pH [49].

Как правило, для создания pH-чувствительных систем природный полимер хитозан модифицируют различными способами. Обильные амино- и гидроксильные группы в основной цепи хитозана дают полимеру большие возможности для модификации с помощью определенных функциональных групп, что приводит к образованию различных производных хитозана с улучшенными свойствами [50].

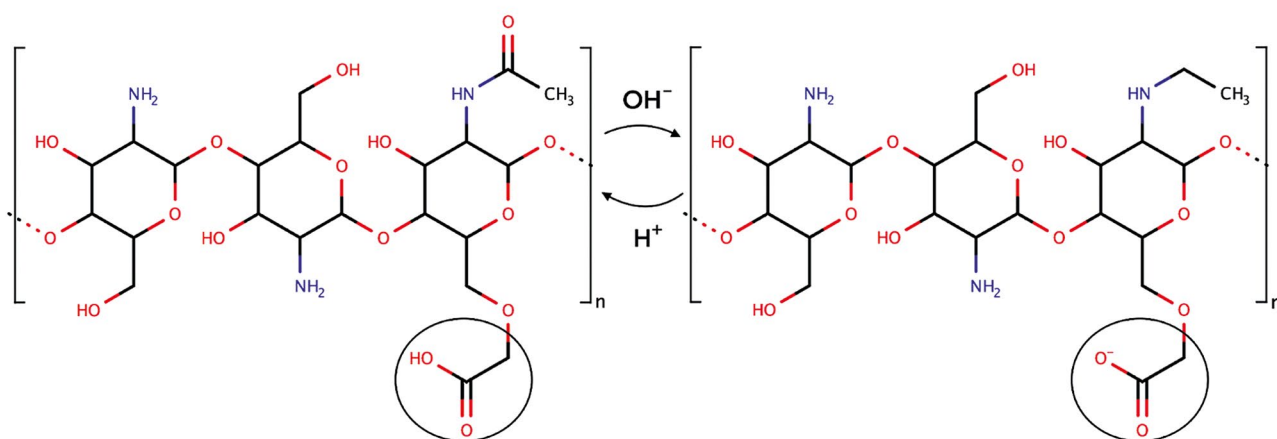


Рисунок 2. Влияние pH на анионный гидрогель на примере карбоксиметилхитозана

Figure 2. Effect of pH on anionic hydrogel using carboxymethyl chitosan as an example

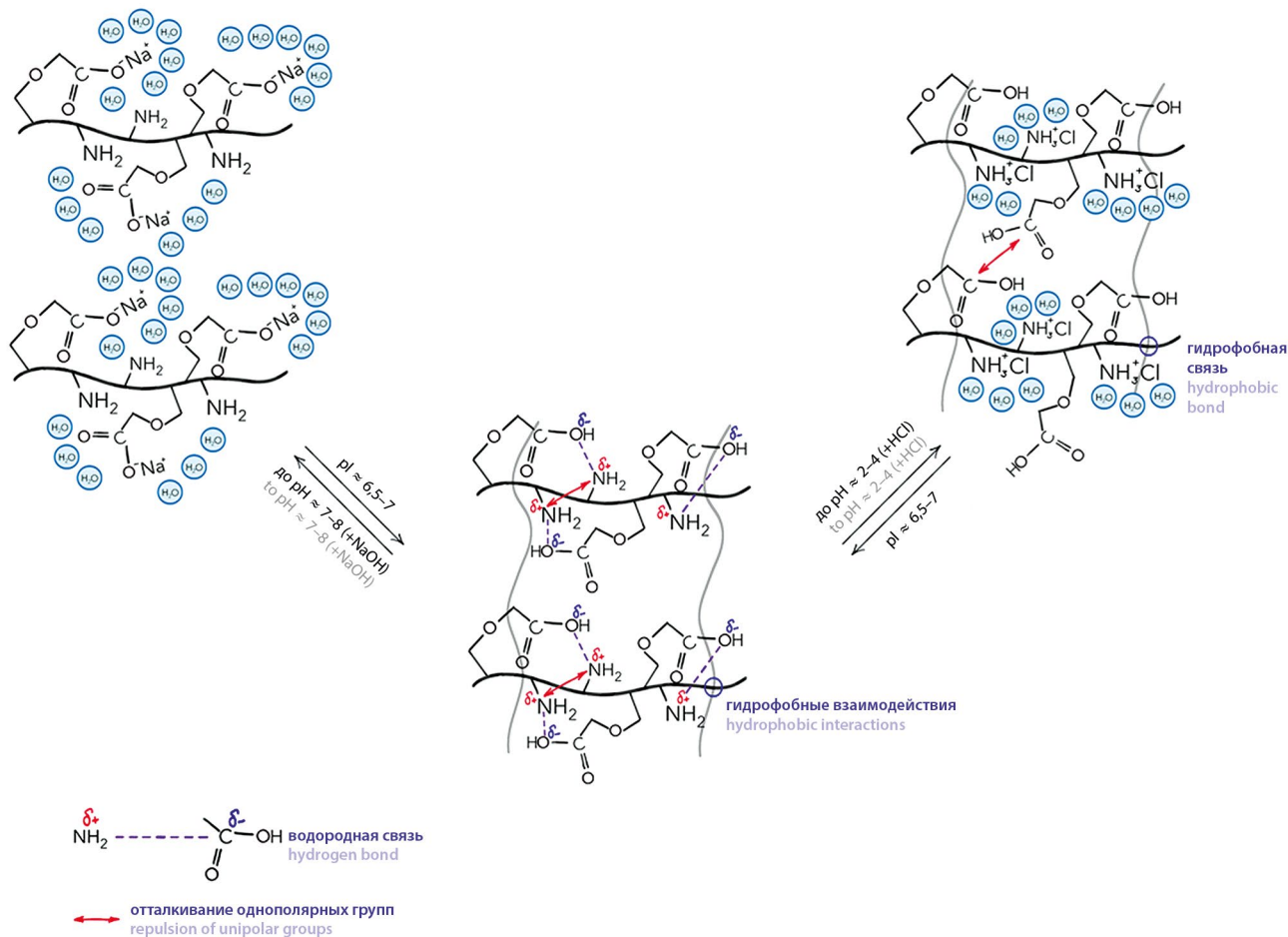


Рисунок 3. Механизм набухания анионного гидрогеля на примере карбоксиметилхитозана

Figure 3. Swelling mechanism of anionic hydrogel on the example of carboxymethyl chitosan

