

Захарова Василина Александровна, аспирант 3-го года кафедры Химии и технологии полимерных материалов и нанокompозитов. ФГБОУ ВО «Российский государственный Университет им. А.Н.Косыгина» (Технологии. Дизайн. Искусство), преподаватель кафедры



5.

Тема: «Новый подход к изучению морфофункциональных свойств поверхности пленочных покрытий на основе хитозана при их контакте с живыми клетками крови».

Аннотация

В связи с постоянно возрастающей опасностью воздействия патогенных микроорганизмов на организм человека и выработкой устойчивости к существующим противомикробным препаратам, в качестве альтернативного агента используемого для антимикробной обработки, в частности, на стадии заключительной отделки текстильных изделий с приданием им мягких асептических свойств, предложен полисахарид хитозан. Хитозан обладает собственной биологической антимикробной активностью, а его пленко- и гелеобразующая способность позволяет путем формирования на твердых поверхностях тонких пленочных покрытий придавать им защитные свойства, а также поддерживать адгезию и пролиферацию, а также функциональную активность цитообъектов. Условия формирования покрытий во многом определяют структуру материала, толщину и ориентацию молекулярных слоев, морфологию поверхности и другие параметры, влияющие на адгезию и рост клеток.

Целью работы являлось установления перспектив использования тонких пленочных покрытий на основе хитозана для модификации твердых поверхностей и создания материалов защитного и биомедицинского назначения, предназначенных для контакта с живыми цитообъектами.

На моделях тонких пленок, полученных методом спин-коутинга из растворов хитозана и его композиций с другими биополимерами, была изучена взаимосвязь морфофункциональных свойств поверхности композиционных биополимерных покрытий (рельефа поверхности, шероховатости, поверхностной энергии, смачиваемости) и изменения функциональных характеристик живых клеток крови. С этой целью в работе предложен комплексный подход и разработана новая неинвазивная методика оценки морфологии и функционального состояния клеточного материала в процессе его контакта с поверхностью твердого материала.

Сравнительные исследования особенностей рельефа, структуры и толщины композиционных матриц на основе хитозана и фиброина проводился с применением метода сверхразрешающей интерференции (лазерный модуляционно-интерференционный микроскоп МИМ-340 («Швабе», Россия) и атомно-силовой микроскопии (микрoкантилеверная система NtegraPrima (НТ-МДТ, Россия).

Установлены параметры для получения различных размерностей конечных толщин пленок (от 100 до 300 нм), в зависимости от концентрации, реологии раствора, содержания сшивающего агента, а также от параметров центрифугирования (объем капли, скорость оборотов, время) и внешних условий. Для ряда хитозановых пленочных покрытий, была проведена визуализация поверхности, количественно оценен рельеф и неоднородность внутренней структуры на полученных интерферограммах. Оценена толщина, шероховатость и структурная однородность покрытия Рис.1(А). Обнаруженная нами высокая шероховатость хитозановых и композиционных пленок, значения поверхностной энергии и краевого угла смачивания позволяют заключить, что данная поверхность может способствовать адгезии и распластыванию клеток полярных мононуклеаров.

Для оценки биосовместимости, адгезионных и иммуногенных свойств хитозановых покрытий использовали популяции живых клеток (нейтрофилов, мезенхимальных стволовых клеток и лимфоцитов). Исследовано влияние полученных тонкопленочного покрытия на жизнеспособность, морфологию и функциональное состояние клеточного материала. Оценены морфоденситометрические показатели интактных живых клеток до и после контакта с поверхностью хитозановой тонкой пленки Рис.1(Б).. Величина среднепопуляционного диаметра клеток после контакта с матрицей увеличивалась практически на 39%, средний периметр – на 31% за счет увеличения числа активированных клеток с тенденцией к распластыванию и формированию многочисленных отростков.

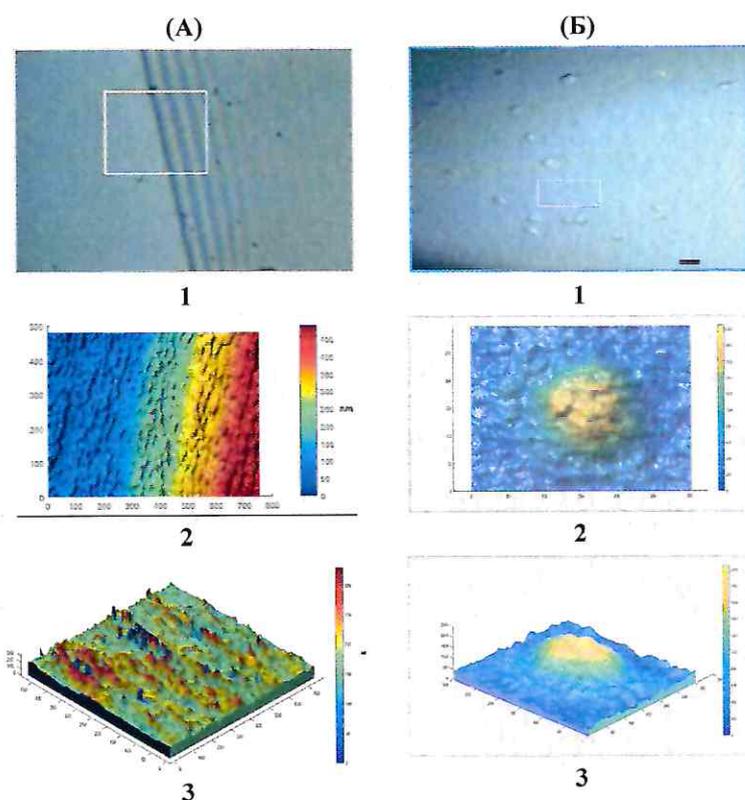


Рисунок 1. (А) - Оптическое (1) и фазовые (2) изображения края и поверхность пленки (3), полученной из 2%-го раствора хитозана методом спин-коутинга; (Б) - визуализация CD3+лимфоцитов (1 - оптическое изображение, 2 – фазовое изображение (топограмма) лимфоцита; 3 - 3D-реконструкция) при контакте с образцами хитозан- и фиброин содержащих полимерных пленок, полученная с использованием интерференционной микроскопии.

Предложен комплекс денситометрических критериев неинвазивного выявления наиболее перспективных образцов, с характеристиками, максимально приближенными к физиологическим. Установлено влияния структурно-функциональных свойств поверхности, состава и условий модификации полученных биополимерных композитов на

жизнеспособность, адгезивность и функциональную активность живых клеток крови (нейтрофилов, лимфоцитов, тромбоцитов). Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования пленочных покрытий на основе хитозана для модификации твердых поверхностей и в том числе, создания материалов защитного и биомедицинского назначения, предназначенных для контакта с живыми объектами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ проект № 19-38-90325 и поддержана фондом «ФОНД-М» в направлении Н2. Медицина и технологии здоровьесбережения.

