



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

Семнадцатая международная конференция
Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана
(РосХит-2025)

Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского

ФИЦ Биотехнологии РАН

30 ИЮНЯ–4 ИЮЛЯ
2025





СБОРНИК ТЕЗИСОВ

**Семнадцатая международная конференция
Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана
(РосХит–2025)**

**Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского**

ФИЦ Биотехнологии РАН

**30 ИЮНЯ–4 ИЮЛЯ
2025**

УДК 577.114
ББК 24.73
М34

**М34 Материалы Семнадцатой международной конференции
«Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана»
(РосХит-2025) – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет,
2025. – 241 с.**

ISBN 978-5-91326-983-6

В материалах Семнадцатой международной конференции «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана» представлены наиболее перспективные направления фундаментальных и практических исследований хитозана, его производных и композиций на его основе. Большое внимание уделено медико-биологическим исследованиям, получению новых средств защиты растений, биологически-активных добавок. В материалах представлены исследования передовых ученых из России, Республики Беларусь, Узбекистана.

ISBN 978-5-91326-983-6

УДК 577.114
ББК 24.73

© Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕЗИСЫ ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ

Высокопористые системы культивирования клеток на основе хитозана и его производных для трехмерного моделирования опухолевых процессов и бактериальных инфекций имплантатов

Братская С.Ю., Борода А.В., Гончарук Р.А. 15

Масштабирование технологии производства криогеля карбоксиэтилхитозана, сшитого глутаровым альдегидом

Дранников А.А., Пронченко А.А., Дубовская П.И., Савенко М.Е.,
Веретенникова Е.А., Пестов А.В., Литвинова Е.А. 17

Сшивающие реагенты — регуляторы функциональных свойств биополимерных материалов на основе хитозана

Кильдеева Н.Р. 20

Новые полимераналогичные реакции хитозана

Критченков А.С. 23

Биосовместимые термопластичные материалы на основе блок-сополимеров хитозана и поли(ε-капролактона)

Леднев И.Р., Мальцева Е.А., Зайцев С.Д., Смирнова Л.А. 24

Мега- и Метанауки (Mega- and Metascience) в описании химических и биологических свойств хитозанов

Офицеров Е.Н. 26

Фотокаталитические свойства композиций на основе хитозана, содержащих наночастицы TiO₂ /Au (Ag, Cu)

Саломатина Е.В. 29

Межсетевое сотрудничество науки, бизнеса и практики в реализации проекта по развитию хитозановых технологий

Самоделкин А.Г. 31

ТЕЗИСЫ ОЧНЫХ УЧАСТНИКОВ

Твердофазный синтез вододиспергируемых систем на основе хитозана и оценка их антибактериальных свойств

Акопова Т.А., Попырина Т.Н., Альхаир А., Иванов П.Л., Кирш И.А. 33

Эффективность хитозан-меланинового комплекса из подмора мухи черная львинка в составе подкормки для медоносных пчел

Албулов А.И., Фролова М.А., Федоринова К.М., Храпова С.Н. 36

Оценка возможности контролируемого гидролиза хитозана с помощью бактериальной хитозаназы для получения хитоолигомеров разной молекулярной массы

Бойко Т.Ф., Актуганов Г.Э., Лопатин С.А., Мелентьев А.И., Галимзянова Н.Ф. 39

Разработка офтальмологических систем доставки кортикостероидов на основе функционализированных производных хитозана

Бокатый А.Н., Дубашинская Н.В., Скорик Ю.А. 42

Антимикробные криогели карбоксиметилхитозан-Zn(II)-ципрофлоксацин

Братская С.Ю., Борода А.В., Богомаз Т.Т., Привар Ю.О., Майорова М.А., Малышев Д.Д., Шиндина А.Д., Скатова А.В., Гончарук Р.А. 44

Оптимизация состава хитозановых гидрогелевых плёнок для ранозаживляющих покрытий с контролируемой доставкой лекарств

Власенко Н. С., Брюзгина Е.Б., Брюзгин Е.В. 45

Тройные сополимеры коллаген-хитозан-(мет)акриловый мономер - материал для разработки скаффолдов

Гущина К.С., Губарева К.С., Лобанова К.С., Вавилова А.С., Кузнецова Ю.Л., Семенычева Л.Л. 47

Криоструктурированный материал на основе сшитого ванилином хитозана для биомедицинского применения

Делич М., Буторова И.А., Артюхов А.А., Кусков А.Н. 50

Влияние покрытий из хитозана на морфологию и свойства гелей из альгината

Демина Т.С., Попырина Т.Н., Аксенова Н.А., Иванов П.Л., Минаев Н.В. 53

Хитозан как стабилизатор эмульсий Пикеринга

Деркач С.Р., Колотова Д.С., Кучина Ю.А. 55

Полиэлектролитные комплексы на основе полисахаридов для пероральной доставки колистина: повышение биодоступности и снижение токсичности

Дубашинская Н.В., Боровской А.Ю., Бокатый А.Н., Журавский С.Г., Скорик Ю.А. 58

Разработка новых антисептиков на основе хитозана для защиты произведений живописи от микробиологического поражения

Жгун А.А., Ермолюк А.А., Авданина Д.А., Бенько Е.Е., Башкирова К.Я., Шагдарова Б.Ц., Луньков А.П., Жуйкова Ю.В., Ильина А.В., Жгун Е.С., Ежова А.М., Лопатин С.А., Варламов В.П. 60

Дереворазрушающие грибы и лишайники как источники хитинсодержащих сорбционных материалов

Жильцов Д.В., Бровко О.С., Бойцова Т.А., Слобода А.А., Ивахнов А.Д. 63

Разработка смесевых материалов на основе хитозана и поли-3-оксибутирата, исследование их физико-химических свойств и биосовместимости *in vitro*

Жуйкова Ю.В., Жуйков В.А., Варламов В.П. 65

Мукозальные вакцины для аквакультуры на основе наночастиц хитозана: пилотный эксперимент на рыбах *Danio rerio*

Зубарева А.А., Вылка М.М., Свирщевская Е.В., Воденникова А.А., Окара П.С., Скорик Ю.А. 67

Привитая полимеризация акриламида и винилпирролидона на хитозан

Зуев Д.Н., Комолова Е.А., Апрятина К.В., Зайцев С.Д., Смирнова Л.А. 69

3D композиты на основе хитозана и коллагена

Качалова А.И., Апратина К.В., Смирнова Л.А., Ковылин Р.С. 71

Получение высокопористых материалов на основе хитозана и крахмала

Качалова Е.А., Крохина Е.А., Апратина К.В., Смирнова Л.А. 74

Перспективы применения гемостатического геля на основе лактата хитозана для остановки продолжающихся внутрибрюшных кровотечений

Ковалевский А.Я., Демченко К.Н., Ковалевский Я.Б., Носов А.М.,
Бавин Д.В., Коровин В.А., Воронин С.Е., Волкова М.В. 77

Взаимодействие липосомальных форм левофлоксацина с легочным сурфактантом

Колмогоров И.М., Ле-Дейген И.М., Григорян И.В., Тимошенко В.А. 79

Биогели как носители для сохранности и доставки в желудочно-кишечный тракт животных и человека пробиотических бактериальных комплексов

Корель А.В., Макушева Ю.С., Арипова Ф.К., Литвинова Е.А. 82

Механическая обработка как фактор, влияющий на гетерогенное деацетилирование α - и β -хитина

Кусков Т.Е., Подгорбунских Е.М., Бухтояров В.А., Бычков А.Л. 85

Синтез и исследование гемостатических свойств N-замещенных производных хитозана

Луньков А.П., Дрозд Н.Н., Шагдарова Б.Ц., Овсепян Р.А., Свешникова А.Н.,
Жуйкова Ю.В., Ильина А.В., Варламов В.П. 88

Формирование *in situ* органо-неорганических глицерогидрогелей на основе смеси глюкоманнана с хитозаном

Малинкина О.Н., Приданкина Д.В., Астанкова А.С., Шиповская А.Б. 91

Биоразлагаемые пленочные материалы на основе хитозана и крахмала с нано-TiO₂ для упаковки пищевых продуктов с пролонгированным сроком хранения

Масленникова М.С., Саломатина Е.В., Смирнова О.Н., Смирнова Л.А. 93

Хитинолитические ферменты гепатопанкреаса камчатского краба и краба-стригуна опилио

Новиков В.Ю., Рысакова К.С., Мухортова А.М., Деркач С.Р., Мухин В.А. 95

Влияние катионов щелочных металлов на реакцию деацетилирования хитина в концентрированном растворе щелочи

Новиков В.Ю., Коновалова И.Н., Долгопятова Н.В., Паукшта О.И. 98

Влияние хитозана на силу адгезии пектиновых гелей к серозной оболочке

Падерин Н.М., Попов С.В. 101

Плётки хитозана, нагруженные комплексом 2-гидроксипропил-β-циклодекстрина и β-кариофиллена, для биомедицинского применения

Розанов Ф.М., Скуредина А.А., Попырина Т.Н., Ле-Дейген И.М. 103

Сравнительная характеристика бактерицидного эффекта *in vitro* для различных антисептиков в ходе их высвобождения из раневых повязок на основе карбоксиэтилхитозана

Самохин А.Г., Гончарова Е.П., Саейди А., Дранников А.А., Корель А.В., Бец В.Д., Ткаченко В.О., Пестов А.В., Землякова Е.О., Литвинова Е.А. 105

Рациональный дизайн и оптимизация свойств 3D матриц на основе хитозана для биомедицинских применений

Смирнова Н.В., Колбе К.А., Шабарова Е.К., Кодолова-Чухонцева В.В., Юдин В.Е. 108

Биоразлагаемые материалы на основе хитозана, модифицированные нано-TiO₂, в качестве фотоактивной упаковки с антибактериальными свойствами

Сундарева Ю.А., Думина И.С., Саломатина Е.В., Смирнова О.Н., Смирнова Л.А. 111

Оценка способности хитозана и N-сукцинил хитозана корректировать метаболические изменения, вызванные пероральным введением оланзапина у мышей

Шагдарова Б.Ц., Варламов В.П., Свирцевская Е.В. 114

Влияние размера частиц хитинсодержащего сырья на скорость выделения хитина с использованием УЗ-обработки

Шилкова А.А., Попырина Т.Н., Аксенова Н.А., Демина Т.С. 116

О перспективах применения наноструктурированного аспарагината хитозана в высокотехнологичном растениеводстве

Шиповская А.Б., Ткаченко О.В., Позднякова Н.Н., Хонина Т.Г., Шипенок К.М., Ушакова О.С., Денисова А.Ю., Каргаполова К.Ю., Сунгурцева И.Ю., Щербакова Е.В. 118

Влияние нанокомпозитов хитозан-серебро и *Bacillus subtilis* на защитные реакции растений картофеля при инфицировании *Phytophthora infestans* и засухе

Яруллина Л.Г., Черепанова Е.А., Бурханова Г.Ф., Заикина Е.А., Цветков В.О., Сорокань А.В., Марданшин И.С., Фаткуллин И.Я., Пустовая А.Д., Калацкая Ж.Н., Гилевская К.С. 121

ТЕЗИСЫ ЗАОЧНЫХ УЧАСТНИКОВ

**Изменения структуры и термических характеристик при превращениях:
хитин - хитозан - сульфат хитозана**

Абдуразаков М., Рахманова В.Н., Гуламжанов Х.А., Рашидова С.Ш. 124

Получение хитозана из тонкопалого ракообразного *Pontastacus leptodactylus*

Абдурасулов А.Т., Вохидова Н.Р., Худойбердиев Ш.Ш., Рашидова С.Ш. 127

Хитозан из личинок *Tenebrio molitor* и его биологические свойства

Авазова О.Б., Рашидова С.Ш., Милушева Р.Ю., Хужамшукуров Н.А.,
Отажонов А.Ш. 129

**Гидрофобность клеток фитопатогенных микромицетов родов
Alternaria, *Bipolaris* и *Fusarium* может определять их различную
чувствительность к олигомерам хитозана**

Актуганов Г.Э., Мелентьев А.И., Бойко Т.Ф., Галимзянова Н.Ф. 132

**Использование производных хитина при получения пленочных
покрытий для герметизированных объёмов обитаемых отсеков
космических аппаратов**

Алехова Т.А., Загустина Н.А., Башаров А.А. 135

**Эффективность применения препарата Юнигель Плантум при
выращивании листового салата**

Арипова Ф.К., Гончарова Е.П., Плотников К.О., Корель А.В.,
Литвинова Е.А. 138

**Получение и исследование некоторых свойств материалов на основе
поликапролактона, хитозана и хитина**

Бакирова Э.Р., Сунаргулов А.Б., Кулиш Е.И. 141

**Биосовместимые композиции на основе блок-сополимеров хитозан-
коллаген, допированные наночастицами серебра**

Бобрынина Е.А., Качалова А.И., Апрятина К.В., Черкасова Е.И.,
Смирнова О.Н., Смирнова Л.А., Зайцев С.Д. 143

Устранение костного дефекта в челюстно-лицевой области с использованием модифицированного хитозана в условиях субкомпенсированного сахарного диабета I типа	
<i>Большаков И.Н., Патлатая Н.Н.</i>	145
Системы доставки колистина на основе полиэлектролитных комплексов полисахаридов с функционализацией витамином B12 и железом	
<i>Боровской А.Ю., Дубашинская Н.В., Скорик Ю.А.</i>	148
Хитозановые комплексы - перспективная кормовая добавка для цыплят-бройлеров	
<i>Буяров В.С., Комоликова И.В., Буяров А.В., Ляхова В.В.</i>	150
Перспективы применения материалов на основе хитин-глюканового комплекса высших грибов	
<i>Винокуров В.А., Грачёв А.А., Величко А.В., Абдрашитов Р.Б., Кулапин А.Л.</i>	153
Влияние хитозанового комплекса в комбикормах на мясные качества бройлеров	
<i>Галкин В.А., Воробьева Н.В., Самоделкин А.Г., Фролов В.Г., Тихонова Н.И.</i>	155
Получение и биологические свойства O,N-(2-сульфоэтил)-хитозана	
<i>Горностаев Л.М., Фоминых О.И., Большаков И.Н., Шиндякин Д.В.</i>	157
Теплофизические свойства сополимеров хитозана с полилактидом	
<i>Горюнова П.Е., Маркин А.В., Леднев И.Р., Смирнова Л.А., Зайцев С.Д.</i>	159
Хитиназы и хитиназа-подобные белки во взаимоотношениях корней гороха с почвенными микроорганизмами	
<i>Егорова А.М., Шаймуллина Г.Х., Тарчевский И.А.</i>	160
Модулятор ферментативного лизиса бактериальных клеточных стенок на основе хитозана для извлечения ДНК	
<i>Жасем К., Хайруллин Р.З., Куликов С.Н.</i>	163
Влияние койевой кислоты и хитозана на индуцирующую активность штаммов <i>Bacillus subtilis</i>	

Краснобаева И.Л., Новикова И.И., Попова Э.В., Коваленко Н.М.	165
Сравнительное изучение эффективности иммуностимулирующих свойств хитозана и масляных адъювантов	
Красочко П.А., Красочко В.П., Албулов А.И., Фролова М.А., Гринь А.В.	167
Использование хитозана сукцината при лиофильной сушке инактивированной вакцины	
Красочко П.А., Красочко В.П., Албулов А.И., Фролова М.А., Гринь А.В., Федоринова К.М.	170
Перспективность применения пектина и хитозана в качестве сорбентов для осветления виноматериалов	
Крыласов Д.А., Ячкова В.А., Баракова Н.В., Няникова Г.Г.	173
Сравнительная характеристика хитозана из панциря краба и тутового шелкопряда как добавки в пищевые продукты	
Максимова С.Н., Суровцева Е.В., Корниенко Н.Л.	175
Формирование <i>in situ</i> органо-неорганических глицерогидрогелей на основе смеси глюкоманнана с хитозаном	
Малинкина О.Н., Приданкина Д.В., Астанкова А.С., Шиповская А.Б.	178
Электроспиннинг нановолокон хитозана с антимикробными свойствами	
Милушева Р.Ю., Нургалиев И.Н., Ахымбетова Г.Д., Шахобутдинов С., Рашидова С.Ш.	180
Конъюгаты преднизолона на основе хитозана для локальной терапии воспалений внутреннего уха	
Новикова В.П., Дубашинская Н.В., Скорик Ю.А.	183
Эффективность применения лабораторных образцов биопрепаратов на основе штаммов <i>Bacillus subtilis</i>, <i>Trichoderma asperellum</i> T-36, салицилата хитозана при возделывании мягкой пшеницы	
Новикова И.И., Попова Э.В., Колесников Л.Е., Краснобаева И.Л., Колесникова Ю.Р., Хигерович Л.А., Радишевский Д.Ю., Шевцов М.В.	185

In silico исследование молекулярного докинга некоторых производных хитозана с белками грамположительных и грамотрицательных бактерий

Нургалиев И.Н., Абилкасимов А.Б., Рашидова С.Ш. 187

Синтез и противомикробные свойства наноаскорбата хитозана *Bombux mori* с ионами алюминия

Пирниязов К.К., Асракулова Д.И., Рашидова С.Ш. 190

Получение и противомикробные свойства полимерной препаративной формы наноаскорбата хитозана *Bombux mori*

Пирниязов К.К., Абдурасулов А.Т., Асракулова Д.И., Рашидова С.Ш. 193

Влияние хитозана и наночастиц хитозана на устойчивость растений пшеницы к темно-бурой пятнистости

Попова Э.В., Домнина Н.С., Новикова И.И., Коваленко Н.М., Краснобаева И.Л. 196

Пленки из хитозана наполненные наночастицами из комплексов хитозана с сульфатом декстрана

Попырина Т.Н., Альхаир А., Гончарук Г.П., Аксенова Н.А., Иванов П.Л., Аكوпова Т.А. 198

Стабильность сульфата хитозана *Bombux mori* и его токсичность

Рахманова В.Н., Милушева Р.Ю., Рашидова С.Ш. 201

Регулирование реологических свойств композиций для окрашивания волос с использованием хитозана

Сажнев Н.А., Молькова А.С., Солнцева И.Ю., Путина Н.В., Кильдеева Н.Р. 204

Роль хитиназ в динамической системе ризосферы

Тарчевский И.А., Егорова А.М. 207

Мукоадгезивные биополимерные системы на основе хитина и фукоидана для усиленной терапии бактериального вагиноза

Устюхина И.С., Дубашинская Н.В., Петрова В.А., Скорик Ю.А. 208

Изучение морфологии трехкомпонентных интерполиэлектrolитных комплексов	
<i>Худойбердиев Ш.Ш., Вохидова Н.Р., Рашидова С.Ш.</i>	210
Трехкомпонентные интерполиэлектrolитные комплексы хитозана <i>Вотбух тоғи</i> и морфология их пленок	
<i>Худойбердиев Ш.Ш., Вохидова Н.Р., Рашидова С.Ш.</i>	212
Корреляция между энтальпией сгорания и образования блок-сополимера хитозана с метилакрилатом и его составом	
<i>Чупрова С.В., Ларина В.Н., Кокурина Н.Ю., Смирнова Л.А., Мочалова А.Е., Урьяш В.Ф.</i>	215
Сравнительный анализ колебательных спектров хитозана и нанохитозана	
<i>Шахабутдинов С.Ш., Ашуров Н.Ш., Югай С.М., Атаханов А.А., Рашидова С.Ш.</i>	218
Влияние рецепторной среды на скорость высвобождения лекарственных препаратов из жидких лекарственных форм на основе сукцината хитозана	
<i>Шуршина А.С., Чернова В.В., Кулиш Е.И.</i>	221
О получении хитозанстабилизированных наночастиц марганца и их характеристики	
<i>Эргашев К.Х., Вохидова Н.Р., Рашидова С.Ш.</i>	223
Лечение эктромелии амфифильной высокополимерной дрожжевой РНК, упакованной в наноразмерные хитозановые капсулы, <i>per'os</i>	
<i>Ямковая Т.В., Ямковая Н.В., Апрятина К.В., Ямковой В.И.</i>	226
Эффективность применения хитозана и глиоксаля для предпосевной обработки семян мягкой пшеницы в Северо-Западном регионе РФ	
<i>Фокина М.И., Успенская М.В., Колесников Л.Е., Фатеев А.Д., Колесникова Ю.Р., Радишевский Д.Ю.</i>	228

Exploring the influence of polymer concentration on the surface morphology and gel fraction of chitosan-based hydrogel for use in tissue regeneration

Elangwe C.N , Uspenskaya M.V., Olekhnovich R.O. 231

Synthesis of chitosan-caffeine nanocomplexes and their chemical interactions

Ergasheva K.A., Vokhidova N.R. 232

Synthesis of interpolyelectrolyte complexes based on *Bombyx mori* chitosan and β -d-cyclodextrin

Jakhonkulova Z.V., Vokhidova N.R. 234

Synthesis of chitosan-stabilized silver nanoparticles under «in situ» and «ex-situ» conditions and their biological applications

Kodirkhonov M.R., Vokhidova N.R., Rashidova S.Sh., Kadir Khanov J.M., Abdullayev N.J. 235

Nanocapsules based on N-succinyl chitosan from *Bombyx mori* with fungicidal properties against *Fusarium oxysporum*

Vokhidova N.R., Mamasoliyev U.M., Asrakulova D., Yiyang Jiang, Hongguo Xie, Heng Yin 238

УДК 577.114: 579.61

ВЫСОКОПОРИСТЫЕ СИСТЕМЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ ДЛЯ ТРЕХМЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССОВ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ ИМПЛАНТАТОВ

Братская С.Ю.^{1,2}, Борода А.В.³, Р.А. Гончарук Р.А.¹

¹ Школа медицины и наук о жизни, Дальневосточный федеральный университет
690922, Россия г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10

² Институт химии Дальневосточного отделения Российской академии наук
690022, Россия, г. Владивосток, пр. 100-летия Владивостока, 159

³ «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского»
Дальневосточного отделения Российской академии наук
690041, Россия, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17

В связи с тем, что фармакологические тесты на живых животных являются дорогостоящими и этически спорными, там, где возможно, они заменяются исследованиями *in vitro* на культурах клеток. Однако уже доказано, что результаты, полученные *in vitro* на классических двумерных культурах клеток слишком часто не находят подтверждения в клинических испытаниях, что удлинняет и удорожает процесс разработки и внедрения новых лекарственных средств и комбинированных методов терапии. Разработка материалов для 3D культивирования клеток наиболее актуальна для моделирования опухолевых тканей, тканевой инженерии в регенеративной медицине, создания искусственных органов, включающих одновременно нескольких типов клеток. Перспективными трехмерными клеточными структурами, наиболее приближенными к реальным опухолевым тканям, являются многоклеточные опухолевые сфероиды, выращенные в полимерных матрицах (гидрогелях, криогелях, полипропиленовых и волокнистых скафолдах).

Материалы для трехмерного культивирования клеток представляют интерес не только для получения моделей опухолевых процессов для *in vitro* исследования клеточных азимодействий и скрининга фармакологической активности, но и для разработки 3D моделей инфекций. В докладе рассматриваются общие подходы к получению супермакропористых материалов (криогелей) на основе хитозана и карбоксиметилхитозана (КМХ) с использованием в качестве сшивающих агентов диглицидиловых эфиров с разной длиной цепи, что позволяет настраивать механические свойства и пористую структуру материалов. На примере исследования динамики роста клеток линии НСТ 116 (колоректальная карцинома человека) и НЕК-293Т (эмбриональные клетки почки человека) в криогелях хитозана и КМХ с применением методов оптической и лазерной конфокальной микроскопии и проточной цитометрии показано, что выбор полимера, сшивающего агента и степени сшивки оказывает заметное влияние на морфологию формирующихся в криогелях клеточных агрегатов.

Проведенные исследования адгезии и колонизации бактерий на поверхности разработанных материалов подтвердили, что их можно использовать для моделирования инфекций биоимплантатов и сокультивирования клеток человека и бактерий, в условиях,



когда биопленка либо не образуется длительное время, что позволяет оценивать действие токсинов микроорганизмов на 3D структуры клеток человека; либо, когда биоимплант покрывается биопленкой и разрушается под действием микроорганизмов, что позволяет тестировать эффективность различных антимикробных стратегий применительно к инфекциям, ассоциированным с биоимплантатами.

УДК 54.057

МАСШТАБИРОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА КРИОГЕЛЯ КАРБОСКИЭТИЛХИТОЗАНА, СШИТОГО ГЛУТАРОВЫМ АЛЬДЕГИДОМ

*Дранников А.А.^{1,2}, Пронченко А.А.¹, Дубовская П.И.¹, Савенко М.Е.¹,
Веретенникова Е.А.³, Пестов А.В.³, Литвинова Е.А.¹*

¹ ФГБОУ ВО Новосибирский государственный технический университет
630073, Россия, г. Новосибирск, пр-т К. Маркса, 20

² ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, проспект Ленина, 30

³ ФГБУН «Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения
Российской академии наук»
620137, Россия, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской, 22/20

Ареал применения материалов на основе хитозана устойчиво расширяется, охватывая области от сельского хозяйства до медицины и фармацевтики [1]. В то же время чувствительность данного биополимера к условиям кислотности среды ограничивает их применение щелочных и нейтральных средах [2]. Для преодоления данных барьеров развивается направление модификации хитозана, включающее химическую модификацию хитозана и/или сшивку. Улучшение растворимости успешно осуществляют, модифицируя хитозан путем введения таких функциональных групп, как карбоксиметил-, сульфэтил- или четвертичных аммониевых групп [3]. Производные хитозана с замещенными функциональными группами проявляют более высокую бактерицидную, фунгицидную активность, антиоксидантные свойства, противоопухолевой эффект, а также обладают полезными свойствами для таргетной доставки действующих веществ или селективной адсорбции токсинов и загрязнителей [4].

