

БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 544.777:544.015.22

САМОСОБИРАЮЩИЕСЯ ПОЛИМЕРСОМЫ НА ОСНОВЕ
СУЛЬФИТНОГО ЛИГНИНА, ОБЛАДАЮЩЕГО БИОЛОГИЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТЬЮ

© 2023 г. Т. Н. Луговицкая^{а,*}, М. В. Улитко^а, Н. С. Козлова^а,
Д. А. Рогожников^а, С. В. Мамяченков^а

^аУральский Федеральный университет им. Б.Н. Ельцина, 620002 Екатеринбург, Россия

*e-mail: tlugovitskaja@mail.ru

Поступила в редакцию 15.08.2022 г.

После доработки 23.09.2022 г.

Принята к публикации 26.09.2022 г.

На основе биологически-активного полимера сульфитного лигнина (лигносульфоната) предложен относительно простой метод получения полимерных везикул путем самосборки в водно-ацетоновой среде. Размер и морфология полимерсом контролируется молекулярной массой (46.300–60.000 Да), концентрацией лигносульфоната ($C_{\text{ЛС}}$ 0.10–1.28 г/дм³) и содержанием ацетона ($\varphi_{\text{Ас}}$ 0.6–4.0 об. %) в суспензии. Полученные полимерсомы характеризуются размером 200–350 нм, индексом полидисперсности 0.25–0.18 и ζ -потенциалом, равным $-26.3 - -51.0 \pm 2.2$ мВ. Воздушно-сухие порошки полимерсом, выделенные из соответствующих суспензий, полидисперсны, их размер колеблется от 40 до 300 нм. Морфология полимерсом подтверждена данными электронной микроскопии (СЭМ, ПЭМ, АСМ). Учитывая биологическую активность лигносульфоната, полимерсомы, полученные на его основе, потенциально могут использоваться в биомедицинских приложениях, таких как: адресная доставка лекарств и генов, ферментативный катализ, в качестве оптических агентов визуализации *in vivo* и др.

Ключевые слова: лигносульфонат, везикула, полимерсомы, самосборка, нековалентные взаимодействия

DOI: 10.31857/S0044453723030172, **EDN:** DXTMTT

Полимеры амфифильной природы представляют большой интерес в силу своей способности к самоупорядочению в селективных растворителях с образованием устойчивых агрегатов (глобул, мезоглобул, сферических мицелл, нитей и пр.) [1, 2]. Особое внимание занимают полые сферические частицы – полимерсомы или везикулы. Полимерсомы с размером в нанометровом диапазоне вследствие относительно низкой плотности, высокой удельной площади поверхности и стабильности потенциально могут использоваться для адресной доставки лекарств и генов, в качестве нанореакторов в ферментативном катализе, оптических агентов визуализации *in vivo*, а также искусственных органелл клетки [3].

Для получения полимерсом со структурой “ядро–оболочка” используют различные методы и подходы: темплатный синтез [4], регидратацию предварительно полученных полимерных пленок [5] и их электроформирование [6]. В ряде случаев образование полимерсом наблюдается и при непосредственной самосборке амфифильных поли-

меров, особенно блок- или привитых сополимеров в смешанных водно-органических средах [7]. Весьма перспективными в этом направлении могут быть и природные полимеры, такие как липиды, белки и лигнин.

Лигнин входит в состав клеточных стенок всех сосудистых растений и является одним из самых распространенных возобновляемых природных ресурсов в мире. С химической точки зрения лигнин – это ароматический биополимер, состоящий из трех типов мономерных звеньев (*n*-кумаровый, кониферилловый, синаповый спирты), имеющих фенилпропановую структуру [8]. Вследствие высокой лабильности лигнина извлечь его основную массу из растительной ткани в неизменном виде невозможно. Однако доступны его производные, в частности, лигносульфонаты (ЛС).