Список работ по заявляемой теме:

1. Kalugina D. S., **Zakharova V.**, Kildeeva N. R. Применение хитозана для придания антимикробной активности текстильным материалам //Industrial processes and technologies. 2022. Т. 2. №. 1. С. 50-65. DOI:10.37816/2713-0789-2022-2-1-50-65
2. Sazhnev N., **Zakharova V.**, Kildeeva N. Study of drug release from tissue materials treated with chitosan //AIP Conference Proceedings. – AIP Publishing LLC, 2022.Т. 2430. №. 1. С. 080004. DOI: 10.1063/5.0077452
3. Kildeeva N.R., Sazhnev N.A., **Zakharova V.A.**, Gubochkina A.A. Biologically active films and fibers based on chitosan cross-linked by genipin // Bionanotox. 11th international conference.2020. P. 24.
4. Kildeeva N. R., Vasilenko I. A., **Zakhsarova V. A.**, Sazhnev N. A. Study of the influence of the surface of biopolymer chitosan fibrous and film materials on the morphofunctional state of cells //Public Health Toxicology. – 2021. Т. 1. №. Supplement. DOI:10.18332/pht/142077
5. Vasilenko I., Metelin V., Kil'deeva N., **Zakharova V.**, Shikhina N. QPI and atomic force microscopy in a comparative evaluation of biopolymer composites for a biomimetic matrix //Quantitative Phase Imaging VII. – International Society for Optics and Photonics, 2021.Т.11653.С. 116531U. DOI:10.1117/12.2578741
6. **Zakharova, V. A.**; Kildeeva, N. R. Biopolymer Matrices Based on Chitosan and Fibroin: A Review Focused on Methods for Studying Surface Properties. Polysaccharides.2021.2 (1).С. 154–167. DOI: 10.3390/polysaccharides2010011
7. Vasilenko, N. Kil'deeva, V. Metelin, N. Sazhnev, **V. Zakharova**, N. Shikhina. The potential of laser interferometry for a non-invasive assessment of biopolymer film structure and biological properties // Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering. 2019.Vol.11076. P. 110761-110764. DOI:10.1117/12.2527207
8. **Захарова В.А.**, Василенко И.А., Метелин В.Б., Сажнев Н.А., Кильдеева Н.Р. Изучение влияния биополимерных хитозановых волокнистых и пленочных материалов на морфофункциональное состояние живых цитообъектов // Восьмая всероссийская Каргинская конференция Полимеры в стратегии научно-технического развития РФ «Полимеры 2020». 2020.С.371.

Ермолюк Анна Андреевна, стажер-студент, группа биоинженерии грибов, Институт биоинженерии им. К.Г.Скрябина, ФИЦ Биотехнологии РАН.



2. **Тема:** «Поиск новых материалов на основе хитозана для защиты объектов культурного наследия в Государственной Третьяковской галерее»

Аннотация: Сохранение объектов культурного наследия – важнейшая задача, с которой сталкиваются специалисты всего мира. В разрушении памятников искусства одну из ключевых ролей играют микроорганизмы. Использование антисептиков для защиты произведений живописи в значительной степени ограничено, по сравнению с их применением во многих других областях. Это связано с повышенными требованиями, которые предъявляются к таким веществам, с одной стороны они должны эффективно работать против микроорганизмов в составе живописных материалов, а с другой – быть инертными по отношению к ним. Наша работа посвящена характеристике антифунгальных свойств нового материала на основе хитозана, полученного из личинок насекомого *Hermetia illucens* (муха Чёрная львинка). Недавно показали, что этот вариант хитозана в ряде случаев демонстрирует более высокую активность против микроорганизмов, чем хитозан, выделенный из краба, более традиционного источника сырья для хитозана. Несмотря на то, что хитозаны, выделяемые из различных источников имеют сходную полисахаридную структуру, ассоциация хитина с различными белками и другими органическими молекулами может приводить к различным модификациям. В частности методом ИК-спектроскопии показали, значительное отличие свойств хитозанов, выделенных из краба и *H. Illucens*. Для определения противогрибковой активности в качестве тест-культур использовали 12 штаммов плесневых грибов для которых ранее показали способность повреждать лакокрасочные материалы, используемые в произведениях темперной живописи в Государственной Третьяковской галерее. Противогрибковую активность низкомолекулярных хитозанов с молекулярной массой (ММ) 33, 36, 39, 53 и 88 кДа из *H. illucens* изучили в сравнении с 25 и 47 кДа хитозанами, полученными из краба, которые ранее показали наибольшую активность среди изученных низкомолекулярных хитозанов. Оказалось, что активность хитозанов из *H. illucens* в целом возрастает в ряду от 33 до 88 кДа. Причем наибольшая активность соответствует хитозану с ММ 33 кДа (и находится на уровне контрольных крабовых хитозанов), а наименьшая активность соответствует хитозану с ММ 88 кДа. Можно сделать вывод, что хитозан, полученный из *H. illucens*, как и крабовый хитозан, может служить перспективным материалом для защиты объектов изобразительного искусства. Изучение антисептических свойств хитозанов из альтернативных источников важно, поскольку на следующем этапе планируется изучать их взаимодействие с изобразительными материалами, и наличие палитры соединений этого класса может позволить выбрать наиболее инертный и подходящий в качестве добавки.

3. Список работ:

1. Ермолюк А. И., Авданина Д. А., Хайрова А. Ш., Шумихин К. В., Лопатин С. А., Жгун А.А. «Разработка новых материалов на основе хитозана для защиты объектов культурного наследия в Государственной Третьяковской галерее от микробиологического поражения». VIII ПУЩИНСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «БИОХИМИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОСФЕРНАЯ РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ». 6-8 декабря 2022 г. Сборник материалов конференций, стр 128-129. DOI: 10.34756/GEOS.2022.17.38322
2. Ермолюк А. И., Авданина Д. А., Хайрова А. Ш., Лопатин С. А., Жгун А.А. «Исследование фунгицидных свойств низкомолекулярного хитозана из *Hermetia illucens* для защиты объектов культурного наследия в Государственной Третьяковской галерее». Совр. Микология в России, 2023, Т9 (9), Стр 344-345.
3. Ермолюк А. И., Авданина Д. А., Хайрова А. Ш., Лопатин С. А., Жгун А.А. «Анализ ингибирования роста грибов-деструкторов темперной живописи низкомолекулярным хитозаном из *Hermetia illucens*». OpenBio — 2022. Сборник тезисов, Стр. 526.