В рамках настоящей работы нами проводилось масштабирование технологии производства криогеля N-карбоксиэтилхитозана (N-КЭХ), сшитого глутаровым альдегидом, реализованного по следующей схеме (рис. 1). В качестве исходного сырья использовали пищевой хитозан производства ООО «Хитополимер». Структуру полученных биополимеров подтверждали методами ИК-спектроскопии («Spectrum One», Perkin Elmer, США), степень функционализации определяли с применением элементного анализа («PE 2400», Perkin Elmer, США), дополнительно исследовали морфологию с применением сканирующей электронной микроскопии (EVO50, Zeiss, Германия), набухание и пористость полученных образцов.

В контексте масштабирования было проведено исследование температуры и времени протекания реакции на степень функционализации N-КЭХ, в результате чего установлено, что с ростом температуры протекания реакции с 50°C до 70°C и времени полимеризации с 24 ч до 72 ч, степень функционализации увеличивалась с $1,00 \pm 0,05$ до $1,30 \pm 0,05$. Также выявлено несколько особенностей в технологическом процессе, а именно: необходимость порционной загрузки хитозана для равномерного набухания и протекания реакции, необходимость увеличения мощности мешалки и использования насадки-миксера для более интенсивного перемешивания, необходимость формирования

слоя определенной толщины реакционной гелевой массы для равномерного протекания реакции и толщины слоя для сушки биополимера после промывки.

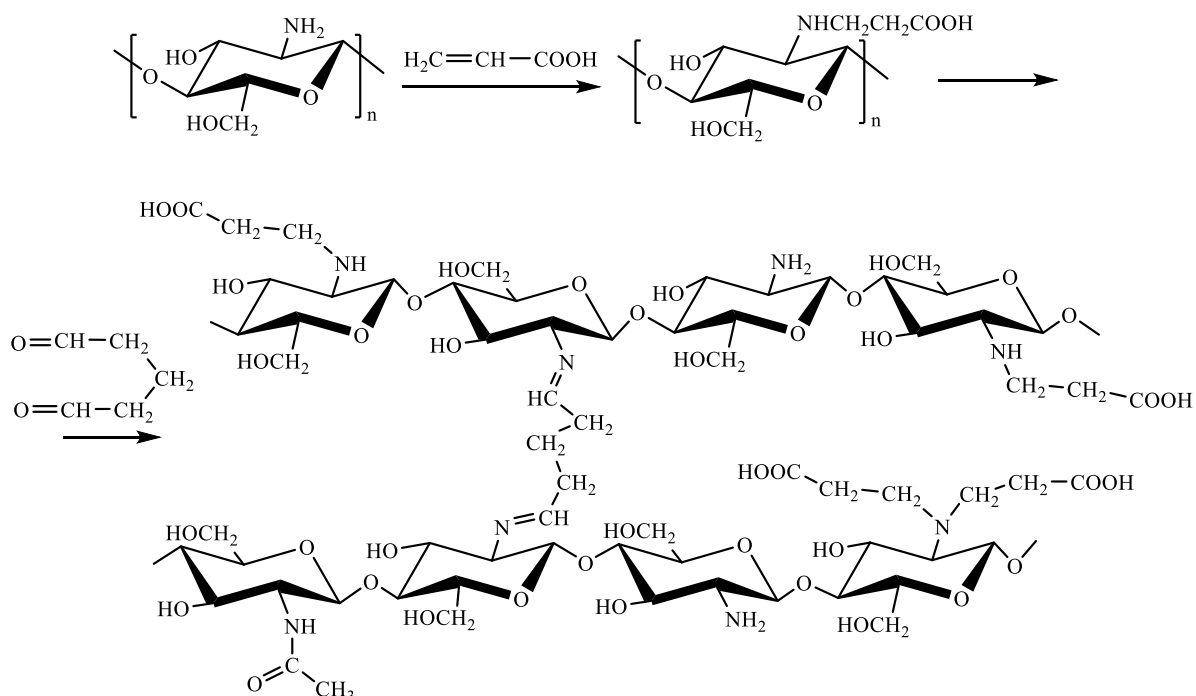


Рис. 1. Схема получения криогеля N-КЭХ, сшитого глутаровым альдегидом

При этом в ряду увеличения степени функционализации снижалась скорость протекания реакции сшивки N-КЭХ глутаровым альдегидом, что связано с собственными межмолекулярными взаимодействиями N-КЭХ по следующему механизму (рис. 2).

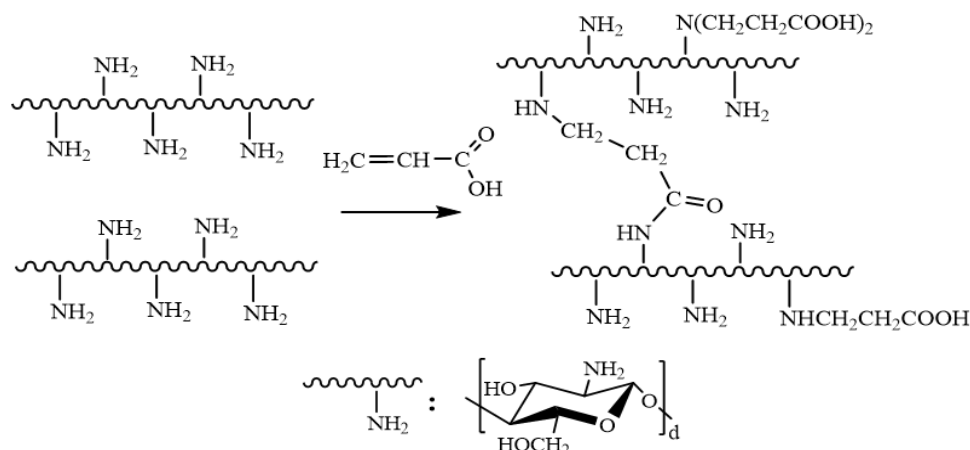


Рис. 2. Межмолекулярное взаимодействие молекул N-КЭХ

При этом при масштабировании процесс сшивки N-КЭХ в значительно меньшей степени отличался от лабораторного процесса, а длительная выдержка полученных гелей при температуре -19°C нивелировало влияние объема реакционной массы на ее протекание. В то же время было обнаружено, что с ростом времени криообработки от 1 до 5 дней, пористость образцов увеличивалась с $20 \pm 2\%$ до $50 \pm 2\%$, а набухание – с

400±20 % до 600±20 %, что связано с более полным формированием полимерной сетки вследствие сшивки.

В целом, процесс карбоксиалкилирования хитозана и его дальнейшей сшивки глутаровым альдегидом показал себя воспроизводимым и устойчивым. Несмотря на общий механизм протекания химической реакции в разном масштабе, в случае производства 1 кг криогеля были выявлены технологические аспекты, являющиеся критическими для процесса. Полученные данные служат отправной точкой для последующего масштабирования до размеров партии 10 и 25 кг.

Исследование выполнено в рамках стратегического технологического проекта «Новые инженерные решения и искусственный интеллект для МедБиоПррома» программы «Приоритет 2030».

Список литературы

1. Azmana, M, Mahmood, S, Hilles, A R, Rahman, A, Arifin, M A B, & Ahmed, S (2021) A review on chitosan and chitosan-based bionanocomposites: Promising material for combatting global issues and its applications International Journal of Biological Macromolecules, 185, 832–848 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.023>
2. Lavanya, K, Chandran, S V, Balagangadharan, K, & Selvamurugan, N (2020) Temperature- and pH-responsive chitosan-based injectable hydrogels for bone tissue engineering Materials Science & Engineering C, Materials for Biological Applications, 111(110862), 110862 <https://doi.org/10.1016/j.jmse.2020.110862>
3. Suryani, S, Chaerunisaa, A, Joni, I M, Ruslin, R, Aspadiah, V, Anton, A, Sartinah, A, & Ramadhan, L O A (2024) The chemical modification to improve solubility of chitosan and its derivatives application, preparation method, toxicity as a nanoparticles Nanotechnology, Science and Applications, 17, 41–57 <https://doi.org/10.2147/nsas.450026>
4. Fatima, M, Mir, S, Ali, M, Hassan, S, Ul Haq Khan, Z, & Waqar, K (2024) Synthesis and applications of chitosan derivatives in food preservation-A review European Polymer Journal, 216(113242), 113242 <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2024.113242>

УДК 544.773.432:577.11

СШИВАЮЩИЕ РЕАГЕНТЫ – РЕГУЛЯТОРЫ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ БИОПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА

Кильдеева Н.Р.

ФГБОУ ВО «Российский государственный университет им. А.Н. Косыгина
(Технологии. Дизайн. Искусство)»

117997, Россия, г. Москва, ул. Садовническая, 33, стр. 1

Гидрогели на основе сшитого хитозана обеспечивают структурную целостность формируемых конструкций, контролируют доставку лекарств и ферментов, поддерживают адгезию и функциональную активность клеточных культур. В основе процесса гелеобразования в растворах полисахаридов лежат механизмы, вызывающие формирование стабильной или термообратимой трехмерной сетки, причем характер и число узлов сетки зацеплений определяет реологические и механические свойства геля. Число публикаций, посвященных разработке и изучению гидрогелевых материалов на основе хитозана, полученных с использованием сшивающих реагентов неуклонно растет. При этом сшивающий реагент обеспечивает получение стабильных, не растворимых в воде трехмерных матриц для тканевой инженерии, сорбентов, гидрогелевых носителей металлических катализаторов, биологически активных соединений, ферментов, клеток, и других материалов. Изменение степени сшивки путем варьирования условий процесса (концентрации сшивающего реагента, pH и температуры реакционной среды) позволяет регулировать и оптимизировать свойства получаемых материалов.

В докладе проанализировано влияние природы сшивающих реагентов, их строения, условий гелеобразования в растворах хитозана и других аминокислотсодержащих полимеров, а также суммированы собственные данные автора и его коллег по изучению механизмов взаимодействия разных типов сшивающих реагентов с аминокислотными группами хитозана и процессов структурообразования в его растворах. На основании исследований процесса получения биополимерных материалов на основе хитозана с использованием сшивающих реагентов ковалентного или ионного типа обоснован выбор сшивающих реагентов для применения в технологии получения на основе гидрогелей хитозана материалов медико-биологического назначения с заданным уровнем функциональных свойств: наночастиц, лекарственно-наполненных пленок и пористых гидрогелевых материалов с высокой влагоудерживающей способностью.

На примере полифосфатов: триполифосфата и пирофосфата показано, что электростатические взаимодействия не позволяют без специальных приемов проводить сшивку в объеме раствора в условиях, не приводящих к фазовому разделению, однако эти соединения могут быть с успехом использованы для получения наночастиц и поверхностной модификации пленок. Таким образом, основной недостаток ионных сшивающих реагентов связан с высокой скоростью образования ионных связей. Это создает необходимость применения специальных приемов при проведении сшивки, особенно, если речь идет о получении гидрогеля. Использование же ковалентных сшивающих реагентов может устранить эти ограничения. Ковалентная сшивка позволяет простым варьированием состава гелеобразующей композиции и условий сшивки изменять длительность процесса, предшествующего гелеобразованию в системе, что является важным условием завершения технологических операций по получению

материалов разной физической формы. Анализ литературных данных показал, что для химической сшивки хитозана используют большое число ковалентных сшивающих реагентов: глутаровый альдегид (GA), генипин (Gr), глиоксаль, окисленные декстран, циклодекстрин, этиленгликольдиглицероловый эфир, диизоцианат и формальдегид. Выбор сшивающего реагента обусловлен назначением и функциональными свойствами разрабатываемого материала.

С целью получения биосовместимых пленок и матриц для тканевой инженерии на основе хитозана, были выявлены особенности процесса сшивки хитозана Gr в сравнении с другими сшивающими реагентами и исследован процесс гелеобразования в его растворах. Время начала гелеобразования при использовании эквимольных количеств Gr и GA различались на порядок. Практически все реакции сшивки хитозана протекают по механизму нуклеофильного присоединения, и протонирование аминогрупп фактически ингибирует этот процесс. С другой стороны – именно протонирование способствует растворимости хитозана в воде. В совокупности эти факторы определяют драматический характер влияния pH на закономерности процесса сшивки хитозана самыми разными сшивающими реагентами: диальдегидами, генипином, диэпоксисоединениями и др. Увеличение pH раствора хитозана всего на 1,5 ед. приводит к резкому увеличению скорости роста вязкости и снижению времени гелеобразования: в случае сшивки генипином процесс гелеобразования завершается в 5 раз быстрее, а модуль упругости образующегося геля увеличивается в 2,3 раза. При использовании для сшивки хитозана GA гелеобразование в его 2-х % растворе с pH 5,6 может произойти в течение 1 минуты, а в растворе в 2%-ной уксусной кислоте (традиционном растворителе хитозана) способность к течению исчезает только через несколько часов. Влияние pH на скорость сшивки можно проследить даже при изменении этого показателя всего на 0,5 ед. Использование эквимольных (по сравнению с GA) диальдегидных производных нуклеотидов при pH 4,5 вызывало рост вязкости системы, но не приводило к гелеобразованию при комнатной температуре. Повышение температуры до 40⁰C вызывало формирование устойчивой сетки геля, что может быть использовано для получения инъекционных депо-форм лекарственных препаратов.

С использованием расчетных и экспериментальных методов произведена оценка числа сшивок, необходимых для гелеобразования в растворе хитозана и получения пленок на основе гелеобразующей системы раствор хитозана – сшивающий реагент. Показано, что для получения не растворимых в воде пленок со степенью набухания около 1000% достаточно 2,7 зацеплений на 100 элементарных звеньев хитозана.

Установлены параметры процесса получения хитозановых пленок, сшитых генипином, с прочностью, превышающей прочность не сшитых пленок, и степенью набухания 2200%. Такие свойства наряду с контрастной окраской отвечают требованиям к хирургическим материалам для лечения ран. Широкопористые биополимерные матрицы для тканевой инженерии на основе хитозана, сшитого GP или GA имеют низкую цитотоксичность, а их морфология обеспечивает быстрый рост и пролиферацию клеток. Полученные материалы могут быть рекомендованы к использованию в регенеративных подходах медицины, в частности, в качестве искусственных матриц для культивирования и дифференцировки клеток. Показана возможность использования полученных материалов в качестве адсорбентов в процессах удаления следов красителей при многократной адсорбции без изменения сорбционной емкости композитного геля.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 24-23-00390)

Список литературы

1. Kildeeva N. R. et al. About mechanism of chitosan cross-linking with glutaraldehyde //Russian journal of bioorganic chemistry. 2009. T. 35. C. 360-369.
2. Mikhailov S. N. et al. Crosslinking of chitosan with dialdehyde derivatives of nucleosides and nucleotides. Mechanism and comparison with glutaraldehyde //Nucleosides, nucleotides and nucleic acids. 2016. T. 35. №. 3. C. 114-129.
3. Kildeeva N. et al. Influence of genipin crosslinking on the properties of chitosan-based films //Polymers. 2020. T. 12. №. 5. C. 1086.
4. Mikhailov S. N. et al. Crosslinking of chitosan with dialdehyde derivatives of nucleosides and nucleotides. Mechanism and comparison with glutaraldehyde //Nucleosides, nucleotides and nucleic acids. – 2016. – T. 35. – №. 3. – C. 114-129.

УДК 541.64

НОВЫЕ ПОЛИМЕРАНАЛОГИЧНЫЕ РЕАКЦИИ ХИТОЗАНА

Критченков А.С.^{1,2}

¹ Институт технической акустики Национальной академии наук Беларуси
210026, Республика Беларусь, г. Витебск, пр. Генерала Людникова, 13

² Российский университет дружбы народов им. П. Лумумбы
117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

До недавнего времени химия биосовместимого биodeградируемого и нетоксичного природного полимера хитозана в значительной степени была ограничена так называемыми классическими химическими превращениями (реакции алкилирования, ацилирования, раскрытия эпоксидного цикла, образования оснований Шиффа). Расширение круга полимераналоговых реакций, которые могут быть использованы для химической модификации хитозана представляет собой несомненно важную и актуальную задачу современной полимерной химии. Селективные и удобные в препаративном исполнении новые полимераналогичные превращения хитина открывают привлекательные пути к синтезу новых полимеров и систем на их основе с улучшенными физико-химическими, механическими и биологическими (в том числе и фармакологическими) характеристиками.

В нашей научной группе в данной области проводятся исследования в двух направлениях: (1) промотируемые ультразвуком новые полимераналогичные превращения хитина и хитозана и (2) электрохимические полимераналогичные реакции упомянутых полисахаридов. В результате развития указанных направлений нами внедрены в химию хитина и хитозана ультразвуковое тиол-иновое и фенол-иновое присоединение, нитрон-нитрильное 1,3-диполярное циклоприсоединение, электрохимическое прямое *N*-арилирование, получены новые высокоактивные антибактериальные полимеры, плёнки и пищевые покрытия на их основе, наночастицы и системы доставки лекарств. Этим и другим достижениям в химии сахаридных полимеров будет посвящен данный доклад.

Список литературы

1. Kritchenkov A. S., Zhaliashniak N. V., Egorov A. R., Lobanov N. N., Volkova O. V., Zabodalova L. A., Suchkova E. P., Kurliuk A. V., Shakola T. V., Rubanik V. V., Rubanik V. V., Yagafarov N. Z., Khomik A. S., Khrustalev V. N. Carbohydrate Polymers **242** (2020).

УДК 54.057, 547.024

ТЕРМОПЛАСТИЧНЫЕ И БИОСОВМЕСТИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ БЛОК-СОПОЛИМЕРОВ ХИТОЗАНА И ПОЛИ(ε-КАПРОЛАКТОНА)

Леднев И.Р., Мальцева Е.А., Зайцев С.Д., Смирнова Л.А.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского
603022, Россия, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Разработка биосовместимых и биodeградируемых термопластичных полимерных материалов пригодных для использования в качестве матриц для регенеративной медицины остается важной задачей биомедицинского материаловедения. Одними из перспективных полимеров для создания таких материалов являются хитозан и поликапролактон.

Хитозан обладает рядом таких полезных свойств, как биосовместимость, биodeградация и относительная простота химической модификации по аминогруппе, однако материалы из хитозана обладают относительно низкими механическими свойствами, а формование изделий ограничено и осуществляется из растворов, либо лиофилизацией, либо сшивкой. Решение этих недостатков может быть осуществлено путем совмещения полисахарида с термопластичными полиэфирами, такими как поликапролактон и/или полилактид, которые нашли широкое применение в биомедицине. Вместе с тем, недостатками полиэфиров являются недостаточная клеточная адгезия, ввиду гидрофобности и образование кислот при их гидролизе в организме, что компенсируется при совмещении с хитозаном. Несмотря на то, что полиэфиры способны к переработке литьевыми методами, получение их композиций с хитозаном ограничивается тем, что они растворимы только в типичных органических растворителях, а хитозан нетермопластичный и водорастворимый полимер. Известно [1] о получении термопластичных композиций на основе хитозана с полиэфирами, путем использования третьего полимера как компатибилизатора, однако доля хитозана в таких материалах не превышает 5 мас.%. На сегодняшний день, актуальной проблемой остается создание термопластичных композиций на основе хитозана с использованием биоразлагаемых полиэфиров, предназначенных для технологий 3D-печати.

Цель работы состояла в разработке метода получения термопластичных композиций на основе хитозана и поли(ε-капролактона) из гомогенного раствора смеси гомополимеров в диметилсульфоксиде в качестве общего растворителя.

Были получены композиции на основе смеси гомополимеров и блок-сополимеры. Первые готовили путем удаления растворителя, а блок-сополимеры методом ультразвукового облучения раствора смеси гомополимеров. Отличительной особенностью метода является взаимодействие между компонентами на уровне отдельных макромолекул, что позволяет получать сополимеры при любом соотношении компонентов. Выход блок-сополимера после 30 минут облучения составил 99%. Блоки хитозана характеризовались молекулярной массой порядка 60×10^3 , а блоки поликапролактона порядка 25×10^3 . Термопластичность для образцов блок-сополимера достигалась, начиная с массовой доли поликапролактона 67%, при показателе текучести расплава 7.2 ± 0.6 г/мин при температуре 75°C . Исследование методом сканирующей электронной микроскопии показало однородность материалов без структурных дефектов

в пленках, как для смесевых систем, так и блок-сополимеров. При экструзионном методе получения материала однородность системы наблюдалась только для блок-сополимеров. Механические свойства пленочных материалов, как для смеси, так и для блок-сополимеров характеризовались высокими значениями - прочностью на разрыв до 60-70 МПа при эластичности 35%, для филамента 25-40 МПа и 50% соответственно. Клеточная адгезия для композиций, исследованная на клетках фибробластов (hTERT BJ-5TA), находится на уровне хитозана. Биосовместимость образцов изученная в МТТ-тесте показала, что как смесевые композиции, так и блок-сополимеры не демонстрируют цитотоксичность, однако рост клеток наблюдался только для последних, что свидетельствует о пролиферативной активности материала. Совокупность полученных результатов показывает, что композиции на основе блок-сополимера хитозана и поли(ε-капролактона) являются перспективными для применения в аддитивных технологиях для регенеративной медицины

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 23-13-00342.

Список литературы

1. A novel method of creating thermoplastic chitosan blends to produce cell scaffolds by FDM additive manufacturing / R. Tylingo, P. Kempa, A. Banach-Kopeć, S. Mania // Carbohydrate Polymers. – 2022. – Vol. 280. – P. 119028.

УДК 637.146; 547.917; 541.628

МЕГА- и МЕТАНАУКИ (MEGA- and METASCIENCE) В ОПИСАНИИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ХИТОЗАНОВ

Офицеров Е.Н.

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева
125047, Россия, г. Москва, Миусская площадь, 9

Если с модным понятием меганаука¹ знакомо большинство учёных и с удовольствием им пользуется, то с метанаукой² или наукой о себе или по-другому, наукознанием, знакомы мало и ещё меньше выводы и положения этой науки используют в своих работах. В данном докладе будут разграничены на примере класса хитозанов, их химических и биологических свойств, основные понятия и будут сделаны выводы о границах применимости положений этих наук в области хитозанов. Упор сделан на одном из фундаментальных положений метанауки – принципах воспроизводимости научных результатов, что и будет сделано на конкретных примерах из области химических свойств и биологической активности хитозанов и их производных. Metascience большое внимание уделяет воспроизводимости результатов научных публикаций и выяснению причин, порождающих этот феномен. О том, что это действительно феномен наших дней свидетельствует статистика: около 60% результатов, опубликованных даже в престижных журналах, не воспроизводятся, в первую очередь, биологические испытания новых соединений и новых композиций. Это явление получило название **кризис воспроизводимости или Replication crisis**.

Сразу необходимо отметить, что первоначальные предположения о подтасовке результатов нечистоплотными исследователями, не подтвердились. Таких работ, как оказалось, не более 10%. А остальные, получается, сделаны и опубликованы добросовестными порядочными исследователями, которые дорожат своим именем, а тем не менее, результаты не воспроизводятся. В это трудно поверить, а так как вера для русских выше логики, поэтому на проблему воспроизводимости в России должного внимания не обращают, хотя должны читаться соответствующие курсы во всех университетах по всей стране. Без решения этой проблемы мы не сможем двигаться вперед с минимальным расходом средств и блужданий в потемках ложный представлений.

На сегодняшний день можно сделать вывод о том, что не воспроизводимость результатов в науке обусловлена не субъективными, зависящими только от субъекта, но вполне объективными факторами. Именно поиск этих факторов, причин и их исключение из научного процесса при организации последнего и составляют стратегическую основу современного научного процесса. Решение этой проблемы,

¹ **Мегасайенс** (от англ. MegaScience — «Меганаука») – **крупные дорогостоящие международные научные и исследовательские комплексы**. Также это название класса уникальных научных установок в классификации Минобрнауки в Национальном проекте «Наука» (2018)

² **Мета-** (с греч. μετά- «между, после, через» – **часть сложных слов, обозначающая абстрагированность, обобщённость**. В эпистемологии приставка «мета-» означает «о себе». В данном случае – **наука о науке**. Наука о научных данных — это использование науки о данных для анализа научных работ. Как всякая наука она включает в себя как качественные, так и количественные методы.

безусловно, ускорит научный прогресс при огромной экономии финансов и человеческого капитала.

Насколько известно, нет анализа проблемы воспроизводимости в химии и биологии хитозана и его производных, и нет работ по выявлению причин и условий, и их анализа в этой области знания. Речь идет не о диктате чиновников о плановом производстве статей и уровне публикаций, который, безусловно, оказывает влияние на достоверность результатов. Этот фактор достаточно подробно освещен в литературе, но чиновники не читают таких статей, и проблема не решается.

В данном докладе основной упор сделан на анализе объективных причин, приводящих к replication crisis в нашей области, исходя из следующих базовых предпосылок.