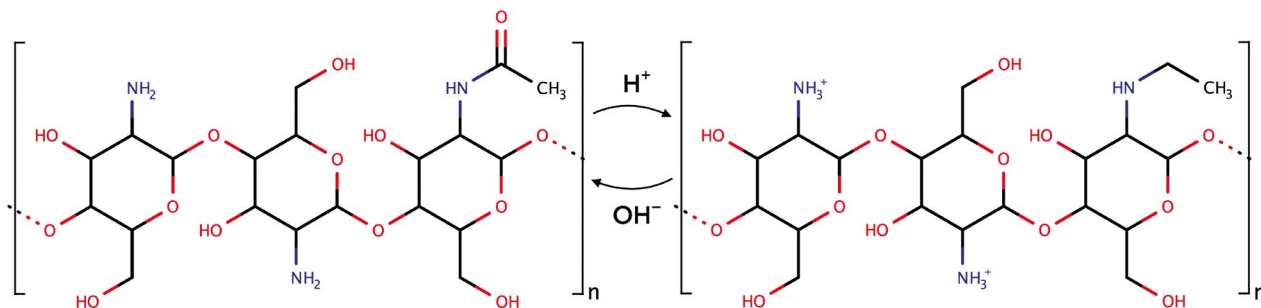


Рисунок 4. Влияние pH на катионный гидрогель на примере хитозана

Figure 4. Effect of pH on cationic hydrogel using chitosan as an example

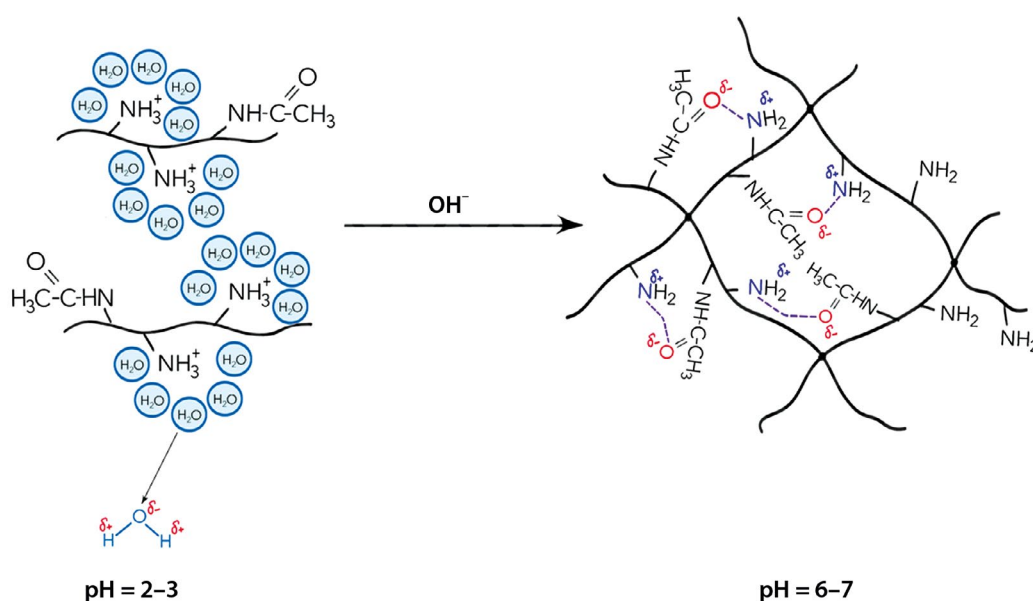


Рисунок 5. Механизм набухания катионного гидрогеля на примере хитозана

Figure 5. Mechanism of swelling of cationic hydrogel on the example of chitosan

Модифицированные производные хитозана

Многие исследователи предлагали улучшить физико-химические свойства природного хитозана и его способность к гелеобразованию путем создания производных хитозана.

Так, Цзянь Вэй и др. смогли получить водорастворимое фосфорилированное производное (степень замещения фосфорной кислотой составила 18,4 %) хитозана в качестве потенциально нового иммунного адъюванта для вакцины. Авторы исследования отметили, что полимер хорошо растворяется в воде при $\text{pH} < 7,0$, но начинает образовывать гель при $\text{pH} > 7,0$. Таким образом, был сделан вывод, что нейтральные водные растворы данного полимера образуют гелевую сетку после инъекции *in vivo*. Кроме того, авторы измерили эффективность загрузки антигенного белка овальбумина и его кумулятивное высвобождение *in vitro* из гидрогеля [51].

В следующей работе К. Цао с коллегами попытались модифицировать хитозан путем присоединения метокси-поли(этиленгликоля) (mPEG) к хитозану посредством образования амидных связей, в результате чего получили mPEG-g-хитозан. Это позволило придать гидрофильные свойства полученному полимеру [52]. Данная система обладала сразу несколькими свойствами: термочувствительностью, pH-чувствительностью и чувствительностью к концентрации солей. Переход «золь – гель» гидрогеля с $\text{pH} 8,5$ произошел при 35°C , и соответствующий модуль упругости был в 80 раз выше, чем у гидрогеля с $\text{pH} 2,5$, что позволяет предположить, что гидрогель с $\text{pH} 8,5$ более прочный и с ним легче обращаться по сравнению с его аналогом после гелеобразования. Авторы отмечают, что при $\text{pH} 4,0$ 1,5%-й раствор mPEG-g-хитозана существует в виде прозрачного золя. При повышении pH до 7,5 и 8,5 раствор пре-

терпел золь-гель переход и превращался в стационарный нетекущий гель. Считается, что присутствие ионных компонентов в хитозане придает гидрогелям чувствительность к pH [53].

Протонирование или депротонирование аминогрупп хитозана протекает в сочетании с изменениями pH выше или ниже значения pK_a хитозана (6,5) [54, 55]. При pH ниже значения pK_a аминогруппы хитозана протонировались и, вероятно, избыточно сольватировались водой, предотвращая тем самым упаковку mPEG-g-хитозановых цепей и последующее гелеобразование. При pH выше значения pK_a амины хитозана депротонировались и не ионизировались, что стимулировало дегидратацию хитозана и приводило к образованию гидрофобной сетки и в итоге к образованию гелевой фазы [52].

Соли хитозана являются перспективным сырьем для получения pH-зависимых *in situ* систем, в первую очередь из-за простоты их синтеза. Так, в исследовании была разработана pH-зависимая система для доставки ванкомицина гидрохлорида [56]. Соли хитозана с янтарной, адипиновой и субериновой кислотой получали распылительной сушкой и покрывали стеариновой кислотой. В работе отмечено выраженное набухание при увеличении основности (pH 7,6). Кроме того, показано влияние покрытия оболочкой на высвобождение ванкомицина. Так, наблюдалась корреляция между доступностью ванкомицина и способностью солей хитозана набухать. В частности, высвобождение лекарственного средства из непокрытых микрочастиц при различных значениях pH составляло: pH 2,0 > pH 7,6 > pH 5,5. Профили высвобождения ванкомицина из микрочастиц, покрытых оболочкой, показали, что присутствие стеариновой кислоты значительно снижало доступность препарата с течением времени по сравнению с системами без покрытия при pH 2,0. Однако при pH 7,6 наличие покрытия не ограничивало высвобождение лекарственного средства из-за физико-химических свойств стеариновой кислоты, характеризующихся повышенной растворимостью при щелочном pH по сравнению с кислотным pH.

Одним из направлений исследования производных хитозана является получение оснований Шиффа. В работе было разработано два гидрогеля с различной плотностью сшивания благодаря химическим связям Шиффа [57]. Эти иминные связи чувствительны к pH и гидролизуются быстрее при более низком pH. Используя преимущество низкого pH вагинального канала, эти гидрогели были разработаны для использования в качестве пленок для интравагинальной доставки терапевтических средств. Матрицы были загружены обычным лекарством от рака шейки матки, гидрохлоридом доксорубина и негормональным контрацептивом, дигидратом глюконата железа (II). Результаты исследований разложения и набухания показали, что эти гидрогели являются pH-чувствительными системами, которые могут быстрее разлагаться в средах с низким значением pH (4,5).

В исследовании С. Омиди и др. был разработан и синтезирован новый хитозановый гидрогель путем сшивания графена, хитозана и целлюлозных нановискерос с помощью синтетического диальдегида [58]. В качестве действующих веществ были использованы доксорубин и куркумин. Гидрогель имел гибкую структуру и реагировал на изменение pH. Поскольку полученный в данном исследовании гидрогель демонстрировал устойчивость при физиологических значениях среды, были проведены тесты *in vitro* и *in vivo*. В обоих случаях тесты проводили в среде фосфатного буфера при значениях pH 7,4 и 5,4. Для испытания гелеобразования *in vitro* продукты, полученные в результате реакций, смешивали и встряхивали в течение 20 с, затем смесь быстро набирали в шприц и вводили в фосфатный буфер с заданным значением pH. На основе полученных данных было отмечено, что наилучшее высвобождение действующего вещества наблюдается при значении pH 5,4.

Помимо исследований матриц, нагруженных противоопухолевыми препаратами, основания Шиффа на основе хитозана могут использоваться для доставки адипогенного фактора – инсулина. В исследовании матрица была получена по реакции между сукцинатом хитозана и альдегидом гиалуроновой кислоты [59]. Также в состав композита были введены дополнительно ферменты, усиливающие разложение матрицы и высвобождение инсулина. Кинетику набухания определяли при pH = 7,4, было выявлено, что наличие глюкозы усиливает процесс набухания. Таким образом, был получен гидрогель, обладающий свойством биodeградации и pH-зависимыми свойствами, которые проявлялись в высвобождении инсулина.

Таким образом, можно сделать следующий вывод о применении pH-чувствительных *in situ* систем на основе хитозана. Системы на основе хитозана как индивидуального компонента практически не применяются ввиду низкой растворимости данного соединения при нейтральных и щелочных значениях pH, из-за чего чаще всего используются либо модифицированные формы хитозана, либо его комбинации с иными, pH-чувствительными полимерами или дополнительными вспомогательными веществами (например, бета-глицерофосфат), которые улучшают растворимость хитозана в воде и стабилизируют pH растворов на его основе. Также важно отметить, что при использовании хитозана как индивидуальной матрицы для создания *in situ* системы доставки необходимо добавление кислот (например, молочная кислота, соляная кислота) для повышения растворимости за счет протонирования аминогрупп этого полимера, а для получения истинного раствора хитозана требуется низкая концентрация полимера (0,5–1 %) и создание довольно низкого значения pH (от 2 до 3). Во многих исследованиях, посвященных *in situ* системам на основе хитозана, где описывается золь-гель переход растворов хитозана при

повышении pH, изначальный раствор полимера часто сам по себе является гидрогелем, чья вязкость повышается под влиянием исследуемого фактора, поэтому нельзя точно утверждать наличие обратимого перехода системы из раствора в гель.