Тараканов Рашит Ислямович, ассистент кафедры защиты растений РГАУ-МСХА им.
К.А.Тимирязева



1. Анкета

— ФИО: Тараканов Рашит Ислямович

— Дата рождения: 28.02.1998

— Место работы и должность: ассистент кафедры защиты растений РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, м.н.с. НЦМУ «Агротехнологии будущего»

— Адрес, телефон, e-mail: 89774035440; tarakanov.rashit@mail.ru

2. Название работы: Использование хитозана в борьбе с бактериальными болезнями сои.

Аннотация

Pseudomonas savastanoi pv. *glycinea* (Psg) и *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Cff) являются вредными бактериальными патогенами сои. Устойчивость бактерий, поражающих сою к существующим пестицидам и экологические проблемы требуют новых подходов к борьбе с бактериальными фитопатогенами.

Хитозан - биоразлагаемый, биосовместимый и малотоксичный биополимер с антимикробной активностью, перспективный для использования в сельском хозяйстве. Были получены и охарактеризованы гидролизат хитозана и его наночастицы с медью. Антимикробную активность образцов против Psg и Cff изучали методом диффузии на агаре, определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) и минимальную бактерицидную концентрацию (МБК). Образцы хитозана и обогащенных медью наночастиц хитозана (Cu^{2+} ChiNPs) значительно ингибировали рост бактерий и не были фитотоксичными при концентрациях значений МИК и МБК. Защитные свойства гидролизата хитозана и обогащенных медью наночастиц хитозана против бактериальных заболеваний сои были протестированы на растениях в условиях искусственного заражения. Было показано, что Cu^{2+} ChiNPs наиболее эффективны против Psg и Cff. Обработка предварительно инфицированных листьев и семян показала, что биологическая эффективность (Cu^{2+} ChiNPs) составила 71% и 51% для Psg и Cff соответственно. Обогащенные медью наночастицы хитозана перспективны в качестве альтернативного средства для профилактики и уменьшения ущерба от бактериального ожога и бактериальной пятнистости и увядания сои.

В другой части работы оценивали биоцидное действие гидролизата в отношении 5 фитопатогенных бактерий из родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas* и *Clavibacter*, вызывающих экономические потери продукции растениеводства. Минимальная бактерицидная концентрация варьировалась от 0,25 до 0,5%. Было отмечено, что вещество действует более активно

против грамотрицательных бактерий, чем по отношению к грамположительным. Эффективность применения вещества на искусственном инфекционном фоне переноспороза огурца при профилактической обработке составила в среднем 55,4% по сравнению с контролем без обработки.

3. Список всех работ по заявляемой теме.

1. **Tarakanov, R.**; Shagdarova, B.; Varlamov, V.; Dzhililov, F. Biocidal and Resistance-Inducing Effects of Chitosan on Phytopathogens. *E3S Web Conf.* **2021**, 254, 05007, doi:[10.1051/e3sconf/202125405007](https://doi.org/10.1051/e3sconf/202125405007).
2. **Tarakanov, R.**; Shagdarova, B.; Lyalina, T.; Zhuikova, Y.; Il'ina, A.; Dzhililov, F.; Varlamov, V. Protective Properties of Copper-Loaded Chitosan Nanoparticles against Soybean Pathogens *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. *Polymers* **2023**, 15 (in press)
3. **Tarakanov, R.**; Dzhililov, F. Using of Essential Oils and Plant Extracts against *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* on Soybean. *Plants* **2022**, 11, 2989, doi:[10.3390/plants11212989](https://doi.org/10.3390/plants11212989).
4. **Tarakanov, R.**; Lukianova, A.; Pilik, R.; Evseev, P.; Miroshnikov, K.; Dzhililov, F.; Tesic, S.; Ignatov, A. First Report of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* Causing Bacterial Tan Spot of Soybean in Russia. *Plant Disease* **2022**, doi:[10.1094/PDIS-08-22-1778-PDN](https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1778-PDN).
5. Pilik, R.; Tesic, S.; Ignatov, A.; **Tarakanov, R.**; Dorofeeva, L.; Lukianova, A.; Evseev, P.; Dzhililov, F.; Miroshnikov, K. First Report of *Curtobacterium Flaccumfaciens* Pv. *Flaccumfaciens* Causing Bacterial Wilt and Blight on Sunflower in Russia. *Plant Disease* **2022**, doi:[10.1094/PDIS-05-22-1203-PDN](https://doi.org/10.1094/PDIS-05-22-1203-PDN).
6. **Tarakanov, R.**; Ignatov, A.; Dzhililov, F. Genetic and Phenotypical Diversity of *Pseudomonas Syringae* Population in the Russian Federation. *Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia* **2022**, 84, doi:[10.1590/1519-6984.264224](https://doi.org/10.1590/1519-6984.264224).
7. **Tarakanov, R.**; Lukianova, A.; Evseev, P.; Pilik, R.; Tokmakova, A.; Kulikov, E.; Toshchakov, S.; Ignatov, A.; Dzhililov, F.; Miroshnikov, K. Ayka, a Novel *Curtobacterium* Bacteriophage, Provides Protection against Soybean Bacterial Wilt and Tan Spot. *International Journal of Molecular Sciences* **2022**, 23, 10913, doi:[10.3390/ijms231810913](https://doi.org/10.3390/ijms231810913).
8. **Tarakanov, R.**; Lukianova, A.; Evseev, P.; Toshchakov, S.; Kulikov, E.; Ignatov, A.; Miroshnikov, K.; Dzhililov, F. Bacteriophage Control of

Pseudomonas Savastanoi Pv. *Glycinea* in Soybean. *Plants* **2022**, *11*,
doi:10.3390/plants11070938.

9. **Тараканов Р.И.**, Игнатов А.Н., Джалилов Ф.С.-У., ВЫДЕЛЕНИЕ
БАКТЕРИОФАГОВ *PSEUDOMONAS SAVASTANOI* PV. *GLYCINEA* И ИХ
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ЗАЩИТЕ СОИ ОТ БАКТЕРИАЛЬНОГО ОЖОГА.
Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии **2020**, 43–53.

10. Evseev, P.; Lukianova, A.; **Tarakanov, R.**; Tokmakova, A.; Shneider, M.;
Ignatov, A.; Miroshnikov, K. *Curtobacterium* Spp. and *Curtobacterium*
Flaccumfaciens: Phylogeny, Genomics-Based Taxonomy, Pathogenicity, and
Diagnostics. *Current Issues in Molecular Biology* **2022**, *44*,
doi:10.3390/cimb44020060.

Тимофеева Татьяна Алексеевна, м.н.с. Лаборатории инженерии биополимеров,
Институт биоинженерии им. К.Г.Скрябина, ФИЦ Биотехнологии РАН.