- Игнорирование **разнонаправленного влияния** структуры хитозана на его свойства в зависимости от условий проявления его активности (химической, биологической) вследствие забвения одного из основных постулатов теории химического строения органических соединений А.М. Бутлерова, а именно, о влиянии на свойства «не только непосредственно связанных атомов, а и не непосредственно связанных». И к этому постулату ни Кекуле, ни Купер отношения не имеют.

- Влияние среды на реализацию свойств хитозана, в первую очередь, воды. Мы находимся в самом начале длительного и трудного пути только ещё осознания проблемы воды, пытаюсь её решить, и надо отдать должное вкладу российских учёных, которые находятся сегодня в авангарде небольшой когорты исследователей (в докладе об достижениях в этой области будет более детально представлено).

- Классическая химия и биология были созданы на использовании терминальных разграничений, например: кислота/основание, катализатор/ингибитор, металл/не металл и выводы по итогам работ делаются исходя из такой классификации. Применительно к деацетилизированному хитину или хитозану такой подход уже не срабатывает, хотя выводы мы делаем, исходя только из наличия аминогруппы – хитозан основание. Всем известны соли с янтарной кислотой. Есть такие соли? Безусловно! А вот при исследовании их биологической активности мы их теряем, а выводы по результатам экспериментов делаем относительно солей, которых уже нет в растворе. И результат будет зависеть от условий эксперимента. Ясно, что в данном случае воспроизводимости не будет, так как меняются условия (о выполнимости стандартных условий см. пункт ниже).

- Влияние внешних физических условий на воспроизводимость. На Западе частично этот вопрос удалось решить – большой фармой не принимаются результаты исследований, выполненных в северном полушарии с марта по июнь включительно, независимо от того, какой бы известной лабораторией они ни были выполнены и в каком престижном журнале ни были опубликованы, - они не воспроизводятся. Как бы мы ни стандартизировали со своей стороны условия действия хитозана на *E.coli*, они воспроизводятся в определенный период времени не будут, так как на динамику длительности «индивидуальной минуты» и времени лаг-фазы кишечной палочки оказывают новолуния и весна, а это от нас не зависит.³

- Об отсутствии линейности в проявлении зависимости эффекта от концентрации и количества действующего вещества. В биологии это известный факт: каждое вещество

³ Человек – это сумма взаимосвязанных и взаимозависимых химических процессов, управляемых как внешними, так и внутренними факторами». Это относится к любому организму, в том числе и к кишечной палочке, поэтому абстрагирование от общего к частному также одна из причин невоспроизводимости.

есть лекарство и яд. Всё зависит от концентрации. В химии, наоборот, принята линейность, начиная от зависимости скорости реакции от концентрации вещества и независимости температур кипения или плавления от количества вещества. На самом деле эти зависимости не выполняются, а, следовательно, и результаты не воспроизводятся.

В качестве одного из примеров можно взять за образец не воспроизводимости температуру кипения, с которой сталкиваются или сталкивались все. Конечно, она не воспроизводится в большинстве работ по объективным причинам: во-первых, в отличие от поколений предшествующих химиков, она перестала быть основной характеристикой чистоты вещества. Её заменили методы хроматографии и другие физико-химические методы, начиная от ЯМР. Поэтому сегодняшние химики ей не уделяют должного внимания. Она зависит от внешнего давления, которое современные химики не указывают. В лабораториях как 50 лет исчезли барометры, а давление сейчас меняется в широких пределах. Естественно, указанная в современных статьях температура кипения не воспроизводится. Предшествующие поколения её приводили к 760 мм рт. ст. Это, с одной стороны, а с другой стороны, химики-синтетики перешли на работы с микроколичествами, что приводит к перегревам в определении t кипения.

Таким образом, микроколичества вещества являются объективной причиной невоспроизводимости результатов, и становится понятным, почему не воспроизводимость растет именно сейчас.

Эти причины известны всем, а о других, в частности, о причинах влияния рабочих зон используемых концентраций веществ, в частности, хитозана, на проявление свойств и воспроизводимость результатов, подробно будет представлено в докладе. В частности, будет обоснована рубежная концентрация в 10^{-3} моль/л и почему при концентрациях больших получаются одни результаты, а при меньших – другие, и влияние на эту рубежную концентрацию материалов посуды, реакторов. Также будут приведены данные о бимодальном распределении в зависимостях концентрация-свойство, начиная с 10^{-7} моль/л и ниже, не затрагивая сущности гомеопатии.

УДК 541.14, 535.3

ФОТОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА, СОДЕРЖАЩИХ НАНОЧАСТИЦЫ TiO_2/Au (Ag, Cu)

Саломатина Е.В., Зувев Д.Н., Смирнова О.Н., Смирнова Л.А.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород, Россия
603022, Россия, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Среди ряда полимерных матриц для создания «умных» полимерных композитов одной из наиболее перспективных является хитозан (ХТЗ). Этот полусинтетический полисахарид кроме уникальных биологических свойств – биосовместимости, гипоаллергенности, транспортной функции – обладает высокой стабилизирующей способностью по отношению к наночастицам (НЧ) металлов и их оксидов, обеспечивая их высокую дисперсность и равномерность распределения в объеме композитов. Эти качества ХТЗ полезны для доступной в экспериментальном отношении модификации частиц TiO_2 наночастицами (НЧ) Au, Ag или Cu. Такие наносистемы могут проявлять высокую фотокаталитическую активность и перспективны в процессах очистки окружающей среды от органических загрязнителей различной природы при световом воздействии в широком диапазоне длин волн (УФ и видимом).

Цель работы – получение нанокомпозиций на основе хитозана, содержащих частицы TiO_2 (анатаз), легированного наночастицами Au, Ag или Cu; исследование генерирования активных форм кислорода в композициях при световом воздействии в широком диапазоне длин волн; изучение их в процессах очистки воды от загрязнителей различной природы.

В работе в растворах ХТЗ получали НЧ Au, Ag или Cu со средними размерами в 5, 25 и 28 нм при УФ- или вещественном восстановлении HAuCl_4 , AgNO_3 и CuCl_2 , введенных непосредственно в матрицу полисахарида. НЧ TiO_2 анатазной полиморфной модификации различного размера получены золь-гель методом в растворе изопропилового спирта и затем стабилизированы ХТЗ. Выявлено, что ХТЗ стабилизирует дисперсии TiO_2 , если его концентрация не превышает 10 масс.% относительно массы полисахарида. Разработан метод модификации поверхности TiO_2 наночастицами Au, Ag или Cu в растворах хитозана с образованием устойчивых дисперсий, из которых получали пленки и порошки.

Были исследованы оптические свойства пленочных и порошкообразных систем на основе ХТЗ и выявлено, что модификация TiO_2 наночастицами Au, Ag, Cu, стабилизированными полисахаридом, приводит к снижению ширины запрещенной зоны оксида с $\sim 3,3$ эВ до $\sim 2,0$ эВ. Вместе с тем, у нанокомпозиций появляются дополнительные полосы примесного поглощения в длинноволновой области видимого диапазона с характерными значениями при 1,88 эВ и 1,65 эВ для TiO_2/Ag , 1,9 эВ и 1,49 эВ для TiO_2/Au и 1,85 эВ для TiO_2/Cu . Это соответствует поглощению видимого света с длинами волн ~ 650 нм, ~ 800 нм и ~ 670 нм. Способность НЧ TiO_2 в порошкообразных композициях на основе ХТЗ к образованию активных форм кислорода (АФК) – $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\bullet\text{OH}$ и синглетного кислорода – при действии УФ-света доказана с помощью химического сенсора, чувствительного к синглетному кислороду. Благодаря АФК разработанные полимер-

стабилизированные нанокомпозиты проявляют фотокаталитическую активность и бактерицидные свойства.

Системы на основе ХТЗ, содержащие наночастицы НЧ TiO_2/Au (Ag, Cu), способны разлагать азо-красители и нитрофенол в воде. Установлено снижение концентрации загрязняющих веществ в воде на $\sim 90 - 95 \%$ при ее облучении УФ-светом, и на 40% – при действии видимого света в присутствии порошкообразных систем НЧ TiO_2/Au (Ag). Для композиции $\text{TiO}_2/\text{НЧ Cu-ХТЗ}$ с оптимальным соотношением компонентов эта величина составляет $95 - 99 \%$ за 30 минут воздействия видимого света.

Доказано подавление развития *Pseudomonas aeruginosa* в воде при использовании нанодисперсий на основе ХТЗ, содержащих TiO_2 и TiO_2/Ag , на 50 и 95 % при действии УФ- и естественного света в течение 30 минут, соответственно.

Таким образом, полученные полимер-стабилизированные композиции НЧ TiO_2/Au (Ag, Cu) перспективны для использования в элементах систем водоподготовки и обеззараживания воды.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 23-74-10069).

УДК 574.1

МЕЖСЕТЕВОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО НАУКИ, БИЗНЕСА И ПРАКТИКИ В РЕАЛИЗАЦИИ ПРОЕКТА ПО РАЗВИТИЮ ХИТОЗАНОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Самоделкин А.Г.

АНО «Нижегородский НОЦ»
603000, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Алексеевская, 6/16

На сегодняшний день в Нижегородской области есть все предпосылки для практической реализации проекта по созданию хитозановой подотрасли промышленности России. Для координации всех работ по хитозановой тематике на базе АНО «Нижегородский НОЦ» создана хитозановая рабочая группа, в состав которой вошли ведущие вузы, НИИ, организации, занимающиеся решением данной проблемы.

- Имеется сильный научный центр в ННГУ им. Н.И.Лобачевского на кафедре высокомолекулярных соединений и коллоидной химии.

- Нижегородские компании «Сонат», «Олигофарм НН», «Агрохитин» производят уникальную продукцию на основе хитозановых технологий для молочной и пищевой промышленности, функциональные (здоровые) продукты питания, проходят испытания кормовые добавки на основе хитозанового комплекса в птицеводстве, ведутся комплексные исследования в ветеринарии, растениеводческой отрасли.

Производство функциональных (здоровых) продуктов питания.

- «Doktor Neptuno» - принципиально новый биокорректор обмена веществ, в составе которого содержится не только хитозан, но и его производные.
- Мятные пастилки «Хитабс» - не содержат сахара, с натуральным соком, пребиотиком и хитозановым комплексом. Блокируют рост бактерий, улучшают работу ЖКТ, восстанавливают эмаль зубов. Исследования проведены в ФБУН Нижегородском НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н.Блохиной.
- Серия таблетированных фрукто-овощных продуктов обогащенных хитозановым комплексом «Вегетабс».
- КСП-хитозановый комплекс для производства кисломолочных продуктов.
- Хитозановые технологии в птицеводстве.

Разработаны и прошли испытание на производствах «КХ-аква» (комплекс хитозановый водный), «КХ» (комплекс хитозановый сухой, порошкообразный), «КХМ» и «КХМ-аква» - кормовые добавки на основе хитозанового комплекса с наномедью (экологически безопасное средство для борьбы с клостридиями у сельскохозяйственных животных и птицы, и микотоксинами).

Научно-исследовательские, экспериментально практические работы ведутся в рамках межсетевого сотрудничества Нижегородского НОЦ, группы компаний «Агрохитин», «Сонат», «Олигофарм НН», ННГУ им. Н.И. Лобачевского (кафедра высокомолекулярных соединений и коллоидной химии, ФНЦ «ВНИТИП», Орловский ГАУ им. Парахина, НГАТУ им. Флорентьева, Орловской птицефабрики «Свеженка», птицефабрики «Птичий двор» Республики Башкортостан, Нижегородской агрофирмы «Птицефабрика Сеймовская».

Применение новых хитозановых комплексов позволило: увеличить живую массу цыплят – бройлеров, снизить расход корма на 1 кг привеса до 6%, частично заменить антибиотики, повысить сохранность птицы на 2.9%. Качество мяса бройлеров

значительно улучшается, приобретает ярко выраженные диетические свойства (снижение содержания холестерина до 30%). В яичном птицеводстве ввод хитозанового комплекса в комбикорма позволил повысить интенсивность яйценоскости на 1.7%, значительно улучшилось качество скорлупы, снизились затраты кормов на 1 кг яичной массы, произошло значительное снижение упругой деформации яйца.

Нижегородский НОЦ поддержал инициативу компании «Агрохитин» (руководитель Фролов В.Г.) и кафедры высокомолекулярных соединений и коллоидной химии ННГУ им. Н.И. Лобачевского (руководители проектов д.х.н., профессор Зайцев С.Д., д.х.н., профессор Смирнова Л.А., к.х.н., доцент Апрятина К.В.) по внедрению хитозанового комплекса в растениеводстве.

На площадках Нижегородского филиала ФБГУ «Россельхозцентр» (Родин Н.М.) проведен комплекс исследований по применению хитозана, включая меристемные технологии.

Работы с хитозаном были проведены в Нижегородской области на базе колхоза «Красный маяк» Городецкого района, ООО Агрофирма «Искра» Богородского района, КФХ «Овощевод» Дальнеконстантиновского района. Испытание проходили продовольственные культуры: картофель, кукуруза, огурцы. Результат обработки: ускоренная вегетация растений, повышенный иммунитет, предотвращение повторного заражения растений мучнистой росой, урожайность и качество продукта значительно выше по сравнению с контролем.

Сетевая форма сотрудничества дает возможность более эффективно проводить совместные исследования по применению хитозана в молочном животноводстве. В Агрофирме «Искра» Богородского района получены хорошие результаты при внесении хитозана в корма племенных животных: повышается продуктивность, сохранность молодняка, стрессоустойчивость в условиях роботизированных ферм.

Ветеринарная практика использования хитозана в молочных хозяйствах Нижегородской области дает также положительный эффект: быстрее рубцуются трофические язвы, снижается уровень заболевания маститом коров, снижается выбраковка животных от заболеваний копыт.

Технология производства «Кормовой добавки с витамином Е, сопривитым на биополимер хитозан» («Агрохитин», кафедра ВМС и коллоидной химии ННГУ им. Лобачевского), для внесения в корма пресноводного рыбного хозяйства имеет большой спрос у производителей товарной рыбы.

Российское экспертное сообщество высоко оценило наши совместные усилия в рамках сетевого сотрудничества. Мы получили положительные отзывы на наш проект от Российской академии наук, Санкт-Петербургского государственного университета, Комитета Государственной Думы по аграрным вопросам, Росрыболовства, Министерства промышленности, торговли и предпринимательства Нижегородской области, Корпорации развития Нижегородской области, Агентства Кластерной политики Нижегородской области, Министерства сельского хозяйства и продовольственных ресурсов Нижегородской области, Министерства экономического развития и инвестиций Нижегородской области.

В реализации комплекса организационных мероприятий по продвижению хитозановых технологий в различные сферы народного хозяйства, помог грант Нижегородского НОЦ выделенный кафедре ВМС и коллоидной химии ННГУ, где индустриальным партнером выступила компания «Агрохитин». Сегодня Нижегородская область имеет уникальную возможность организовать производство эксклюзивной продукции на основе хитозана.

УДК 541.64:547(995.11+579.6)

ТВЕРДОФАЗНЫЙ СИНТЕЗ ВОДОДИСПЕРГИРУЕМЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ОЦЕНКА ИХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ

Акопова Т.А.¹, Попырина Т.Н.¹, Альхаир А.², Иванов П.Л.¹, Кири И.А.²

¹ Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН
117393, Россия, г. Москва, ул. Профсоюзная, 70

² Российский биотехнологический университет
125080, Россия, г. Москва, ул. Талалихина, 33

Разработка биологически активных композиций на основе полисахаридов, способных к переработке в конечные изделия за счет ультрадиспергирования и гелеобразования в воде с возможностью применения в виде гидрогелей, спреев, губчатых и пленочных материалов является важной научной задачей. Для получения композиций использовали оригинальный метод модификации полимеров реакционным смешением в твердом состоянии при интенсивном механическом воздействии в двухшнековом экструдере (Berstorff, Германия) с параллельным вращением шнеков ($D = 40$ мм) [1]. Когда речь идет о композициях на основе хитозана, то в первую очередь исследования направлены на создание биоактивных систем, способных проявлять как собственную антибактериальную активность за счет бактериостатических свойств хитозана, так и за счет включения в их состав добавок различной природы.

Были получены опытные партии композиций хитозана с галактоманнаном (гуаром) и поливиниловым спиртом с различным содержанием хитозана (табл. 1), растворимых и/или распределяющихся в воде с образованием стабильных дисперсий.

Таблица 1

Состав композиций и их поведение в водных средах

Состав композиции	Содержание хитозана, мас.%	Содержание фракции привитых сополимеров, мас.%	Растворимость в воде*	Средний размер дисперсной фазы, нм
ПВС/хитозан	25	100	++	500
Гуар/хитозан	25	100	+	580
ПВС/хитозан	40	50	±	580
Гуар/хитозан	50	75	+	480
ПВС/хитозан	60	40	±	580

* (++) – хорошо растворим; (+) – ограниченно растворим, стабильная дисперсия; (±) – ограниченно растворим, частично стабильная дисперсия

Согласно полученным ранее и опубликованным данным о структуре и составе смесей полисахаридов после деформирования, все композиции содержат фракции привитых сополимеров, формирующихся *in situ* при обработке твердых смесей в экструдере (температура обработки 50°C, скорость подачи материала 30 г/мин, время удержания 3-5 мин). Реакция прививки протекает с участием концевых

(восстанавливающих) групп полисахаридов и аминогрупп хитозана, степень прививки зависит от молекулярной массы полимеров и достигает 600% [1, 3].

По результатам ИК-спектроскопии установлено, что все композиции содержат хитозан (область amino-, амидогрупп: деформационные колебания аминогрупп при 1600 см^{-1} и валентные колебания карбонильной группы амидной связи – Амид I, при 1650 см^{-1}), а также характеристические полосы входящих в состав композиции полисахаридов.

Размер частиц дисперсной фазы оценивали методом динамического светорассеяния (Zetatracs, США) в 0.2% растворах полимеров в воде. Как видно из представленных на рисунке данных, размер частиц дисперсной фазы находится в районе 300-700 нм и практически не зависит от относительного содержания в них хитозана.

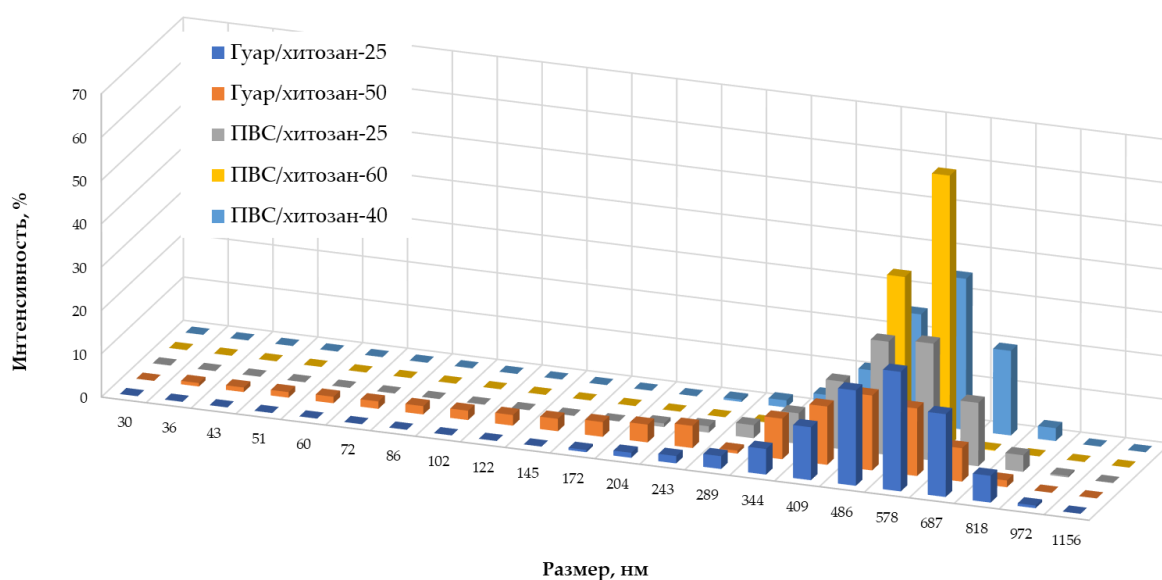


Рис. 1. Гистограммы числового распределения частиц дисперсной фазы в нейтральных водных средах для композиций с различным содержанием хитозана

Таким образом, все полученные композиции способны к распределению в водной среде на коллоидном и субмикронном уровне с образованием стабильных суспензий, к формированию губчатых материалов и обладают хорошими пленкообразующими свойствами. Согласно литературным данным, при нейтральном значении pH антибактериальная активность хитозана возрастает с уменьшением молекулярной массы, что, вероятно, связано со снижением растворимости высокомолекулярных образцов при pH 7.0. Поэтому включение хитозана в композиции, содержащие преимущественно фракции его водорастворимых привитых сополимеров, представляет существенный интерес при формулировании антибактериальных препаратов.

Полученные на их основе пленочные материалы исследованы на проявление как собственной антибактериальной активности, так и при включении в их состав антиоксидантов и антибактериальных агентов (галловая кислота, бетулин). Как показали проведенные исследования, при твердофазном взаимодействии хитозана с галловой кислотой были получены преимущественно твердые полимерные соли с содержанием природного фенольного антиоксиданта более 600 мг на 1 г полимера [4]. В отличие от

физического смешения компонентов, продукты хорошо набухали и частично растворялись в воде, имели тенденцию к образованию агрегатов со средним размером 206 ± 36 мкм в водных средах.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-23-20057.

Список литературы

1. Акопова, Т.А. Применение твердофазного метода синтеза для получения материалов на основе хитозана с улучшенной растворимостью в водной и органической средах / Т.А. Акопова, в кн. «Хитозан», под ред. К.Г. Скрябина, С.Н. Михайлова, В.П. Варламова // М.: Центр «Биоинженерия» РАН, 2013. – С. 185-221.
2. Варламов В.П., Ильина А.В., Шагдарова Б.Ц., Луньков А.П., Мысякина И.С. Хитин/хитозан и его производные: фундаментальные и прикладные аспекты // Успехи биологической химии. – 2020. – Т. 60. – С. 317-368.
3. Akopova T.A., Zelenetskii A.N., Ozerin A.N. Solid State Synthesis and Modification of Chitosan // In: Focus on Chitosan Research, A.N. Ferguson and A.G. O'Neill (Eds), Nova Science Publishers, Inc. – 2011. – Ch. 8. – P. 223-254.
4. Khavpachev M.A., Ivanov P.L., Popyrina T.N., Malyk B.V., Svidchenko E.A., Svishcheva N.B., Zakharevich A.A., Akopova T.A. Solvent-Free Interaction of Gallic Acid with Chitosan via Reactive Extrusion // Preprints. – 2024. – P. 2024120357. <https://doi.org/10.20944/preprints202412.0357.v1>

УДК 638.087.7

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИТОЗАН-МЕЛАНИНОВОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ПОДМОРА МУХИ ЧЕРНАЯ ЛЬВИНКА В СОСТАВЕ ПОДКОРМКИ ДЛЯ МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ

Албулов А.И.¹, Фролова М.А.¹, Федоринова К.М.¹, Храпова С.Н.²

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности»
141142, Россия, Московская область, пос. Биокомбината, 17

² Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева
127434, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49

В современном пчеловодстве для улучшения физиологического состояния пчелосемей широко используют различные стимулирующие подкормки [1-4]. При наращивании силы семьи в весенний период развития особую актуальность приобретает использование экологически безопасных препаратов, которые обладают свойствами биостимуляторов. Их регулярное использование позволяет достаточно легко и быстро восполнить дефицит основных питательных веществ; эффективно выводить из организма токсичные вещества; повысить устойчивость организма к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды. В настоящее время все больше внимания привлекают перспективы использования биостимуляторов на основе хитозана и его производных, обладающих множеством свойств, позволяющих применять их в пчеловодстве: природное происхождение и отсутствие токсичности, иммуномодулирующие свойства, антимикробная активность, способность выводить из организма пчел тяжелые металлы и токсины [5-7]. Одним из источников хитозана является подмор мухи черная львинка. В хитиновой оболочке мухи присутствует пигмент меланин, ковалентно связанный с белком и хитозаном, и, благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам, обеспечивает защиту их от действия УФ, ионизирующей радиации, токсического действия тяжелых металлов, эндогенных и чужеродных химических веществ.

Материалы и методы исследования

Хитозан-меланиновый комплекс получали из подмора мухи черная львинка (*Hermecia illucens*) путем двустадийного дезацетилирования измельченного на коллоидной мельнице подмора с последующей фильтрацией, отмывкой и конвекционной сушкой препарата. Испытание подкормки для медоносных пчел, содержащей в своем составе хитозан-меланиновый комплекс, проводили на базе учебно-опытной пасеки РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева на пчелах карпатской породы. Были сформированы одна контрольная и одна опытная группа пчел по 5 пчелосемей в каждой. Контрольную группу пчелосемей подкармливали 60%-ным сахарным сиропом. Пчелиным семьям опытной группы давали 60%-ный сахарный сироп с добавлением 4 г подкормки на 1 л сахарного сиропа из расчета 1 л сахарного сиропа на 10000 пчел один раз в неделю в течение месяца. Скармливание подкормки проводили в три этапа: весной для наращивания силы пчелосемей, летом за месяц до главного медосбора и осенью перед постановкой на зимовку. Эффективность подкормки оценивали до и после каждого этапа по таким показателям, как сила семьи и расплод.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований с учетом особенностей сырья была разработана технологические режимы получения хитозан-меланинового комплекса. Было изучено влияние на качество и количество конечного продукта способа подготовки сырья для дальнейшего использования его на стадии деацетилирования, температуры и продолжительности процесса деацетилирования, концентрации раствора щелочи, количества стадий деацетилирования, способов отделения осадка и вида сушки.