Важно отметить, что pH-чувствительные системы на основе хитозана в перспективе способны улучшить комплаентность пациентов и повысить терапевтический эффект фармацевтической композиции за счет антибактериальной и ранозаживляющей активности самого полимера. Однако несмотря на наличие имеющихся сведений о способности данных систем обеспечивать контролируемое и пролонгированное высвобождение действующего вещества, о влиянии pH, о гелеобразующей способности и вязкости полученных гидрогелей, стоит отметить, что до сих пор для многих производных хитозана нет достоверной информации о фазовом переходе. Широкое распространение pH-чувствительных систем осложняется еще и тем, что не всегда удается получить состав, способный образовывать устойчивый и стабильный гель при физиологическом уровне pH.

Чтобы повысить интерес к таким системам, необходимо проведение большего числа исследований, доказывающих возможность стабильного фазового перехода «золь – гель». Также важным является более глубокое изучение вопроса применения pH-зависимых систем на основе хитозана *in vivo*. К сожалению, данных о токсикологических исследованиях на сегодняшний день не опубликовано.

Хитозан в комбинации с другими стимулочувствительными гелеобразователями

Многие работы иллюстрируют способность хитозана к гелеобразованию. Однако, учитывая все вышеперечисленные проблемы и недостатки хитозана как индивидуального компонента подобных систем, для создания устойчивой и стабильной *in situ* системы некоторые авторы применяют в комбинации с хитозаном другой чувствительный к стимулам гелеобразователь.

С. Гупта и др. для разработки *in situ* pH-чувствительной системы доставки тимолола малеата предложили использовать хитозан вместе с карбополом. Так, было предложено два состава (с содержанием хитозана 0,5 % мас./об. и карбопола 0,3 % или 0,4 % мас./об.), которые при pH слезной жидкости (примерно 6,98–7,43) способны к гелеобразованию. Помимо этого, отмечается потенциал данной системы доставки в разработке системы с пролонгированным высвобождением. Примечательно, что состав с 0,4 % мас./об. карбополом и 0,5 % мас./об. хитозаном продемонстрировал увеличение биодоступности в 2,481 раза по сравнению с глазными каплями Глюкомол®. Исследуемые составы показали отличную переносимость. После введения в глаз кролика два раза в день в течение 7 дней не было отмечено ни-

каких повреждений или аномальных клинических признаков повреждения роговицы, радужной оболочки и конъюнктивы [60].

В следующей работе этого коллектива авторов также описывается разработка системы доставки малеата тимолола, но уже на основе комбинации хитозана и полоксамера 407 (Pluronic F-127) [61]. Как отмечают авторы исследования, данная система обладала мультисенситивностью (реагировала на несколько стимулов). Результаты исследований ясно показывают, что состав превращается в гель при повышении pH, что приводит к увеличению вязкости. Было установлено, что раствор при комнатной температуре и pH 6,0–6,2 быстро переходит в гелевую фазу при достижении pH слезной жидкости (pH 7,4) и физиологической температуре (37 °C). Отмечается, что в искусственной слезной жидкости (pH 7,4) препарат демонстрирует профиль замедленного высвобождения. Исследования транскорнеальной проницаемости препарата *in vitro* показали высокое проникновение вещества через роговицу козы – $(63,41 \pm 2,6) \%$, что можно объяснить хорошо известным свойством хитозана усиливать трансмукозное действие.

Таким образом, можно констатировать, что различные комбинации хитозана с иными стимулочувствительными полимерами способны к фазовому переходу в надлежащих условиях. Приведенные выше исследования подтверждают это. Однако, по нашему мнению, в данных системах больший вклад в способность к гелеобразованию вносит не хитозан, а другие гелеобразователи. Самыми распространенными и изученными из них являются карбопол, полоксамер 407, альгинаты и др.

Термочувствительные *in situ* системы на основе хитозана

Термочувствительные *in situ* системы представляют большой интерес в системах терапевтической доставки. Их потенциальное применение в тканевой инженерии в качестве инъекционных депо-систем особенно отмечается экспертами [12]. Механизм термочувствительного золь-гель перехода рассматриваемых полимерных систем доставки ЛС основывается на нескольких основных стадиях.

1. Набухание полимера в водной среде (гидратация гидрофобных и гидрофильных групп высокомолекулярного соединения с образованием водородных связей) и его дальнейшее растворение.
2. При повышении температуры гидрофобные звенья дегидратируются и проявляют склонность к межмолекулярному гидрофобному взаимодействию и агрегации за счет разрыва водородных связей с водой. Данный процесс можно рассматривать как мицеллообразование.
3. Образовавшиеся мицеллы при достижении раствором критической температуры гелеобразования связываются в структуры различных гео-

метрических форм и в итоге формируют сетку геля за счет взаимодействия между гидрофильными элементами короны мицелл (за счет водородных связей и ван-дер-ваальсова взаимодействия) [62].

Во многих исследованиях как один из перспективных полимеров в данной категории рассматривался хитозан. Несмотря на его гипотетический потенциал, не имеется исследований, подтверждающих наличие у индивидуальных растворов хитозана термочувствительных свойств при физиологической температуре. Одной из причин является его низкая растворимость в воде при нейтральном значении pH за счет низкого значения гидрофильно-липофильного баланса хитозана. Поэтому для растворения хитозана требуется добавление кислот. Однако при снижении pH получаемых растворов возрастает электростатическое отталкивание между заряженными аминогруппами хитозана, что препятствует агрегации мицелл в единую сетку геля при повышении температуры раствора. При дальнейшем повышении pH водных индивидуальных растворов хитозана и деионизации аминогрупп полимера молекулы хитозана образуют мицеллы, однако их гидрофильная часть недостаточно разветвлена для межмицеллярного взаимодействия и образования геля при повышении температуры [62, 63].

Таким образом, водные растворы хитозана не способны к температурочувствительному переходу без добавления в композицию сшивающих агентов или без модификации молекул рассматриваемого полимера. Наличие большого количества аминогрупп и гидроксильных групп позволяет улучшить физико-химические свойства хитозана. В настоящее время проводится множество исследований термочувствительных *in situ* систем на основе производных хитозана. Ниже будут рассмотрены некоторые из них.

Большой интерес у исследователей вызывает разработка термочувствительной *in situ* системы на основе хитозана и β -глицерофосфата (β ГФ) в качестве сшивающего агента.

В исследовании изучались термочувствительные системы хитозана совместно с альгинатными микросферами для инъекционной доставки диклофенака. В данные системы также включали β -глицерофосфат (β ГФ) и полоксамер 407 (Pluronic F-127) в различных концентрациях [64].

Отмечается, что раствор хитозана и/или β ГФ представлял собой гомогенную и прозрачную жидкость при комнатной температуре, тогда как раствор хитозана, нагруженный альгинатными микросферами, был непрозрачным. Оба этих раствора быстро превратились в нетекучий гель при температуре, близкой к температуре тела. Влияние содержания альгинатных микросфер на термочувствительность хитозановых гидрогелей оценивали путем добавления различного количества микросфер в хитозановые гидрогели. Установлено, что гидрогели хитозана в сочетании с

альгинатными микросферами или без них представляют собой нейтральные растворы при комнатной температуре и способны быстро превращаться в гель в течение 5 мин при 37 °C. Более того, с увеличением содержания альгинатных микросфер в составе время гелеобразования гидрогелей хитозана и/или β ГФ соответственно уменьшалось. В ходе реологических исследований было показано, что вязкость гидрогелей хитозана и/или β ГФ при 20 °C была меньше, чем при 35 °C, что свидетельствует о том, что гидрогели хитозана и/или β ГФ находились в зольном состоянии при комнатной температуре и переходили в состояние геля при 35 °C. Температура золь-гель перехода гидрогелей плацебо хитозана и/или β ГФ, гидрогелей хитозана с диклофенаком и гидрогелей хитозана с диклофенаком, загруженным в альгинатные микросферы, была ниже 37 °C, что обеспечивало золь-гель-переход *in vivo*.

В исследовании [65] изучалась интраназальная термочувствительная система доставки транексамовой кислоты с применением хитозана и β ГФ. Оптимальный состав комплекса с быстрым термозависимым гелеобразованием состоял из раствора хитозана (2 % мас./об.) и раствора β ГФ (49 % мас./об.) в соотношении 4:2,5 [66]. В сравнении с модельной системой без действующего вещества гелеобразование 1%-го раствора комплекса, включающего транексамовую кислоту, протекало в 1,24 раза быстрее и составило приблизительно 5 мин, что также выше скорости мукоцилиарного клиренса и быстрее, чем в случае с другими термочувствительными назальными аналогами на основе хитозана [67]. Такое наблюдение можно объяснить тем, что механизм термочувствительного гелеобразования системы возникает в результате гидрофобных взаимодействий между полимерными цепями хитозана, когда гидратный слой, окружающий его цепи, разрушается при высоких температурах [68, 69]. Разработанный состав комплекса с транексамовой кислотой продемонстрировал еще и обратимое гелеобразование при воздействии термических циклов нагревания и охлаждения. В дальнейшем была установлена точная температура гелеобразования, которая составила около 32 °C, что находится в пределах физиологической температуры полости носа человека (32–35 °C) [70–72].