Изучение стрессовых реакций растений томата *Solanum lycopersicum* в ответ на обработку гидролизатом хитозана

Высокая биологическая активность хитозана стимулирует всестороннее изучение его свойств. Хитозан рассматривают как биологический фунгицид, использование которого снижает химическую нагрузку на агроэкосистемы. Кроме того, хитозан показал себя как стимулятор роста растений. Большое количество работ описывает хитозан как соединение, стимулирующее рост растений с точки зрения всхожести, высоты проростков, длины корней и увеличения объема корневой системы. Такое стимулирующее действие хитозана по мнению многих исследователей обусловлено активацией собственного иммунитета растений.

Данная работа проводится с использованием низкомолекулярного гидролизата хитозана (33кДа). При проведении серии экспериментов по влиянию гидролизата хитозана на прорастание семян и развитие проростков томата было отмечено изменение тропизма корней при внесении в среду для культивирования растений гидролизата хитозана в высокой концентрации. Подобные изменения в архитектуре корня могут быть вызваны активацией стрессового иммунитета растений. Однако механизмы, лежащие в основе подобного явления, требуют детального рассмотрения. В связи с этим было проведено исследование влияния низкомолекулярного гидролизата хитозана на экспрессию генов, регулирующих биосинтез фитогормонов в корнях томата сортов Черри и Лель.

Были выбраны и проанализированы некоторые ключевые гены, принимающие участие в биосинтезе жасмоновой, салициловой, абсцизовой и индолилуксусной кислот. Также изучались гены, отвечающие за активность покоящегося центра апикальной меристемы корней томата.

Эффект от внесения гидролизата хитозана различался между сортами томата. Экспрессия *WOX5* через 48 часов после начала эксперимента повышается в 2,7 раз для

Черри и в 9,5 раз для Лель. Активность *MYC2* повышается через 30 минут после внесения у обоих сортов томата. Обработка проростков томата низкомолекулярным гидролизатом хитозана снижает экспрессию *AAO3* и *AMII*. Экспрессия *PLT2* и *PAL5* снижается через 24 часа, активность восстанавливается только для томата Черри.

Снижение экспрессии гена *AMII* в пути биосинтеза ауксина на фоне активации сигнальных путей салициловой (*PAL5*) и жасмоновой (*MYC2*) кислот может быть причиной нарушения тропизма корней томата. Изменение в экспрессии исследуемых генов в ответ на внесение гидролизата хитозана свидетельствует о его иммуностимулирующей активности. Сверхэкспрессия гена *WOX5* показывает влияние гидролизата хитозана на работу покоящегося центра апикальной меристемы корня томата, что также заслуживает подробного изучения в дальнейшем.

Полученные результаты помогут в понимании механизмов действия хитозана на развитие растений для наиболее успешного применения в сельском хозяйстве.

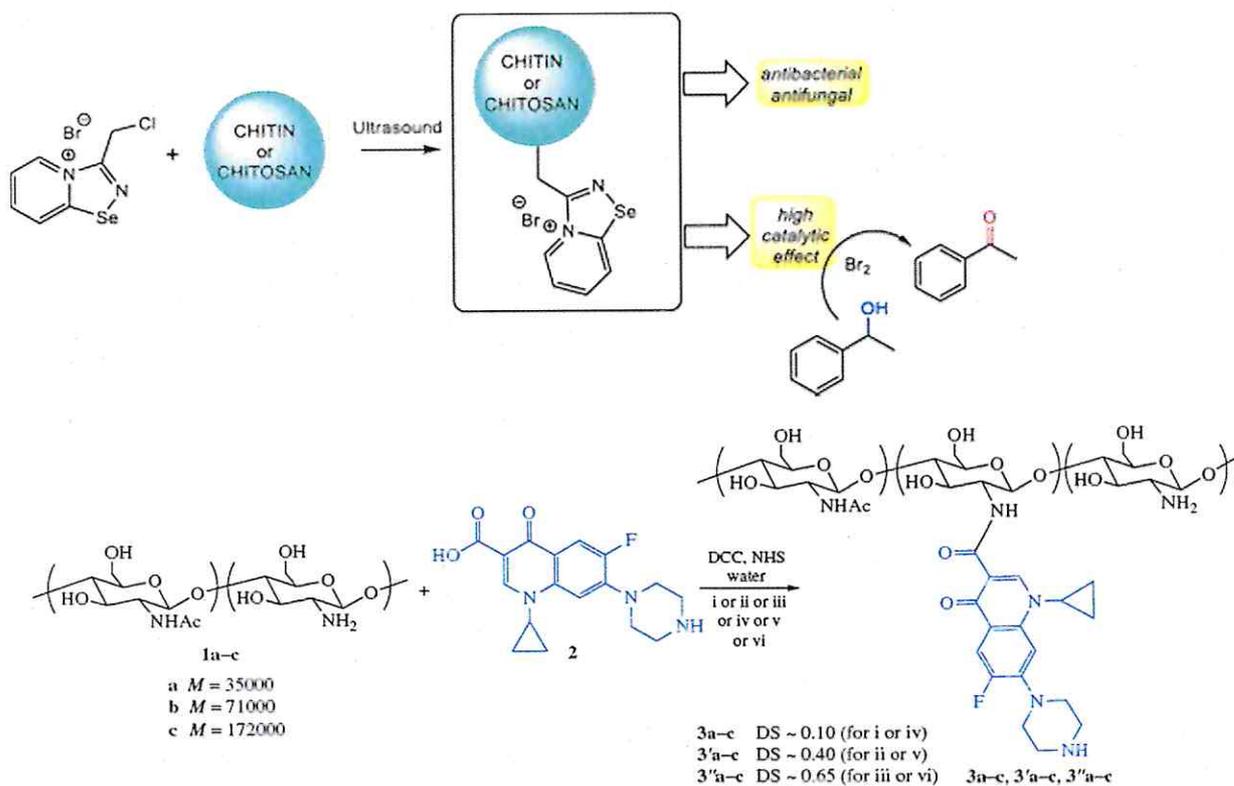
1. Timofeeva, T., Shtan'ko, D., Shagdarova, B., Zakurin, A., Kamionskaya, A., & Il'ina, A. (2022). The Effect of Chitosan Hydrolysate on *Solanum Lycopersicum* Plant Growth. *KnE Life Sciences*, 7(1), 435–442.
2. Timofeeva T.A., Zakurin A.O., Nezhdanova A.V., Shagdarova B.Ts., Davlekamova A.A., Gaydukova S.E., Yakovleva I.V., Kamionskaya A.M. Low molecular weight chitosan hydrolyzate inhibits the growth of some phytopathogenic Ascomycota fungi. – 2021. – IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 839 042027.
3. Timofeeva T., Shagdarova B., Zakurin A. Effect of chitosan hydrolyzate on tomato seed germination and seedling growth. – *FEBS Open Bio*. – 2021. – P. 290.
4. Тимофеева Т.А., Штанько Д.А., Закурин А.О. Изучение влияния гидролизата хитозана на развитие проростков *Solanum lycopersicum* – сб. тезисов докладов конференции молодых ученых «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии» - Москва, 2020, с. 187-188.
5. Тимофеева Т. А., Варламов В. П., Камионская А.М. изучение активности генов корней томата при обработке гидролизатом хитозана // ожидается публикация в сб. тезисов.