ЛС – водорастворимые полимерные соли образуются как крупнотоннажный побочный продукт при сульфитной делигнификации древесины. ЛС характеризуются широким молекулярно-массовым распределением, полифункциональ-

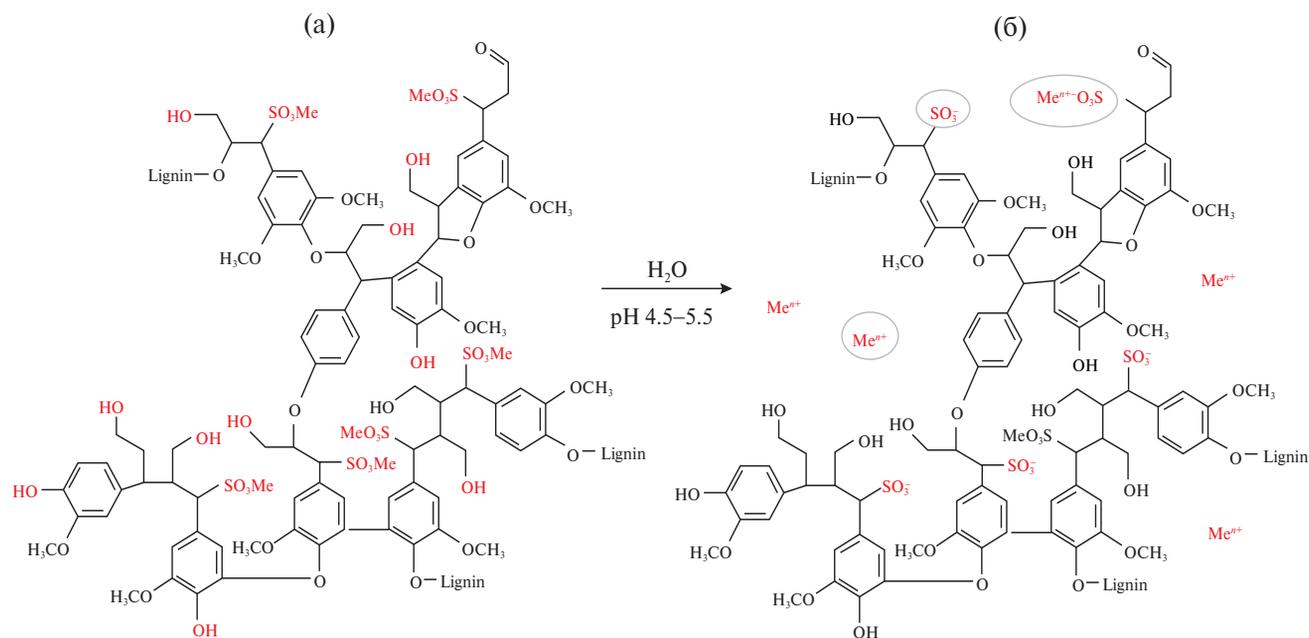


Рис. 1. Амфифильная и полиэлектролитная природа макромолекулы ЛС. Гидрофильный (выделено красным) и гидрофобный (выделено черным) компоненты макромолекул ЛС.

ностью и полидисперсностью. Содержат гидроксильные, метоксильные, карбоксильные, карбонильные, сульфоновые группы, склонные к образованию водородных связей. Предположительная схема фрагмента макромолекулы ЛС представлена на рис. 1а. Наличие гидрофильных функциональных групп и гидрофобных фрагментов в макромолекулярной системе ЛС обуславливает амфифильные и при растворении в воде – полиэлектролитные (рис. 1б) свойства этого полимера [9].

Амфифильная природа макромолекул ЛС предопределяет их склонность к ассоциации в водных и смешанных водно-органических средах с образованием наноструктур различной морфологии. В настоящее время именно ЛС в силу своей высокой гидрофильности практически не используются для получения наноматериалов [10]. Тем не менее нами была выполнена серия работ, в которых было детально исследовано ассоциативное поведение макромолекул ЛС в смешанных водно-органических средах с целью получения наноструктур [8, 9, 11, 12]. Бы-

ли получены наночастицы ЛС сферической формы, демонстрирующие ростактивирующую активность по отношению к некоторым растениям [11]. Настоящая статья, являющаяся продолжением этих исследований, посвящена получению на основе ЛС полимерсом. В работе исследованы физико-химические и биологические свойства водного раствора ЛС; получена суспензия полимерсом, определены их размер и ζ -потенциал; выделены (сушкой в комнатной атмосфере) воздушно-сухие порошки полимерсом и с использованием электронной микроскопии определена их морфология.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали фракцию ЛС, выделенную препаративной ультрафильтрацией (1.5 МПа, 303–308 К) из промышленных сульфитных щелочков Норвежского целлюлозно-бумажного предприятия. Среднемассовая молекулярная масса M_w ЛС, определенная методом седиментационного равновесия, составила 46.300 Да. Элемент-

Таблица 1. Характеристика используемого образца ЛС

Образец	Содержание элементов и функциональных групп, %								M_w , Да
	С	Н	О	S	Ca	SO ₃ H	OCH ₃	OH _{phen}	
ЛС	48.7	4.5	38.2	4.2	3.0	12.3	9.2	2.1	46.300

ный и функциональный анализ образца представлен в табл. 1. Ацетон Ас (99.75%) квалификации “ч.д.а.” использовался без дополнительной очистки.