В схожей работе авторы утверждают, что увеличение температуры не влияет на значение pH хитозана/глицерофосфатной системы [63]. Авторы сделали вывод о том, что температуры гелеобразования гидрогелей хитозан- β ГФ изменяются в диапазоне 32–37 °C путем изменения молекулярной массы и степени деацетилирования хитозана и концентраций глицерофосфата. Структура гидрогеля со степенью деацетилирования хитозана 88 % более пористая, однородная и связанная, чем у гидрогеля со степенью деацетилирования хитозана 80 %.

Стоит отметить, что β ГФ используется для нейтрализации слишком высокого значения pH фазового перехода. Так, термочувствительные инъекционные

гидрогели на основе хитозана, включающие нейтрализацию pH с использованием динатрия β ГФ, имеют температуру гелеобразования около 37 °C. Это объясняется образованием водородных связей между цепями хитозана за счет уменьшения сил отталкивания (в связи с основностью соли) и дальнейших гидрофобных взаимодействий во время повышения температуры [85]. Хотя применение нейтрализованных бета-глицерофосфатом гидрогелей полезно, сообщается о том, что для достижения физиологического уровня pH требуются высокие концентрации β ГФ, что снижает цитосовместимость композиции [73].

Еще один пример композиции хитозана с бета-глицерофосфатом приведен в исследовании, в котором изучали фазовый переход гидрогеля на основе лактата хитозана и β ГФ. Температура золь-гель-перехода была определена на основе колебательных тестов при постоянном значении деформации (угловая частота $\omega = 5 \text{ с}^{-1}$ и амплитуда деформации $\gamma = 1 \%$). Процессы гелеобразования проводились в неизотермических условиях при постоянной скорости нагрева $1 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{мин}^{-1}$. Растворы тестировались при температуре от 4 °C (температура хранения образцов) до 60 °C. Авторам удалось установить, что 2,5%-й раствор лактата хитозана и β ГФ переходит в состояние геля при температуре, близкой к физиологической температуре тела – 36,0 °C [74].

Ранее была рассмотрена pH-чувствительная система на основе **mPEG-g-хитозана**. Продемонстрировано, что, помимо pH-чувствительности, данный состав имеет также свойства термочувствительности. Так, авторы отмечают легкую текучесть раствора при температуре 4 °C. Однако замечено, что при 37 °C 1,5%-й раствор mPEG-g-хитозана в состоянии геля трудно набрать шприцем, и при инъекции происходит значительное образование пузырьков воздуха [52].

В механизме гелеобразования данной системы важно отметить, что цепи mPEG-g-хитозана распределены случайным образом при более низких температурах (4 °C) и в них преобладают гидрофильные взаимодействия, в то время как при повышении температуры (37 °C) добавленная тепловая энергия способствует перестройке полимерной цепи, что приводит к золь-гель переходу за счет дегидратации неполярных звеньев полимера и увеличения гидрофобных взаимодействий. При этом цепи mPEG-g-хитозана образуют агрегаты, приводящие к образованию гелевой сетки. Однако повышение концентрации mPEG-g-хитозана в растворе нарушает формирование гелевой сетки. Высокие концентрации хитозана и mPEG нарушают оптимальную упаковку полимера, тем самым предотвращая образование геля. Аминогруппы на mPEG-g-хитозане становятся протонированными, когда pH системы падает ниже pK_a хитозана. Таким образом, гидрофобные взаимодействия между полимерными цепями, необходимые для упаковки и образования гелевой сетки, уменьшаются из-за электроста-

тических сил отталкивания между протонированными аминогруппами хитозана. Образование геля затруднено из-за уменьшения взаимодействия полимерных цепей [75].

Термочувствительные системы на основе производных хитозана обладают хорошими перспективами для использования их в дальнейшей клинической практике. В отличие от pH-чувствительных *in situ* систем имеется гораздо большее количество информации о них и проведенных с ними испытаний. Помимо этого, широкому распространению систем на основе хитозана способствует доказанная повышенная биодоступность препаратов и их способность к модифицированному высвобождению, что повышает комплаентность пациентов. Особо стоит подчеркнуть способность некоторых систем к обратимому гелеобразованию без снижения стабильности, что выгодно как для процесса производства, так и обращения с ними. Сразу в нескольких работах имеются сведения об удовлетворительных показателях вязкости полученных составов, а что еще важнее – о температуре фазового перехода в пределах физиологических значений, что, конечно, ускорит последующие исследования термочувствительных систем на основе хитозана.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе систематизирована имеющаяся информация о хитозане: структуре, получении и физико-химических свойствах. Также освещена проблема использования хитозана и его производных в pH-чувствительных и термочувствительных *in situ* системах и приведены примеры разработок. На основе приведенных данных можно констатировать, что хитозан является перспективным биополимером с широким спектром свойств. Особо стоит отметить, что чистый хитозан без модификаций и дополнительных сшивающих агентов не способен к стимулочувствительному переходу, однако является эффективным гелеобразователем в диапазоне pH 5–6, и его композиции обладают высокой мукоадгезией. В связи с этим на сегодняшний день существуют некоторые ограничения использования природного хитозана как индивидуального эксципиента. Поэтому применение хитозана совместно с другими полимерами в *in situ* системах остается актуальной проблемой. Для ее решения необходимы дальнейшие исследования комбинаций полимеров с хитозаном и условий, ведущих к обратимому стимулочувствительному переходу, для данных систем доставки лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Панов Д. А. Влияние хитозана на физико-химические свойства альгината натрия. *Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия*. 2018;4(70):311–319.