Полученные по разработанной технологии серии хитозан-меланинового комплекса имели рН 1%-ного раствора в 1%-ной уксусной кислоте от 3.68 до 3.91, остаточную влажность от 4.1% до 4.8%, степень деацетилирования от 28.22% до 31.44%.

Препарат хитозан-меланинового комплекса был включен в состав подкормки для медоносных пчел. Изучение эффективности скармливания подкормки показало, что в весенний этап скармливания сила семей в конце опыта была выше по сравнению с контролем на 28.6% в опытной группе, плодовитость маток (количество квадратов) – на 18.3%. На начало весеннего этапа скармливания подкормки обе группы пчел по этим показателям были идентичны.

В летний этап скармливания на начало опыта сила семей в опытной группе была выше, чем в контрольной, на 37.5%, плодовитость маток – на 16.7%. На конец опыта сила семей в опытной группе была выше, чем в контрольной на 35.3%; плодовитость маток – на 6.7%.

В осенний этап скармливания стимулирующей подкормки в опытной группе пчел было также установлено повышение силы семей по сравнению с контрольной группой на начало опыта на 45.5%, на конец опыта на 11.1%; плодовитости маток на начало опыта на 4.2%, на конец опыта на 23.3%.

Таким образом, проведенные испытания подкормки для пчел, содержащей в своем составе хитозан-меланиновый комплекс из подмора мухи черная львинка показали ее эффективность в отношении хозяйственно-полезных признаков пчел.

Заключение

В результате проведенных исследований разработана технология получения хитозан-меланинового комплекса из подмора мухи черная львинка, позволяющая получать готовый продукт с узким распределением физико-химических показателей качества.

Испытания подкормки для пчел, содержащей в своем составе хитозан-меланиновый комплекс из подмора мухи черная львинка, показали ее эффективность в отношении хозяйственно-полезных признаков пчел.

Список литературы

1. Ярошевич Г.С. Влияние биологически активных веществ на увеличение продолжительности жизни и физиологическое состояние пчел / Г.С. Ярошевич, Г.С. Мазина, А.А. Кузьмин // Известия Великолукской ГСХА – 2019.-№2.-С. 33-36.
2. Кипрушкина Е.И. Влияние применения иммунного модулятора в качестве кормовой добавки для пчел на качество и биобезопасность меда / Е.И. Кипрушкина, А.А. Иванова, В.А. Иванов, Г.С. Ярошевич, М.М. Шамцян // Вестник МАХ.-2021.-№2.-С. 50-55.
3. Чугреев М.К. Стимулирующие подкормки для интенсификации пчеловодства / М.К. Чугреев, А.А. Масолов // Аграрная наука.-2009.-№6.-С. 25-29.

4. Мазина Г.С. Влияние смеси БАД на продолжительность жизни и физиологическое состояние пчел / Г.С. Мазина, А.А. Кузьмин // Вестник Великолукской ГСХА.-2023.-№2.-С. 20-25.

5. Салтыкова Е.С. Хитозан как основа иммуномодулирующего препарата для пчел / Е.С. Салтыкова, Л.Р. Гайфуллина, А.Ф. Гайфуллин и др. // Известия Уфимского научного центра РАН – 2016.-№1.-С. 157-159.

6. Назмиев Б.К. Производные хитина как адаптогена в пчеловодстве / Б.К. Назмиев, Е.С. Салтыкова, А.Г. Николенко // Пчеловодство. – 2013.-№1.-С. 34-35.

7. Салтыкова Е.С. Влияние высокомолекулярных хитозанов на антиоксидантную и иммунную системы медоносной пчелы / Е.С. Салтыкова, А.А. Каримова, А.Р. Гатауллин, Л.Р. Гайфуллина, Р.Т. Матниязов, М.А. Фролова, А.И. Албулов, А.Г. Николенко // Прикладная биохимия и микробиология. – 2016.-№5. 545-549.

УДК 577.114.4:577.15:579.64

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ КОНТРОЛИРУЕМОГО ГИДРОЛИЗА ХИТОЗАНА С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ХИТОЗАНАЗЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ХИТООЛИГОМЕРОВ РАЗНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ

Бойко Т.Ф.¹, Актуганов Г.Э.¹, Лопатин С.А.², Мелентьев А.И.¹, Галимзянова Н.Ф.¹

¹ Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук
450054, Россия, г. Уфа, Проспект Октября, 69

² Институт биоинженерии им. К.Г. Скрыбина ФИЦ Биотехнологии РАН
119071, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2

Частичная ферментативная деполимеризация хитозана является одним из эффективных современных подходов для повышения функциональности данного полисахарида по ряду физико-химических показателей (растворимость, вязкость и др.) и биологической активности [1]. К настоящему времени разработаны самые разные подходы для направленного ферментативного получения и модификации функциональных олигомеров хитозана с требуемыми значениями степени полимеризации (СП) и деацетилирования (СД), в т.ч. основанные на способности хитиназ / хитозаназ катализировать реакции трансгликозилирования, а хитин-деацетилаз – обратные реакции ацетилирования [2, 3]. Тем не менее, эффективность использования одного и того же фермента для получения олигомеров хитозана с широко варьируемыми значениями СП, зачастую остается малоизученной. В особенности этот вопрос актуален в отношении эндохитозаназ (КФ 3.2.1.132), применение которых в основном рассматривается в рамках проблематики получения низших хитоолигосахаридов со СД 4-6. Считается, что широкое применение этих ферментов для конверсии высокодеацетилированного хитозана (СД > 80%) в олигомеры с $M_w = 5-20$ кДа (СП ~ 30-100) может быть ограничено в связи с быстрым гидролизом субстрата до хитобиозы и других низших олигомеров, обусловленным высокой специфичностью хитозаназ к 1,4-β-гликозидным связям между остатками D-глюкозамина (GlcN). Многие хитозаназы хорошо гидролизуют также смешанные типы связей между остатками GlcNAc и GlcN в частично ацетилированном хитозане [4]. Однако, возможность использования хитозаназ в рамках контролируемого процесса деполимеризации для получения более крупных олигомерных молекул, в т.ч. олигохитозанов, мало освещена и требует более подробного изучения.

Целью настоящей работы явилась оценка влияния стандартных параметров ферментативной реакции на молекулярно-массовые характеристики олигомеров хитозана, образующихся в условиях контролируемой деполимеризации полимера очищенной хитозаназой штамма *B. thuringiensis* ВКМ В-387.

В работе использовали пищевой хитозан производства ООО «Биопрогресс» (пос. Биокомбината) со СД ~ 85% и $M_{wCp.} \sim 370$ кДа. Для ограниченной деструкции использовали хитозаназу, предварительно очищенную на КМ-сефарозе до электрофоретически гомогенного состояния [4]. Хитозаназную активность и концентрацию белка в очищенном ферментном препарате определяли согласно ранее описанным методикам [4]. В качестве рабочих параметров при деструкции полимера

варьировали соотношение фермент-субстрат, время реакции, температуру и pH реакционной смеси. Реакцию останавливали добавлением 0.5 М раствора NaOH (1:10, о/о) и оставляли на 5 ч при 5°C, образовавшийся осадок собирали центрифугированием, ресуспендировали в минимальном объеме деионизированной воды, подводили pH до 5.5-5.7 0.5 М раствором HCl и лиофильно высушивали. Средневесовую молекулярную массу (M_w) и молекулярно-массовое распределение олигохитозанов оценивали методом высокоэффективной жидкостной эксклюзионной хроматографии, как описано ранее [4]. Минимальную ингибирующую концентрацию различных олигомеров хитозана против штамма фитопатогенного гриба *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker (1959) из коллекции УИБ УФИЦ РАН определяли микропланшетным методом [4]. При анализе фунгицидной активности эксперимент проводили в 3-кратной повторности, результаты представляли как арифметическое среднее $\pm$ стандартное отклонение (SD). Значимыми считали различия при $P < 0.05$.

Олигохитозаны и ХОС, образуемые при ферментативной деполимеризации хитозана 370 кДа при различных фермент-субстратных соотношениях

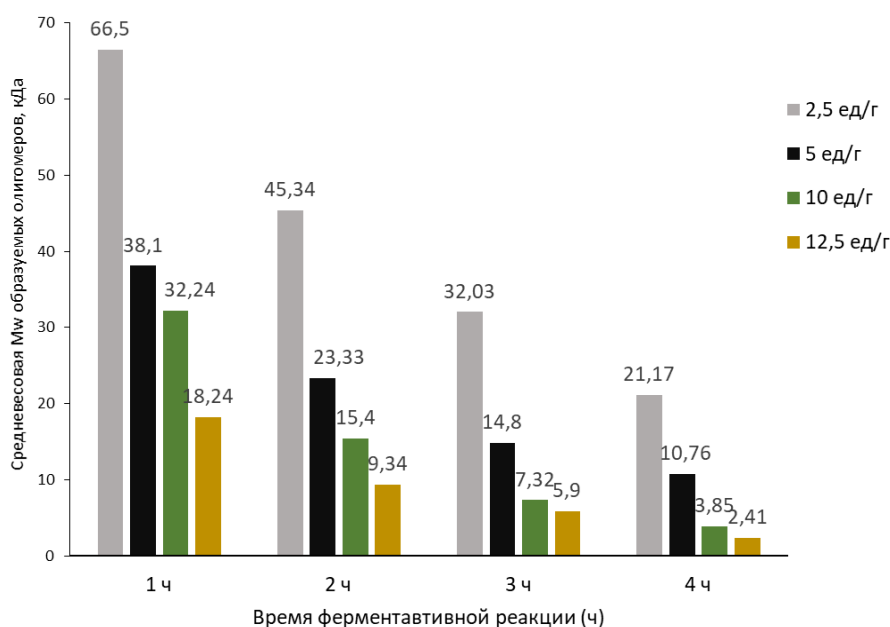


Рис. 1. Влияние фермент-субстратного соотношения и времени инкубации на средневесовую молекулярную массу олигомеров, образуемых при деполимеризации хитозана (СД ~ 85%) хитозаназой *B. thuringiensis* В-387

Результаты проведенных исследований показали, что фермент-субстратное соотношение и время инкубации являются критическими параметрами, определяющими глубину и скорость деполимеризации хитозана, позволяя получать при этом широкий спектр олигомеров с варьируемой молекулярной массой (рис. 1).

Так, при небольшом отношении фермент-субстрат (2.5 г/л) возможно получение водорастворимых хитозанов с $M_w \sim$ от 21 до 66 кДа и выходом до 40-45 мас.%. в зависимости от времени инкубации. 5-кратное увеличение концентрации хитозаназы приводило к значительному снижению молекулярной массы олигомеров до 2.4-18.2 кДа (выход 25-30%). Олигомеры с наименьшими значениями M_w (2.4-5.9 кДа) демонстрировали самую низкую антигрибную активность, при этом отмечалась тенденция повышения активности олигохитозанов с увеличением их молекулярной массы (рис. 2). Изменение температуры инкубации в пределах 40-70°C не приводило к

существенному изменению молекулярно-массовых характеристик образуемых олигомеров (14.5-27.1 кДа). Олигохитозаны с наименьшей массой образовывались при 60-65°C, несмотря на то, что температурный оптимум хитозаназы наблюдался при 55°C. В интервале pH 5-6 отмечалось образование олигомеров с $M_w \sim 18.2-38.1$ кДа, при pH < 6 отмечалось увеличение молекулярной массы продуктов реакции, а при pH 4.5 глубина деполимеризации заметно снижалась (M_w олигохитозана ~ 71.8 кДа), что объясняется резким падением активности фермента в этой области значений. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения хитозаназы *B. thuringiensis* ВКМ В-387 как для получения водорастворимых олигохитозанов с M_w в пределах 20-65 кДа, так и более низкомолекулярных олигомеров с массами до 10 кДа (2.4-9.3 кДа). Дальнейшие исследования будут направлены на более подробную оценку эффективности ферментативной конверсии хитозана и повышения выхода целевых олигомеров.

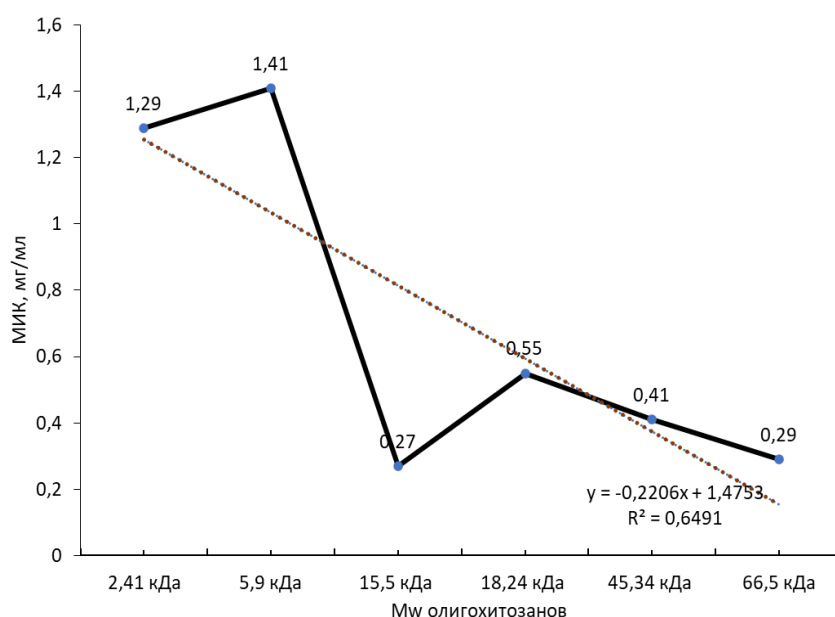


Рис. 2. Зависимость значений МИК полученных олигохитозанов против *B. sorokiniana* от их молекулярной массы (пунктиром показана линия тренда)

Список литературы

1. Gonçalves C., Ferreira N., Lourenço L. Production of low molecular weight chitosan and chitoooligosaccharides (COS): A Review. Polymers. 2021. 13(15):2466. <https://doi.org/10.3390/polym13152466>
2. Hamer S.N., Cord-Landwehr S., Biarnés X. et al. Enzymatic production of defined chitosan oligomers with a specific pattern of acetylation using a combination of chitin oligosaccharide deacetylases. Sci. Rep. 2015. 5:8716. <https://doi.org/10.1038/srep08716>
3. Bonin M., Sreekumar S., Cord-Landwehr S. et al. Preparation of defined chitosan oligosaccharides using chitin deacetylases. Int. J. Mol. Sci. 2020. 21(21):7835. <https://doi.org/10.3390/ijms21217835>
4. Aktuganov G., Lobov A., Galimzianova N. et al. Comparative potential of chitinase and chitosanase from the strain *Bacillus thuringiensis* B-387 for the production of antifungal chitosan oligomers. BioTech. 2025.14(2). 35. <https://doi.org/10.3390/biotech14020035>

УДК 547.458

РАЗРАБОТКА ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ КОРТИКОСТЕРОИДОВ НА ОСНОВЕ ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИТОЗАНА

Бокатый А.Н., Дубашинская Н.В., Скорик Ю.А.

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» –Институт высокомолекулярных соединений
199004, Россия, г. Санкт-Петербург, В. О. Большой пр. 31

Современные исследования в области химии высокомолекулярных соединений активно развивают направление, связанное с разработкой полимерных систем доставки биологически активных веществ. Особый интерес представляют природные полисахариды, такие как хитозан и его производные, гиалуроновая кислота (НА), декстран сульфат и хондроитин сульфат, благодаря их уникальным физико-химическим свойствам, включая биосовместимость, биоразлагаемость и способность к образованию полиэлектролитных комплексов (ПЭК).

Одной из ключевых проблем в создании эффективных систем доставки является преодоление физиологических барьеров, обусловленных компартментализацией тканей и наличием специализированных защитных механизмов. В случае офтальмологических препаратов низкая биодоступность связана с ограниченной проницаемостью гематоофтальмического барьера, включающего гемато-водный и гемато-ретиальный барьеры. Традиционные методы локального введения, такие как инстилляционная глазных капель, характеризуются низкой эффективностью из-за быстрого выведения препарата вследствие слезоотведения и носослезного дренажа. В связи с этим актуальной задачей является разработка полимерных носителей, обеспечивающих пролонгированное высвобождение, увеличение времени удержания на поверхности роговицы и направленную доставку активных соединений.

В данном исследовании представлен цикл работ, посвященный разработке офтальмологических систем доставки дексаметазона на основе функционализированных полисахаридов с целью улучшения его биодоступности и продолжительности действия, что в конечном итоге способствует улучшению лечебных результатов и удобству применения для пациентов с глазными заболеваниями [1].

Первым направлением было конъюгирование дексаметазона с сукцинил-хитозаном методом карбодиимидной активации для разработки интравитреальной системы доставки. Полученные конъюгаты показали медленный гидролиз амидных и сложноэфирных связей в синтезированных системах, что приводит к высвобождению 8-10% дексаметазона за 1 месяц, и значительный противовоспалительный эффект в моделях $\text{TNF}\alpha$ -индуцированного и LPS-индуцированного воспаления, подавляя экспрессию CD54 в клетках THP-1 в 2 и 4 раза соответственно [2].

Вторым направлением было включение дексаметазона в самособирающиеся частицы на основе амфифильных производных хитозана, содержащих фрагмент холестерина, для разработки системы местной доставки. Хитозан был модифицирован сукцинилхолестерином методом карбодиимидной активации с использованием EDC-

опосредованного конъюгирования. Полученные частицы обладают хорошей мукоадгезией, способны инкапсулировать 159-170 мкг/мг дексаметазона; высвобождают около 50% дексаметазона за 2 ч и 95% за 24 ч. Клеточная модель подтвердила, что загруженные дексаметазоном частицы не являются цитотоксичными и проявляют противовоспалительную активность сравнимую с чистым дексаметазоном [3].

Третьим направлением было получение частиц, содержащих дексаметазона фосфат (DexP), на основе поликатионов – хитозана и диэтиламиноэтилхитозана и полианионов – натриевых солей хондроитинсульфата, гиалуроната и декстрансульфата, дополнительно сшитых Zn^{2+} . Это наиболее перспективные биополимеры для применения в медицине благодаря их высокой биоразлагаемости и отличной биосовместимости. В результате различных модификаций был получен целый ряд полиэлектролитных комплексов, имеющих размер частиц от 90 нм до 360 нм, обладающих как положительным зарядом (от +24.4 мВ до 25.5 мВ), так и отрицательным зарядом (от - 19.5 мВ до - 27.5 мВ). Присутствие Zn^{2+} в системах значительно продлевает высвобождение DexP из гибридной полиэлектролитной частицы. Полученные профили высвобождения DexP соответствовали кинетической модели Пеппаса-Сахлина, которая учитывает совместное влияние диффузии Фика и релаксации полимерных цепей на скорость высвобождения препарата. Было показано, что замедление высвобождения DexP в основном связано с набуханием и релаксацией полимеров, сшитых Zn^{2+} . Полученные частицы обладали хорошими мукоадгезивными свойствами и выраженной противовоспалительной активностью [4-5].

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-75-20013.

Список литературы

1. Dubashynskaya, N.V.; Bokaty, A.N.; Skorik, Y.A. Dexamethasone Conjugates: Synthetic Approaches and Medical Prospects. *Biomedicines* 2021, 9, 341.
2. Dubashynskaya, N.V.; Bokaty, A.N.; Golovkin, A.S.; Kudryavtsev, I.V.; Serebryakova, M.K.; Trulioff, A.S.; Dubrovskii, Y.A.; Skorik, Y.A. Synthesis and Characterization of Novel Succinyl Chitosan-Dexamethasone Conjugates for Potential Intravitreal Dexamethasone Delivery. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 10960.
3. Dubashynskaya, N.V.; Golovkin, A.S.; Kudryavtsev, I.V.; Prihodko, S.S.; Trulioff, A.S.; Bokaty, A.N.; Poshina, D.N.; Raik, S.V.; Skorik, Y.A. Mucoadhesive cholesterol-chitosan self-assembled particles for topical ocular delivery of dexamethasone. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020, 158, 811–818.
4. Dubashynskaya, N.V.; Bokaty, A.N.; Trulioff, A.S.; Rubinstein, A.A.; Kudryavtsev, I.V.; Skorik, Y.A. Development and Bioactivity of Zinc Sulfate Cross-Linked Polysaccharide Delivery System of Dexamethasone Phosphate. *Pharmaceutics* 2023, 15, 2396.
5. Dubashynskaya, N.V.; Bokaty, A.N.; Trulioff, A.S.; Rubinstein, A.A.; Novikova V.P.; Petrova V.A.; Vlasova E.N.; Malkov A.V.; Kudryavtsev I.V.; Skorik Y.A. Delivery system for dexamethasone phosphate based on a Zn^{2+} -crosslinked polyelectrolyte complex of diethylaminoethyl chitosan and chondroitin sulfate, *Carbohydrate Polymers* 2025, 348, 122899.

УДК 577.114:579.61

АНТИМИКРОБНЫЕ КРИОГЕЛИ КАРБОКСИМЕТИЛХИТОЗАН-Zn(II)-ЦИПРОФЛОКСАЦИН

*Братская С.Ю.^{1,2}, Борода А.В.³, Богомаз Т.Т.², Привар Ю.О.¹, Майорова М.А.³,
Мальшиев Д.Д.³, Шиндина А.Д.², Скатова А.В.¹, Гончарук Р.А.²*

¹ Институт химии Дальневосточного отделения Российской академии наук
690022, Россия, г. Владивосток, пр. 100-летия Владивостока, 159

² Школа медицины и наук о жизни, Дальневосточный федеральный университет
690922, Россия г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10

³ «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского»
Дальневосточного отделения Российской академии наук
690041, Россия, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17

Местное применение антибиотиков широкого спектра действия с использованием полимерных систем доставки является многообещающей альтернативой их системному введению при лечении ран и имплантат-ассоциированных инфекций. Однако низкая и плохо контролируемая эффективность загрузки и быстрое высвобождение являются распространенными проблемами при применении материалов со слабыми физическими взаимодействиями между полимерной матрицей и загружаемым антибиотиком. В данной работе представлен способ получения биорезорбируемых криогелей с антимикробными свойствами, полученных за счет образования координационных связей между карбоксиметилхитозаном (КМХ), ионами цинка и ципрофлоксацином.

Антимикробная активность криогелей различного состава исследована по отношению к госпитальному штамму *Klebsiella oxytoca* #20. Показано, что подавление роста *K. oxytoca* #20 на 55% в суспензии достигается при концентрации ионов Zn^{2+} 150 мкг/мл, при этом жизнеспособность фибробластов не превышает 2% уже при концентрации Zn^{2+} 60 мкг/мл. За счет высокой устойчивости комплекса КМХ с ионами цинка криогели с высоким содержанием цинка (85 мг/г) не проявляют антибактериальных свойств и не являются цитотоксичными для фибробластов. Антибактериальный эффект композитных криогелей определяется количеством загруженного ципрофлоксацина. Цитотоксический эффект криогелей при высоких содержаниях Zn^{2+} и ципрофлоксацина также, наиболее вероятно, связан с подавляющим действием ципрофлоксацина на пролиферацию фибробластов при концентрации антибиотика в растворе более 20 мг/л. Установлено, что криогели, содержащие 20 мг/г Zn^{2+} могут быть нагружены ципрофлоксацином в количествах, достаточных для полного подавления роста микроорганизмов с МПК до 1 мкг/мл при сохранении уровня жизнеспособности фибробластов 85-90%.

УДК [547.458:539.216.2]:615.468

ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ХИТОЗАНОВЫХ ГИДРОГЕЛЕВЫХ ПЛЁНОК ДЛЯ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ ПОКРЫТИЙ С КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКОЙ ЛЕКАРСТВ

Власенко Н.С., Брюзгина Е.Б., Брюзгин Е.В.

Волгоградский государственный технический университет
400005, Россия, Волгоград, пр. им. Ленина, 28

В современной медицине существует острая необходимость в разработке новых материалов, которые могли бы обеспечить эффективное лечение ран. Эти материалы должны обладать рядом свойств, таких как способность поддерживать влажную среду, обеспечивать антимикробную защиту и контролируемую доставку лекарственных препаратов. Хитозан, благодаря своей биосовместимости и биоразлагаемости, представляет собой перспективный полимер для создания гидрогелевых плёнок.

Цель исследования заключается в изучении влияния концентрации сшивающего агента – глutarового альдегида, пластификатора – полиэтиленгликоля (ПЭГ) и желирующего агента – желатина на физико-механические и лиофильные свойства плёнок.

В ходе исследования проведен анализ структурно-поверхностных характеристик, водопоглощения, прочности, эластичности и биodeградации материалов. Результаты показали, что изменение соотношения аминокрупп хитозана к альдегидным группам (от 1:0.05 до 1:0.3) приводит к снижению эластичности и повышению хрупкости материала из-за образования жёсткой полимерной матрицы. При этом водопоглощение сшитых плёнок в кислотной форме возрастает в 5–6 раз по сравнению с несшитыми образцами. Это связано с изменением структуры: сшивание ограничивает подвижность макромолекул, но гидрофильные группы хитозана и ПЭГ усиливают связывание воды.