Для получения полимерсом использовали водные растворы с концентрацией ЛС $C_{\text{ЛС}}$, равной 0.10–1.28 г/дм³. Растворяли навеску полимера в расчетном объеме воды при перемешивании на магнитной мешалке с частотой оборотов 300 об./мин в течение 20 мин. Готовые растворы ЛС обеспыливали на фильтре Millipore с диаметром пор ≤ 0.45 мкм, оставляли на 24 часа для достижения адсорбционного равновесия и исследовали их физико-химические и биологические свойства (методика исследования биологических свойств описана ниже). Водородный показатель рН раствора определяли на рН-метре Mettler Toledo Five Easy FE20 (МТД, Сингапур); проводимость $\kappa_{\text{уд}}$, мкСм измеряли на кондуктометре WTW inoLab Cond 7110 (Германия); поверхностное натяжение на границе жидкость – газ $\sigma_{\text{ж-г}}$, кДж/моль – методом Вильгельми.

Суспензию полимерсом готовили медленным введением в раствор ЛС заданной концентрации по каплям Ас и интенсивно перемешивали (500 об./мин). Содержание Ас (ϕ , об. %) варьировали в диапазоне $\phi_{\text{Ас}}$ 0.6–4.0 об. %.

Для определения диаметра (D_h) сфер полимерсом в суспензии использовали метод динамического светорассеяния (ДСР). Значения вязкости и показателя преломления для смешанных сред вода – Ас использовали из литературных источников [13]. Измерения D_h проводили на приборе Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Великобритания) по оценке корреляционной функции флуктуаций интенсивности лазерного излучения с $\lambda = 633$ нм, рассеянного на полимерсомах под углом 173°. Индекс полидисперсности (PDI) полимерсом в суспензии изменялся в пределах 0.18–0.28. Для каждого размера D_h регистрировали 5–10 распределений интенсивности по размерам частиц с 15 накоплениями при каждом измерении; усреднение проводилось по размерам частиц с максимальной интенсивностью рассеяния. Суммарная погрешность не превышала $\pm 2\%$.

Для измерения ζ -потенциала полимерсом использовался этот же прибор в режиме регистрации электрофоретической подвижности частиц. Калибровку проводили по стандартной дисперсии полистирольных латекса. Для всех изученных образцов дисперсий спектр подвижности содержал только одну полосу. Усреднение максимальных значений ζ осуществлялось по результатам трех измерений.

Для определения морфологических характеристик полимерсом использовали сканирующую электронную (СЭМ), просвечивающую электронную (ПЭМ) и атомно-силовую микроскопию (АСМ).

Образцы полимерсом для микроскопии готовили следующим образом: для СЭМ – 5 мкл суспензии полимерсом наносили на стеклянную пластину (1 × 1 см), покрытую магнетронным распылением на установке Quorum Q150S (Quorum Tech, Великобритания) тонким слоем платины (10–20 Å) и сушили в комнатной атмосфере в течение 24 ч. Использовали сканирующий электронный микроскоп Auriga CrossBeam (Carl Zeiss, Германия) с диапазоном ускоряющих напряжений 0.1–30 кВ. Электронно-микроскопические изображения, обработку и анализ полученных данных проводили с помощью программного пакета SmartSEM (Carl Zeiss, Германия); для ПЭМ – 5 мкл суспензии полимерсом помещали на медную сетку, покрытую углеродной (10–100 нм) пленкой. Подложку в течение 15 минут сушили на воздухе, затем еще 10 минут – в шлюзовой вакуумной камере микроскопа. Съемку проводили на просвечивающем электронном микроскопе Jeol JEM 2100 при ускоряющем напряжении 200 кВ; для АСМ – 5 мкл суспензии полимерсом помещали на поверхность свежего скола слюды и сушили на воздухе до полного высыхания. Съемку проводили на сканирующем зондовом микроскопе Ntegra Therma, снабженном зондовым датчиком NSG01 (NT-MDT, Зеленоград, Россия).