2. Порфирьева Н. Н., Семина И. И., Мустафин Р. И., Хуторянский В. В. Интраназальное введение как способ доставки лекарств в головной мозг (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):117–127. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-117-127.
3. Бахрушина Е. О., Демина Н. Б., Шумкова М. М., Родюк П. С., Шуликина Д. С., Краснюк И. И. Интраназальные системы доставки *in situ*: перспективы применения и основные фармацевтические аспекты разработки (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):54–63. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-54-63.
4. Егоров А. Р., Хрусталева В. Н., Хубиев О. М., Белый А. Э., Голубев Р. А., Есакова В. Е. Новые функционализированные производные хитозана для пролонгированного высвобождения ципрофлоксацина. *Информация и образование границы коммуникаций*. 2023;15(23):258–261.
5. Abourehab M. A. S., Pramanik S., Abdelgawad M. A., Abualsoud B. M., Kadi A., Ansari M. J., Deepak A. Recent Advances of Chitosan Formulations in Biomedical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(18):10975. DOI: 10.3390/ijms231810975.
6. James H. P., John R., Alex A., Anoop K. R. Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2014;4(2):120–127. DOI: 10.1016/j.apsb.2014.02.005.
7. Wells C. M., Harris M., Choi L., Murali V. P., Delbuque Guerra F., Jennings J. A. Stimuli-Responsive Drug Release from Smart Polymers. *Journal of Functional Biomaterials*. 2019;10(3):34. DOI: 10.3390/jfb10030034.
8. Демина Н. Б., Бахрушина Е. О., Бардаков А. И., Краснюк И. И. Биофармацевтические аспекты дизайна интраназальных лекарственных форм. *Фармация*. 2019;68(3):12–17. DOI: 10.29296/25419218-2019-03-02.
9. Lu B., Xiong S.-B., Yang H., Yin X.-D., Zhao R.-B. Mitoxantone-loaded BSA nanospheres and chitosan nanospheres for local injection against breast cancer and its lymph node metastases. II: Tissue distribution and pharmacodynamics. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;307(2):175–181. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2005.09.038.
10. Budiarto I. J., Rini N. D. W., Tsalsabila A., Birowosuto M. D., Wibowo A. Chitosan-Based Smart Biomaterials for Biomedical Applications: Progress and Perspectives. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2023;9(6):3084–3115. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.3c00216.
11. Luckanagul J. A., Pitakchatwong C., Ratnatilaka Na Bhuket P., Muangnoi C., Rojsitthisak P., Chirachanchai S., Wang Q., Rojsitthisak P. Chitosan-based polymer hybrids for thermo-responsive nanogel delivery of curcumin. *Carbohydrate Polymers*. 2018;181:1119–1127. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.11.027.
12. Prabakaran M., Mano J. F. Stimuli-responsive hydrogels based on polysaccharides incorporated with thermo-responsive polymers as novel biomaterials. *Macromolecular Bioscience*. 2006;6(12):991–1008. DOI: 10.1002/mabi.200600164.
13. Xing L., Fan Y.-T., Shen L.-J., Yang C.-X., Liu X.-Y., Ma Y.-N., Qi L.-Y., Cho K.-H., Cho C.-S., Jiang H.-L. pH-sensitive and specific ligand-conjugated chitosan nanogels for efficient drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;141:85–97. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.237.
14. Мочалова А. Е., Бударев А. В., Олейник А. В., Смирнова Л. А. Термо- и pH-чувствительные гидрогели на основе хитозана, полученные с использованием диазида терефталевой кислоты. *Перспективные материалы*. 2014;5:61–65.
15. Строкова Н. Г., Подкорытова А. В. Современные способы переработки хитинсодержащего сырья. *Труды ВНИРО*. 2018;170:124–52.
16. Прокопчук Н. Р., Шашок Ж. С., Вишневский К. В., Прищепенко Д. В., Шкодич В. Ф. Получение нановолокон из биополимера хитозана. *Вестник технологического университета*. 2015;18(7):115–118.
17. Kou S. G., Peters L. M., Mucalo M. R. Chitosan: A review of sources and preparation methods. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;169:85–94. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.005.
18. Soon C. Y., Tee Y. B., Tan C. H., Rosnita A. T., Khalina A. Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from *Zophobas morio* larvae in varying sodium hydroxide concentration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;108:135–42. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.11.138.
19. Teli M. D., Sheikh J. Extraction of chitosan from shrimp shells waste and application in antibacterial finishing of bamboo rayon. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2012;50(5):1195–1200. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.04.003.
20. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*. 2015;13(3):1133–1174. DOI: 10.3390/md13031133.
21. El Knidri H., Belaabed R., Addaou A., Laajeb A., Lahsini A. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;120(Part A):1181–1189. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139.
22. Jo G.-H., Park R.-D., Jung W.-J., Enzymatic production chitin from crustacean shell waste. In: Kim S.-K., editor. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives*. Boca Raton: CRC Press; 2010. P. 37–45. DOI: 10.1201/EBK1439816035-c4.
23. Doan C. T., Tran T. N., Nguyen V. B., Vo T. P. K., Nguyen A. D., Wang S.-L. Chitin extraction from shrimp waste by liquid fermentation using an alkaline protease-producing strain, *Brevibacillus parabrevis*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;131:706–715. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.117.
24. Arbia W., Arbia L., Adour L., Amrane A. Chitin Extraction from Crustacean Shells Using Biological Methods – A Review. *Chitin Recovery Using Biological Methods, Food Technol. Biotechnol.* 2013;51(1):12–25.
25. Kim S.-K., editor. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives*. Boca Raton: CRC press; 2010. 666 p. DOI: 10.1201/EBK1439816035.
26. Свиричевская Е. В., Зубарева А. А., Бойко А. А., Шустова О. А., Гречихина М. В., Шагдарова Б. Ц., Варламов В. П. Анализ токсичности и биосовместимости производных хитозана с различными физико-химическими свойствами. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2016;52(5):467–475. DOI: 10.7868/S0555109916050159.
27. Новиков В. Ю., Деркач С. Р., Коновалова И. Н., Кучина Ю. А., Долгопятова Н. В. Хитозан из панцирей ракообразных северных морей: Получение и физико-хи-

- мические свойства. В сб.: Сборник материалов IV Всероссийской конференции. 23–28 сентября 2018 г. Киров; 2018. С. 136–137.
28. Nilsen-Nygaard J., Strand S. P., Vårum K. M., Draget K. I., Nordgård C. T. Chitosan: Gels and interfacial properties. *Polymers*. 2015;7(3):552–579. DOI: 10.3390/polym7030552.
29. Kean T., Thanou M. Chitin and Chitosan: Sources, Production and Medical Applications. In: Williams P., editor. *Renewable Resources for Functional Polymers and Biomaterials*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 2011. P. 292–318. DOI: 10.1039/9781849733519-00292.
30. Khan T. A., Peh K. K., Ch'ng H. S. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2002;5(3):205–212.
31. Hussain R., Iman M., Maji T. K. Determination of degree of deacetylation of chitosan and their effect on the release behavior of essential oil from chitosan and chitosan-gelatin complex microcapsules. *International Journal of Advanced Engineering Application*. 2013;2(4):4–12.
32. Gerasimenko D. V., Avdienko I. D., Bannikova G. E., Zueva O. Yu., Varlamov V. P. Antibacterial Effects of Water-Soluble Low-Molecular-Weight Chitosans on Different Microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2004;40(3):253–257. DOI: 10.1023/B:ABIM.0000025947.84650.b4.
33. Qin C., Du Y., Xiao L., Li Z., Gao X. Enzymic preparation of water-soluble chitosan and their antitumor activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2002;31(1–3):111–117. DOI: 10.1016/S0141-8130(02)00064-8.
34. Ilyina A. V., Tikhonov V. E., Albulov A. I., Varlamov V. P. Enzymic preparation of acid-free-water-soluble chitosan. *Process Biochemistry*. 2000;35(6):563–568. DOI: 10.1016/S0032-9592(99)00104-1.
35. Allan C. R., Hadwiger L. A. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental Mycology*. 1979;3(3):285–287. DOI: 10.1016/S0147-5975(79)80054-7.
36. Li Q., Dunn E. T., Grandmaison E. W., Goosen M. F. A. Applications and Properties of Chitosan. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*. 1992;7(4):370–397. DOI: 10.1177/088391159200700406.
37. Casey L. S., Wilson L. D. Investigation of Chitosan-PVA Composite Films and Their Adsorption Properties. *Journal of Geoscience and Environment Protection*. 2015;03(02):78–84. DOI: 10.4236/gep.2015.32013.
38. Mitani T., Moriyama A., Ishii H. Heavy Metal Uptake by Swollen Chitosan Beads. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 1992;56(6):985. DOI: 10.1271/bbb.56.985.
39. Kurita K., Sannan T., Iwakura Y. Studies on chitin. VI. Binding of metal cations. *Journal of Applied Polymer Science*. 1979;23(2):511–515. DOI: 10.1002/app.1979.070230221.
40. Холявка М. Г., Ольшанникова С. С., Артюхов В. Г. Способ получения препарата папаина в геле на основе пищевого хитозана и сукцината хитозана. Патент РФ на изобретение № 2712690 С1. 07.03.2019.
41. Михайленко М. А., Шахтшнейдер Т. П., Антонов И. М., Кузнецова С. А., Брызгин А. А. Способ получения сополимеров хитозана с акриламидом как рН-чувствительного средства доставки биологически активных веществ. Патент РФ на изобретение № 2786240 С1. 21.12.2021.
42. Шагдарова Б. Ц., Лопатин С. А., Коновалова М. В., Ильина А. В., Албулов А. И., Варламов В. П. Способ получения низкомолекулярного хитозана и олигомеров хитозана. Патент РФ на изобретение № 2627870 С1. 12.08.2016.
43. Wang W., Meng Q., Li Q., Liu J., Zhou M., Jin Z., Zhao K. Chitosan Derivatives and Their Application in Biomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(2):487. DOI: 10.3390/ijms21020487.
44. Croisier F., Jérôme C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*. 2013;49(4):780–792. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009.
45. Irimia T., Dinu-Pirvu C.-E., Ghica M. V., Lupuleasa D., Muntean D.-L., Udeanu D. I., Popa L. Chitosan-Based In Situ Gels for Ocular Delivery of Therapeutics: A State-of-the-Art Review. *Marine Drugs*. 2018;16(10):373. DOI: 10.3390/md16100373.
46. Chatterjee S., Chi-Leung Hui P. Review of Stimuli-Responsive Polymers in Drug Delivery and Textile Application. *Molecules*. 2019;24(14):2547. DOI: 10.3390/molecules24142547.
47. Ullah F., Othman M. B. H., Javed F., Ahmad Z., Akil H. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering: C*. 2015;57:414–433. DOI: 10.1016/j.msec.2015.07.053.
48. Rizwan M., Yahya R., Hassan A., Yar M., Azzahari A., Selvanathan V., Sonsudin F., Abouloula C. pH Sensitive Hydrogels in Drug Delivery: Brief History, Properties, Swelling, and Release Mechanism, Material Selection and Applications. *Polymers*. 2017;9(4):137. DOI: 10.3390/polym9040137.
49. Affes S., Aranaz I., Acosta N., Heras Á., Nasri M., Maalej H. Chitosan derivatives-based films as pH-sensitive drug delivery systems with enhanced antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;182:730–742. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.04.014.
50. Du H., Liu M., Yang X., Zhai G. The design of pH-sensitive chitosan-based formulations for gastrointestinal delivery. *Drug Discovery Today*. 2015;20(8):1004–1011. DOI: 10.1016/j.drudis.2015.03.002.
51. Wei J., Xue W., Yu X., Qiu X., Liu Z. pH Sensitive phosphorylated chitosan hydrogel as vaccine delivery system for intramuscular immunization. *Journal of Biomaterials Applications*. 2017;31(10):1358–1369. DOI: 10.1177/0885328217704139.
52. Tsao C. T., Hsiao M. H., Zhang M. Y., Levengood S. L., Zhang M. Chitosan-PEG hydrogel with sol-gel transition triggerable by multiple external stimuli. *Macromolecular Rapid Communications*. 2015;36(3):332–338. DOI: 10.1002/marc.201400586.
53. Fu C., Wang S., Feng L., Liu X., Ji Y., Tao L., Li S., Wei Y. Hierarchically porous chitosan-PEG-silica biohybrid: synthesis and rapid cell adsorption. *Advanced Healthcare Materials*. 2013;2(2):302–305. DOI: 10.1002/adhm.201200166.
54. Hsu L.-W., Lee P.-L., Chen C.-T., Mi F.-L., Juang J.-H., Hwang S.-M., Ho Y.-C., Sung H.-W. Elucidating the signaling mechanism of an epithelial tight-junction opening induced by chitosan. *Biomaterials*. 2012;33(26):6254–6263. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.05.013.
55. Lee S. Y., Lee Y., Kim J. E., Park T. G., Ahn C.-H. A novel pH-sensitive PEG-PPG-PEG copolymer displaying a closed-loop sol-gel-sol transition. *Journal of Materials Chemistry*. 2009;19(43):8198–8201. DOI: 10.1039/b912540j.
56. Bigucci F., Luppi B., Musenga A., Zecchi V., Cerchiara T. Chitosan Salts Coated with Stearic Acid as Colon-Specific Delivery Systems for Vancomycin. *Drug Delivery*. 2008;15(5):289–293. DOI: 10.1080/10717540802006468.