Хубиев Омар Муслимович, аспирант 1 года ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».



Создание конъюгатов на основе природных полисахаридов для контролируемого высвобождения фармацевтических субстанций

Работы посвящены созданию и изучению физико-химических свойств различных конъюгатов хитина и хитозана, обладающих антибактериальной и противогрибковой активностью. Создание подобных конъюгатов на основе биodeградируемых полимеров может стать одной из возможных стратегий по борьбе с антибиотикорезистентностью некоторым штаммам микроорганизмов.



Статъи Web of Science / Scopus:

1. Egorov, A. R., Yagafarov, N. Z., Artemjev, A. A., Khubiev, O., Medjbour, B., Kozyrev, V. A., Donovan Sikaona, N., Tsvetkova, O. I., Rubanik, V. V., Rubanik, V. V., Kurliuk, A. V., Shakola, T. V., Lobanov, N. N., Kritchenkov, I. S., Tskhovrebov, A. G., Kirichuk, A. A., Khrustalev, V. N., & Kritchenkov, A. S. (2022). Synthesis and in vitro antifungal activity of selenium-containing chitin derivatives. *Mendeleev Communications*, 32(3), 357–359. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2022.05.022>
2. Egorov, A. R., Artemjev, A. A., Kozyrev, V. A., Sikaona, D. N., Rubanik, V. V., Rubanik, V. V., Kritchenkov, I. S., Yagafarov, N. Z., Khubiev, O. M., Tereshina, T. A., Kultyshkina, E. K., Medjbour, B., Khrustalev, V. N., & Kritchenkov, A. S. (2022). Synthesis of selenium-containing chitosan derivatives and their antibacterial activity. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 58(2), 132–135. <https://doi.org/10.1134/s0003683822020053>
3. Egorov, A. R., Artemjev, A. A., Kozyrev, V. A., Sikaona, D. N., Rubanik, V. V., Rubanik, V. V., Kritchenkov, I. S., Yagafarov, N. Z., Khubiev, O. M., Tereshina, T. A., Kultyshkina, E. K., Medjbour, B., Khrustalev, V. N., & Kritchenkov, A. S. (2022). Synthesis of selenium-containing chitosan derivatives and their antibacterial activity. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 58(2), 132–135. <https://doi.org/10.1134/s0003683822020053>
4. Egorov, A. R., Kurasova, M. N., Khubiev, O., Bogdanov, N. A., Tskhovrebov, A. G., Kirichuk, A. A., Khrustalev, V. N., Rubanik, V. V., Rubanik, V. V., & Kritchenkov, A. S. (2022). Ciprofloxacin chitosan conjugate: Combined antibacterial effect and low toxicity. *Mendeleev Communications*, 32(6), 774–776. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2022.11.022>

Харламов Виталий Николаевич, магистрант 1 курса Кафедры полимеров на базе ООО "АКРИПОЛ" Института химии, ФГБОУ ВО Саратовский национальный исследовательский государственный университет Тема: «Термочувствительные биологически активные хитозансодержащие гидрогели»

ТЕРМОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ХИТОЗАНСОДЕРЖАЩИЕ ГИДРОГЕЛИ

В настоящее время активно ведется поиск новых фармацевтических гидрогелевых форм для доставки биологически активных лекарственных веществ в труднодоступные места. Наиболее подходящими являются системы, которые при температуре живого организма претерпевают фазовый переход «жидкость-гидрогель». Перспективными полимерами для получения таких гидрогелей рассматриваются природные полисахариды, в частности, хитозан, ввиду своей хорошей биологической и фармакологической активности. Поскольку данный полисахарид не проявляет гелеобразования без сшивающих агентов, в настоящей работе для получения термочувствительных гидрогелей использован синтетический гелеобразователь – Pluronic F-127.

В работе комплексом физико-химических и биологических методов проведено исследование смесей водных растворов гидрохлорида хитозана (ХТЗ·HCl) и Pluronic F-127 (Pl F-127) в широком диапазоне составов и температур для получения термочувствительных гидрогелей на их основе.

Методом ротационной вискозиметрии исследованы реологические свойства, реокинетика гелеобразования и вязкоупругие параметры системы ХТЗ·HCl + Pl F-127 в диапазоне 4–37°C. Методом поляризационной микроскопии изучено влияние хитозана на ориентационно-мицеллярную ассоциацию Pl F-127 в водной среде. Обнаружена корреляция между оптической текстурой макроскопической гель-фазы Pl F-127, его смесей с ХТЗ·HCl и вязкоупругими свойствами полимерной системы. На основании полученных данных определены оптимальные составы смесевой композиции для получения термочувствительных гидрогелей, время и температура термического перехода жидкость – гидрогель (рис.).

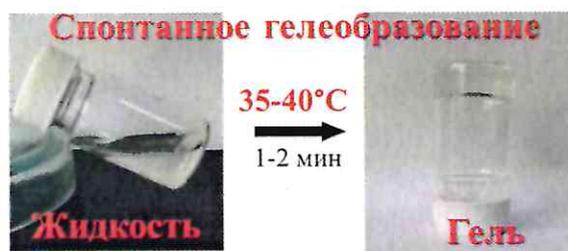


Рис. Фотографии термочувствительного фазового перехода.

В опытах *in vitro* показано, что разработанная композиция проявляет умеренную антибактериальную активность в отношении грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, высокие мукоадгезивные свойства по сравнению с коммерчески доступными гелевыми препаратами. Оценка фармакологической активности *in vivo* выявила более высокий терапевтический эффект хитозансодержащих гидрогелей по сравнению со стандартным лечением при заболевании слизистых тканей, высокий гемостатический эффект и ранозаживляющее действие у животных.

Полученные результаты показывают перспективность использования разработанных термочувствительных гидрогелей для различных медицинских и ветеринарных приложений как в качестве самостоятельных лечебных препаратов, так и в качестве биологически активной матрицы для пролонгированной доставки биологически активных веществ.