Все исследования проводили в изотермических условиях при температуре 293 ± 2 К.

Биологические свойства исходного раствора ЛС исследовали *in vitro* на модели клеточной линии Vero (клетки почки зеленой марышки) (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия) и культуры дермальных фибробластов человека (Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия). Для культивирования клеток применяли ростовую среду DMEM (Sigma), дополненную 1% раствором глутамина, 10% раствором эмбриональной телячьей сыворотки и гентамицина (50 мг/дм³).

Клетки рассаживали в 96-луночные планшеты в посевной дозе 2×10^5 клеток/мл и культивировали в питательной среде в течение 24 ч. Затем в лунки вносили раствор ЛС ($C_{\text{ЛС}} = 0.001$ –1.0 г/дм³). Клетки с добавкой и без добавки (контроль) раствора ЛС культивировали в CO₂-инкубаторе MCO – 18AIC Sanyo (Япония) при постоянных температуре (37°C), влажности (90%) и содержании CO₂ (5%). Через 24 ч культивирования оценивали жизнеспособность (%) клеток с использованием витального красителя – трипанового синего, позволяющего оценить целостность клеточной мембраны. Через 72 ч культивирова-

Таблица 2. Физико-химические свойства водного раствора ЛС

$C_{\text{ЛС}}$, г/дм ³	pH	$\alpha_{\text{уд}} \times 10^{-5}$, См/м	$\sigma_{\text{ж-г}} \times 10^{-3}$, Дж/м ²	n_{D}^{25}
0.02	4.60	0.25	72.25	1.3323
0.04	4.80	0.29	70.12	1.3323
0.08	4.70	0.54	70.12	1.3323
0.16	5.30	0.92	69.10	1.3324
0.32	5.25	1.47	69.10	1.3324
0.64	5.50	3.14	68.24	1.3324
1.28	5.56	4.23	68.24	1.3324

ния определяли митохондриальную активность клеток (МТТ-тест) и влияние раствора ЛС на состояние лизосомального аппарата клеток в тесте с поглощением красителя – нейтрального красного. Изменения морфологических параметров клеточных культур анализировали с помощью светового микроскопа CX33 Olympus, предварительно окрашивая адгезированные на стеклах клетки по Романовскому–Гимзе.

Для проведения статистического анализа использовали программы Microsoft Excell и Statistika 2009. Рассчитывали параметры среднего арифметического значения и стандартной ошибки. За достоверные принимали различия средних величин по критерию Манна–Уитни при $p < 0.05$.

ОБСУЖДЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ

Используемый для получения полимером водный раствор ЛС в диапазоне $C_{\text{ЛС}} = 0.2\text{--}1.28$ г/дм³ характеризовался значением водородного показателя pH от 4.8 до 5.6 (табл. 2). Полиэлектролитная природа макромолекулы подтверждалась возрастанием удельной электропроводности $\alpha_{\text{уд}}$ с увеличением концентрации ЛС от 0.2 до 1.28 г/дм³ с 0.25 до 4.23×10^{-5} См/м соответственно. В этом же ряду снижалось поверхностное натяжение $\sigma_{\text{ж-г}}$ раствора ЛС и незначительно возрастал показатель преломления n_{D}^{25} .

Природное происхождение, наличие зарядов на макромолекуле предопределяло биологическую активность раствора ЛС. В отдельной серии опытов была проведена оценка влияния раствора ЛС на функциональное состояние дермальных фибробластов человека и клеточной линии Vero: определены индекс жизнеспособности (%), морфометрические параметры и метаболическая активность. На жизнеспособность клеток оказывают влияние время культивирования, $C_{\text{ЛС}}$ в культуральной среде и чувствительность клеточной культуры. Так, при инкубировании клеток в течение 24 ч в среде с добавкой водного раствора ЛС в диапазоне $C_{\text{ЛС}}$ от 0.001 до 1.00 г/дм³ выраженного цитотоксического действия раствора ЛС не обнаруживали, что свидетельствовало о биосовместимости ЛС с клетками человека и животных. При более длительном воздействии (~72 ч) раствора с $C_{\text{ЛС}} \geq 0.1$ г/дм³ на культуру фибробластов морфофункциональные показатели этих клеток несколько изменялись: вследствие изменения кол-

