

УДК 547.728.23

## СОЗДАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО КОМПОЗИЦИОННОГО АЭРОГЕЛЯ БИМЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА АЛЬГИНАТ–ХИТОЗАН И КАРБОНАТА КАЛЬЦИЯ

© 2024 г. Н. А. Горшкова<sup>1, \*</sup>, О. С. Бровко<sup>1</sup>, И. А. Паламарчук<sup>1</sup>, А. Д. Ивахнов<sup>1, 2</sup>, Н. И. Богданович<sup>2</sup>, Т. Я. Воробьева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики им. академика Н. П. Лаверова  
УрО РАН, Архангельск, 163020 Россия

<sup>2</sup>Северный (Арктический) федеральный университет имени М. В. Ломоносова, Архангельск, 163000 Россия

\*e-mail: nat.gorshkova@mail.ru

Поступила в редакцию 31.08.2023 г.

После доработки 03.11.2023 г.

Принята к публикации 05.11.2023 г.

На основе полиэлектролитного комплекса альгинат натрия–хитозан с включением микрочастиц карбоната кальция синтезированы аэрогелевые композиты. Показано, что текстурные характеристики материалов не зависели от морфологии частиц карбоната кальция: площадь удельной поверхности аэрогелей составляла 380–400 м<sup>2</sup>/г. Развитая пористая структура композитов наряду с полиэлектролитной природой определяла их высокое влагопоглощение — до 110 г/г. Для придания антимикробных свойств материалы импрегнировали атранорином, выделенным из лишайника *Hypogymnia physodes*, обладающим выраженным ингибирующим действием относительно бактерии *Proteus mirabilis*, являющейся основным возбудителем раневых инфекций. Минимальная подавляющая концентрация атранорина составляла 1 мг/мл. Высвобождение основного количества атранорина (до 50%), включенного в матрицу аэрогелевого материала, происходило в течение 4 ч.

**Ключевые слова:** хитозан, альгинат, аэрогель, карбонат кальция, раневое покрытие, лишайник *Hypogymnia physodes*, атранорин, сверхкритическая сушка, доставка лекарств, антибактериальная активность

DOI: 10.31857/S0555109924020038 EDN: GAZTRG

Важным направлением современной биомедицины является разработка новых подходов к созданию материалов на основе биосовместимых полимерных матриц для восстановления кожных покровов и исследование их свойств. Биополимерные конструкции могут служить резорбируемой основой биомедицинских изделий, предназначенных для замещения поврежденной ткани, или выполнять роль раневых покрытий. Основное требование, предъявляемое к материалам для регенерации тканей, заключается в обеспечении протекания репарационных процессов не только на поверхности, но и во всем объеме восстанавливаемого участка ткани, что достигается при наличии в структуре материала системы связанных, сообщающихся пор, в которых происходит инфильтрация клеток организма, их рост, подвод питательных веществ и кислорода, а также отвод продуктов жизнедеятельности. В поры могут вводиться факторы роста, клеточные культуры, биологически активные или лекарственные препараты, которые обеспечивают контроль воспалительных процессов и способствуют более активной регенерации ткани [1–3].

Достаточно часто в качестве полимерных матриц медицинского назначения используют органические аэрогели (АГ) — наноструктурные высокопористые материалы, обладающие чрезвычайно низкой плотностью, большой удельной поверхностью и высокой пористостью. При этом для их получения предпочтительнее использовать биополимеры, обладающие собственной физиологической активностью, поскольку в этом случае биологическое действие (бактериостатическое, противовирусное, антикоагуляционное и др.) полимерной матрицы проявляется даже без введения в структуру дополнительных активных веществ [4, 5]. Наиболее перспективными компонентами для создания биоактивных аэрогелевых композиций являются полиэлектролитные комплексы (ПЭК) альгината натрия (АЛГ) и хитозана (ХТЗ) [6–8]. Оба полисахарида АЛГ и ХТЗ активно используют как биосовместимые, биорезорбируемые и биоадгезивные соединения в медицинских и фармацевтических целях, в том числе в качестве каркасов для тканевой инженерии, раневых покрытий, гемостатических агентов с антитромбогенными

свойствами и стимуляторов иммунной системы против вирусных и бактериальных инфекций [9, 10]. Следует отметить, что однокомпонентные материалы на основе АЛГ или ХТЗ значительно уступают материалам на основе ПЭК АЛГ-ХТЗ в связи с неконтролируемым распадом полимерной матрицы во влажной среде даже при нейтральном рН [11, 12], в то время как совместное применение АЛГ и ХТЗ в виде ПЭК обеспечивает формуемость материалов во влажном состоянии и дает синергетический эффект. Терапевтический результат двухкомпонентной системы в несколько раз выше суммарного воздействия тех же компонентов, работающих по отдельности [13].