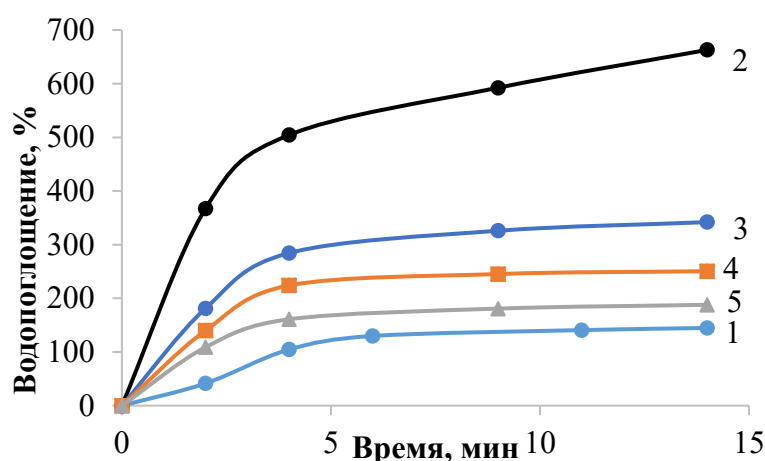


Рис. 1. Зависимость водопоглощения пленок хитозана, сшитых глutarовым альдегидом, при варьировании мольного соотношения аминокрупп и альдегидных групп $[NH_2] : [C=O]$ в образцах:
1 - 1:0.0 (основная форма); 2 - 1:0.05; 3 - 1:0.1; 4 - 1:0.2; 5 - 1:0.3

Добавление 20–30% ПЭГ повышает гибкость плёнок. Толщина плёнок также влияет на водопоглощение: увеличение с 100 до 300 мкм приводит к росту набухания на 150–200% за счёт увеличения свободного объёма и пористости.

Введение желатина в композитные плёнки усиливает их гидрофильность. Например, при добавлении 50–100% желатина от массы хитозана водопоглощение возрастает на 400–600%. Однако избыток желатина может нарушить однородность структуры, что требует оптимизации состава.

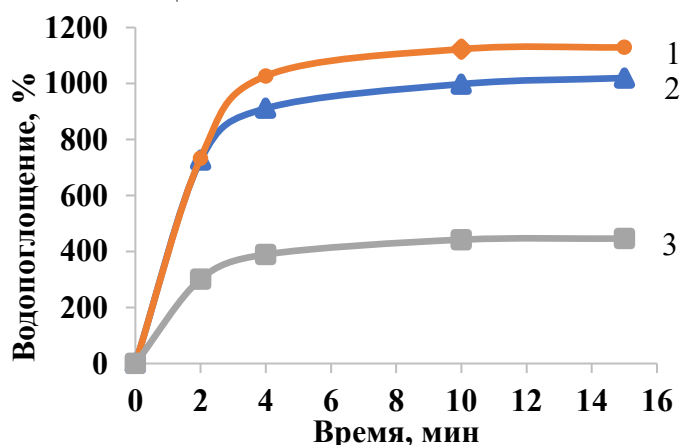


Рис. 2. Зависимость водопоглощения плёнки хитозана ($[\text{NH}_2] : [\text{C=O}] = 1:0.1$) от содержания (в масс. % от хитозана) желатина: 1 - 100%; 2 - 50%; 3 - 0%

Биодеградация плёнок изучалась в условиях почвенного разложения. Несшитые плёнки разлагаются на 90% за 80–90 суток, а сшитые в кислой форме — на 80% за 40 суток. Ускоренное разложение связано с использованием микроорганизмами уксусной кислоты, присутствующей в плёнках, в качестве питательного субстрата. Это делает материалы пригодными для краткосрочного применения (до 72 часов) в качестве раневых покрытий.

Таким образом, ключевые выводы исследования заключаются в следующем:

1. Сшивание глутаровым альдегидом повышает стабильность плёнок в условиях влажности, но требует баланса между прочностью и эластичностью.
2. ПЭГ и желатин улучшают гибкость и водопоглощение, однако их концентрация требует строгого контроля.
3. Оптимальные параметры для медицинского применения: соотношение $\text{NH}_2 : \text{C=O} = 1:0.1$, 20% ПЭГ, толщина 200–250 мкм, добавление 50–100% желатина.

Такие материалы перспективны для создания раневых покрытий с пролонгированным высвобождением антисептиков, антибиотиков и факторов роста. Эти материалы сочетают биосовместимость, контролируемую деградацию и способность поддерживать влажную среду, ускоряющую регенерацию тканей. Дальнейшие исследования могут быть направлены на модификацию поверхности плёнок для улучшения адгезии к ране и интеграции с биологически активными компонентами.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (проект №FZUS-2023-0003 на основании соглашения № 075-03-2023-055 от 13.01.2023 г.).

УДК 541.64:577.112.4

ТРОЙНЫЕ СОПОЛИМЕРЫ КОЛЛАГЕН–ХИТОЗАН–(МЕТ)АКРИЛОВЫЙ МОНОМЕР – МАТЕРИАЛ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ СКАФФОЛДОВ

*Гущина К.С., Губарева К.С., Лобанова К.С., Вавилова А.С., Кузнецова Ю.Л.,
Семенычева Л.Л.*

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского
603022, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Тканевая инженерия – быстро развивающаяся отрасль регенеративной медицины, направленная на создание искусственных структур, способных восстановить или заместить поврежденные ткани и органы. Одним из ключевых инструментов в тканевой инженерии являются скаффолды – искусственно созданные каркасы, служащие опорой для клеток и стимулирующие их размножение и организацию в функциональные ткани. Современные скаффолды изготавливаются из различных биоматериалов, таких как природные (коллаген, хитозан, гиалуроновая кислота, фибрин) и синтетические полимеры (полилактид, полигликолид, полиэтиленгликоль). Каждый материал обладает уникальными свойствами, влияющими на приживаемость клеток, формирование сосудистой сети и последующую интеграцию в организме пациента.

Существующие материалы зачастую сталкиваются с ограничениями. Коллаген, являясь основным компонентом внеклеточного матрикса, демонстрирует высокую биосовместимость и низкую иммуногенность, но натуральный коллаген обладает невысокой механической прочностью, а скорость его распада часто превышает темп регенерации ткани, что негативно сказывается на долговременной стабильности конструкции. Другим распространенным полимером природного происхождения в регенеративной медицине является хитозан, известный своими антибактериальными и гемостатическими свойствами, однако он также демонстрирует слабые механические свойства. В противоположность природным полимерам, синтетические демонстрируют достаточную механическую прочность, но у них отсутствуют участки для клеточной адгезии и, несмотря на то что синтетические полимеры обладают различным уровнем биоразлагаемости и биосовместимости, ни один полимер не обладает этими двумя свойствами на оптимальном уровне. Поиск идеального сочетания физических, химических и биологических свойств является одной из главных задач современного этапа развития тканевой инженерии. Чтобы преодолеть недостатки отдельных биоматериалов, ученые разработали концепцию гибридных (или композиционных) материалов. Этот подход предполагает комбинацию природных и синтетических полимеров, каждый из которых дополняет друг друга и компенсирует собственные недостатки.

Целью данного исследования является синтез и изучение свойств сополимеров, состоящих из коллагена, хитозана и (мет)акрилата (акриламид или метилметакрилат). В качестве инициатора при синтезе сополимеров был использован аминный комплекс триэтилбора, а также комплекс совместно с *n*-хиноном. Алкилбораны позволяют получать сополимеры коллагеновых и акриловых мономеров, а *n*-хинон способствует регулированию молекулярной массы привитого фрагмента.

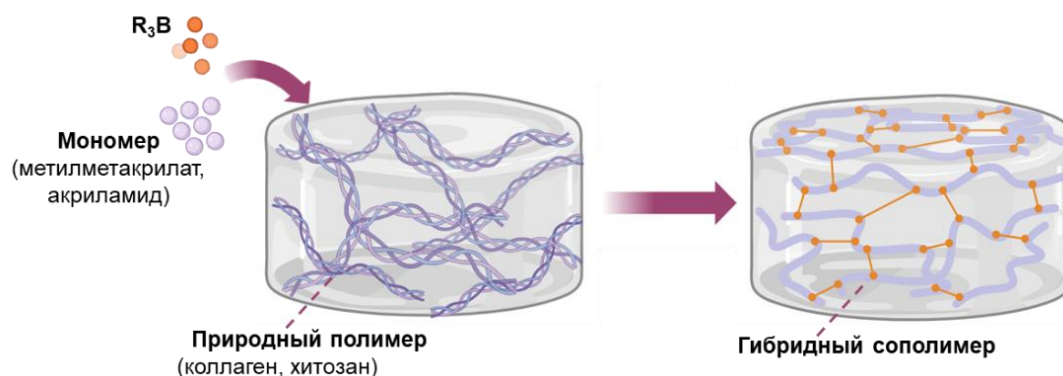


Рис. 1. Схематичное изображение формирования гибридного сополимера сшитой структуры

В данной работе были получены сополимеры коллагена, хитозана и акриламида, а также коллагена, хитозана и метилметакрилата в присутствии комплекса триэтилбор–гексаметилендиамин с использованием хитозанов трех типов. Установлено, что конверсия мономера зависит от типа используемого хитозана (табл. 1). Полученные сополимеры были исследованы с помощью ИК-спектроскопии, сканирующей электронной микроскопии и гель-проникающей хроматографии. Молекулярная масса привитого ПММА зависит от типа хитозана, а морфология сополимера коррелирует с молекулярной массой привитого фрагмента.

Таблица 1

Конверсия синтетической части в сополимерах при использовании различных хитозанов

Мономер	Тип хитозана	Конверсия мономера, %
Акриламид	Низкомолекулярный хитозан	94
	Высокомолекулярный хитозан	85
	Гелевый хитозан	8
Метилметакрилат	Низкомолекулярный хитозан	100
	Высокомолекулярный хитозан	93
	Гелевый хитозан	90

При повышенных концентрациях компонентов были получены гидрогели. Токсичность полученных гидрогелей была оценена с помощью МТТ-теста. Установлено, что без разбавления образцов ростовой средой они демонстрируют высокий ранг токсичности (ранг 3-4), разбавлением удается понизить ранг токсичности до 1, а в некоторых случаях до 0. Исключением стал образец сополимера коллагена, низкомолекулярного хитозана и метилметакрилата, который демонстрировал отсутствие токсичности и без разбавления (ранг 1) (рис. 2). Исследование способности к влагопоглощению показало, влагопоглощение составляет более 100% массы, которое фиксировалось уже после первых 30 минут опыта и в течение суток практически не изменялось.

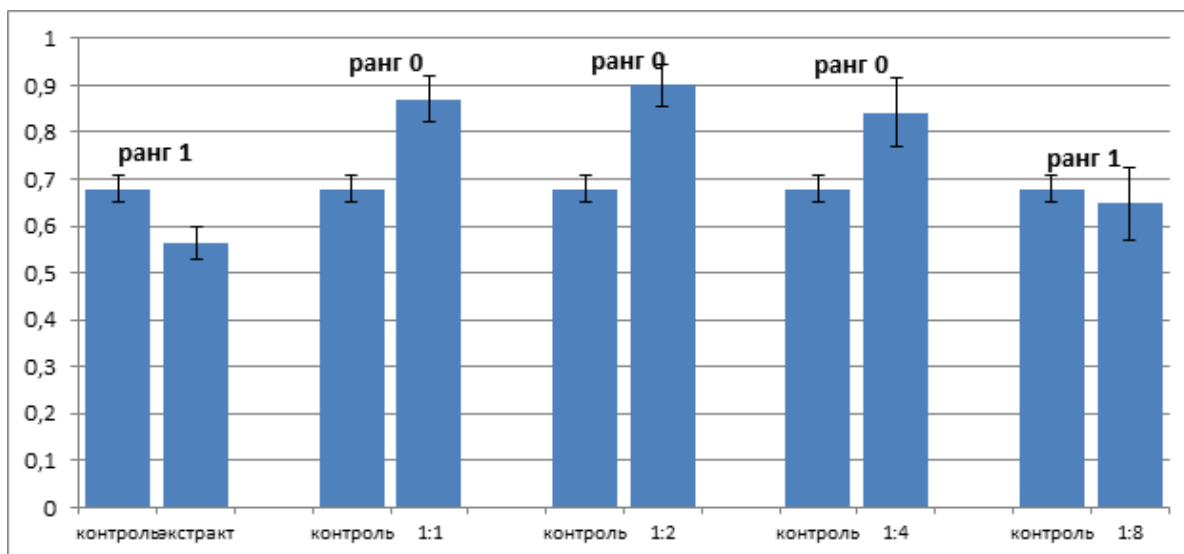


Рис. 2. Результаты цитотоксичности сополимера коллаген – низкомолекулярный хитозан – метилметакрилат

Были синтезированы образцы сополимеров в присутствии иницирующей системы триалкилбор – *n*-хинон с использованием хинонов различного строения: бензохинон, дурохинон, метил-*p*-бензохинон, 2,5-ди-трет-бутил-*p*-бензохинон и 2,6-ди-метокси-*p*-бензохинон. Наблюдается снижение конверсии мономера относительно сополимеров, синтезированных без использования хинона. Соплимеры были исследованы методами сканирующей электронной микроскопии и гель-проникающей хроматографии.

Таким образом, полученные сополимеры имеют потенциальное применение в регенеративной медицине.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Аналитический центр ИМХ РАН» и Центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского).

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (базовая часть государственного задания, проект № FSWR-2023-0025).

УДК 675.043

КРИОСТРУКТУРИРОВАННЫЙ МАТЕРИАЛ НА ОСНОВЕ СШИТОГО ВАНИЛИНОМ ХИТОЗАНА ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Делич М., Буторова И.А., Артюхов А.А., Кусков А.Н.

Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева
125047, Россия, г. Москва, Миусская площадь, 9, стр. 1

Природные и синтетические полимерные материалы играют важную роль в современном мире, находя применение в различных областях. Среди природных полимеров особое внимание привлекает хитозан, который широко используется в биомедицине. Материалы на основе хитозана, представленные в различных формах, таких как аэрогели, гидрогели, плёнки и нити, широко исследуются в мире, и находят все более активное применение в медицинской практике.

Одним из инновационных решений в области антибактериальных и гемостатических материалов является хитозановая губка. Этот материал обладает пористой структурой, что позволяет ему эффективно впитывать кровь, а также демонстрирует стабильные механические свойства. На основе хитозана можно производить различные типы губок, включая аэрогели, гидрогели, криогели (или криоструктураты). Каждый из этих материалов имеет свой уникальный набор свойств, характеристики и область применения, что делает их перспективной основой для биомедицинских продуктов для ранозаживления, остановки кровотечений и других целей.

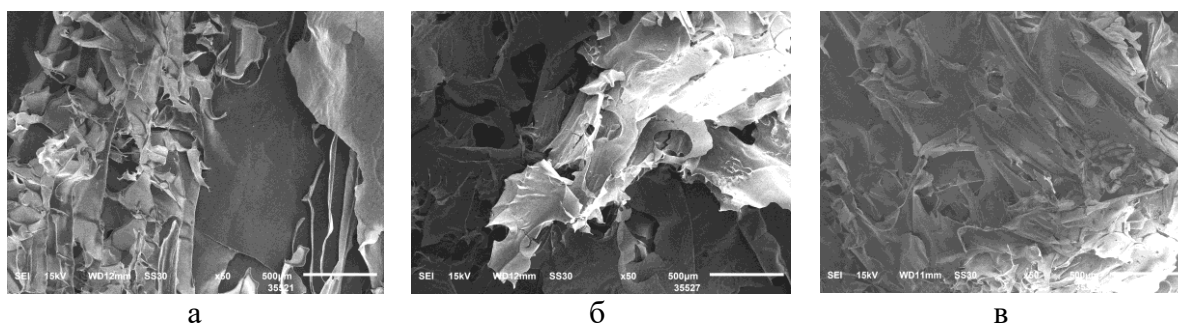
Криоструктураты представляют собой макропористые гетерофазные гели, которые производятся путём многократного замораживания и оттаивания реакционной смеси, с последующей лиофильной сушкой. Основным условием для формирования криоструктуратов является кристаллизация основного объёма низкомолекулярного растворителя, такого как вода.

В рамках данного исследования был разработан метод создания криоструктурированного материала на основе хитозана, химически сшитого ванилином, для последующего изучения его свойств и перспектив использования в биомедицине. В работе применяли хитозан с молекулярной массой 201 кДа, определенной вискозиметрическим методом, и степенью деацетилирования 97 %, определенной с помощью титрования, при анализе исходного сырья. Внешний вид полученных образцов нового материала представлен ниже:



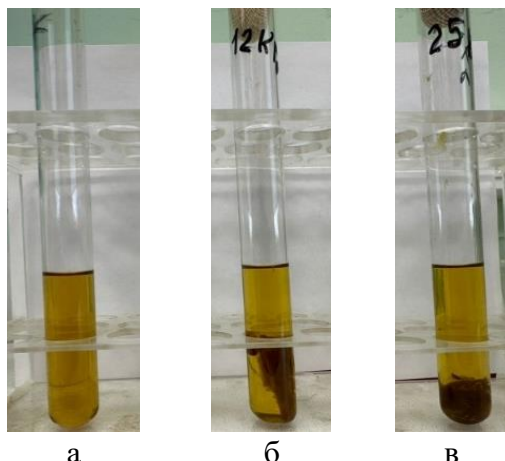
Поскольку разработанный материал планируется к применению в медицине, а именно, для получения раневых покрытий, гемостатиков, матриц для регенерации тканей, необходимо добиться его стерильности. Для этого в работе исследовали влияние гамма-излучения на свойства и структуру полученного криоструктурата. Образцы материала подвергались облучению на установке, оснащенной рентгеновской трубкой 5БХВ6 – W, которая имеет частичную защиту от неиспользуемого рентгеновского излучения. Установка имеет один рабочий пучок излучения. Мощность дозы, измеренная дозиметром Фрикке, составляла 3 Гр/с (рабочие параметры трубки: сила тока $I = 50$ мА и напряжение $U = 40$ кВ). Облучение проводилось в дозах 12 кГр и 25 кГр при времени воздействия рентгеновских лучей 33,3 минуты.

Сканирующая электронная микроскопия была использована для изучения структуры образцов после процесса стерилизации. Исследования показали, что никаких изменений в структуре образцов не наблюдалось, что подтверждает устойчивость полученной криоструктуры к воздействию радиационного облучения. Микрофотографии криоструктуратов хитозана при облучении: а) без облучения; б) 12 кГр; в) 25 кГр, представлены ниже:



Предварительные санитарно-химические исследования образцов криоструктурата до и после радиационного облучения показали, что изменение значения рН водных вытяжек образцов не превышает предельно допустимые значения. При этом наблюдается практически полное отсутствие в исследуемых пробах потенциально опасных примесей (формальдегида, бензола, фенола, метилового и н-бутилового спиртов, и т.д.), что позволяет сделать вывод о высокой химической стойкости разработанного материала.

Стерильность образцов после облучения проверяли в соответствии с ОФС 1.2.4.003.15 «Стерильность» ГФ IV методом прямого посева в жидкой питательной среде, следующего состава, г/л: пептон – 10.0; дрожжевой экстракт – 5.0; NaCl – 5.0. рН среды 6.8-7.0. Испытуемые образцы массой 70 мг вносили в пробирки с 20 мл стерильной питательной среды и инкубировали в термостате при $32.0 \pm 2.5^\circ\text{C}$ в течение 14 суток. Контролем служила пробирка со стерильной питательной средой. В процессе инкубации посеvy регулярно просматривали. Отсутствие помутнения среды через 14 суток инкубирования (а – контроль; б – 12 кГр; в – 25 кГр), показанное на рисунке ниже, свидетельствует о стерильности исследуемых образцов.



Для оценки антимикробной активности нового материала на основе хитозана по отношению к наиболее распространенным тест-штаммам микроорганизмов использовали метод диффузии в агар и метод оценки роста в жидкой среде по МУК 4.2.1890-04. Выявлена избирательная антимикробная активность материала против штамма *Staphylococcus aureus*, что открывает перспективы его применения в качестве селективного антимикробного средства.

Таким образом, в процессе исследования была разработана принципиальная схема получения криоструктурата на основе сшитого хитозана, определены его основные свойства и показано, что материал сохраняет стерильность, первоначальную структуру и состав, что делает его потенциальной основой для продуктов для биомедицины, фармацевтики, пищевой и косметической промышленности.

В настоящее время для оценки биосовместимости полученного материала на основе сшитого ванилином хитозана проводится оценка токсичности опытных образцов с помощью экспресс-методов (изучение гемолитической активности; определение острой токсичности; определение индекса токсичности при воздействии на биологический тест-объект); изучение общетоксического действия после имплантации материала в хроническом эксперименте на белых крысах (физиологические показатели; клинико-биохимические показатели крови); изучение сенсибилизирующего действия образцов *in vivo*.

Кроме того, проводится изучение гематостатической активности новых криоструктуратов хитозана *in vivo*, для оценки влияния материала на систему гемостаза, и перспективы разработки новых высокоэффективных средств остановки кровотечений на его основе.

УДК 547.458: 615.453.3.014.6

ВЛИЯНИЕ ПОКРЫТИЙ ИЗ ХИТОЗАНА НА МОРФОЛОГИЮ И СВОЙСТВА ГЕЛЕЙ ИЗ АЛЬГИНАТА

Демина Т.С.^{1,2}, Попырина Т.Н.¹, Аксенова Н.А.^{2,3}, Иванов П.Л.⁴, Минаев Н.В.⁵

¹ Московский авиационный институт (научный исследовательский университет)
125993, Россия, г. Москва, Волоколамское шоссе, 4

² Институт регенеративной медицины Первого Московского государственного
медицинского университета им. И.М. Сеченова
119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8-2

³ Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН
119991, Россия, Москва, ул. Косыгина, 4

⁴ Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН
117393, Россия, Москва, ул. Профсоюзная, 70

⁵ Институт фотонных технологий КККиФ НИЦ «Курчатовский институт»
119333, Россия, Москва, Ленинский проспект, 59

Покрытия из хитозана широко применяют в медицине при создании материалов для тканевой инженерии и/или доставки лекарственных веществ. Во многих случаях такие покрытия наносят для повышения биосовместимости изделия-подложки, но покрытия также могут обеспечивать пролонгированное выделение биоактивных веществ из материала. Создание лекарственных форм на основе биodeградируемых полимеров с пролонгированным высвобождением активных компонентов является одной из ключевых задач фармацевтической промышленности, т.к. позволяет уменьшить кратность приема лекарств и поддерживать концентрацию биоактивного соединения в рамках терапевтического окна. Одной из наиболее перспективных форм для иммобилизации биоактивных веществ являются различные гели на основе полисахаридов, которые обеспечивают не только диффузионный контроль высвобождения, но и способны к биорезорбции. Однако для гидрогелевых форм доставки особенно характерно ускоренное высвобождение компонентов в начальный момент времени. Нанесение покрытий, в т.ч. из хитозана, на поверхность гидрогелей является перспективным подходом к контролю кинетики высвобождения компонентов.

Цель работы заключалась в исследовании влияния покрытия из хитозана на морфологию и свойства различных гелей из альгината, в т.ч. на скорость высвобождения низкомолекулярных компонентов.

Гидрогели из альгината в форме сферических частиц получали путем капельного добавления 1% водного раствора альгината натрия в 2 мас.% водный раствор хлорида кальция. После очистки от избытка ионов дистиллированной водой, часть образцов дополнительно выдерживали в 2% уксуснокислом водном растворе хитозана (ММ 350 кДа, СД 0.86, «Сонат», Россия) и промывали дисциллированной водой. Полученные гели из альгината, в т.ч. дополнительно покрытые хитозаном, сушили в комнатных условиях (ксерогели), лиофильно после заморозки в жидком азоте (криоструктурированные гели)

и методом сверхкритической сушки в диоксиде углерода (аэрогели). Исследовано влияние метода сушки и наличия покрытия из хитозана на усадку образцов. Морфологию гелей исследовали с помощью оптической и электронной микроскопии с использованием сканирующего электронного микроскопа PhenomProX (Thermo Fisher Scientific, США), которая показала, что образцы, покрытые хитозаном, имели более развитую поверхность. Влияние процесса гелирования альгината и нанесения покрытия из хитозана на химическую структуру исследовали с помощью ИК-спектроскопии с использованием Spectrum Two FT-IR Spectrometer (PerkinElmer, США) в режиме МНПВО. ИК-спектроскопия показала, что спектры образцов гелей с/без покрытия из хитозана практически идентичны и различаются только по форме огибающей полос поглощения амида/амин в хитозане и карбоксильных групп в альгинате в диапазоне 1550-1650 см⁻¹. Химический состав поверхности гелей дополнительно исследовали с помощью энергодисперсионной спектроскопии, которая показала наличие азота на поверхности образцов, покрытых хитозаном. Исследование скорости высвобождения модельного соединения – кармина - из полученных гелей, проведенное фотометрически с помощью фотометра КФК - 3 – «ЗОМЗ» (АООТ "Загорский оптико-механический завод" (ЗОМЗ), г. Сергиев Посад, Россия) по оптической плотности при 500 нм аликвот воды, в которых выдерживались гели, показало пролонгированное высвобождения красителя из образцов, покрытых хитозаном.