57. Jalalvandi E., Shavandi A. In situ-forming and pH-responsive hydrogel based on chitosan for vaginal delivery of therapeutic agents. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2018;29(10):158. DOI: 10.1007/s10856-018-6166-x.
58. Omid S., Pirhayati M., Kakanejadifard A. Co-delivery of doxorubicin and curcumin by a pH-sensitive, injectable, and in situ hydrogel composed of chitosan, graphene, and cellulose nanowhisker. *Carbohydrate Polymers*. 2020;231:115745. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115745.
59. Tan H., Rubin J.P., Marra K.G. Injectable in situ forming biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for adipose tissue regeneration. *Organogenesis*. 2010;6(3):173–180. DOI: 10.4161/org.6.3.12037.
60. Gupta S., Vyas S.P. Carbopol/chitosan based pH triggered in situ gelling system for ocular delivery of timolol maleate. *Scientia Pharmaceutica*. 2010;78(4):959–976. DOI: 10.3797/scipharm.1001-06.
61. Gupta H., Jain S., Mathur R., Mishra P., Mishra A.K., Velpandian T. Sustained ocular drug delivery from a temperature and pH triggered novel in situ gel system. *Drug Delivery*. 2007;14(8):507–515. DOI: 10.1080/10717540701606426.
62. Zarrintaj P., Jouyandeh M., Ganjali M.R., Hadavand B.S., Mozafari M., Sheiko S.S., Vatanikhah-Varnoosfaderani M., Gutiérrez T.J., Saeb M.R. Thermo-sensitive polymers in medicine: A review. *European Polymer Journal*. 2019;117:402–423. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2019.05.024.
63. Zhou H.Y., Jiang L.J., Cao P.P., Li J.B., Chen X.G. Glycero-phosphate-based chitosan thermosensitive hydrogels and their biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*. 2015;117:524–536. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.09.094.
64. Qi X., Qin X., Yang R., Qin J., Li W., Luan K., Wu Z., Song L. Intra-articular Administration of Chitosan Thermosensitive In Situ Hydrogels Combined With Diclofenac Sodium-Loaded Alginate Microspheres. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;105(1):122–130. DOI: 10.1016/j.xphs.2015.11.019.
65. Gholizadeh H., Messerotti E., Pozzoli M., Cheng S., Traini D., Young P., Kourmatzis A., Caramella C., Ong H.X. Application of a Thermosensitive In Situ Gel of Chitosan-Based Nasal Spray Loaded with Tranexamic Acid for Localised Treatment of Nasal Wounds. *AAPS PharmSciTech*. 2019;20(7):299. DOI: 10.1208/s12249-019-1517-6.
66. Gholizadeh H., Cheng S., Pozzoli M., Messerotti E., Traini D., Young P., Kourmatzis A., Ong H.X. Smart thermosensitive chitosan hydrogel for nasal delivery of ibuprofen to treat neurological disorders. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2019;16(4):453–466. DOI: 10.1080/17425247.2019.1597051.
67. Naik A., Nair H. Formulation and evaluation of thermo-sensitive biogels for nose to brain delivery of doxepin. *BioMed Research International*. 2014;2014:847547. DOI: 10.1155/2014/847547.
68. Liu L., Gao Q., Lu X., Zhou H. In situ forming hydrogels based on chitosan for drug delivery and tissue regeneration. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;11(6):673–683. DOI: 10.1016/j.ajps.2016.07.001.
69. Navard P. The European Polysaccharide Network of Excellence (EPNOE). *Carbohydrate Polymers*. 2013;93(1):2. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.12.021.
70. Sarkar D., Martinez J. Use of Atomized Intranasal Tranexamic Acid as an Adjunctive Therapy in Difficult-to-Treat Epistaxis. *Journal of Special Operations Medicine*. 2019;19(2):23–28. DOI: 10.55460/CV5L-GVGA.
71. Chenite A. Rheological characterisation of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions. *Carbohydrate Polymers*. 2001;46(1):39–47. DOI: 10.1016/S0144-8617(00)00281-2.
72. Foxman E.F., Storer J.A., Fitzgerald M.E., Wasik B.R., Hou L., Zhao H., Turner P.E., Pyle A.M., Iwasaki A. Temperature-dependent innate defense against the common cold virus limits viral replication at warm temperature in mouse airway cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(3):827–832. DOI: 10.1073/pnas.1411030112.
73. Kim S., Nishimoto S.K., Bumgardner J.D., Haggard W.O., Gaber M.W., Yang Y. A chitosan/ β -glycerophosphate thermo-sensitive gel for the delivery of ellagic acid for the treatment of brain cancer. *Biomaterials*. 2010;31(14):4157–4166. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.139.
74. Piekarczyk K., Jenczyk J., Modrzejewska Z., Owczar P., Jurga S. An Investigation of the Sol-Gel Transition of Chitosan Lactate and Chitosan Chloride Solutions via Rheological and NMR Studies. *Gels*. 2022;8(10):670. DOI: 10.3390/gels8100670.
75. Jiang G., Sun J., Ding F. PEG-g-chitosan thermosensitive hydrogel for implant drug delivery: Cytotoxicity, in vivo degradation and drug release. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2014;25(3):241–256. DOI: 10.1080/09205063.2013.851542.

REFERENCES

1. Panov D.A. Effect of chitosan on the physicochemical properties of sodium alginate. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo Biologiya. Khimiya*. 2018;4(70):311–319. (In Russ.)
2. Porfiryeva N.N., Semina I.I., Moustafine R.I., Khutoryanskiy V.V. Intranasal Administration as a Route to Deliver Drugs to the Brain (Review). *Drug development & registration*. 2021;10(4):117–127. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-117-127.
3. Bakhrushina E.O., Demina N.B., Shumkova M.M., Rodyuk P.S., Shulikina D.S., Krasnyuk I.I. In situ Intranasal Delivery Systems: Application Prospects and Main Pharmaceutical Aspects of Development (Review). *Drug development & registration*. 2021;10(4):54–63. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-54-63.
4. Egorov A.R., Khrustalev V.N., Khubiev O.M., Belyy A.E., Golubev R.A., Esakova V.E. New functionalized chitosan derivatives for prolonged release of ciprofloxacin. *Information and education boundaries of communication*. 2023;15(23):258–261. (In Russ.)
5. Abourehab M.A.S., Pramanik S., Abdelgawad M.A., Abualsoud B.M., Kadi A., Ansari M.J., Deepak A. Recent Advances of Chitosan Formulations in Biomedical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(18):10975. DOI: 10.3390/ijms231810975.
6. James H.P., John R., Alex A., Anoop K.R. Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2014;4(2):120–127. DOI: 10.1016/j.apsb.2014.02.005.
7. Wells C.M., Harris M., Choi L., Murali V.P., Delbuque Guerra F., Jennings J.A. Stimuli-Responsive Drug Release from Smart Polymers. *Journal of Functional Biomaterials*. 2019;10(3):34. DOI: 10.3390/jfb10030034.