Одним из основных направлений исследования при создании аэрогельных материалов является изучение возможности управления текстурными характеристиками материала. В частности, интерес вызывает использование в качестве порообразующих агентов специальных неорганических шаблонов или темплатов — инертных частиц, не растворимых в полимерной смеси, вокруг которых формируется полимерная матрица. Последующее удаление этих частиц из структуры полимерного материала приводит к появлению на их месте пустот, то есть пор [14]. Среди используемых в медицине неорганических частиц благодаря своей биоразлагаемости, биоинертности, биосовместимости, доступности и низкой стоимости наиболее часто используют карбонат кальция  $\text{CaCO}_3$  [15]. Известно, что  $\text{CaCO}_3$  существует в трех полиморфных модификациях (ватерит, кальцит и арагонит), различающихся между собой кристаллической структурой и свойствами. При этом наибольший интерес среди них представляют частицы ватерита, поскольку только они способны иметь сферическую форму, развитую поверхность и высокую пористость. Именно такие объекты удобно использовать в качестве темплата при создании высокопористых биополимерных композитов [16]. Кроме того, частицы  $\text{CaCO}_3$  могут служить источником ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , которые в составе лечебных покрытий обладают выраженными гемостатическими свойствами [17]. Микрочастицы  $\text{CaCO}_3$  обычно получают в ходе массовой кристаллизации из растворов. В зависимости от задач исследования в процессе синтеза за счет управления механизмом роста кристаллов можно регулировать физико-химические свойства частиц  $\text{CaCO}_3$ , которые в дальнейшем будут определять свойства полимерных материалов.

Большинство работ [18–20], посвященных созданию материалов, содержащих в качестве темплата  $\text{CaCO}_3$ , направлено на формирование полиэлектролитных оболочек и капсул методом послойной адсорбции полиэлектролитов. Лишь в отдельных исследованиях отмечено использование  $\text{CaCO}_3$  для создания гидрогелей и макропористых скаффолдов на основе АЛГ или ХТЗ [1, 21, 22]. Оценка влияния

формы частиц на пористую структуру композиционных аэрогелей (КАГ) на основе ПЭК АЛГ-ХТЗ, содержащих микрочастицы  $\text{CaCO}_3$ , до настоящего времени не проводилось. В связи с этим актуально исследование закономерностей формирования частиц  $\text{CaCO}_3$  в процессе кристаллизации и изучение влияния их структуры на текстурные характеристики аэрогельных материалов.

Цель настоящей работы — получение композиционного аэрогелевого материала на основе ПЭК АЛГ-ХТЗ и  $\text{CaCO}_3$ , оценка его физико-химических свойств и возможности использования в биомедицинских целях.

## МЕТОДИКА

В работе использовали альгинат натрия (АЛГ) (“Sigma-Aldrich”, США) с молекулярной массой (ММ) 100 кДа и хитозан (ХТЗ) с ММ 200 кДа, степенью деацетилирования (СД) 0.89 (ООО “Биопрогресс”, Россия). ММ биополимеров определены методом капиллярной вискозиметрии с расчетом по уравнениям Марка–Куна–Хаувинка для ХТЗ [23] и АЛГ [24]. СД определена методом кондуктометрического титрования [25]. ПЭК в виде гидрогелей получали смешиванием водного раствора АЛГ и уксуснокислого раствора ХТЗ с концентрацией 0.25% при эквимолярном соотношении компонентов. Расчет степени связывания полиэлектролитов в комплекс и мольного состава реакционной смеси проводили, как описано в работе [7]. Для получения КАГ на стадии формирования комплекса вводили микрочастицы карбоната кальция в количестве 10% от массы ПЭК.

Частицы  $\text{CaCO}_3$  получали смешиванием эквивалентных по объему 0.33 М водных растворов  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  и  $\text{CaCl}_2$  при непрерывном перемешивании в течение 60 с со скоростью 400–800 об./мин, после чего суспензию оставляли на 5–7 мин до полной кристаллизации. Полученные частицы  $\text{CaCO}_3$  трижды промывали деионизованной водой и ацетоном от не вступивших в реакцию ионов, после чего сушили в течение 1 ч при 60°C. Изображения частиц получали с помощью лабораторного микроскопа “AxioScope A1” (“Zeiss”, Германия) в комплекте с цифровой фотокамерой “Canon G10” (“Canon Inc.”, Япония). Размер частиц определяли, используя лицензионную программу “AxioVision LE Release 4.8.1”.

Для получения АГ без введения  $\text{CaCO}_3$  и КАГ, содержащих  $\text{CaCO}_3$ , синтезированный при разной скорости перемешивания  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  и  $\text{CaCl}_2$  водную фазу в структуре гидрогеля замещали ацетоном (99.5%, “ч.д.а.”), затем образцы сушили в токе сверхкритического  $\text{CO}_2$  при скорости потока 1 мл/мин, температуре 40°C и давлении 10 МПа на установке MV-10ASFE (“Waters”, США). Параметры пористой структуры материалов получены

методом низкотемпературной адсорбции азота (77.4 К) на анализаторе удельной поверхности ASAP 2020 MP (“Micromeritics”, США). Влагопоглощение материалов ( $q$ , г/г) изучали гравиметрическим методом в забуференном фосфатом физиологическом растворе при температуре 37°C [26].