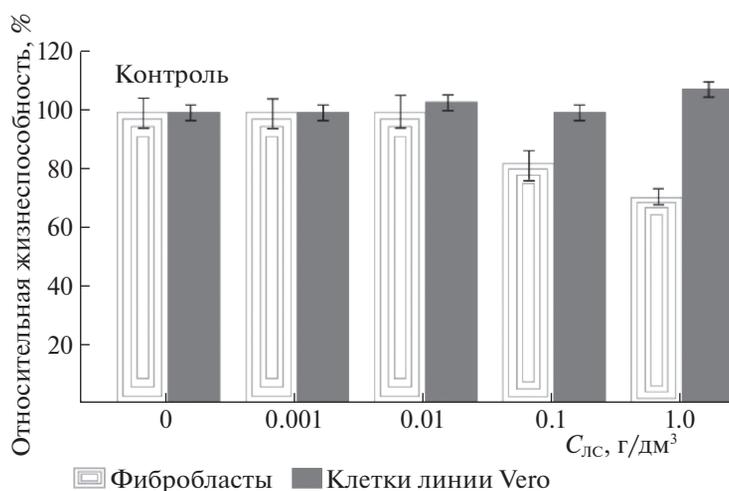


Рис. 2. Влияние концентрации раствора ЛС на жизнеспособность культуры дермальных фибробластов человека и культуры клеток линии Vero; время культивирования 72 ч; * – различие с контролем по критерию Манна–Уитни достоверно ($p \leq 0.05$); на доверительных интервалах отложена величина ошибки среднего.

лоидно-осмотического равновесия в клетке наблюдалось увеличение площади цитоплазмы, уменьшение количества отростков, снижение митохондриальной активности. Однако даже в этом случае жизнеспособность фибробластов составляла не менее 70% (рис. 2). Лизосомальные функции фибробластов под действием раствора ЛС во всем исследуемом диапазоне $C_{ЛС}$ не изменялись.

Длительное воздействие раствора ЛС на клетки линии Vero приводило к уменьшению клеточности, вакуолизации и увеличению площади цитоплазмы. При этом наблюдалось увеличение митохондриальной активности клеток (рис. 2), что свидетельствует о развитии компенсаторных реакций.

Чувствительность клеток к действию раствора ЛС различна. Постоянная клеточная линия Vero более устойчива к влиянию растворов ЛС, чем ограниченная диплоидная культура дермальных фибробластов.

Таким образом, проведенное биотестирование позволяет рассматривать водные растворы ЛС в качестве потенциального источника биологически активных наноматериалов.

Далее на основе исследованного водного раствора ЛС путем самосборки были получены полимерсомы.

ЛС относятся к жесткоцепным полимерам, представляющим собой хаотически разветвленные цепи с числом трифункциональных узлов ветвления до шести на макромолекулу и плотностью разветвленности до 0.35 [14]. Такое строение наряду с наличием разнообразных функциональных групп обуславливает склонность макромолекул ЛС к самоассоциации. Основными силами, действующими при самосборке ЛС, как и других амфифильных полимеров, являются водородные связи, гидрофобные эффекты, электростатическое взаимодействие и силы Ван-дер-Ваальса. Отметим, что перечисленные взаимодействия согласно табл. 3 являются по сравнению с ковалентными связями (400 кДж/моль) весьма мягкими и менее интенсивными. Однако они приводят к формированию всевозможных по форме и размеру ассоциатов.

Морфологией и свойствами (размер, ζ -потенциал) ассоциатов можно гибко управлять, изменяя молекулярную массу и концентрацию ЛС, а также количество вводимого в водные растворы антирастворителя. При использовании образцов ЛС со среднемассовой молекулярной массой $40.000 \leq M_w \leq 60.000$ Да в диапазоне концентраций $C_{ЛС} = 0.40-1.28$ г/дм³ в смешанной водно-ацетонной среде ($\phi_{Ac} 0.6 = 4.0$ об. %) были получены полимерсомы ЛС (рис. 3). Увеличение $C_{ЛС}$ с 0.4 до 1.28 г/дм³ и ϕ_{Ac} с 0.3 до 3.5 об. % в системах приво-

Таблица 3. Энергия нековалентных взаимодействий, участвующих в самосборке амфифильных полимеров [15]