8. Demina N. B., Bakhrushina E. O., Bardakov A. I., Krasnyuk I. I. Design of intranasal dosage forms: biopharmaceutical aspects. *Pharmacy*. 2019;68(3):12–17. (In Russ.) DOI: 10.29296/25419218-2019-03-02.
9. Lu B., Xiong S.-B., Yang H., Yin X.-D., Zhao R.-B. Mitoxant-rone-loaded BSA nanospheres and chitosan nanospheres for local injection against breast cancer and its lymph node metastases. II: Tissue distribution and pharmacodynamics. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006;307(2):175–181. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2005.09.038.
10. Budiarso I. J., Rini N. D. W., Tsalsabila A., Birowosuto M. D., Wibowo A. Chitosan-Based Smart Biomaterials for Biomedical Applications: Progress and Perspectives. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2023;9(6):3084–3115. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.3c00216.
11. Luckanagul J. A., Pitakchatwong C., Ratnatilaka Na Bhuket P., Muangnoi C., Rojsitthisak P., Chirachanchai S., Wang Q., Rojsitthisak P. Chitosan-based polymer hybrids for thermo-responsive nanogel delivery of curcumin. *Carbohydrate Polymers*. 2018;181:1119–1127. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.11.027.
12. Prabakaran M., Mano J. F. Stimuli-responsive hydrogels based on polysaccharides incorporated with thermo-responsive polymers as novel biomaterials. *Macromolecular Bioscience*. 2006;6(12):991–1008. DOI: 10.1002/mabi.200600164.
13. Xing L., Fan Y.-T., Shen L.-J., Yang C.-X., Liu X.-Y., Ma Y.-N., Qi L.-Y., Cho K.-H., Cho C.-S., Jiang H.-L. pH-sensitive and specific ligand-conjugated chitosan nanogels for efficient drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;141:85–97. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.237.
14. Mochalova A. E., Budruev A. V., Oleynik A. V., Smirnova L. A. Thermo- and pH-sensitive chitosan-based hydrogels prepared using terephthalic acid diazide. *Perspektivnye materialy*. 2014;5:61–65. (In Russ.)
15. Strokova N. G., Podkorytova A. V. Modern ways for processing of chitin-containing raw materials. *Trudy VNIRO*. 2018;170:124–152. (In Russ.)
16. Prokopchuk N. R., Shashok Zh. S., Vishnevskiy K. V., Prishchenko D. V., Shkodich V. F. Preparation of nanofibres from chitosan biopolymer. *Herald of technological university*. 2015;18(7):115–118. (In Russ.)
17. Kou S. G., Peters L. M., Mucalo M. R. Chitosan: A review of sources and preparation methods. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;169:85–94. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.005.
18. Soon C. Y., Tee Y. B., Tan C. H., Rosnita A. T., Khalina A. Extraction and physicochemical characterization of chitin and chitosan from *Zophobas morio* larvae in varying sodium hydroxide concentration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;108:135–42. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.11.138.
19. Teli M. D., Sheikh J. Extraction of chitosan from shrimp shells waste and application in antibacterial finishing of bamboo rayon. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2012;50(5):1195–1200. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.04.003.
20. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*. 2015;13(3):1133–1174. DOI: 10.3390/md13031133.
21. El Knidri H., Belaabed R., Addaou A., Laajeb A., Lahsini A. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018;120(Part A):1181–1189. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139.
22. Jo G.-H., Park R.-D., Jung W.-J., Enzymatic production chitin from crustacean shell waste. In: Kim S.-K., editor. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives*. Boca Raton: CRC Press; 2010. P. 37–45. DOI: 10.1201/EBK1439816035-c4.
23. Doan C. T., Tran T. N., Nguyen V. B., Vo T. P. K., Nguyen A. D., Wang S.-L. Chitin extraction from shrimp waste by liquid fermentation using an alkaline protease-producing strain, *Brevibacillus parabrevis*. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;131:706–715. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.117.
24. Arbia W., Arbia L., Adour L., Amrane A. Chitin Extraction from Crustacean Shells Using Biological Methods – A Review. *Chitin Recovery Using Biological Methods, Food Technol. Biotechnol.* 2013;51(1):12–25.
25. Kim S.-K., editor. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives*. Boca Raton: CRC press; 2010. 666 p. DOI: 10.1201/EBK1439816035.
26. Svirshchevskaya E. V., Zubareva A. A., Boyko A. A., Shustova O. A., Grechikhina M. V., Shagdarova B. Ts., Varlamov V. P. Toxicity and biocompatibility analysis of chitosan derivatives with different physicochemical properties. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2016;52(5):467–475. (In Russ.) DOI: 10.7868/S0555109916050159.
27. Novikov V. Yu., Derkach S. R., Konovalova I. N., Kuchina Yu. A., Dolgopyatova N. V. Chitosan from crustacean shells of northern seas: Preparation and physicochemical properties. In: *Proceedings of the IV All-Russian Conference*. September 23–28, 2018. Kirov; 2018. P. 136–137. (In Russ.)
28. Nilsen-Nygaard J., Strand S. P., Vårum K. M., Draget K. I., Nordgård C. T. Chitosan: Gels and interfacial properties. *Polymers*. 2015;7(3):552–579. DOI: 10.3390/polym7030552.
29. Kean T., Thanou M. Chitin and Chitosan: Sources, Production and Medical Applications. In: Williams P., editor. *Renewable Resources for Functional Polymers and Biomaterials*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 2011. P. 292–318. DOI: 10.1039/9781849733519-00292.
30. Khan T. A., Peh K. K., Ch'ng H. S. Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2002;5(3):205–212.
31. Hussain R., Iman M., Maji T. K. Determination of degree of deacetylation of chitosan and their effect on the release behavior of essential oil from chitosan and chitosan-gelatin complex microcapsules. *International Journal of Advanced Engineering Application*. 2013;2(4):4–12.
32. Gerasimenko D. V., Avdienko I. D., Bannikova G. E., Zueva O. Yu., Varlamov V. P. Antibacterial Effects of Water-Soluble Low-Molecular-Weight Chitosans on Different Microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2004;40(3):253–257. DOI: 10.1023/B:ABIM.0000025947.84650.b4.
33. Qin C., Du Y., Xiao L., Li Z., Gao X. Enzymic preparation of water-soluble chitosan and their antitumor activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2002;31(1–3):111–117. DOI: 10.1016/S0141-8130(02)00064-8.