Атранорин (АТ) выделяли из лишайников вида *Hypogymnia physodes* методом сверхкритической флюидной экстракции на установке MV-10ASFE (“Waters”, США). Измельченные талломы лишайника (~1.0 г) обрабатывали сверхкритическим CO<sub>2</sub> при скорости потока 2 мл/мин с добавлением в качестве сорботорителя этанола (2.5 г/мин), температуре 85°C и давлении 15 МПа в течение 80 мин.

Количество АТ в экстрактах определяли методом ВЭЖХ с использованием жидкостного хроматографа LCMS-2020 (“Shimadzu”, Япония) при спектрофотометрическом детектировании. Условия хроматографирования: подвижная фаза — 0.5%-ный водный раствор муравьиной кислоты: ацетонитрил (30 : 70); колонка RestekUltra C18 3.0 × 100 мм, зерно 3 мкм, скорость потока подвижной фазы 0.5 мл/мин, объем вводимой пробы 5 мкл. Для калибровки в качестве стандартного образца использовали АТ (“Sigma-Aldrich”, США). Введение АТ в матрицу КАГ проводили путем погружения материала в 40%-ный водно-спиртовой раствор АТ с последующим выдерживанием в течение 5 ч при 20°C.

Кинетику высвобождения АТ изучали в забуференном фосфатом физиологическом растворе при pH 7.4 и температуре 37°C. Количество высвободившегося АТ из материала определяли методом ВЭЖХ. Антимикробную активность АТ определяли диско-диффузионным методом. В качестве тест-культур использовали штаммы трех видов грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 и *Proteus mirabilis* ATCC3177. В качестве контроля использовались посеvy, содержащие только 40%-ный этиловый спирт и чистые тест-культуры [27].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На сегодняшний день существует множество подходов к синтезу частиц CaCO<sub>3</sub>, большая часть которых основана на осаждении плохо растворимых кристаллов CaCO<sub>3</sub> из реакционной смеси, содержащей ионы CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> и Ca<sup>2+</sup> [28]. Среди методов, в которых не используются экстремальные условия и сложное оборудование, широкое распространение получил метод синтеза CaCO<sub>3</sub>, заключающийся в непосредственном сливании эквимольных растворов CaCl<sub>2</sub> и Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. В момент смешения солей формируется аморфный CaCO<sub>3</sub>, который с течением времени агрегирует и формирует поликристаллические сферолиты — микрочастицы ватерита [29]. Большое влияние на дисперсность частиц

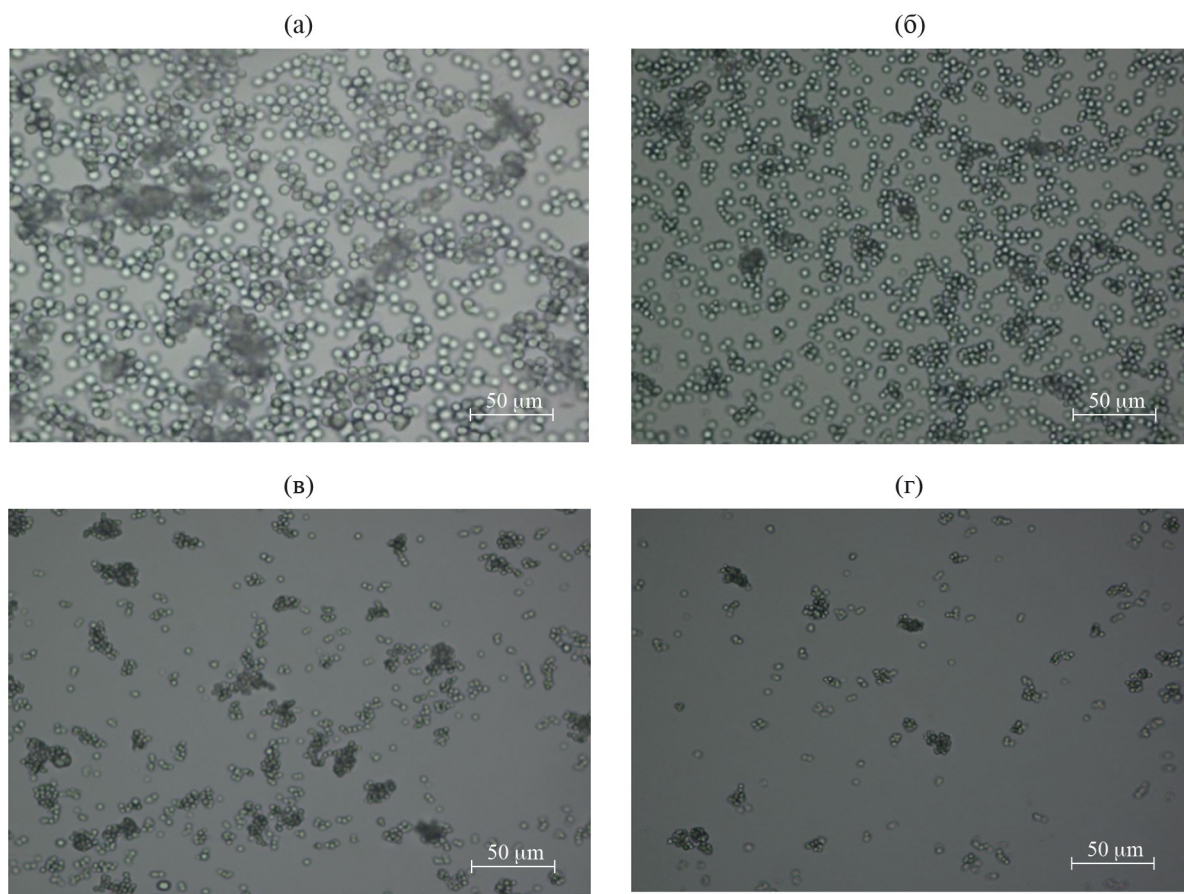
CaCO<sub>3</sub>, их размер и морфологию оказывают условия проведения процесса: концентрация реагентов, температура, интенсивность перемешивания реакционной смеси, его продолжительность.