№	Тип связи или взаимодействия	Энергия, кДж/моль
1	Ковалентная связь	100–400
2	Ион-ионные/ион-дипольные/диполь-дипольные	200–300/50–200/5–50
3	Водородная связь	4–120
4	π – π -взаимодействие (π – π -стекинг)	0–50
5	Ван-дер-Ваальсово взаимодействие	<5
6	Гидрофобные эффекты	2–40

дило к закономерному повышению концентрации полимерсом в воздушно-сухих образцах. Дальнейший рост $C_{ЛС} > 1.28$ г/дм³ не целесообразен вследствие стесненной коагуляции полимерсом, затрудняющей их анализ методом ДСР и электронной микроскопии. Повышение содержания $\phi_{Ac} > 3.5-4.0$ в суспензии вызывает агрегацию полимерсом и фазовое разделение системы с выпадением белого осадка.

Характеристики (морфология, размер, ζ -потенциал) полимерсом устанавливали на основе оптической микроскопии (СЭМ, ПЭМ, АСМ) и ДСР.

На СЭМ-изображениях полимерсом (рис. 3а, б) четко прослеживается их структура, соответствующая типу “ядро–оболочка”. Согласно ПЭМ (рис. 3в, г) в указанных условиях формируются полимерсомы – сфероидальные агрегаты с одним контрастным по окраске (по сравнению со стенками полимерсомы) отверстием. Последнее доказывает существование внутренней полости и везикулярный характер агрегатов. В соответствии с одномерным профилем частиц, изображенных на АСМ-фотографии (рис. 3д) полимерсомы имеют приплюснутую форму с закругленными краями вследствие высыхания и дальнейшего “схлопывания” пузырьков. Форма полимерсом близка к идеальным сфероидам, размер которых колеблется от 40 до 300 нм. На всех изображениях фиксируется высокая полидисперсность полученных полимерсом.

Несколько иное поведение полимерсом ЛС наблюдается в водно-ацетонных суспензиях. Так, $C_{ЛС}$ в диапазоне от 0.08 до 1.0 г/дм³ (табл. 4) в силу электростатических (кулоновских) взаимодействий в растворах ЛС, а именно диссоциации и частичной конденсации противоионов на по-