УДК 544.77

ХИТОЗАН КАК СТАБИЛИЗАТОР ЭМУЛЬСИЙ ПИКЕРИНГА

Деркач С.Р., Колотова Д.С., Кучина Ю.А.

ФГАОУ ВО «Мурманский арктический университет»
183038, Россия, г. Мурманск, ул. Капитана Егорова, 15

Разработка концентрированных эмульсионных систем, востребованных для создания широкого спектра пищевых продуктов, представляет собой актуальную задачу современной коллоидной химии [1]. Традиционно стабилизация таких эмульсий осуществляется посредством применения поверхностно-активных веществ (ПАВ), однако существенную роль в обеспечении устойчивости эмульсий способны играть также твёрдые дисперсные частицы. Эмульсии, стабилизированные твердыми частицами, или эмульсии Пикеринга по сравнению с традиционными эмульсиями, стабилизированными ПАВ, при правильном подборе стабилизирующих частиц являются экологически чистыми, имеют низкую себестоимость и высокую стабильность, позволяющую увеличивать срок годности систем [2]. В пищевой индустрии часто применяются частицы хитозана благодаря их безопасности и совместимости с пищевыми продуктами [3].

Целью данной работы является создание устойчивых концентрированных эмульсий Пикеринга, стабилизированных частицами хитозана, и изучение их устойчивости и реологических характеристик в широком интервале pH и концентраций хитозана.

В работе определен дзета-потенциал и размер частиц хитозана в водных дисперсиях при различных pH методом динамического рассеяния света с использованием многоугольного анализатора размера частиц и дзета-потенциала Photocor-ZI (Photocor, Россия). Было показано, что при $\text{pH} = 3$ частицы хитозана полностью растворены. При увеличении pH происходит депротонирование аминогрупп, вследствие чего дзета-потенциал уменьшается (рис. 1а). При $\text{pH} \approx 7$ значение дзета-потенциала равно нулю и заряды полностью скомпенсированы, вследствие чего при $\text{pH} \geq 7$ наблюдается агрегация частиц хитозана. При $\text{pH} < 7$ дзета-потенциал положителен и гидрозо́ль хитозана с размером частиц от 150 до 300 нм агрегативно устойчив (рис.1б). При увеличении pH и переходе в щелочную область число частиц растет, образуются межмолекулярные и водородные связи, а депротонирование увеличивает вероятность вовлечения частиц в образование агрегатов большого размера, вследствие чего размер частиц увеличивается. Таким образом при превышении $\text{pH} \approx 7$ суспензия частиц перестает быть агрегативно устойчивой, что приводит к агрегации значительной части частиц, присутствующих в растворе.

Получены прямые эмульсии, стабилизированные частицами хитозана при различных pH и концентрациях хитозана, методом диспергирования с использованием диспергатора T 25 digital Ultra-Turrax (IKA, Германия) при скорости диспергирования 10000 об/мин в течение 10 минут при комнатной температуре. Объемное соотношение масляной и водной фазы составляло 1:1. Концентрированные эмульсии получали методом обратной седиментации. Исследовали кинетику разрушения эмульсий путем измерения объема выделившейся водной фазы в течение 3-х недель наблюдений. Для эмульсий, приготовленных при pH от 3 до 5, наблюдалась более высокая скорость

седиментации, активное выделение водной фазы наблюдалось в течение первых суток. Для эмульсий с рН выше 5 скорость седиментации значительно не изменялась, что свидетельствует о более высокой седиментационной устойчивости, при этом концентрация эмульсий варьируется в диапазоне от 53 до 71%.

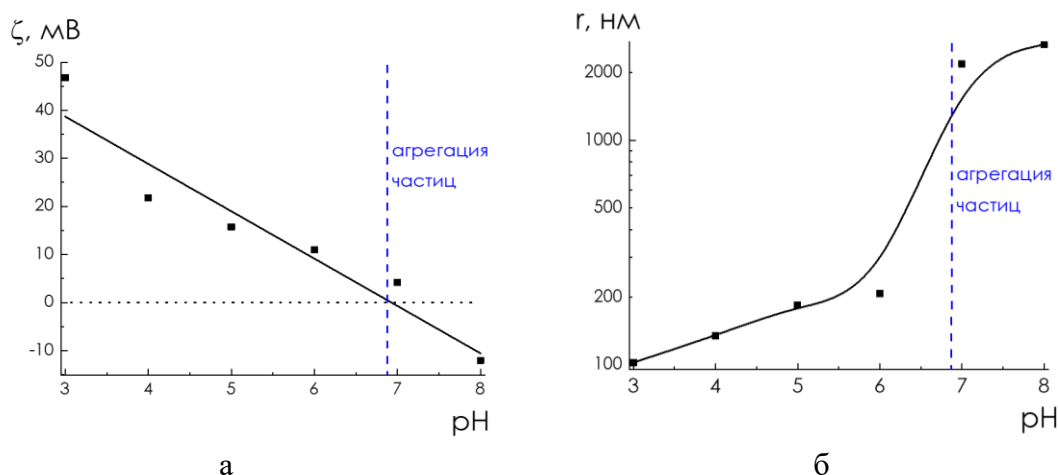


Рис. 1. Зависимость дзета-потенциала (а) и среднего гидродинамического радиуса частиц (б) от рН растворов хитозана в 1.5% уксусной кислоте. $C_{\text{хитозана}} = 0.5\%$

Показано, что при концентрациях хитозана от 0.1 до 0.3% скорость седиментации падает, при этом эмульсии с концентрацией $\geq 0.4\%$ имеют более высокую седиментационную устойчивость. Концентрация эмульсий варьируется в диапазоне от 59 до 67%. Было показано, что агрегативно устойчивыми являются эмульсии при $\text{pH} \geq 6$.

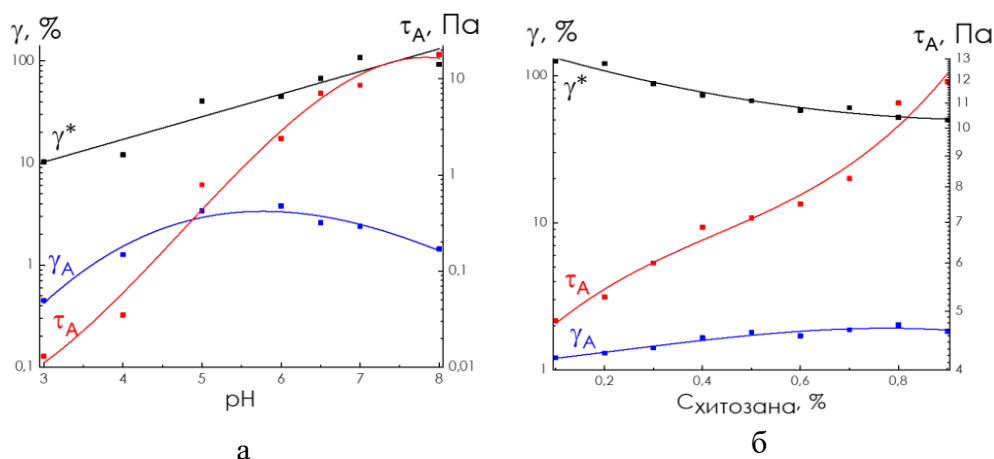


Рис. 2. Зависимость границы области линейной вязкоупругости γ_A , критической амплитуды деформации γ^* и предела текучести τ_A от рН (а) и концентрации хитозана при рН = 6.5 (б). $T = 23^\circ\text{C}$. $\omega = 1$ рад/с

Исследованы реологические свойства концентрированных эмульсий масло/вода, стабилизированных хитозаном, методом объёмной сдвиговой реологии с использованием реометра MCR 302 (Anton Paar, Австрия) в широком диапазоне частот и амплитуд нагружения через 14 суток после приготовления эмульсий. Анализ вязкоупругих свойств показывает, что при высоких рН реологические параметры имеют

более высокие значения, что говорит о повышении прочности систем с увеличением pH (рис. 2а). С увеличением концентрации хитозана значения границы вязкоупругости и предела текучести увеличиваются, что говорит о повышении устойчивости к деформациям и прочности структур (рис. 2б). Однако критическая амплитуда деформации и модуль накопления на плато, напротив, падают, что свидетельствует об уменьшении прочности.

Таким образом, показана возможность регулирования реологических свойств эмульсий Пикеринга, стабилизированных частицами хитозана, путем изменения pH и концентрации стабилизатора. Определена область pH (6.0 – 6.5) и концентраций хитозана ($C = 0.4 - 0.8\%$), при которых эмульсии характеризуются высокими значениями реологических параметров (предел текучести, модуль упругости, критическая амплитуда деформации).

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 25-16-00064.

Список литературы

1. Weiss, J., Ahmad, T., Zhang, C., & Zhang, H. A review of recent progress on high internal-phase Pickering emulsions in food science //Trends in Food Science & Technology. – 2020. – Т. 106. – С. 91-103.
2. Abdul Hadi N. et al. Exploring particle-based stabilisation of Pickering emulsions in food, aquaculture, and industrial applications //International Journal of Food Science and Technology. – 2024. – Т. 59. – №. 10. – С. 6834-6855.
3. Novikov, V. Y., Derkach, S. R., Kononova, I. N., Dolgopyatova, N. V., & Kuchina, Y. A. (Mechanism of heterogeneous alkaline deacetylation of chitin: A review // Polymers. – 2023. – Т. 15. – №. 7. – С. 1729.

УДК 615.331

ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОЙ ДОСТАВКИ КОЛИСТИНА: ПОВЫШЕНИЕ БИОДОСТУПНОСТИ И СНИЖЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ

Дубашинская Н.В.¹, Боровской А.Ю.¹, Бокатый А.Н.¹, Журавский С.Г.², Скорик Ю.А.¹

¹ Филиал федерального государственного бюджетного учреждения
«Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального
исследовательского центра «Курчатовский институт» – Институт
высокомолекулярных соединений
199004, Россия, г. Санкт-Петербург, Большой проспект ВО, 31

² Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова
197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

Рост множественной лекарственной устойчивости среди грамотрицательных микроорганизмов, относящихся к группе ESKAPE-патогенов, представляет собой одну из наиболее серьезных угроз для современного здравоохранения. В условиях ограниченного арсенала эффективных антимикробных средств колистин (СТ) сохраняет статус препарата резерва для терапии инфекций, вызванных полирезистентными штаммами, благодаря высокой бактерицидной активности и относительно низкому уровню развития резистентности. Однако его клиническое применение сопряжено с рядом существенных ограничений, включая выраженную нефро- и нейротоксичность, необходимость применения высоких доз, а также низкую биодоступность при пероральном приеме. Дополнительным фактором риска является распространение плазмид-ассоциированного гена устойчивости *mcr-1*, обусловленное нерациональным использованием антибиотиков. В этой связи разработка новых стратегий доставки антимикробных агентов, в частности, наноантибиотиков на основе биополимерных носителей, приобретает особую актуальность.

Целью настоящего исследования являлась разработка полиэлектролитных комплексов (ПЭК) для пероральной доставки колистина, направленная на повышение его биодоступности и снижение системной токсичности. В качестве поликатионного компонента был использован конъюгат хитозана (средневязкостная мол. масса 37 кДа, степень деацетилирования 74%) с цианокобаламином (CSB12), где витамин B12 выполнял функцию таретинг-лиганда для усиления рецептор-опосредованного транспорта через кишечный барьер. Полианионными компонентами выступили сульфатированные полисахариды: хондроитин-4-О-сульфат (средневязкостная молекулярная масса 18 кДа, содержание серы 7%) и κ/β -каррагинан (содержание серы 4.8%, вязкость 1% раствора 969 сП).

Полученные методом полиэлектролитной конденсации наночастицы характеризовались гидродинамическим диаметром в диапазоне 140–400 нм и ζ -потенциалом от –35 до +30 мВ, демонстрируя 100% эффективность инкапсулирования колистина. Исследование кинетики высвобождения *in vitro* выявило существенные различия между системами: ПЭК на основе хондроитинсульфата (CHS-СТ-CSB12) обеспечивали высвобождение 70% антибиотика в течение 1 ч при pH 1.6 с последующим кумулятивным выходом до 80% за 6 ч в средах с pH 6.5 и 7.4, тогда как ПЭК с

каррагинаном (CRG-CT-CSB12) проявляли пролонгированный профиль с высвобождением лишь 20% колистина за 24 ч.

Оценка антимикробной активности в отношении *Pseudomonas aeruginosa* показала, что МИК инкапсулированного в CHS-CT-CSB12 колистина (1 мкг/мл) соответствовала таковой для свободного антибиотика. При этом в суб-МИК концентрациях (0.25 мкг/мл) полимерные частицы подавляли рост бактерий на 50%, в отличие от незначительного эффекта свободной формы. Наноформы на основе каррагинана также продемонстрировали усиленную активность (МИК 0.5 мкг/мл), что свидетельствует о синергизме между носителем и антибиотиком.

Ключевым достижением стало значительное улучшение кишечной проницаемости за счет рецептор-опосредованного транспорта: коэффициенты кажущейся проницаемости (P_{app}) для наноинкапсулированного колистина варьировались от 1.1×10^{-6} до 7.4×10^{-6} см/с, что соответствует прогнозируемой пероральной биодоступности 80–100%. Важно отметить, что ПЭК CRG-CT-CSB12 *in vitro* не проявляли цитотоксичности в отношении линий НЕК 293 (модель нефротоксичности) и Т-98G (модель нейротоксичности), а исследования *in vivo* на крысах линии Wistar подтвердили их стабильность в системном кровотоке и отсутствие острой токсичности при внутривенном введении.

Полученные данные обосновывают перспективность разработанных ПЭК для создания безопасных и эффективных наноантибиотиков на основе колистина. Дальнейшие исследования должны быть направлены на оценку *in vivo* антимикробной эффективности и фармакокинетики пероральных форм, что открывает новые возможности для преодоления антибиотикорезистентности и минимизации побочных эффектов терапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-73-20157-П).

УДК 67.050

РАЗРАБОТКА НОВЫХ АНТИСЕПТИКОВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ ЗАЩИТЫ ПРОИЗВЕДЕНИЙ ЖИВОПИСИ ОТ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ

*Жгун А.А.¹, Ермолюк А.А.¹, Авданина Д.А.¹, Бенько Е.Е.^{1,2}, Баширова К.Я.^{1,2},
Шагдарова Б.Ц.¹, Луньков А.П.¹, Жуйкова Ю.В.¹, Ильина А.В.¹, Жгун Е.С.³,
Ежова А.М.^{1,4}, Лопатин С.А.¹, Варламов В.П.¹*

¹ ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»
119071, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2

² ФГАОУ ВО «Московский Политехнический университет»
107023, Россия, г. Москва, ул. Большая Семёновская, 38

³ ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю. М. Лопухина ФМБА России,
119435, Россия, г. Москва ул. Малая Пироговская, 1а

⁴ ФГБОУ ВО «Российский государственный университет им. А.Н. Косыгина (Технологии. Дизайн. Искусство)»
117997, Россия, г. Москва, ул. Садовническая, 33, стр. 1

Произведения живописи подвержены биопоражению в результате активности специализирующихся микроорганизмов-деструкторов, важнейшими из которых являются мицелиальные (или плесневые) грибы. Важнейшая стратегия борьбы с такими микроорганизмами связана с превентивными мерами, в частности, с установлением необходимого температурно-влажностного режима, при котором невозможен их рост. Однако в случаях, когда произошло микробиологическое поражение, для произведений живописи требуется дополнительная обработка, включающая, в том числе, применение антисептиков. В последние годы палитра антисептиков, совместимых с живописными материалами, значительно сократилась. Это связано с тем, что многие применявшиеся соединения были изначально разработаны для медицины, сельского хозяйства, других отраслей, но не для защиты живописи. И со временем часть этих соединений изъяли из употребления вследствие взаимодействия с материалами, используемыми в живописи, и/или высокой токсичности для посетителей и реставраторов [1, 2]. С другой стороны, повсеместное использование всего лишь нескольких антисептиков для защиты живописи привело к возникновению резистентности у ряда микроорганизмов-деструкторов, что значительно снижает эффективность обработок.

В этой связи актуальной задачей является разработка антисептиков нового поколения, эффективно работающих в составе живописных материалов против микроорганизмов, инертных к этим материалам и нетоксичные для людей. Оказалось, что такими свойствами могут обладать варианты низкомолекулярного хитозана. В нашей работе изучили антисептические свойства хитозанов, выделенных в результате химического гидролиза из 4-х альтернативных источников, камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*), креветки розовой (*Parapenaeus longirostris*), мухи чёрная львинка (*Hermetia illucens*) и сверчка домашнего (*Acheta domesticus*). Для хитозана,

выделенного из краба, также изучили работу кватернизированных аналогов, таких как метилимидазолтриазолхитозан (ГТМИ), метилпиперидинтриазолхитозан (ГТМП), триметилхитозан (ТМХ), триметилтриазолхитозан (ГТТМ). Активность изучили против штаммов плесневых грибов-деструкторов темперной живописи, 12 из которых изолировали в Государственной Третьяковской галерее (Лаврушинский переулок, 10, Москва) с разрешения главного хранителя музейных ценностей Городковой Татьяны Семеновны [3] и 15 изолировали в храме Светлого Христова Воскресенья Владимирской области, Петушинского района, село Воскресенье по просьбе и под наблюдением настоятеля храма, отца Димитрия.

В качестве положительного контроля использовали применяемые в художественной реставрации антисептики Катамин АБ и пентахлорфенолят натрия. Тест-культуры инокулировали на агаризованную среду Чапека-Докса с добавлением вариантов хитозанов или стандартных антисептиков или без добавок (контроль). Эффективность ингибирования определяли по диаметру радиального роста колоний в опытных образцах по отношению к росту в контроле. Измерение проводили в течение 5-7-ми недель. Показали, что низкомолекулярные хитозаны, выделенные из краба, эффективно подавляют рост многих изученных грибов-деструкторов темперной живописи [4, 5]. У кватернизированного производного ТМХ возникает высокая активность против *Mucor circinelloides* STG-30, изолята из Третьяковской галереи. В ряду хитозанов с молекулярной массой (ММ) 6-90 кДа наибольшая активность проявилась для вариантов с ММ в диапазоне 25-45 кДа. Такую тенденцию наблюдали для хитозанов, выделенных их всех 4-х изученных источников [6]. При этом выявили корреляцию между увеличением степени деацетилирования и увеличением активности хитозанов в рядах: из *P. camtschaticus* с ММ 34, 41, 48, 63 и 94 кДа; из *P. longirostris* с ММ 36, 42, 48, 78 и 102 кДа, из *H. illucens* с ММ 27, 33, 34, 60 и 81 кДа; из *A. domesticus* с ММ 26, 29, 34, 56 и 90 кДа. Тренды снижения активности с увеличением ММ в этих рядах были сходны между ракообразными (краб, креветка) и насекомыми (муха, сверчок); у насекомых с увеличением ММ активность падала значительно быстрее, чем у ракообразных. Среди ракообразных наибольшую антимикробную активность обнаружили после добавления хитозана из креветки с ММ 42 кДа, а среди насекомых – после добавления биополимера, выделенного из мухи с ММ 24 кДа. Эти два соединения использовали для экспериментальной обработки, в конце октября 2024, части иконостаса в храме Светлого Христова Воскресенья, являющегося объектом культурного наследия. Иконостас этого храма, площадью около 80 м², подвергся биопоражению в результате отсутствия возможности поддерживать оптимальной температурно-влажностный режим в зимнее время. В настоящее время поведутся работы по оценке эффективности работы хитозанов на фоне обработки, проведенной стандартными антисептиками в остальной части иконостаса и храма.

Полученные в нашей работе данные показывают, что низкомолекулярные хитозаны являются перспективными соединениями для защиты произведений живописи от биопоражения.

Список литературы

1. Ciferri O. Microbial degradation of paintings // Appl. Environ. Microbiol. Appl Environ Microbiol, 1999. Vol. 65, № 3. P. 879–885.
2. Gordon D. How dangerous is pentachlorophenol? // Med. J. Aust. Med J Aust, 1956. Vol. 43, № 13. P. 485–488.
3. Zhgun A. et al. Detection of potential biodeterioration risks for tempera painting in

16th century exhibits from State Tretyakov Gallery // PLoS One. Public Library of Science (PLoS), 2020. Vol. 15, № 4. P. e0230591.

4. Zhgun A.A. et al. Search for Efficient Chitosan-Based Fungicides to Protect the 15th–16th Centuries Tempera Painting in Exhibits from the State Tretyakov Gallery // Microbiol. (Russian Fed. 2020. Vol. 89, № 6. P. 750–755.

5. Zhgun, A. et al. The Application of Chitosan for Protection of Cultural Heritage Objects of the 15–16th Centuries in the State Tretyakov Gallery. Materials 2022, 15, 7773.

6. Ermolyuk et al. Search for new materials based on chitosan for the protection of cultural heritage // Heritage Science 2024. Vol. 12:330. P. 1–14.

УДК 582.284:582.29

ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИЕ ГРИБЫ И ЛИШАЙНИКИ КАК ИСТОЧНИКИ ХИТИНСОДЕРЖАЩИХ СОРБЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ

Жильцов Д.В., Бровко О.С., Бойцова Т.А., Слобода А.А., Ивахнов А.Д.

Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики им. академика
Н.П. Лаверова УрО РАН
163020, Россия, г. Архангельск, проспект Никольский, 20

Дереворазрушающие грибы и лишайники являются перспективными возобновляемыми источниками для получения лишайниковых кислот, хитина, лихенана, меланинов, глюканов, лигнина и других биологически активных веществ. Известно, что хитин грибного происхождения обладает свойствами комплексообразователя, способного прочно связывать экзогенные и эндогенные токсины во внутренних средах организма человека, в том числе эндотоксины малой и средней молекулярной массы, а также катионы тяжелых металлов и радионуклидов. Кроме того, хитин в клеточных стенках грибов и лишайников образует прочно связанные комплексы с другими полисахаридами (глюканы, целлюлоза и гемицеллюлозы) и полифенолами (меланин и лигнин). Хитинсодержащие комплексы (ХСК) грибов и лишайников проявляют более высокую, чем у чистого хитина, хелатообразующую способность благодаря специфическому стерическому размещению amino- и гидроксильных групп в комплексе. Кроме того, другие полисахариды (глюкан, целлюлоза и гемицеллюлозы), входящие в состав комплекса, обеспечивают наличие дополнительного количества гидроксильных групп, способных участвовать в образовании хелатных комплексов [1, 2].

Целью данного исследования являлось получение хитинсодержащих сорбционных материалов из дереворазрушающих грибов и лишайников.

В качестве источников хитинсодержащих комплексов выступали дереворазрушающий гриб вида *Fomes fomentarius* и лишайник вида *Peltigera aphthosa*, широко распространенные и произрастающие в Северном полушарии Земли.

ХСК из биомассы плодового тела гриба и таллома лишайника выделяли с применением метода кислотного-щелочного гидролиза и сверхкритической флюидной экстракции диоксидом углерода [3, 4]. Сорбционную способность ХСК проводили статическим методом по отношению к ионам тяжелых металлов (медь, кобальт, ртуть и серебро) и эталонным красителям (метиленовому синему (МС) и конго красному (КК)). Антибактериальную активность оценивали относительно различных штаммов грамположительных (*Bacillus subtilis* ATCC 6633) и грамотрицательных (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis* ATCC 3177) бактерий. Выделение ХСК из плодового тела гриба с применением метода кислотного-щелочного гидролиза проводили последовательной 2-х стадийной обработкой:

- 1 стадия – обработка раствором 2 М HCl при 85°C и продолжительности 4 часа;
 - 2 стадия – обработка раствором 2 М NaOH при 60°C и продолжительности 4 часа.
- Из таллома лишайника – 3-х стадийной обработкой:
- 1 стадия – обработка раствором 1 % NaOH при 80°C, 2 часа;
 - 2 стадия – обработка раствором 0,5 % HCl при 50°C, 2 часа;
 - 3 стадия – обработка раствором 2 % NaOH при 80°C, 2 часа.

При выбранных условиях выделения выход ХСК из плодового тела гриба составил 18.5%. ХСК содержал 22% хитина, 55% других полисахаридов, 22.9% полифенолов и белка менее 0.5%. Выход ХСК из таллома лишайника – 26.4 %. ХСК содержал 4.2% хитина, 5.0% полифенолов, 0.5% белка и 90% других полисахаридов.

В дополнение к традиционному методу выделения хитина и его комплексов из растительных и животных источников с использованием кислотно-щелочного гидролиза, перспективным методом является сверхкритическая флюидная экстракция. Этот метод, основанный на принципах зеленой химии, отличается экологической безопасностью и выбор экстрагента (диоксид углерода) обусловлен не токсичностью, не горючестью, доступностью, относительно низкой стоимостью получения, высокой избирательностью по отношению к органическим соединениям.

По результатам сверхкритической флюидной экстракции плодового тела гриба (400 атм. и 80°C, 60 мин) выход ХСК составил 87.3% при содержании 5.0% ХТ, 54.0% других полисахаридов, 36% полифенолов и не более 2% белка. Из таллома лишайника при экстракции (150 атм. и 40°C, 60 мин) получен ХСК с выходом 97.5%, содержащий 1.2% хитина, 68.5% других полисахаридов, 12.5% полифенолов и 7.5% белка.