Наиболее доступным и легко реализуемым способом управления механизмом роста кристаллов в процессе синтеза CaCO<sub>3</sub> является изменение интенсивности перемешивания прекурсоров — солей CaCl<sub>2</sub> и Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, поэтому в настоящей работе был рассмотрен этот параметр. Скорость перемешивания смеси солей CaCl<sub>2</sub> и Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> варьировали от 400 до 1000 об./мин. С целью определения размера, морфологии и полидисперсности образцов полученные частицы CaCO<sub>3</sub> были охарактеризованы с помощью конфокальной лазерной микроскопии (рис. 1).

Как показано на рис. 1, при низкой скорости перемешивания 400 об./мин формировались частицы правильной округлой формы, размером 2.9–3.3 мкм, при этом визуализировалось значительное количество агломератов. При скорости 600 об./мин округлая форма частиц сохранялась, однако снижался размер частиц (1.5–2.0 мкм) и количество их агломератов, частицы были довольно монодисперсны. Чем быстрее соли CaCl<sub>2</sub> и Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> гомогенно распределялись в рабочем объеме, тем больше образовывалось центров нуклеации, что приводило к увеличению числа растущих микрочастиц и, следовательно, уменьшению их среднего размера. Оба типа полученных частиц CaCO<sub>3</sub> представляли собой ватерит с мезопористой внутренней структурой (средний размер пор 20–60 нм). Округлая форма частиц была результатом высокой скорости столкновения наночастиц CaCO<sub>3</sub>. При высокой скорости перемешивания (800 об./мин) образовывалось большое количество кристаллов ромбоэдрической и сферолитной формы, при этом количество частиц значительно уменьшалась, их размер составлял 0.7–1.5 мкм. Дальнейшее увеличение скорости перемешивания до 1000 об./мин также приводило к снижению количества частиц при сохранении их размера 1.5 мкм, форма кристаллов ромбоэдрическая.

С увеличением скорости перемешивания от 400 до 1000 об./мин размер кристаллов уменьшался практически в 2 раза. Высокая скорость перемешивания (800–1000 об./мин) приводила к ориентации микрочастиц в потоке, в результате чего сокращалось время контакта кристаллов при столкновениях, что, по-видимому, снижало вероятность их срастания, а также возрастала скорость разрушения кристаллов и непорочных агломератов частиц CaCO<sub>3</sub> при столкновении друг с другом. Схожие результаты были получены в работах [30, 31].

Рассмотренный “механический фактор” имеет большое значение для дальнейшей практической реализации технологического режима массовой кристаллизации CaCO<sub>3</sub>, поскольку этот параметр является одним из немногих, при помощи которого



**Рис. 1.** Влияние скорости перемешивания солей  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  на форму и размер частиц  $\text{CaCO}_3$ : а — 400, б — 600, в — 800, г — 1000 об./мин.

можно легко изменять свойства синтезируемого продукта.

С целью получения КАГ на стадии синтеза ПЭК АЛГ-ХТЗ осуществляли введение микрочастиц  $\text{CaCO}_3$  в систему. Смешивание АЛГ и ХТЗ приводит к формированию кислой среды реакционной смеси. В этих условиях микрочастицы  $\text{CaCO}_3$  частично растворяются, что приводило к высвобождению ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , которые обеспечивали сшивку молекул АЛГ и ХТЗ с образованием хелатных комплексов, при этом одновременно происходило формирование ПЭК АЛГ-ХТЗ. Эти процессы характеризовались снижением межфазного поверхностного натяжения в коллоидной системе, укрупнением частиц комплексов и высвобождением значительной части иммобилизованной в структурной сетке дисперсионной среды (синерезис), что приводило к увеличению прочности геля вследствие образования дополнительных контактов между частицами или макромолекулами [14]. При этом объем геля уменьшается, однако сохраняется его первоначальная форма. Внешне отличий в процессе формирования гидрогелей с микрочастицами  $\text{CaCO}_3$ , синтезированными при различной

скорости перемешивания, не наблюдается; все гидрогели непрозрачные, белого цвета.