Список публикаций

1. Харламов В.Н., Гегель Н.О., Шиповская А.Б., Хапцев З.Ю., Родионов Р.В. Средство для профилактики и лечения вагинита у коров. Патент РФ №2751876. 17 с. // Б.И. 2021. №20.
2. Gegel N.O., Kharlamov V.N., Shipovskaya A.B. Influence of Chitosan on Orientation–Micellar Ordering of the Pluronic F-127 Gel Phase in an Aqueous Medium // Optics and Spectroscopy. 2022. Vol.130. No.4. P.257–261.
3. Gegel N.O., Shipovskaya A.B., Khaptsev Z.Y., Radionov R.V., Belyaeva A.A., Kharlamov V.N. Thermosensitive Chitosan-Containing Hydrogels: Their Formation, Properties, Antibacterial Activity, and Veterinary Usage // Gels. 2022. Vol.8. No.2. 13 p. <https://doi.org/10.3390/gels8020093>.
4. Харламов В.Н., Гегель Н.О. Биофармацевтическое исследование термочувствительных хитозансодержащих гидрогелей // Сб. матер. XI межвузовской науч.-пр. конф. мол. уч. с международ. уч., посвященной 10-летию саратовского медицинского университета «Реавиз». Приложение к Вестнику медицинского института «РЕАВИЗ» (Реабилитация, врач и здоровье). 2021. Т.50. № 2. С.238-239.

ТЕЛ. +7-904-430-78-58

Харламов Виталий Николаевич – магистрант 1 курса Института химии кафедры полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» ФГБОУ ВО Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского
E-mail: harklamovvitalik@gmail.com

Анкета

ФИО Артемьев Алексей Антонович
Место работы и ФГАОУ ВО «Российский
должность университет дружбы народов»
аспирант 4-го года



Разработка полифункциональных селеногетероциклических систем на основе хитина и хитозана

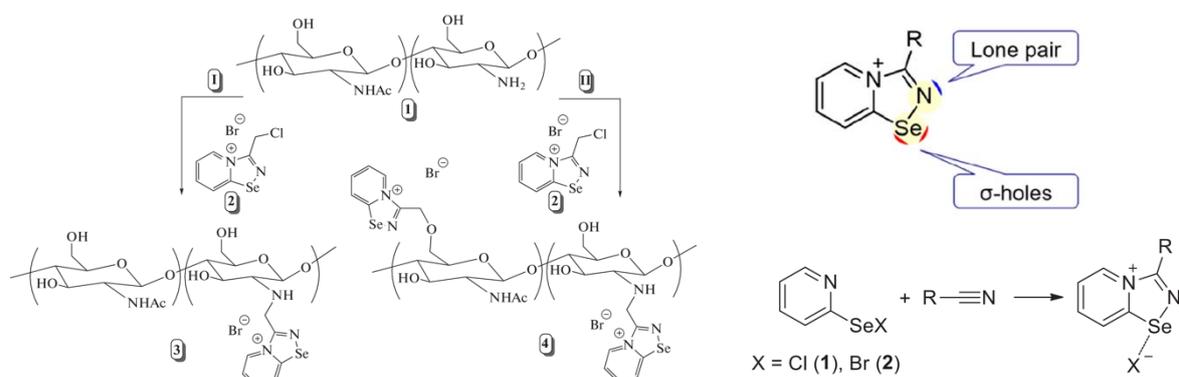
Аннотация

Загрязнение вод ионами тяжелых металлов, в том числе и радиоактивными, представляет собой серьезную экологическую проблему в связи с их токсическим эффектом, который проявляется при низких концентрациях. Для очистки вод и разделения этих ионов прибегают к комбинации различных методов (мембранная фильтрация, экстракция, абсорбция, химическое осаждение, хелатирование, *etc.*), в которых широко используются полимеры. Несомненный интерес вызывают природные полимеры, такие как хитин и хитозан.

Известно, что хитозан представляет собой хелатирующий агент за счет водородных связей групп OH и NH_2 . Однако такие связи на порядок уступают галогенным - минусом которых является однонаправленность - и халькогенным. Последний вид нековалентных взаимодействий в последнее время получает все большее развитие благодаря перспективам использования в органическом синтезе, катализе и молекулярном распознавании. Прививка такой функции глюкозаминному остову расширит области его применения.

Нами получены в мягких условиях новые катионные 1,2,4-селенодиазолы, которые предлагаются в качестве доноров халькогенной связи для селективного осаждения различных анионов, в дополнение проявляющие биологическую активность (препарат эбселен, имеющий схожую структуру, обладает антигипоксическим и нейропротекторным действием). На текущем этапе проводится их наработка и изучение зависимостей «структура-селективность», «структура-активность». Модельная функционализация хитозана и хитина 3-(хлорметил)-[1,2,4]селендиазоло[4,5-а]пиридиния бромидом повысила, соответственно, антибактериальную и противогрибковую активность, а также их растворимость.

В дальнейшем планируется получение пленок и мембран из данных производных, и изучение возможности их использования для селективной очистки вод, в частности от пертехнетат-иона после переработки отработанного ядерного топлива.