Экспериментальные результаты по сорбционной способности ХСК гриба и лишайника, полученные с применением метода кислотно-щелочного гидролиза и сверхкритической флюидной экстракции, относительно ионов тяжелых металлов показали, что наибольшая сорбционная емкость получена для ионов ртути (до 404 мг/г), меди (до 377 мг/г) и кобальта (до 222 мг/г). Наименьшая сорбционная способность ХСК гриба и лишайника получена для ионов никеля (до 58 мг/г). Установлено, что ХСК грибов и лишайников сорбируют на своей поверхности оба красителя (для МС до 357 мг/г и КК до 313 мг/г), что говорит о полиамфолитной природе комплексов.

Для определения биологической активности были выбраны ХСК гриба и лишайника, полученные с применением метода кислотно-щелочного гидролиза. Установлено, что ХСК гриба не обладает бактерицидным действием против грамотрицательного штамма бактерии *E. coli*, однако можно отметить наличие бактериостатических и адсорбционных свойств. ХСК лишайника демонстрирует высокую антибактериальную активность против грамположительного штамма бактерии *B. subtilis*, среднюю активность по отношению к грамотрицательному штамму *E. coli*. В то же время, его ингибирующие свойства против грамотрицательных бактерий *P. aeruginosa* и *P. mirabilis* оказались наиболее низкими.

Список литературы

1. Маркова М.Е., Урьяш В.Ф., Степанова Е.А. Сорбция тяжелых металлов высшими грибами и хитином разного происхождения в опытах *in vitro* // Вестник Нижегородского университета. 2008. №6. С.118-124.
2. Киселева Л.А., Севрюгин В.А., Смирнова Л.Г., Фролова Е.Н., Нагулин К.Ю., Албикина Н.В. Сорбционные свойства хитин-глюканового комплекса гриба *Pleurotus ostreatus* и изучение процесса сорбции ионов Cu^{2+} // Вестник Казанского технологического университета. 2003. № 1. С. 323 – 328.
3. Brovko O.S., Ivakhnov A.D., Zhiltsov D.V., Boitsova T.A. Isolation of chitin-containing complexes from the thallus of the lichen species *Peltigera aphthosa* // Russian Journal of Physical Chemistry B. 2022. Vol. 16, № 8. P. 1332-1340.
4. Brovko O.S., Ivakhnov A.D., Zhiltsov D.V., Boitsova T.A. Extraction of chitin-containing complexes from the *Fomes fomentarius* fungus fruiting body by the sub- and supercritical fluid extraction methods // Russian Journal of Physical Chemistry B. 2023. Vol. 17, № 7. P. 97-103.

УДК 547-3

РАЗРАБОТКА СМЕСЕВЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И ПОЛИ-3-ОКСИБУТИРАТА, ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И БИОСОВМЕСТИМОСТИ *IN VITRO*

Жуйкова Ю.В., Жуйков В.А., Варламов В.П.

ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»
119071, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2

В настоящее время в России и в мире остается актуальным вопрос о необходимости создания и исследования новых биоразлагаемых и биосовместимых материалов на основе полимеров природного происхождения. В биомедицине полимерные материалы находят широкое применение для решения самых разных биологических задач. Одним из подходов к улучшению свойств биополимеров для использования в тканевой инженерии является разработка новых biomaterialов на основе сополимеров, композитов, смесей полимеров, которые обладают различными свойствами. Поли-3-оксибутират (ПОБ) – полиэфир микробиологического происхождения, который относится к классу полиоксиалканоатов. Создание композитов с другими веществами – эффективная стратегия преодоления некоторых недостатков ПОБ, таких как высокая кристалличность и гидрофобность. Цель работы заключалась в разработке новых композиционных материалов на основе полиэфира ПОБ (ММ 320 кДа) с добавлением полисахарида хитозана (ММ 1000 кДа, СД 85%), изучении их физико-химических, механических, биологических характеристик и оценки перспектив практического применения в биомедицине.

В работе был представлен метод растворения ПОБ в уксусной кислоте (УК), предложенной в качестве альтернативного хлороформу и более безопасного растворителя. Уксусная кислота не влияла на основные свойства ПОБ, но в некоторых случаях она оказывала благоприятное воздействие на характеристики полученных из него материалов, особенно на их структурные и механические свойства. Применение УК для растворения ПОБ является перспективным с точки зрения получения смесей на основе гидрофобного ПОБ и гидрофильных биополимеров, таких как хитозан. На основе ПОБ в УК и хитозана были получены композиционные смеси с разным массовым соотношением компонентов (1:1, 2:1, 4:1, 10:1, 20:1, соответственно, для ПОБ и хитозана). Композиционные пленки были исследованы методом ИК-спектроскопии, ДСК, ТГА, АСМ-микроскопии, кроме того, были проведены механические испытания и изучены некоторые физико-химические параметры. Было показано, что хитозан в составе материалов оказывал влияние на степень кристалличности ПОБ, скорость разложения, способность к набуханию, гидрофобность ПОБ. Полученные смешанные материалы обладали более развитой морфологией поверхности, по сравнению с чистыми полимерами. Потеря массы образцов значительно варьировалась (от 10 до 100 %) в ходе ферментативной биodeградации в модельной среде, содержащей лизоцим и липазу, в течение 180 суток. Наилучшие показатели биосовместимости продемонстрировали образцы ПОБ в УК, ПОБ/ХТЗ 10:1 и 4:1, что, вероятно, связано с более благоприятными для клеток свойствами поверхности. Кроме того, на основе полимеров были получены гели, структура которых была исследована с помощью СЭМ. Были изучены

реологические параметры гелей (модули сохранения и потерь), а также рассчитаны влагопоглощение, пористость и плотность. Показано, что для 3D-материалов свойства сильнее зависят от состава, по сравнению с пленками.

Таким образом, использование УК в качестве растворителя для ПОБ перспективно для разработки новых материалов на его основе, а также позволяет упростить создание композитов ПОБ с полисахаридами, такими как хитозан. Все вышеперечисленные результаты в комплексе открывают перспективы разработки композитных материалов из ПОБ и хитозана с регулируемыми характеристиками для биомедицинского применения, в том числе в области тканевой инженерии.

УДК 639.3; 577.114.4

**МУКОЗАЛЬНЫЕ ВАКЦИНЫ ДЛЯ АКВАКУЛЬТУРЫ НА ОСНОВЕ
НАНОЧАСТИЦ ХИТОЗАНА: ПИЛОТНЫЙ ЭКСПЕРИМЕНТ НА РЫБАХ
*DANIO RERIO***

*Зубарева А.А.¹, Вылка М.М.², Свищевская Е.В.³, Воденникова А.А.^{3,4},
Окара П.С.^{3,5}, Скорик Ю.А.¹*

¹ Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» – Институт высокомолекулярных соединений 199004, Россия, г. Санкт-Петербург, Большой пр. ВО, 31

² Санкт-Петербургский филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» («ГосНИОРХ» им. Л.С. Берга») 199053, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Набережная Макарова, 26

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ГНЦ ИБХ РАН) 117997, Россия, г. Москва, улица Миклухо-Маклая, 16/10

⁴ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» 115409, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, 31

⁵ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «МИРЭА - Российский технологический университет» 119454, Россия г. Москва, Проспект Вернадского, 78

Вакцинация – эффективный метод профилактики вирусных и бактериальных заболеваний в аквакультуре, широко применяемый во многих странах мира. Она позволяет существенно сократить экономическую нагрузку, обусловленную массовой летальностью рыбы при возникновении эпидемий. Применение таких вакцин у рыб возможно перорально, парентерально, а также иммерсионно (способом погружения). Инъекционный путь является самым распространенным и эффективным, но требует специальных навыков персонала, трудоемкий и является травматичным для рыб, поэтому актуальной задачей является разработка новых бесконтактных мукозальных вакцин, способных индуцировать существенный иммунный ответ на патоген.

Целью данной работы является изучение адъювантных свойств наночастиц хитозана (НЧ), содержащих модельный антиген овальбумин, меченый флуоресцентным красителем СуЗ, при иммерсионной вакцинации рыб данио. На первом этапе синтезировали конъюгат хитозана (молярная масса 60 кДа, степень деацетилирования 82%, ООО «Биопрогресс») с овальбумином методом

карбодиимидной активации, обеспечивающей ковалентное связывание аминокрупп полимера с карбоксильными группами белка. Формирование наночастиц (ОА-НЧ) осуществляли путем ионотропного гелеобразования с добавлением 0,5% раствора триполифосфата натрия до достижения опалесценции. Размер основной фракции частиц, измеренный методом динамического светорассеяния, составил 127 ± 32 нм, дзета-потенциал - $+20 \pm 5$ мВ.

Вакцинацию рыб проводили методом погружения. Рыб данио средней массы 300 ± 70 мг случайным образом распределяли между 3 группами ($n = 3$) и отсаживали в резервуары емкостью 1 л аквариумной воды, содержащие 5 мл препаратов. Иммунизацию осуществляли три раза с интервалом в 3 дня (время экспозиции 1.5 часа при интенсивной аэрации). Каждую процедуру заканчивали помещением рыб в раствор с анестетиком (гвоздичное масло) и забирали кровь отсечением хвостового стебля. На 10 день рыб фиксировали рыб 4% раствором параформальдегида и готовили криосрезы.

Показали, что в группе ОА-НЧ и, в меньшей степени, в группе ОА регистрируется флуоресценция $Su3$ в жабрах и чешуе, но не в головной почке и тимусе. Результаты эксперимента *in vivo* продемонстрировали, что короткая иммерсионная иммунизация белком в составе наночастиц хитозана обеспечивает попадание белка в тело рыб. Антительный ответ на ОА на 10 день отсутствовал, что говорит о необходимости дальнейших исследований в этом направлении и выявлении взаимосвязей между дозой антигена, кратностью введения и формированием иммунного ответа.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект 24-76-10054.

УДК: 54.057, 547.024

ПРИВИТАЯ ПОЛИМЕРИЗАЦИЯ АКРИЛАМИДА И ВИНИЛПИРРОЛИДОНА НА ХИТОЗАН

Зуев Д.Н., Комолова Е.А., Апрятина К.В., Зайцев С.Д., Смирнова Л.А.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Привитая полимеризация – один из методов модификации высокомолекулярных соединений, который дает возможность сочетать в сополимере свойства составляющих его полимеров, а также придавать новые свойства. В настоящее время одним из широко изучаемых и используемых природных полимеров является хитозан, который обладает комплексом уникальных свойств, таких как хелатообразующая способность, биосовместимость, биodeградируемость при отсутствии токсичности. Хитозан растворим в водных средах, однако только в области значений pH среды ≤ 5.8 . Расширение возможностей применения хитозана в частности в биомедицине и процессах водоочистки, требует получения продуктов на его основе, растворимых во всем диапазоне значений pH среды. Это может быть достигнуто путем привитой или блок-сополимеризации с мономерами, полимеры которых способны неограниченно растворяться в воде.

Процесс привитой полимеризации на хитозан был изучен и описан уже многими учеными с использованием различных инициаторов, таких как персульфат, реактив Фентона, соли Се (IV). В работах [1-3] предложены 4 механизма инициирования персульфат иона с хитозаном: на amino- и гидроксильную группы, на 3 и 4 атомы углерода с разрушением пиранозного кольца, на гликозидные связи с разрушением основной цепи хитозана, на 6 атом углерода. Стадия инициирования оказывает важное влияние на размер привитых звеньев, однако не только она вносит свой вклад в молекулярно-массовые характеристики привитых мономеров.

Целью работы являлось получение водорастворимых продуктов на основе хитозана путем привитой полимеризации с акриламидом и винилпирролидоном.

Изучена привитая полимеризация акриламида и винилпирролидона на хитозан с использованием персульфата аммония при разных массовых соотношениях мономера и хитозана. Определено соотношение, при котором сополимер хитозана растворим при pH 7: для акриламида оно составило 1 к 3, для винилпирролидона 1 к 4. Исследована зависимость глубины превращения от времени: для обоих мономеров она составила 99%. Селективный растворитель для образовавшегося гомополимера подобрать не удалось, однако эффективность прививки была определена с помощью гель-проникающей хроматографии. На хроматограмме присутствует мода с содержанием фракции 95%, что говорит о высокой доле гибридного продукта. Полученные в ходе привитой радикальной полимеризации сополимеры были подвергнуты химической и ферментативной деструкции хитозана. Привитые звенья данных сополимеров были проанализированы: на хроматограмме появляется третья мода с низким значением молекулярной массы и чрезвычайно узким значением индекса полидисперсности, не превышающим значения 1,05. Молекулярные массы привитых звеньев соизмеримы сегменту Куна для хитозана. Методом ИК-спектроскопии показана сорбция мономера на цепях хитозана, рост цепи макрорадикала, адсорбированного мономера, идет вдоль хитозана, который участвует в

обрыве и передачи цепи, что и обеспечивает малые для радикальной полимеризации значения индекса полидисперсности. Однако высказанная гипотеза требует дальнейшего развития представлений о процессе привитой полимеризации виниловых мономеров на хитозан. Полученные композиции перспективны для использования в медицинских направлениях и очистке сточных вод.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 23-13-00342.

Список литературы

1. Synthesis of chitosan-modified poly(methyl methacrylate) by emulsion polymerization / S. Hsu, T. Don, W. Chiu // Journal of Applied Polymer Science. – 2002. – Vol. 86. – № 12. – P. 3047-3056.
2. Monodisperse latex with variable glass transition temperature and particle size for use as matrix starting material for conductive polymer composites / J. C. Grunlan, Y. Ma, M. A. Grunlan [et al.] // Polymer. – 2001. – Vol. 42. – № 16. – P. 6913-6921.
3. Studies on graft copolymerization of 2-hydroxyethyl acrylate onto chitosan / G. A. Mun, Z. S. Nurkeeva, S. A. Dergunov [et al.] // Reactive and Functional Polymers. – 2008. – Vol. 68. – № 1. – P. 389-395.

УДК 577.112:577.114

3D КОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И КОЛЛАГЕНА

Качалова А.И.¹, Апрелькина К.В.¹, Смирнова Л.А.¹, Ковылин Р.С.^{1,2}

¹ Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

² Институт металлоорганической химии имени Г. А. Разуваева
Российской академии наук
603137, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Тропинина, 49

Хитозан-коллагеновые материалы представляют особый исследовательский интерес в области биомедицины благодаря уникальным свойствам этих полимеров. Хитозан - полисахарид, характеризующийся биосовместимостью, отсутствием токсичности, биологической активностью, высокими сорбционными свойствами из-за наличия amino- и гидроксильных функциональных групп. Коллаген представляет собой фибриллярный белок, который составляет основу соединительной ткани организма и способствует обеспечению прочности и эластичности связок и костей. Тем не менее, эти биополимеры имеют низкие механические свойства, поэтому зачастую необходима их модификация. На их основе разрабатываются гели, пленки, мембраны. Но особо интересным представляется формирование пористых 3D материалов, предназначенных для регенерации, остановки крови и остеозамещения.

Целью работы является получение трехмерных композитов на основе смеси хитозана и коллагена и их блок-сополимеров, исследование физико-механических свойств, пористости и биосовместимости. Композиции на основе хитозана и коллагена получали из смеси гомополимеров с различным соотношением компонентов. Методом ультразвукового (УЗ) диспергирования синтезировали блок-сополимеры на их основе при различном времени УЗ-обработки. В растворы вводили сшивающий агент-формальдегид. Получали 3D композиты методом лиофильной сушки и исследовали их физико-механические свойства при сжатии на 10%. Наибольшей прочностью на сжатие характеризуются образцы, синтезированные из смеси гомополимеров состава хитозан:коллаген 2:1 по массе – 0.11 МПа, по-видимому, из-за большего количества жесткоцепного полисахарида, и образец на основе блок-сополимера состава 1:1 при 5 мин УЗ-воздействия - 0.07 МПа. Композит, полученный из блок-сополимера состава 1:1 при 30 мин УЗ-воздействия, характеризуется напряжением на сжатие в 2 раза меньшим относительно смеси состава 2:1.

Основными параметрами, определяющими структуру и свойства трехмерных композитов при их применении в тканевой инженерии, являются их пористость и биосовместимость. Высокая пористость будет способствовать лучшему прорастанию клеток тканей организма в них, обеспечивать резорбцию материалов и, как следствие, стимулировать ранозаживление.

Размер пор, удельную поверхность и распределение пор по размерам определяли методом ртутной порометрии (рис. 1). Показано, что диаметр пор в образцах нативных полимеров варьируется от 100 до 1000 мкм, а объем открытых пор - от 2 до 22 см³/г (рис. 1, а, б). Для смеси и блок-сополимера максимальный диаметр пор смещается в

сторону меньших значений и составляет около 300 мкм, а объем открытых пор увеличивается до 23-25 см³/г (рис. 1, в, г). Можно заметить, что при добавлении коллагена к хитозану диаметр пор уменьшается, но увеличивается общая пористость композита.

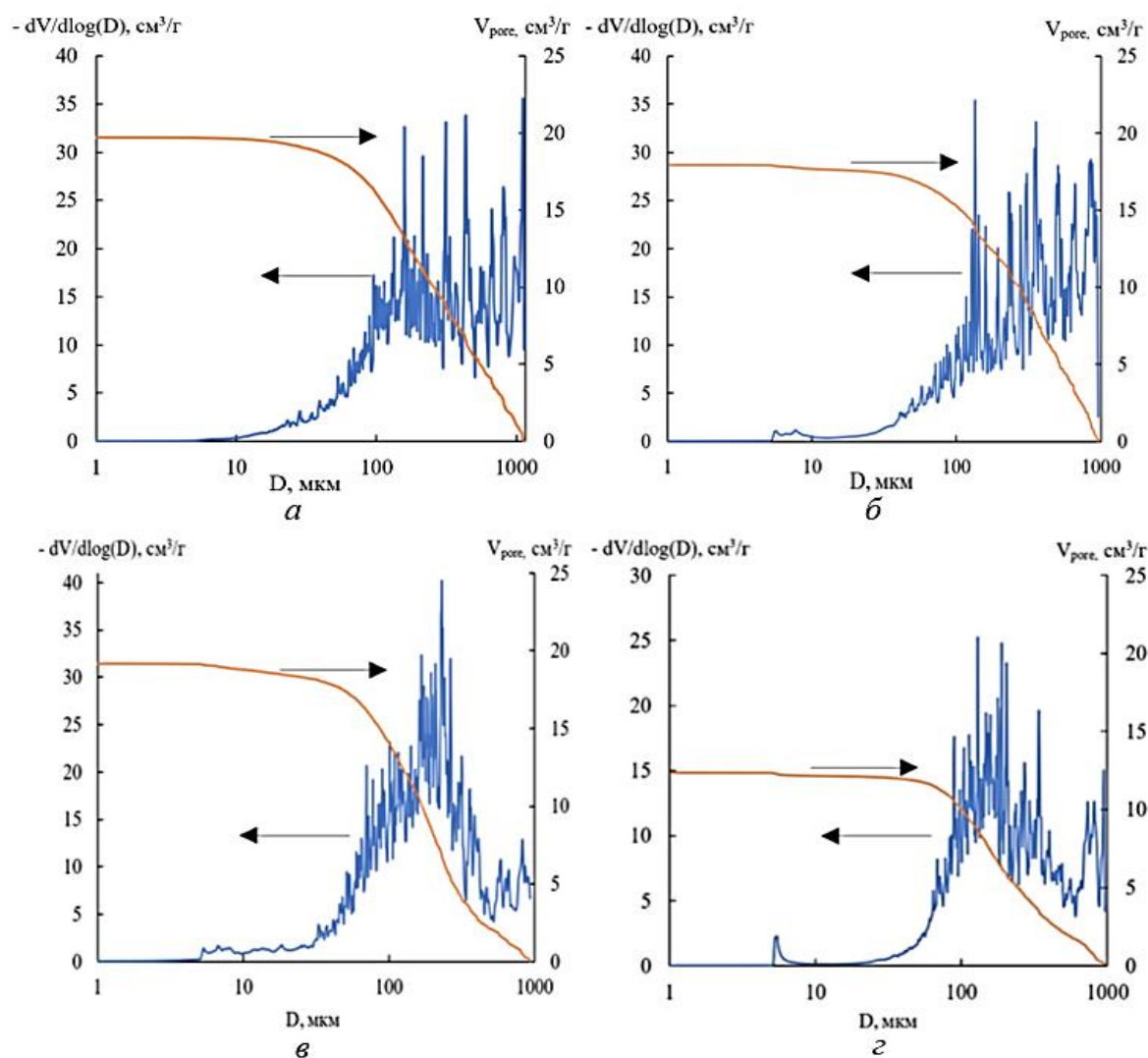


Рис. 1. Распределение размеров пор трехмерных композитов на основе: *а* - хитозана; *б* - коллагена, *в* - смеси состава 1:1; *г* - блок-сополимера состава 1:1 (30 мин УЗ-воздействия)

Биосовместимость образцов исследовали в опытах по адгезии и пролиферации клеток фибробластов человека линии BJ-5ta на их поверхности (рис. 2). На поверхности пленок на основе хитозана и блок-сополимера происходит активный рост клеток (рис. 2, а, в). Пленка на основе смеси гомополимеров не является биосовместимой, но при этом нетоксичная, поскольку клетки в питательной среде остаются живыми (рис. 2, б).

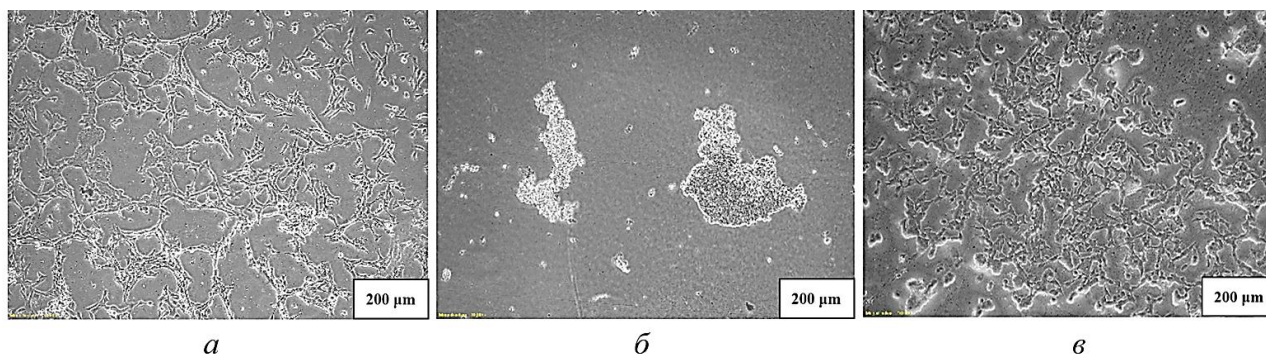


Рис. 2. Фибробласты клеточной линии BJ-5ta на поверхности пленок : *а* - хитозана; *б* - смеси состава 1:1; *в* - блок-сополимера состава 1:1 (30 мин УЗ-воздействия);
увеличение 10х

Полученные результаты открывают перспективу дальнейших исследований трехмерных хитозан-коллагеновых композитов в области регенеративной медицины.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-13-00342).

Список литературы

1. Apryatina K.V., Bobrynina E.A., Monin A.P., Semenycheva L.L., Zaitsev S D., Cherkasova E.I., Smirnova L.A. // Journal of Polymer Research. 2024. V. 31. №. 5. P. 1-14.

УДК 661.183:664.22:577.114

ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОПОРИСТЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И КРАХМАЛА

Качалова Е.А., Крохина Е.А., Апрятина К.В., Смирнова Л.А.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Сегодня повышенная жёсткость воды представляет собой серьёзную проблему для населения некоторых регионов и для предприятий, применяющих водонагревательное оборудование в производственных процессах. Избыток ионов кальция и магния приводит к образованию солевых отложений в насосах, трубопроводах и бойлерах, что сокращает срок их эксплуатации. Кроме того, такая вода непригодна для питья и приготовления еды, поскольку может провоцировать болезни сердечно-сосудистой системы и мочекаменную болезнь. Существующие сорбенты не обеспечивают в полной мере решения проблемы. В связи с этим особую актуальность приобретает разработка сорбента для удаления ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} на основе природных полисахаридов – хитозана (ХТЗ) и крахмала (КР).

ХТЗ и КР были выбраны в качестве основы для сорбента благодаря ряду преимуществ: нетоксичности, биоразлагаемости, возобновляемости сырья и доступности. Оба полимера обладают хорошо изученными сорбционными свойствами по отношению к определённым ионам и органическим соединениям.

Цель исследования: разработка пористых сорбентов на основе модифицированных природных полисахаридов (КР и ХТЗ) для удаления ионов кальция и магния из воды.

При совмещении двух растворов полимеров возникают трудности, так как КР растворяется в щелочной среде, а ХТЗ в кислой. Для преодоления этой проблемы проводили привитую полимеризацию акриламида на КР. Полученный сополимер растворим в широком диапазоне pH, что позволяет беспрепятственно совмещать его с раствором ХТЗ. Высаженный привитой сополимер КР_{AA} добавляли к 3% водно-кислотному раствору ХТЗ, варьируя содержание модифицированного КР в композиции (от 1 до 3 частей по массе). Из растворов получали трехмерные пористые композиты обработкой их гидрокарбонатом натрия (1:1 к массе сухого ХТЗ). При этом происходило вспенивание системы за счет выделения углекислого газа. В ряде случаев в растворы дополнительно вводили N,N-метилден-бис-акриламид в качестве сшивки, в количестве 1% от общей массы сухих полимеров, далее систему прогревали в течение 1 ч при 70°C.