Полученные таким образом гидрогели сушили в среде сверхкритического диоксида углерода с предварительной последовательной заменой водной фазы в структуре гидрогеля на органическую (ацетон). В результате получено четыре образца КАГ с введением микрочастиц  $\text{CaCO}_3$ , синтезированных при различной скорости перемешивания: 400, 600, 800 и 1000 об./мин, обозначенных как КАГ400, КАГ600, КАГ800, КАГ1000 соответственно. Следует отметить, что все полученные КАГ приняли заданную форму и монолитность.

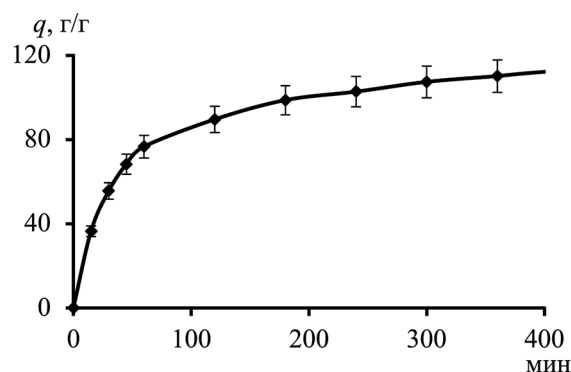
Текстульные характеристики КАГ, рассчитанные из изотерм адсорбции–десорбции азота, представлены в табл. 1. Все образцы характеризовались развитой мезопористой структурой и высокой удельной поверхностью 388–403  $\text{m}^2/\text{г}$ , при этом нет значительных различий в текстульных характеристиках материалов.

Полученные результаты позволили сделать вывод, что размер и форма микрочастиц  $\text{CaCO}_3$  не оказывали влияния на пористую структуру

полученных КАГ. Микрочастицы  $\text{CaCO}_3$  выступали в роли темплата и как источник ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , участвующих в формировании гидрогеля АЛГ-ХТЗ, в отличие от однокомпонентных систем на основе АЛГ или ХТЗ, где  $\text{CaCO}_3$  использовался для создания матриц (гидрогелей, скаффолдов) с контролируемыми размерами пор в диапазоне 5–50 мкм, соответствующими размеру микрочастиц  $\text{CaCO}_3$  [1, 21, 22]. Данный факт подтверждался результатами исследования текстурных характеристик АГ без введения микрочастиц  $\text{CaCO}_3$ , средний размер пор которого сопоставим с размером пор образцов КАГ, а площадь удельной поверхности и общий объем пор в 1.5 раза ниже. Можно предположить, что пористая структура зависит от прочности каркаса гидрогелевой сетки АЛГ-ХТЗ, которая значительно повышалась при введении  $\text{CaCO}_3$  в систему, что позволяло противостоять усадочным напряжениям материала в процессе сверхкритической сушки и роли  $\text{CaCO}_3$  как порообразователя.

Таким образом, при разработке технологии получения КАГ на стадии синтеза микрочастиц  $\text{CaCO}_3$  можно использовать рассмотренную в настоящей работе легко реализуемую и экологически чистую методику при низкой скорости перемешивания прекурсоров, не требующую дорогостоящего оборудования и химикатов, что будет способствовать удешевлению процесса производства материалов за счет сокращения энергозатрат.

Наиболее важными параметрами при оценке материалов, используемых для регенерации тканей и в системах доставки лекарственных средств, являются скорость и степень их влагопоглощения. Способность КАГ к влагопоглощению изучали весовым методом, в качестве модельной среды использовали забуференный фосфатом физиологический раствор с pH 7.4, моделирующий раневую среду. Ввиду одинаковых текстурных характеристик, кривые влагопоглощения всех 4 образцов КАГ практически совпадали, поэтому в работе приведены результаты влагопоглощающей способности на примере образца КАГ400. Поглощение среды КАГ обусловлено простым капиллярным всасыванием и раздвижением элементов структуры вследствие возникновения расклинивающего давления с последующим заполнением образовавшихся



**Рис. 2.** Кинетика поглощения дистиллированной воды композиционным аэрогелем на основе ПЭК АЛГ-ХТЗ с включением микрочастиц  $\text{CaCO}_3$ , синтезированных при скорости перемешивания солей  $\text{CaCl}_2$  и  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  400 об./мин.