Публикации по проекту

1. Egorov AR, Yagafarov NZ, **Artemjev AA**, Khubiev OM, Badreddine M, Kozyrev VA, Nkumbu DS, Tsvetkova OI, Rubanik VV, Kurliuk AV, Shakola TV, Lobanov NN, Kritchenkov IS, Tskhovrebov AG, Kirichuk AA, Khrustalev VN, Kritchenkov AS, Synthesis and in vitro antifungal activity of selenium-containing chitin derivatives, *Mendeleev communications*, **2022**, 32(3), 357–359 [10.1016/j.mencom.2022.05.022](https://doi.org/10.1016/j.mencom.2022.05.022)
2. Egorov AR, **Artemjev AA**, Kozyrev VA, Sikaona DN, Rubanik VV, Rubanik Jr. VV, Kritchenkov IS, Yagafarov NZ, Khubiev OM, Tereshina TA, Kultyshkina EK, Medjbour B, Synthesis of Selenium-Containing Chitosan Derivatives and Their Antibacterial Activity, *Applied Biochemistry and Microbiology*, **2022**, 58, 132–135 [10.1134/S0003683822020053](https://doi.org/10.1134/S0003683822020053)
3. **Artemjev AA**, Novikov AP, Burkin GM, Sapronov AA, Kubasov AS, Nenajdenko VG, Khrustalev VN, Borisov AV, Kirichuk AA, Kritchenkov AS, Gomila RM, Frontera A, Tskhovrebov AG, Towards Anion Recognition and Precipitation with Water-Soluble 1,2,4-Selenodiazolium Salts: Combined Structural and Theoretical Study, *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23(12), 6372 [10.3390/ijms23126372](https://doi.org/10.3390/ijms23126372)
4. Sapronov AA, **Artemjev AA**, Burkin GM, Khrustalev VN, Kubasov AS, Nenajdenko VG, Gomila RM, Frontera A, Kritchenkov AS, Tskhovrebov AG, Robust Supramolecular Dimers Derived from Benzylic-Substituted 1,2,4-Selenodiazolium Salts Featuring Selenium... π Chalcogen Bonding, *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23(23), 14973 [10.3390/ijms232314973](https://doi.org/10.3390/ijms232314973)
5. Sapronov AA, Kubasov AS, Khrustalev VN, **Artemjev AA**, Burkin M, Dukhnovsky EA, Chizhov AO, Kritchenkov AS, Gomila RM, Frontera A, Tskhovrebov AG, Se... π Chalcogen Bonding in 1,2,4-Selenodiazolium Tetraphenylborate Complexes, *Symmetry*, **2023**, 15(1), 212, [10.3390/sym15010212](https://doi.org/10.3390/sym15010212)
6. Grudova MV, Khrustalev VN, Kubasov AS, Strashnov PV, Matsulevich ZhV, Lukiyanova JuM, Borisova GN, Kritchenkov AS, Grishina MM, **Artemjev AA**, Buslov IV, Osmanov VK, Nenajdenko VG, Trung NQ, Borisov AV, Tskhovrebov AG, Adducts of 2-Pyridylselenenyl Halides and Nitriles as Novel Supramolecular Building Blocks: Four-Center Se...N Chalcogen Bonding versus Other Weak Interactions, *Cryst. Growth Des.*, **2022**, 22, 1, 313–322, [10.1021/acs.cgd.1c00954](https://doi.org/10.1021/acs.cgd.1c00954)

Курочкина Валентина Андреевна

Место работы: ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Институт химии, кафедра полимеров на базе ООО «Акрипол», инженер



ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА САМООРГАНИЗАЦИИ СЛОИСТОЙ СТРУКТУРЫ ГЕЛЬ-ПЛЁНОК ХИТОЗАНА

Исследование самоорганизации в «мягких» средах является одной из актуальных задач современной физикохимии. В частности, удаётся получить самоорганизованные гидрогелевые структуры путём проведения реакции полимераналогичного превращения соль \rightarrow основание хитозана не в классическом варианте, а на границе раздела двух контактирующих жидкостей (раствор солевой формы хитозана – раствор основного реагента) в отсутствие конвекции. Такой вариант предполагает диффузию ионов OH^- в вязком растворе хитозана, что протекает во времени, и создаёт возможность образования и самоорганизации полимерных структур перед потерей подвижности макромолекулами и гелеобразованием.

Целью работы являлось изучение влияния природы нейтрализующего реагента на процесс получения и самоорганизации многослойной структуры гель–плёнок хитозана.

Для перевода хитозана в солевую форму использовали фармакопейную гликолевую кислоту, в качестве нейтрализующего реагента брали как сильное неорганическое основание (NaOH), так и слабое органическое — триэтаноламин (ТЭА). Обнаружено, что для всех полученных гель–плёнок хитозана характерно слоисто-периодическое упорядочение, состоящее из целого массива колец и микроколец, причём число слоёв и их размеры зависят от природы основного реагента. Так, гель–плёнка, полученная в среде NaOH, имела 7 визуально наблюдаемых колец, каждое из которых состояло из микроколец размером 2–6 мкм. Использование ТЭА привело к уплотнению полимерного материала и повысила число макроколец до 16, а их ширина составила 0.5–250 мкм. Такие различия морфоструктуры гель–плёнок мы связываем с кинетикой массопереноса при протекании полимераналогичного превращения. Установлено, что оно подчиняется классическим закономерностям ионно-обменных реакций, а соотношение положений периодических колец или полос и кинетика их образования описываются законом времени и пространства, характерным для явления Лизеганга. Применение ТЭА замедляет процесс: рассчитанная константа скорости (k) реакции нейтрализации в случае NaOH и ТЭА составила $5 \cdot 10^{-5}$ и $8 \cdot 10^{-6}$ л/моль·мин соответственно. Средний коэффициент диффузии (D) гидроксид-ионов в геле при использовании NaOH составил $(6-17) \cdot 10^{-10}$ м²/с и возрастал с повышением концентрации полимера. Данная тенденция сохраняется и для ТЭА, однако возникают существенные различия, вплоть до повышения значений D на десятичный порядок.

Таким образом, установлено, что варьирование природы нейтрализующего реагента и концентрации хитозана в растворе даёт возможность управлять процессами самоорганизации, определяя морфоструктуру материала. Кроме того, слоисто-ориентированная структура гель–плёнок хитозана имеет практическое значение, поскольку позволяет загружать в них не только гидрофильные, но и гидрофобные биологически активные вещества, в частности, холекальциферол (витамин D_3).

Список всех работ по заявленной теме

1. Konduktorova A.A., **Kurochkina V.A.**, Babicheva T.S., Shmakov S.L., Shipovskaya A.B. Studying of the supramolecularly ordered layered structure of chitosan gel films // Journal of Physics: Conf. Series. 2021. Vol. 2086 012112 (4 p) doi:10.1088/1742-6596/2086/1/012112
2. **Курочкина В.А.**, Бабичева Т.С., Шмаков С.Л., Шиповская А.Б. Влияние природы нейтрализующего реагента на процесс формирования самоорганизованной многослойной гель-плёнки хитозана // Сб. материалов шк.-конф. для мол. уч. «Самоорганизация в «мягких» средах: достижения и современное состояние». Москва. 2022. С.85
3. **Курочкина В.А.**, Хакимова А.А., Бабичева Т.С., Шмаков С.Л., Шиповская А.Б. Получение слоисто-ориентированных гель-плёнок из растворов гликолята и лактата хитозана // Теоретические и экспериментальные исследования процессов синтеза, модификации и переработки полимеров: сб. тез. докл. VIII Всероссийск. науч. конф. Уфа: РИЦ БашГУ. 2022. С.148-149
4. **Курочкина В.А.**, Кондукторова А.А., Бабичева Т.С., Шмаков С.Л., Шиповская А.Б. Исследование процесса формирования самоорганизованных многослойных структур хитозана в условиях депротонирования поликатиона с использованием органического и неорганического нейтрализующего агента // Сб. Материалов Международного молодежного научного форума «ЛЮМОНОСОБ-2021» – М.: МАКС Пресс. 2021. 2000 экз. ISBN 978-5-317-06593-5
5. Бабичева Т.С., **Курочкина В.А.**, Шиповская А.Б. Реологические свойства растворов хитозана в гликолевой и молочной кислоте // Сб. XXX Симпозиума по реологии. Тверь: ИНХС РАН. 2021. С.36

Анкета

Шипенок Ксения Михайловна

ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Институт химии, студентка 1 курса магистратуры;

ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», кафедра полимеров на базе ООО «Акрипол», инженер;



Биологически активные нано- и микрочастицы аспарагината хитозана: получение, свойства и применение

Нано- и микрочастицы хитозана перспективны в качестве рН-чувствительных систем контролируемого транспорта лекарств, носителей контрастирующих агентов для магнитно-резонансной, радио- или электронной томографии и других медико-биологических приложений. Поскольку традиционные способы получения нано- и микрочастиц хитозана многостадийны, требуют дорогостоящего оборудования, зачастую предполагают использование сшивающих реагентов, приводящих к образованию токсичных побочных веществ, а конечный продукт проявляет лишь биотолерантность, необходимы новые подходы к формированию нано(микро)частиц хитозана с собственной биологической активностью.