34. Ilyina A. V., Tikhonov V. E., Albulov A. I., Varlamov V. P. Enzymic preparation of acid-free-water-soluble chitosan. *Process Biochemistry*. 2000;35(6):563–568. DOI: 10.1016/S0032-9592(99)00104-1.
35. Allan C. R., Hadwiger L. A. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental Mycology*. 1979;3(3):285–287. DOI: 10.1016/S0147-5975(79)80054-7.
36. Li Q., Dunn E. T., Grandmaison E. W., Goosen M. F. A. Applications and Properties of Chitosan. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*. 1992;7(4):370–397. DOI: 10.1177/088391159200700406.
37. Casey L. S., Wilson L. D. Investigation of Chitosan-PVA Composite Films and Their Adsorption Properties. *Journal of Geoscience and Environment Protection*. 2015;03(02):78–84. DOI: 10.4236/gep.2015.32013.
38. Mitani T., Moriyama A., Ishii H. Heavy Metal Uptake by Swollen Chitosan Beads. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 1992;56(6):985. DOI: 10.1271/bbb.56.985.
39. Kurita K., Sannan T., Iwakura Y. Studies on chitin. VI. Binding of metal cations. *Journal of Applied Polymer Science*. 1979;23(2):511–515. DOI: 10.1002/app.1979.070230221.
40. Kholyavka M. G., Olshannikova S. S., Artyukhov V. G. Method for the preparation of papain in a gel based on dietary chitosan and chitosan succinate. Patent RUS № 2712690 C1. 07.03.2019. (In Russ.)
41. Mikhaylenko M. A., Shakhshneyder T. P., Antonov I. M., Kuznetsova S. A., Bryazgin A. A. Method for preparation of chitosan-acrylamide copolymers as a pH-sensitive delivery vehicle for biologically active substances. Patent RUS № 2786240 C1. 21.12.2021. (In Russ.)
42. Shagdarova B. Ts., Lopatin S. A., Konovalova M. V., Ilyina A. V., Albulov A. I., Varlamov V. P. Method for producing low molecular weight chitosan and chitosan oligomers. Patent RUS № 2627870 C1. 12.08.2016. (In Russ.)
43. Wang W., Meng Q., Li Q., Liu J., Zhou M., Jin Z., Zhao K. Chitosan Derivatives and Their Application in Biomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(2):487. DOI: 10.3390/ijms21020487.
44. Croisier F., Jérôme C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. *European Polymer Journal*. 2013;49(4):780–792. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2012.12.009.
45. Irimia T., Dinu-Pirvu C.-E., Ghica M. V., Lupuleasa D., Muntean D.-L., Udeanu D. I., Popa L. Chitosan-Based In Situ Gels for Ocular Delivery of Therapeutics: A State-of-the-Art Review. *Marine Drugs*. 2018;16(10):373. DOI: 10.3390/md16100373.
46. Chatterjee S., Chi-Leung Hui P. Review of Stimuli-Responsive Polymers in Drug Delivery and Textile Application. *Molecules*. 2019;24(14):2547. DOI: 10.3390/molecules24142547.
47. Ullah F., Othman M. B. H., Javed F., Ahmad Z., Akil H. Classification, processing and application of hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering: C*. 2015;57:414–433. DOI: 10.1016/j.msec.2015.07.053.
48. Rizwan M., Yahya R., Hassan A., Yar M., Azzahari A., Selvanathan V., Sonsudin F., Abouloula C. pH Sensitive Hydrogels in Drug Delivery: Brief History, Properties, Swelling, and Release Mechanism, Material Selection and Applications. *Polymers*. 2017;9(4):137. DOI: 10.3390/polym9040137.
49. Affes S., Aranaz I., Acosta N., Heras Á., Nasri M., Maalej H. Chitosan derivatives-based films as pH-sensitive drug delivery systems with enhanced antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021;182:730–742. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.04.014.
50. Du H., Liu M., Yang X., Zhai G. The design of pH-sensitive chitosan-based formulations for gastrointestinal delivery. *Drug Discovery Today*. 2015;20(8):1004–1011. DOI: 10.1016/j.drudis.2015.03.002.
51. Wei J., Xue W., Yu X., Qiu X., Liu Z. pH Sensitive phosphorylated chitosan hydrogel as vaccine delivery system for intramuscular immunization. *Journal of Biomaterials Applications*. 2017;31(10):1358–1369. DOI: 10.1177/0885328217704139.
52. Tsao C. T., Hsiao M. H., Zhang M. Y., Levengood S. L., Zhang M. Chitosan-PEG hydrogel with sol-gel transition triggerable by multiple external stimuli. *Macromolecular Rapid Communications*. 2015;36(3):332–338. DOI: 10.1002/marc.201400586.
53. Fu C., Wang S., Feng L., Liu X., Ji Y., Tao L., Li S., Wei Y. Hierarchically porous chitosan-PEG-silica biohybrid: synthesis and rapid cell adsorption. *Advanced Healthcare Materials*. 2013;2(2):302–305. DOI: 10.1002/adhm.201200166.
54. Hsu L.-W., Lee P.-L., Chen C.-T., Mi F.-L., Juang J.-H., Hwang S.-M., Ho Y.-C., Sung H.-W. Elucidating the signaling mechanism of an epithelial tight-junction opening induced by chitosan. *Biomaterials*. 2012;33(26):6254–6263. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.05.013.
55. Lee S. Y., Lee Y., Kim J. E., Park T. G., Ahn C.-H. A novel pH-sensitive PEG-PPG-PEG copolymer displaying a closed-loop sol-gel-sol transition. *Journal of Materials Chemistry*. 2009;19(43):8198–8201. DOI: 10.1039/b912540j.
56. Bigucci F., Luppi B., Musenga A., Zecchi V., Cerchiara T. Chitosan Salts Coated with Stearic Acid as Colon-Specific Delivery Systems for Vancomycin. *Drug Delivery*. 2008;15(5):289–293. DOI: 10.1080/10717540802006468.
57. Jalalvandi E., Shavandi A. In situ-forming and pH-responsive hydrogel based on chitosan for vaginal delivery of therapeutic agents. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2018;29(10):158. DOI: 10.1007/s10856-018-6166-x.
58. Omidi S., Pirhayati M., Kakanejadifard A. Co-delivery of doxorubicin and curcumin by a pH-sensitive, injectable, and in situ hydrogel composed of chitosan, graphene, and cellulose nanowhisker. *Carbohydrate Polymers*. 2020;231:115745. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115745.
59. Tan H., Rubin J. P., Marra K. G. Injectable in situ forming biodegradable chitosan-hyaluronic acid based hydrogels for adipose tissue regeneration. *Organogenesis*. 2010;6(3):173–180. DOI: 10.4161/org.6.3.12037.
60. Gupta S., Vyas S. P. Carbopol/chitosan based pH triggered in situ gelling system for ocular delivery of timolol maleate. *Scientia Pharmaceutica*. 2010;78(4):959–976. DOI: 10.3797/scipharm.1001-06.
61. Gupta H., Jain S., Mathur R., Mishra P., Mishra A. K., Velpandian T. Sustained ocular drug delivery from a temperature and pH triggered novel in situ gel system. *Drug Delivery*. 2007;14(8):507–515. DOI: 10.1080/10717540701606426.
62. Zarrintaj P., Jouyandeh M., Ganjali M. R., Hadavand B. S., Mozafari M., Sheiko S. S., Vatankehah-Varnoosfaderani M., Gutiérrez T. J., Saeb M. R. Thermo-sensitive polymers in medicine: A review. *European Polymer Journal*. 2019;117:402–423. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2019.05.024.
63. Zhou H. Y., Jiang L. J., Cao P. P., Li J. B., Chen X. G. Glycerophosphate-based chitosan thermosensitive hydrogels and their biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*. 2015;117:524–536. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.09.094.

64. Qi X., Qin X., Yang R., Qin J., Li W., Luan K., Wu Z., Song L. Intra-articular Administration of Chitosan Thermosensitive In Situ Hydrogels Combined With Diclofenac Sodium-Loaded Alginate Microspheres. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;105(1):122–130. DOI: 10.1016/j.xphs.2015.11.019.
65. Gholizadeh H., Messerotti E., Pozzoli M., Cheng S., Traini D., Young P., Kourmatzis A., Caramella C., Ong H.X. Application of a Thermosensitive In Situ Gel of Chitosan-Based Nasal Spray Loaded with Tranexamic Acid for Localised Treatment of Nasal Wounds. *AAPS Pharm-SciTech*. 2019;20(7):299. DOI: 10.1208/s12249-019-1517-6.
66. Gholizadeh H., Cheng S., Pozzoli M., Messerotti E., Traini D., Young P., Kourmatzis A., Ong H.X. Smart thermosensitive chitosan hydrogel for nasal delivery of ibuprofen to treat neurological disorders. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2019;16(4):453–466. DOI: 10.1080/17425247.2019.1597051.
67. Naik A., Nair H. Formulation and evaluation of thermo-sensitive biogels for nose to brain delivery of doxepin. *BioMed Research International*. 2014;2014:847547. DOI: 10.1155/2014/847547.
68. Liu L., Gao Q., Lu X., Zhou H. In situ forming hydrogels based on chitosan for drug delivery and tissue regeneration. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016;11(6):673–683. DOI: 10.1016/j.ajps.2016.07.001.
69. Navard P. The European Polysaccharide Network of Excellence (EPNOE). *Carbohydrate Polymers*. 2013;93(1):2. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.12.021.
70. Sarkar D., Martinez J. Use of Atomized Intranasal Tranexamic Acid as an Adjunctive Therapy in Difficult-to-Treat Epistaxis. *Journal of Special Operations Medicine*. 2019;19(2):23–28. DOI: 10.55460/CV5L-GVGA.
71. Chenite A. Rheological characterisation of thermogelling chitosan/glycerol-phosphate solutions. *Carbohydrate Polymers*. 2001;46(1):39–47. DOI: 10.1016/S0144-8617(00)00281-2.
72. Foxman E.F., Storer J.A., Fitzgerald M.E., Wasik B.R., Hou L., Zhao H., Turner P.E., Pyle A.M., Iwasaki A. Temperature-dependent innate defense against the common cold virus limits viral replication at warm temperature in mouse airway cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(3):827–832. DOI: 10.1073/pnas.1411030112.
73. Kim S., Nishimoto S.K., Bumgardner J.D., Haggard W.O., Gaber M.W., Yang Y. A chitosan/ β -glycerophosphate thermo-sensitive gel for the delivery of ellagic acid for the treatment of brain cancer. *Biomaterials*. 2010;31(14):4157–4166. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.139.
74. Piekларz K., Jenczyk J., Modrzejewska Z., Owczarз P., Jurga S. An Investigation of the Sol-Gel Transition of Chitosan Lactate and Chitosan Chloride Solutions via Rheological and NMR Studies. *Gels*. 2022;8(10):670. DOI: 10.3390/gels8100670.
75. Jiang G., Sun J., Ding F. PEG-g-chitosan thermosensitive hydrogel for implant drug delivery: Cytotoxicity, *in vivo* degradation and drug release. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 2014;25(3):241–256. DOI: 10.1080/09205063.2013.851542.