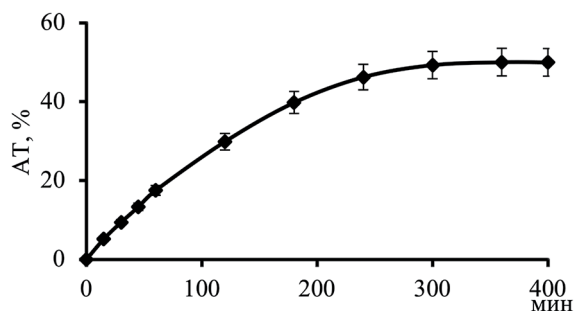
промежутков жидкой средой. Представленная на рис. 2 кривая влагопоглощения КАГ400 имеет вид, характерный для ограниченно набухающих систем, и свидетельствует о высокой скорости набухания КАГ. Отметим, что максимальное влагопоглощение достигает 110 г/г, что значительно выше, чем у аэрогельных материалов на основе АЛГ или ХТЗ (7–80 г/г), и позволяет отнести полученные материалы к суперадсорбентам [32, 33]. Достоинством полученных КАГ является формоустойчивость при влагопоглощении в широком диапазоне pH, что наряду с развитой пористой структурой и полиэлектролитной природой позволит использовать полученные КАГ в качестве аппликационных материалов.

Одной из самых общих и серьезных проблем в области разработки материалов биомедицинского назначения является опасность бактериальной инфекции. В связи с этим представляет интерес изучить возможность усиления бактерицидного действия материалов посредством включения в их состав биологически активного соединения растительного происхождения, проявляющего активность в отношении штаммов микроорганизмов, устойчивых к некоторым антибиотикам и синтетическим лекарственным препаратам. В качестве активного вещества в работе использовали атранорин

**Таблица 1.** Текстурные характеристики композиционных аэрогелей

Образец	$S_{уд}, \text{м}^2/\text{г}$		$V_{пор}, \text{см}^3/\text{г}$			$d_{cp}$ пор, нм
	общая	мезопор	общий	мезопор	микропор	
КАГ400	$388 \pm 19$	$352 \pm 17$	$1.90 \pm 0.09$	$1.74 \pm 0.08$	$0.12 \pm 0.01$	$24.6 \pm 2.0$
КАГ600	$400 \pm 20$	$323 \pm 16$	$1.93 \pm 0.09$	$1.83 \pm 0.09$	$0.14 \pm 0.01$	$21.3 \pm 2.1$
КАГ800	$403 \pm 20$	$367 \pm 18$	$1.82 \pm 0.08$	$1.65 \pm 0.08$	$0.13 \pm 0.01$	$22.5 \pm 2.5$
КАГ1000	$392 \pm 20$	$357 \pm 17$	$1.76 \pm 0.08$	$1.71 \pm 0.08$	$0.12 \pm 0.01$	$19.5 \pm 2.3$
АГ	$260 \pm 13$	$249 \pm 11$	$1.06 \pm 0.12$	$1.24 \pm 0.12$	$0.10 \pm 0.01$	$20.2 \pm 1.9$





**Рис. 3.** Высвобождение АТ из композиционного аэрогеля на основе ПЭК АЛГ-ХТЗ с включением микрочастиц СаСО<sub>3</sub>, синтезированных при скорости перемешивания солей СаСl<sub>2</sub> и Na<sub>2</sub>СО<sub>3</sub> 400 об./мин.

(АТ) — один из наиболее распространенных вторичных лишайниковых метаболитов, обладающий обезболивающим, противовоспалительным и антимикробным действием [34]. Поскольку предполагаемая область применения разрабатываемого материала — лечение ран, одной из задач исследования было определение антимикробной активности АТ по отношению к возбудителям раневых инфекций. В качестве тест-штаммов для определения антимикробной активности использовали три грамотрицательные бактерии *E. coli*, *P. aeruginosa* и *P. mirabilis*, которые считаются основными возбудителями раневых инфекций и характеризуются постоянно растущей устойчивостью к противомикробным препаратам. Результаты исследования антибактериальной активности АТ, выделенного из лишайника *Hypogymnia physodes*, представлены в табл. 2. При интерпретации результатов условно приняли, что диаметр задержки роста микроорганизма свыше 15 мм соответствует высокой активности, 10–15 мм — средней активности, 6–10 мм — низкой активности АТ.

Высокую антибактериальную активность АТ проявлял в отношении *P. mirabilis*, зона подавления роста микроорганизмов для которой достигала 20–28 мм. Минимальная ингибирующая концентрация АТ составляла 1.0 мг/мл, при этом выше данного значения для всех исследуемых культур

**Таблица 2.** Антимикробная активность АТ

Концентрация АТ, мг/мл	Зоны подавления роста, мм		
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>
0.1	0	0	0
0.5	0	0	0
1.0	14 ± 0.1	0	24 ± 0.1
4.0	12 ± 0.1	0	20 ± 0.1
5.0	12 ± 0.1	0	28 ± 0.1

микроорганизмов не наблюдалось зависимости антибактериальной активности от концентрации АТ. Средняя активность АТ наблюдалась по отношению к тест-культуре *E. coli* (12–14 мм), на рост *P. aeruginosa* АТ не оказывает никакого влияния. В качестве контроля был проведен анализ антибактериальной активности бумажных дисков, пропитанных 40%-ным раствором этанола без АТ, который не показал никакого антибактериального эффекта относительно исследуемых тест-культур, что вероятно обусловлено низким содержанием этилового спирта (40%), его диффузией и дальнейшим испарением при инкубации бумажных дисков с бактериальной культурой. Результаты исследования антимикробной активности АТ подтвердили перспективность его использования в качестве эффективного антимикробного компонента в составе раневого покрытия.