В настоящей работе методами кондуктометрии, потенциометрии, вискозиметрии, статического рассеяния света, ИК, ЯМР и диэлектрической спектроскопии, рентгеновской дифрактометрии изучено растворение хитозана (200 кДа) в водном растворе *L*-аспарагиновой кислоты (*L*-AspA), физико-химические свойства и структурные особенности образующейся при этом солевой формы полимера. Показано, что аспарагинат хитозана является водорастворимым гидратированным полиморфом, в водной среде проявляет свойства катионного полиэлектролита с эффективным радиусом макромолекулярного клубка 60–75 нм и частично компенсированным зарядом. Обнаружено, что удельная проводимость, диэлектрическая проницаемость, вязкость и рН системы хитозан + *L*-AspA + вода изменяются во времени после приготовления. Нестабильность обусловлена эффектами ассоциации противоионов с поликатионом с образованием ионных пар, мультиплетных структур и их последующей агрегацией. В результате в системе после хранения в течение ~24 ч образуются изометричные наночастицы (40–90 нм), в течение ~48 ч - анизодиаметричные микрочастицы (0.6–1.4 мкм), а через 72–96 ч наблюдается выпадение осадка. Состав осажденной фазы представлен водонерастворимой солевой формой хитозана с развитой системой Н-связей и высокой степенью кристалличности. Разработаны подходы к получению агрегативно-стабильных дисперсий нано- и микрочастиц аспарагината хитозана путем формирования на их поверхности полисилоксановой оболочки в процессе конденсации фармакологически активного тетраглицеролата кремния. Биотестирование нано(микро)частиц хитозана выявило их высокую гемо- и биосовместимость, способность ускорять пролиферативную активность культур эпителиальных и эпителиоподобных клеток, а также высокую ростовую и биостимулирующую способность в отношении тест-семян и тест-растений.

Список работ по заявляемой теме

1. Lugovitskaya T.N., Shipovskaya A.B., Shmakov S.L., Shipenok X.M. Formation, structure, properties of chitosan aspartate and metastable state of its solutions for obtaining nanoparticles // Carbohydrate Polymers. 2022. Vol. 277. 118773.
2. Lugovitskaya T.N., Shipovskaya A.B., Shipenok X.M. Kinetic instability of a chitosan – aspartic acid – water system as a method for obtaining nano- and microparticles // Chimica Techno Acta. 2021. Vol. 8. No. 4. 20218405.
3. Khaptsev Z., Lugovitskaya T., Shipovskaya A., Shipenok X. Biological activity of chitosan aspartate and its effect on germination of test seeds // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. Vol. 723: Agriculture, field cultivation, animal husbandry, forestry and agricultural products. 2021. 022074.
4. Shipovskaya A.B., Gegel N.O., Shipenok X.M. Features of L-menthol crystallization in optically active medium based on L- and D-asparaginate chitosan // Journal of Biomedical Photonics & Engineering. 2023. Принята в печать.
5. Шипенко К.М., Луговицкая Т.Н., Шиповская А.Б. Биостимулятор роста растений из аспарагината хитозана. Патент №2782614 РФ. МПК A01N 25/00. Заявл. 13.12.2021. Оpubл. 31.10.2022. Бюл. №31.
6. Шипенко К.М., Луговицкая Т.Н., Шиповская А.Б. Противоионная ассоциация в системе хитозан + аспарагиновая кислота + вода // В книге: Теоретические и экспериментальные исследования процессов синтеза, модификации и переработки полимеров. Тезисы докладов VIII Всероссийской (заочной) научной конференции. Отв. редактор Е.И. Кулиш. Уфа, 2022. С. 61-63.
7. Шипенко К.М., Луговицкая Т.Н., Пономарев Д.В., Скрипаль Ал.В., Шиповская А.Б. Противоионная ассоциация в системе хитозан + аспарагиновая кислота + вода как способ получения микрочастиц // В сборнике: методы компьютерной диагностики в биологии и медицине - 2022. сборник статей Всероссийской школы-семинара. Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского. Саратов, 2022. С. 61-64.
8. Шипенко К.М., Луговицкая Т.Н., Шиповская А.Б. Диэлектрическая проницаемость раствора аспарагината хитозана // В сборнике: Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии. Межвузовский сборник научных трудов. Саратов, 2021. С. 234–237.
9. Шипенко К.М., Луговицкая Т.Н., Шиповская А.Б. Влияние аспарагината хитозана на всхожесть тест-семян // В сборнике: Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии. Межвузовский сборник научных трудов XIV Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием. Саратов, 2020. С. 153–156.
10. Шипенко К.М., Луговицкая Т.Н., Шиповская А.Б. Биостимуляторы на основе хитозана в агротехнологиях // В сборнике: Химия биологически активных веществ. Межвузовский сборник научных трудов II Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 110-летию Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, 90-летию Института Химии (химический факультет), 150-летию Периодического закона и Периодической таблицы химических элементов Д.И. Менделеева. Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского. 2019. С. 382–383.
11. Шипенко К.М., Петрова Е.Ю., Луговицкая Т.Н., Шиповская А.Б. Самоорганизация в растворах L- и D-аспарагината хитозана при формировании микрочастиц // В книге тезисов школы-конференции для молодых ученых - Самоорганизация в «мягких» средах: достижения и современное состояние. Москва. 2022. С. 60.
12. Луговицкая Т.Н., Шипенко К.М., Шиповская А.Б. Кинетическая нестабильность раствора аспарагината хитозана как способ получения нано- и микрочастиц // В книге: Проблемы теоретической и экспериментальной химии. тезисы докладов XXXI Российской молодежной научной конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождения профессора В. М. Жуковского. Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина; Уральское отделение Российской академии наук. 2021. С. 35.