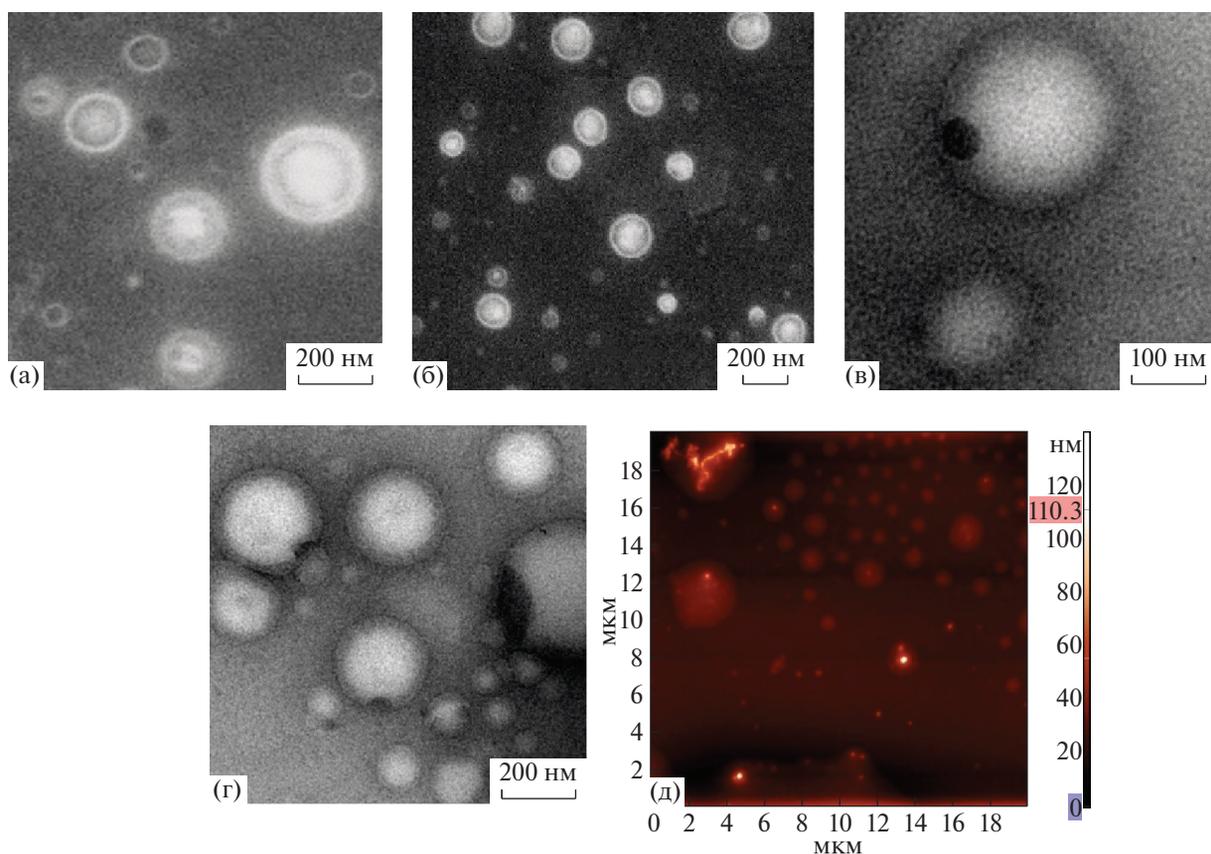


Рис. 3. СЭМ (а, б), ПЭМ (в, г), АСМ (д) – изображения лигносульфонатсодержащих полимерсом, выделенных из суспензии состава: $C_{\text{ЛС}} = 0.8 \text{ г/дм}^3$, $\phi_{\text{Ас}} = 1.5 \text{ об. \%}$.

лианионе мало влияет (по абсолютному значению) на размер, PDI и ζ -потенциал полимерсом. Введение в водный раствор полиэлектролита, менее полярной чем вода жидкости, приводит к подавлению электролитической диссоциации функциональных групп макромолекулы и уменьшению диэлектрической проницаемости системы, т.е. переходу полиэлектролита в иономерный режим и собственно формированию полимерсом. Последнее не зависит от $C_{\text{ЛС}}$ в суспензии и сопровождается некоторым снижением размера частиц. Однако дальнейшее увеличение $\phi_{\text{Ас}} > 0.5 \text{ об. \%}$ в системах приводит к агрегации полимерсом и соответственно росту D_h .

Теоретически при переходе между режимами поведения макромолекулы ЛС из полиэлектролитного в иономерный ζ -потенциал полимерсом с ростом $\phi_{\text{Ас}}$ должен снижаться и приближаться к нулевым значениям. Однако уменьшение ζ -потенциала наблюдается только при низком содержании Ас в системе (не более 0.5 об. %). Дальнейший рост $\phi_{\text{Ас}} > 0.5 \text{ об. \%}$ приводит к увеличению заряда поверхности полимерсом. Причем наибольший рост ζ полимерсом, равный -50 –

-51.0 ± 2.2 , наблюдается при увеличении $C_{\text{ЛС}}$ в суспензии до 1 г/дм^3 . Последнее может быть также связано с полиэлектролитной природой макромолекулы ЛС. Если предположить, что полученные полимерсомы имеют водное ядро, то вполне возможны диссоциативные процессы в полости (в ядре) полимерсомы и, как результат – высокий ζ -потенциал частиц. Отметим, что похожее поведение установлено для сферических обратных мицелл и подробно описано в обзоре [16]. Однако для подтверждения ассоциативно-диссоциативных процессов в полости полученных полимерсом требуются дополнительные целенаправленные исследования.

Таким образом, проведенные нами исследования позволили впервые на основе коммерчески доступного, биологически-активного полимера лигносульфоната ($M_w = 46.300 \text{ Да}$) методом самосборки в водно-ацетоновой среде получить полимерные везикулы. Размером, зарядом поверхности полимерсом возможно управлять изменяя концентрацию ЛС и содержание ацетона. Биосовместимость полимерной основы полученных нановезикул открывает широкие возможности

Таблица 4. Гидродинамический диаметр (D_h), индекс полидисперсности (PDI) и дзета-потенциал (ζ , мВ) полимерсом в суспензии