Введение АТ в матрицу КАГ400 проводили в статических условиях путем погружения материала в 40%-ный водно-этанольный раствор АТ с последующим выдерживанием в течение 5 ч при 20°C. Содержание АТ в матрице материала составило 5 мг/г. Как показано на рис. 3, высвобождение основного количества включенного АТ из матрицы аэрогелевого материала происходило в течение 4 ч. Максимальное высвобождение АТ составляло 50% от общего количества АТ, загруженного в матрицу материала, что обусловлено особенностями пористой структуры КАГ400 и высокой способностью к влагопоглощению.

\*\*\*

Таким образом, предложен способ получения композиционных аэрогелей на основе ПЭК АЛГ-ХТЗ с включением микрочастиц СаСО<sub>3</sub> и последующей сверхкритической сушкой. Изучено влияние условий синтеза микрочастиц СаСО<sub>3</sub> на их морфологию. Установлено, что текстурные характеристики материалов не зависят от формы микрочастиц СаСО<sub>3</sub>, которые выступают в качестве источника ионов Са<sup>2+</sup>, упрочняющих каркас гидрогеля, что позволяет противостоять усадочным напряжениям материала в процессе сушки и порообразователя. Все образцы характеризовались развитой мезопористой структурой и высокой удельной поверхностью 388–403 м<sup>2</sup>/г. Развитая пористая структура композиционных аэрогелей определила их высокую влагопоглощающую способность (до 110 г/г) и обеспечила медленное высвобождение антимикробного компонента (атранорина) в течение 4 ч. Совокупность полученных экспериментальных данных позволяет рекомендовать полученные композиционные аэрогели для дальнейшего изучения в качестве аппликационного материала, в том числе основы для создания высокоэффективных раневых покрытий.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ.** Исследования проведены при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-23-10021).

**СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ.** В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.** Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Щипунов Ю. А., Постнова И. В. // Коллоидный журнал. 2011. Т. 73. № 4. С. 555–564.
2. Кудряшова И. С., Марков П. А., Костромина Е. Ю., Еремин П. С., Рачин А. П., Гильмутдинова И. Р. // Вестник восстановительной медицины. 2021. Т. 20. № 6. С. 84–95.
3. Стабаева Г. С., Мусаев А. Т., Угланов Ж. Ш., Алдабергенов Е. Н., Кани А. Н., Курбатов А. В., Тажиев Т. С. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. Т. 10. С. 235–239.
4. Ogaji I. J., Nep E. I., Audu-Peter J. D. // Pharm. Anal. Acta 2012. V. 3. № 1. P. 1000146. <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000146>
5. Prajapati S. K., Jain A., Jain A., Jain S. // European Polymer Journal. 2019. V. 120. P. 109–191.
6. Gorshkova N., Brovko O., Palamarchuk I., Bogolitsyn K., Ivakhnov A., Bogdanovich N. et al. // J. Sol-Gel Science and Technology. 2020. V. 95. № 1. P. 101–108.
7. Brovko O. S., Palamarchuk I. A., Boitsova T. A., Bogolitsyn K. G., Valchuk N. A., Chukhchin D. G. // Macromolecular Research. 2015. V. 23. P. 1059–1067.
8. Valchuk N. A., Brovko O. S., Palamarchuk I. A., Boitsova T. A., Bogolitsyn K. G., Ivakhnov A. D. et al. // Russian Journal of Physical Chemistry B. 2019. V. 13. № 7. P. 1121–1124.
9. Gorshkova N. A., Brovko O. S., Palamarchuk I. A., Bogolitsyn K. G. // Appl. Biochem. Microbiol. 2022. V. 58. № 2. P. 110–117.
10. Кузнецова Т. А., Андрюков Б. Г., Беседнова Н. Н., Хотимченко Ю. С. // Биология моря. 2021. Т. 47. № 1. С. 3–12.
11. Andersen Th. // Carbohydrate Chemistry. 2012. V. 37. P. 227–258.
12. Smetana K. Jr. // Biomaterials. 1993. V. 14. P. 1046–1050.
13. Быканова О. Н., Максимова С. Н., Тарасенко Г. А. // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2009. № 1. С. 34–36.
14. Malgras V., Ji Q., Katachi Y., Mori T., Shieh F. K., Wu K. C. W., Yamauchi Y. // Bulletin of the Chemical Society of Japan. 2015. V. 88. P. 1171–1200.
15. Trushina D. B., Bukreeva T. V., Kovalchuk M. V., Antipina M. N. // Mater. Sci. Eng: C. 2014. V. 45. P. 644–658.
16. Trushina D. B., Borodina T. N., Belyakov S., Antipina M. N. // Materials Today Advances. 2022. V. 14. № 100214. <https://doi.org/10.1016/j.mtadv.2022.100214>
17. Марковчин А. А. // Современные проблемы науки и образования. 2014. Т. 6. С. 1437–1437.
18. Lengert E. V., Trushina D. B., Soldatov M., Ermakov A. V. // Pharmaceutics. 2022. V. 14. P. 139–146.
19. Wang X., Zhu K. X., Zhou H. M. // Int. J. Mol. Sci. 2011. V. 12. P. 3042–3054.
20. Wani S. U. D., Ali M., Mehdi S., Masoodi M. H., Zargar M. I., Shakeel F. // Int. J. Biol. Macromol. 2023. V. 22. № 125875. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125875>
21. Arpornmaeklong P., Jaiman N., Apinyauppatham K., Fuongfuchat A., Boonyuen S. // Polymers. 2023. V. 15. P. 416–425.
22. Sergeeva A., Vikulina A. S., Volodkin D. // Micromachines. 2019. V. 10. P. 357–362.
23. Pogodina N. V., Pavlov G. M., Bushin S. V., Mel'nikov A. B., Lysenko Y. B., Nud'ga L. A., Tsvetkov V. N. // Polymer Science USSR. 1986. V. 28. P. 251–259.
24. Holme H. K., Davidsen L., Kristiansen A., Smidsrod O. // Carbohydrate Polymer. 2008. V. 73. P. 656–664.
25. Raymond L., Morin F. G., Marchessault R. H. // Carbohydrate Research. 1993. V. 246. № 1. P. 331–336.
26. Nischwitz S. P., de Mattos I. B., Hofmann E., Groeber-Becker F., Funk M., Mohr G. J., Kamolz L. P. // Burns. 2019. V. 45. P. 1336–1341.
27. Семина Н. А., Сидоренко С. В., Резван С. П., Грудиница С. А., Страчунский Л. С., Стецюк О. У., Середя З. С. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2004. Т. 6. № 4. С. 306–359.
28. Fadia P., Tyagi S., Bhagat S., Nair A., Panchal P., Dave, H., Singh S. // Biotech. 2021. V. 11. P. 1–30.
29. Rieger J. // Faraday Discuss. 2007. V. 136. P. 265–272.
30. Yan F. W., Zhang S. F., Guo C. Y., Zhang X. H., Chen G. C., Yan F., Yuan G. Q. // Crystal Research and Technology: Journal of Experimental and Industrial Crystallography. 2009. V. 44. P. 725–728.
31. Linnikov O. D. // Russian Chemical Reviews. 2014. V. 83. P. 343–349.
32. Lu H., Jiang X., Wang J., Hu R. // Frontiers in Materials. 2022. V. 9. № 1093164.
33. Cai J., Chen X. // RSC advances. 2018. V. 8. № 69. P. 39463–39469.
34. Studzinska-Sroka E., Galanty A., Bylka W. // Mini Reviews in Medicinal Chemistry. 2017. V. 17. P. 1633–1645.

## Preparation of Antibacterial Composite Aerogel for Biomedical Purposes Based on Alginate-Chitosan Complex and Calcium Carbonate

N. A. Gorshkova<sup>a, \*</sup>, O. S. Brovko<sup>a</sup>, I. A. Palamarchuk<sup>a</sup>, A. D. Ivahnov<sup>a, b</sup>,  
N. I. Bogdanovich<sup>b</sup>, and T. Ya. Vorob'eva<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk, 163020 Russia*

<sup>b</sup>*Northern (Arctic) Federal University named after M. V. Lomonosov, Arkhangelsk, 163002 Russia*

*\*e-mail: nat.gorshkova@mail.ru*

Aerogel composites were synthesized on the basis of the sodium alginate-chitosan interpolymer complex with the inclusion of calcium carbonate microparticles and supercritical drying. It is shown that the textural characteristics of materials do not depend on the morphology of calcium carbonate particles: the specific surface area of aerogels is almost the same for all materials and amounts to 380–400 m<sup>2</sup>/g. The developed porous structure of composites along with the polyelectrolyte nature determines their high water absorption — up to 110 g/g. To impart antimicrobial properties, the materials were impregnated with atranorin isolated from the lichen *Hypogymnia physodes*, which has a pronounced inhibitory effect on the bacterium *Proteus mirabilis*, which is the main causative agent of wound infections. The minimum suppressive concentration of atranorine is 1 mg/ml. The release of the main amount of atranorine aerosol material included in the matrix occurs within 4 hours and amounts to 50%.

*Keywords:* chitosan, alginate, aerogel, wound coating, lichen, chitosan, *Hypogymnia physodes*, atranorine, drug delivery, antibacterial activity