Состав суспензии полимерсом		D_h , нм	PDI	ζ , мВ
$C_{\text{ЛС}}$, г/дм ³	φ , об. %			
0.08	0	268	0.28	-23.0 ± 1.4
	0.5	254	0.23	-21.7 ± 1.1
	2.0	273	0.21	-22.3 ± 1.3
	4.0	342	0.24	-24.8 ± 1.6
0.16	0	241	0.21	-25.0 ± 1.6
	0.5	195	0.18	-22.4 ± 1.2
	2.0	230	0.23	-22.8 ± 1.7
	4.0	308	0.20	-23.1 ± 1.4
0.32	0	239	0.25	-25.2 ± 1.3
	0.5	220	0.22	-25.5 ± 1.5
	2.0	257	0.27	-22.6 ± 1.2
	4.0	307	0.18	-25.7 ± 2.1
0.64	0	223	0.22	-27.5 ± 1.1
	0.5	205	0.20	-26.6 ± 1.1
	2.0	237	0.21	-28.9 ± 1.3
	4.0	304	0.23	-33.9 ± 1.8
1.0	0	212	0.25	-32.6 ± 1.9
	0.3	194	0.20	-26.3 ± 1.3
	0.6	279	0.18	-34.8 ± 2.8
	1.3	240	0.12	-35.9 ± 1.6
	3.2	320	0.18	-51.0 ± 2.2

для получения носителей адресной доставки лекарственных средств.

Исследование выполнено в рамках госзадания РФ по Гранту № 075-03-2021-051/5 (FEUZ-2021-017) с использованием оборудования Центров коллективного пользования (ЦКП и УЦКП “Современные нанотехнологии”) УрФУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Perumal S., Atchudan R., Lee W.* // Polym. 2022. V. 14. № 12. P. 2510.
<https://doi.org/10.3390/polym14122510>
2. *Lombardo D., Kiselev M.A., Magazù S. et al.* // Adv. Cond. Matter Phys. 2015. V. 2015. P. 22.
<https://doi.org/10.1155/2015/151683>
3. *Araste F., Aliabadi A., Abnous K. et al.* // J. Control. Release. 2021. V. 330. P. 502.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.12.027>
4. *Martin C.R.* // Acc. Chem. Res. 1995. V. 28. № 2. P. 61.
<https://doi.org/10.1021/ar00050a002>
5. *Rideau E., Wurm F.R., Landfester K.* // Polym. Chem. 2018. V. 9. № 44. P. 5385.
<https://doi.org/10.1039/C8PY00992A>
6. *Ibarboure E., Fauquignon M., Le Meins J.F.* // J. Vis. Exp. 2020. № 155. P. e60199.
<https://doi.org/10.3791/60199>
7. *Lefley J., Waldron C., Becer C.R.* // Polym. Chem. 2020. V. 11. № 45. P. 7124.
<https://doi.org/10.1039/D0PY01247E>
8. *Lugovitskaya T.N.* // ACS Appl. Nano Mater. 2022. V. 5. № 6. P. 8048.
<https://doi.org/10.1021/acsnm.2c01171>
9. *Lugovitskaya T.N., Kolmachikhina E.B.* // Biomacromolec. 2021. V. 22. № 8. P. 3323.
<https://doi.org/10.1021/acs.biomac.1c00441>
10. *Tang Q., Qian Y., Yang D. et al.* // Polym. 2020. V. 12. № 11. P. 2471.
<https://doi.org/10.3390/polym12112471>
11. *Lugovitskaya T.N., Naboychenko S.S.* // Colloids Surf. A. 2020. V. 602. P. 125127.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125127>
12. *Lugovitskaya T.N., Rogozhnikov D.A., Mamyachenkov S.V.* // Rus. J. Phys. Chem. A. 2022. V. 96. № 11. P. 2482.
<https://doi.org/10.1134/S0036024422110152>
13. *Belda R., Herraes J.V., Diez O.A.* // Phys. Chem. Liq. 2005. V. 43. P. 91.
<https://doi.org/10.1080/00319100512331327342>
14. *Афанасьев Н.И., Тельтевская С.Е., Макаревич Н.А., Парфенова Л.Н.* Структура и физико-химические свойства лигносульфонатов. Монография. Екатеринбург: УрО РАН, 2005. 162 с.
15. *Whitten D.G., Chen L., Geiger H.C. et al.* // J. Phys. Chem. B. 1998. V. 102. № 50. P. 10098.
<https://doi.org/10.1021/jp9824656>
16. *Razumov V.F., Tovstun S.A.* // Colloid J. 2019. V. 81. № 4. P. 337.
<https://doi.org/10.1134/S1061933X19040124>