Композиции были синтезированы также на основе блок-сополимеров КР_{AA} и ХТЗ, которые получали обработкой растворов смеси полисахаридов ультразвуком (УЗ) в течение 3, 10 и 15 мин.

Сушку полученных образцов проводили двумя способами: при комнатной температуре и по средствам лиофильной сушки.

Сорбционную способность пористых образцов исследовали по изменению содержания ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} в растворе. Для этого образцы определенной навески погружали в раствор с определенной концентрацией солей: CaCl_2 0.05 М, MgSO_4 0.02 М

и раствор CaCl_2 и MgSO_4 с концентрациями 0.05 М и 0.01 М соответственно. Общую жесткость воды находили титрованием растворов до и после сорбции ионов металлов.

Выполнено сопоставление сорбционной способности композитов в отношении ионов кальция и магния в зависимости от их состава, наличия сшивающего агента, времени УЗ-обработки растворов и способа сушки (рис. 1). ПСОЕ (полную статическую обменную емкость) пористых сорбентов трехмерной структуры рассчитывали при выдерживании их в растворе в течение 30, 60 и 90 мин.

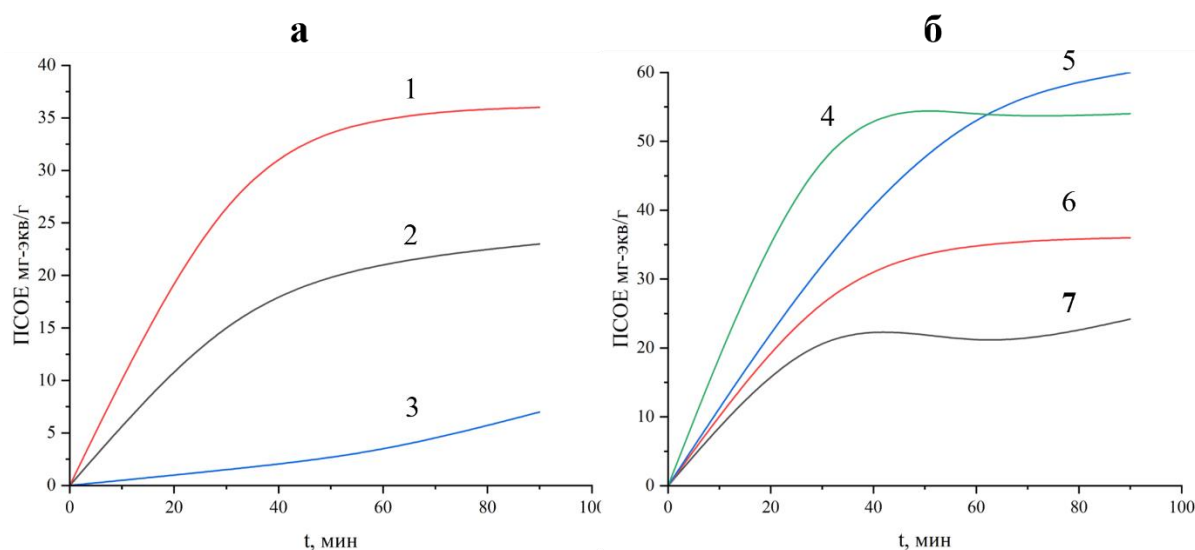


Рис. 1. ПСОЕ образцов различного состава: а) $\text{КР}_{\text{AA}}:\text{ХТЗ}$, высушенный методом лиофилизации и обработанный УЗ в течение 15 мин 1 – 1:3 сшитый; 2 – 1:1 сшитый; 3 – 1:1 без сшивки; б) $\text{КР}_{\text{AA}}:\text{ХТЗ}$ состава 1:1 и 1:3, сшитых, высушенных методом лиофилизации, с различным временем УЗ обработки: 4 – 1:1 - 3 мин, 5 – 1:3 - 3 мин, 6 – 1:3 - 15 мин, 7 – 1:3 - 0 мин

Сопоставление ПСОЕ ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} композитами, полученными высушиванием на воздухе – сшитыми и в отсутствие химической сшивки – показывают существенное различие – 6 и 22 мг-экв/г соответственно. Образцы, полученные методом сушки на воздухе при комнатной температуре, характеризуются меньшей сорбцией, по сравнению с композитами, полученными методом лиофилизации. Наибольшее значение ПСОЕ – 32 мг-экв/г – достигается при введении трехкратного избытка по массе ХТЗ по отношению к КР.

На примере образцов $\text{КР}_{\text{AA}}:\text{ХТЗ}$ состава 1:1 и 1:3 по массе, показано, что УЗ обработка исходных композиций в растворе с последующим формированием трехмерной структуры и высушиванием методом лиофилизации повышает сорбционную емкость, и составляет 36 мг-экв/г (рис. 1а, кривая 1). При УЗ-воздействии на растворы происходит изменение структуры композита, вследствие образования блок-сополимера, в макромолекулах которого равномерно распределены блоки каждого из полисахаридов. Установлено существенное влияние времени УЗ обработки на значение сорбционной емкости композитов. Если через 15 мин ПСОЕ для $\text{КР}_{\text{AA}}:\text{ХТЗ}$ состава 1:3 составляет 36 мг-экв/г, то при 3 мин УЗ воздействию оно максимально и составляет 60 мг-экв/г (рис. 1б, кривая 5). Снижение содержания ХТЗ в композите до соотношения $\text{КР}_{\text{AA}}:\text{ХТЗ}$ 1:1 по массе обеспечивает значение сорбции ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} ~52 мг-экв/г, сопоставимое по величине с составом 1:3 (рис. 1б, кривая 4). При этом, положительным моментом

является снижение времени достижения равновесного состояния сорбции более чем в 2 раза: 40 мин против 90 мин.

Влияние продолжительности ультразвуковой обработки исходных растворов композитов на характер пор было исследовано методом ртутной порометрии. Результаты показали, что хотя общая пористость всех образцов остается сопоставимой (87–93%), уменьшение времени УЗ-обработки до 3 минут приводит к увеличению доли пор диаметром до 500 нм до 80%, тогда как в остальных случаях этот показатель не превышает 50%. При этом сорбционная способность композитов напрямую зависит от их удельной поверхности.

Высокая пористость и сорбционная активность разработанных композитов на основе ХТЗ и модифицированного крахмала, обусловленные синергетическим эффектом их свойств, делают их перспективными для использования в системах водоочистки и ионообменных процессах. Важным преимуществом данных сорбентов является возможность многократного применения без ухудшения функциональных характеристик.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-13-00342.

УДК 547.78:615.014.2; 615.017.1

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ЛАКТАТА ХИТОЗАНА ДЛЯ ОСТАНОВКИ ПРОДОЛЖАЮЩИХСЯ ВНУТРИБРЮШНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЙ

*Ковалевский А.Я.¹, Демченко К.Н.¹, Ковалевский Я.Б.², Носов А.М.¹, Бавин Д.В.²,
Коровин В.А.¹, Воронин С.Е.³, Волкова М.В.²*

¹ Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова
194044, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6Ж

² ООО Химическая Компания «Орион», г. Санкт-Петербург, Россия
192148, Россия, г. Санкт-Петербург, Железнодорожный пр-т, 40, литер Д

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А.Алмазова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

Одной из острых проблем современной хирургии повреждений является продолжающееся внутрибрюшное кровотечение, единственным эффективным способом остановки которого остается только хирургическое вмешательство. Сохранение жизни пострадавшего напрямую зависит от объема оказанной первой помощи. В связи с этим актуальной задачей является разработка гемостатических средств для применения в брюшной полости на этапе экстренной помощи. Перспективным материалом является хитозан, обладающий выраженной гемостатической активностью. Введение сухого вещества в брюшную полость невозможно, поэтому требуется получение его водорастворимой формы. С помощью химического синтеза осуществляется получение его соли – лактата хитозана, который может быть использован в качестве основы для получения биосовместимого геля. Целью исследования стало определение перспектив применения гелеобразного лактата хитозана для экстренной остановки продолжающегося внутрибрюшного кровотечения на этапе эвакуации.

Для остановки внутриполостных кровотечений разработан набор, основным компонентом которого является лактат хитозана в форме порошка. Перед применением гемостатический порошок растворяют в физиологическом растворе для получения 4% геля. Экспериментальное исследование было проведено на крупных лабораторных животных (свиньях) весом 40-50 кг. Эксперименты проводились в соответствии со всеми принципами гуманного обращения с животными.

Перед началом эксперимента всем свиньям вводили 5000 Ед гепарина. Нанесение травмы печени с индукцией продолжающегося кровотечения высокой интенсивности (III степени по шкале VibeScale) проводили с помощью лапароскопической техники. Животные были разделены на 3 группы: контрольная – 3 особи, у которых лечебные мероприятия не выполнялись; группа № 1 – 7 особей, которым выполнялось наложение компрессионной бандажной повязки (КБП) на живот; группа №2 – 7 свиней, которым так же осуществляли наложение КБП, и через час вводили гемостатический гель на основе лактата хитозана в брюшную полость. Общее время наблюдения составило 3 часа.

В ходе эксперимента оценивали выживаемость животных, фиксировали показатели гемодинамики (ЧСС и АД) до начала эксперимента и затем каждые 30 минут,

отбирали кровь на исследования до начала и каждый час после, проводили анализ газов крови. После завершения эксперимента оценивали общий объем кровопотери, отбирали образцы тканей печени на гистологическое исследование, провели клинический анализ образцов крови.

Введение гепарина значительно ухудшает способность естественных гемостатических резервов останавливать кровотечение. Результатом этого стала гибель всех животных группы контроля от кровотечения. В экспериментальной группе № 1 (применялось только КБП) погибло 4 животных. Общая средняя кровопотеря составила $52.6 \pm 6.2\%$ от ОЦК, у погибших животных 51-75%, у выживших $40.3 \pm 6.1\%$. В экспериментальной группе №2 (применение КБП и геля спустя час) погибло 1 животное, его кровопотеря составила 53% от ОЦК. У выживших животных кровопотеря составила 31.0 ± 4.9 , в среднем в группе 34.1 ± 5.2 . Кровопотеря составила в среднем 1020 мл в группе № 2 и 1580 мл в группе №1. Обе экспериментальные группы продемонстрировали лучшую в сравнении с группой контроля выживаемость, однако разница в 10% кровопотери от ОЦК в пользу группы № 2 указывает на более эффективную остановку кровотечения.

Достоверной разницы между показателями гемодинамики у животных различных групп не установлено. Уже через 2 часа после начала эксперимента у свиней группы № 1 отмечено повышение частоты сердечных сокращений в 2 раза по сравнению с нормой, а у животных, которым был введен гель – в 1.5 раза. Согласно анализу крови также отмечены несколько тенденций: применение гемостатического геля способствует сохранению pH крови (снижение pH на 0.5 % по сравнению с 1.5 % в группе № 1), а также предотвращает накопление CO_2 (в группе № 1 и № 2 показатель возрастает на 10 и 40% соответственно по сравнению с показателем до начала эксперимента).

Клинический анализ крови не выявил существенных отличий. Тем не менее в крови животных из группы № 2, которым был введен гемостатический гель, обнаружено большее количество зрелых эритроцитов (увеличение объема клеток MCV и средней концентрации гемоглобина MCH и MCHC во времени) по сравнению с кровью свиней из группы № 1, у которых отмечается более высокий гематокрит HCT за счет увеличенного общего количества лейкоцитов WBC и эритроцитов RBC. На 2 час эксперимента в группе без гемостатического геля отмечается значительный «провал» количества больших эритроцитов P-LCR по сравнению с группой № 2. По результатам гистологического исследования значительных изменений в тканях печени после введения геля не выявлено.

Полученные данные свидетельствуют о высокой эффективности и безопасности геля из лактата хитозана, что позволяет рассматривать его как перспективное средство для применения на этапе догоспитальной помощи.

УДК 615.59

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ФОРМ ЛЕВОФЛОКСАЦИНА С ЛЕГОЧНЫМ СУРФАКТАНТОМ

Колмогоров И.М., Ле-Дейген И.М., Григорян И.В., Тимошенко В.А.

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова
119991, Россия, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, 1, стр. 3

На сегодняшний день как в России, так и в мире остро стоит задача разработки антибактериальных лекарственных препаратов, в том числе для ингаляционного введения. В данной работе предложен поход к исследованию взаимодействия функционализированных липосомальных форм одного из фторхинолонов - левофлоксацина (Лев) с легочным сурфактантом (ЛС) на основе спектроскопии в ИК- и УФ-областях, ИК-микроскопии, атомно-силовой и флуоресцентной микроскопии и методов коллоидной химии – исследования поверхностного баланса методом Ленгмюра-Вильгельми.

ЛС выделяли из бычьих легких. Содержание фосфолипидов определяли по качественной реакции с ферротриционатом аммония : $78 \pm 2 \%$, что хорошо соответствует литературным данным. Для определения числа ненасыщенных связей в липидной составляющей ЛС определили йодное число 205 ± 5 . Дополнительную информацию о пространственном распределении белковой и липидной компоненты получали методом ИК-микроскопии. За распределением компонент следили по характеристическим полосам поглощения для липидов при 1720 см^{-1} , соответствующей карбонильной связи и для белков при 1651 см^{-1} , соответствующей полосе поглощения Амид-I. Полученные карты распределения интенсивности сигнала представлены на рис. 1.

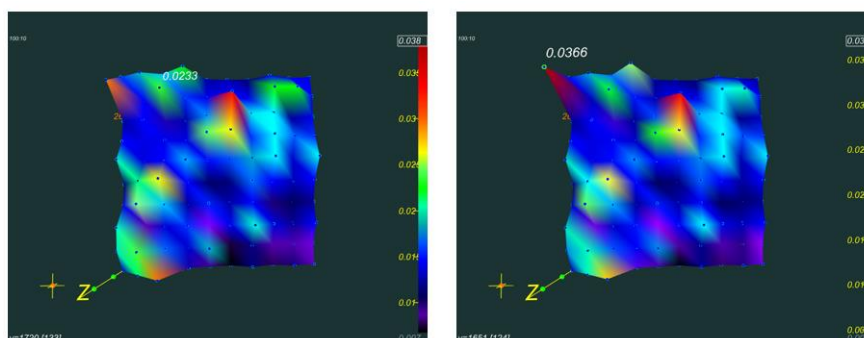


Рис. 1. Распределение сигнала полос поглощения липидов при 1720 см^{-1} (слева) и белков при 1651 см^{-1} (справа) лёгочного сурфактанта быка, $T = 25^\circ\text{C}$

Обнаружено, что в ЛС липидная и белковая компоненты ко-локализованы, таким образом при взаимодействии с ЛС взаимодействия с липидной и белковой фракцией стоит рассматривать в совокупности, а не по отдельности. Взаимодействие липосомальных форм Лев с ЛС исследовали методом Ленгмюра-Вильгельми. В типичном эксперименте образец исследуемого вещества наносится на ванну большой площади, далее сближают подвижные барьеры и следят за изменением двумерного давления. Сравнивали ход изотерм сжатия для образцов ЛС, ЛС с добавлением липосом

из дипальмитоилхолинфосфатидилхолина и кардиолипина в массовом соотношении 80:20 (ДПФХ:КЛ) и ЛС с добавлением липосом ДПФХ:КЛ, покрытых Хитозан-маннозой (Хитман).

При сравнении систем ЛС/ЛС с липосомами наблюдали изменение хода изотермы сжатия (рис. 2А), свидетельствующее об появлении рафтов слияния. Для покрытых полимером липосом (рис. 2Б) введение полимера приводило к уменьшению роста двумерного давления при наложении нагрузки. Это свидетельствует об отсутствии слияния липосомальной мембраны с монослоем ЛС, при этом покрытие липосом Хитманом позволяет системе быть более стабильной при уменьшении межмолекулярного расстояния.

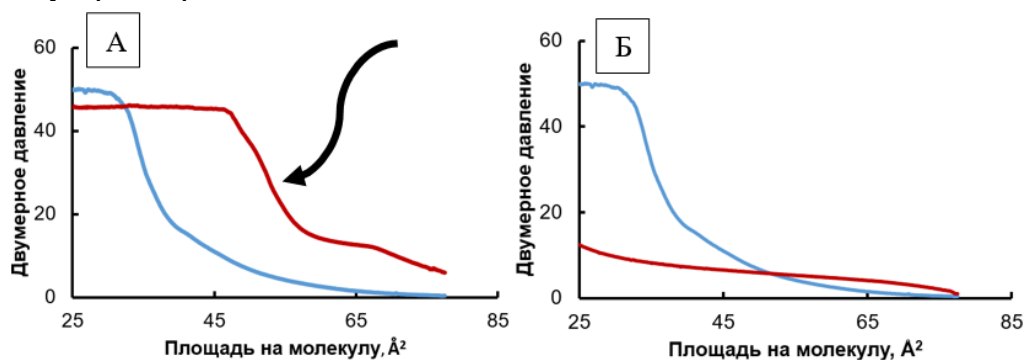


Рис. 2. Изотерма сжатия для образца ЛС (голубой) и при добавлении ДПФХ:КЛ липосом (красный) без полимера (А) и с полимером (Б), 25°C. Стрелкой указан участок, характерный для протекания процесса слияния мембраны липосом с монослоем ЛС

Полученный образец монослоя на слюде помещали на атомно-силовой микроскоп (АСМ) и получали различные изображения монослоя. На рис. 3А представлены отдельные островки, которые соответствуют ЛС и совпадают по природе с данными из литературы (рис. 3Б).

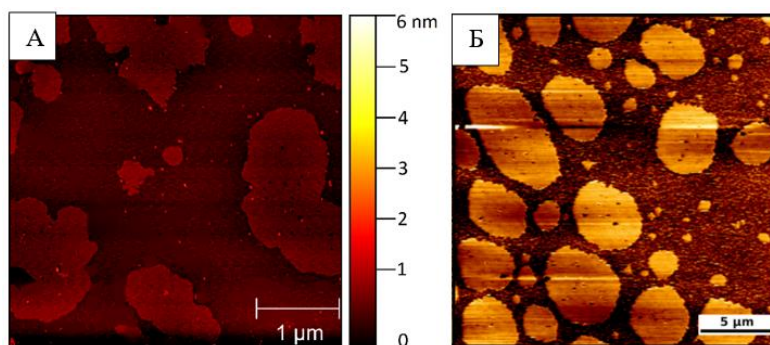


Рис. 3. Снимок, полученный на АСМ при для образца ЛС в нашей работе (А) и в литературе (Б)

При исследовании образца с липосомами обнаружены яркие глобулы большой высоты, которые соответствуют липосомам (рис. 4А). Они интернализировались в монослой, «достраивая» его, при этом все липосомы были связаны с поверхностью ЛС. Иная картина наблюдалась для покрытых полимером липосом (рис. 4Б). Липосомы также наблюдались в монослое ЛС, однако вместо интернализации они занимали положение исключительно на границе раздела фаз слюда-сурфактант.

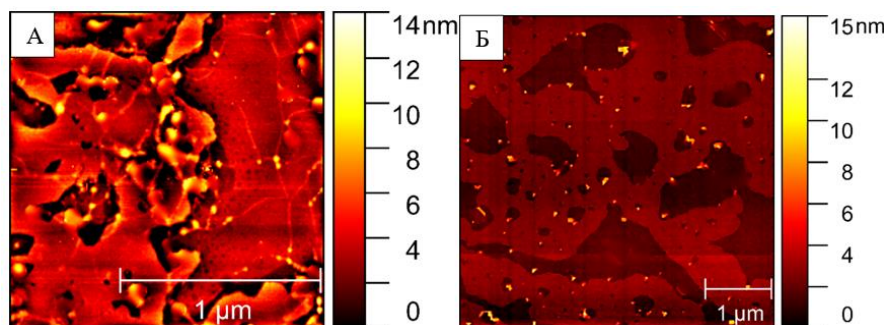


Рис. 4. Изображение, полученное на АСМ при исследовании ЛС при добавлении ДПФХ:КЛ липосом без полимера (А) и с полимером (Б)

Для исследования характера массопереноса при слиянии липосом с ЛС был применен метод флуоресцентной микроскопии. На слой ЛС на водной субфазе наносили флуоресцентно-меченые липосомы. Для образца липосом, не покрытых Хитманом, наблюдается равномерное распределение сигнала (рис. 5А), что свидетельствует о довольно быстром распределении меченного липида в монослое. Иная картина наблюдается для липосом, покрытых Хитманом (рис. 5Б). На снимке видны очаги флуоресценции, которые отличаются по размеру и интенсивности, что говорит о неравномерности и низкой скорости массопереноса.

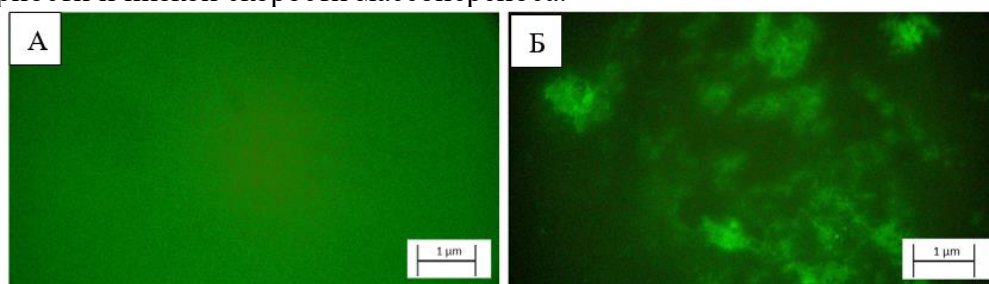


Рис. 5. Распределение флуоресценции для липосом ДПФХ:КЛ без полимера (А) и с полимером (Б), нанесенных на монослой ЛС

Покрывание липосом полимерной оболочкой приводит к замедлению слияния с ЛС и может способствовать обеспечению пролонгированного высвобождения антибактериальных препаратов при использовании ингаляционных систем доставки.

Полученные данные могут лечь в основу разработки ингаляционного антибактериального препарата для борьбы с тяжелыми инфекциями с улучшенными биофармацевтическими свойствами.

УДК 579.61

БИОГЕЛИ КАК НОСИТЕЛИ ДЛЯ СОХРАННОСТИ И ДОСТАВКИ В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЙ ТРАКТ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Корель А.В., Макушева Ю.С., Арипова Ф.К., Литвинова Е.А.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный технический университет»
630073, Россия, г. Новосибирск, пр-т К.Маркса, 20

Влияние микробиоты кишечника на гомеостаз в макроорганизме на сегодня не вызывает сомнений. Одним из аспектов при этом является поиск способов коррекции дисбаланса микробиоты и связанного с этим воспалительного процесса в кишечнике человека [1, 2]. Пробиотические бактерии при прохождении желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) необходимо защищать от разрушающего воздействия кислой pH среды желудка. Поскольку современные пробиотические препараты выпускаются преимущественно в капсулах, которые растворяются при кислой среде желудка очень быстро, то лиофилизированные бактерии подвергаются уничтожению, что приводит к снижению терапевтического эффекта и возникновению потребности в увеличении кратности приема препарата. Для решения этой задачи исследуются возможности использования биоразлагаемых гелевых носителей на основе таких материалов, как альгинат, хитозан, желатин. Биоразлагаемый носитель должен доставить до точки приложения пробиотические бактерии в сохранном виде. Сложность решения подобной задачи заключается не только в том, чтобы обеспечить защиту транспортируемого агента от воздействия соляной кислоты желудка, но и в том, чтобы носитель затем обеспечивал эффективную эмиссию агента после перемещения носителя в щелочную среду кишечника.

В ходе выполнения предварительных исследований физических и химических свойств коллекции гелевых биоразлагаемых образцов на основе модифицированного хитозана был отобран гель-кандидат - криогель сульфэтилхитозана, сшитого глутаровым альдегидом. Ранее были подобраны условия стерилизации гелевых образцов - метод радиационной стерилизации, позволяющий максимально сохранить исходные свойства образцов [3]. Исследования в присутствии культуры клеток фибробластов человека линии NAF1nog показало отсутствие токсического влияния образцов геля на клетки. Были подобраны условия загрузки бактериальных агентов в стерильные гелевые образцы. Во всех опытах в качестве терапевтического агента использовали пробиотический штамм *Enterococcus faecium* L-3 (ООО «Авент», Санкт-Петербург). Опыт по исследованию сохранности бактерий, загруженных в гелевые образцы, в условиях двух температурных режимов (+20-22°C и +4°C) показал, что бактерии сохраняют первоначально полученный титр не только в условиях хранения в холодильнике, но и при комнатной температуре в течении двух лет. Для определения способности гелевого образца сохранять внутри себя бактериальный компонент были смоделированы (*in vitro*) процессы разгрузки гелевых образцов, содержащих пробиотический штамм, в ЖКТ модельного животного (мышь) и человека, представленные стерильными буферными растворами с соответствующими для определенных отделов ЖКТ каждого объекта значениями pH, при температуре 37°C. Для этого в асептических условиях была создана модель ЖКТ мыши (30 минут при pH 2.2 –

желудок, три часа при pH 7.4 - кишечник), человека (желудок (pH 1.2) – один час, 12-перстная кишка/тощая кишка (pH 6.0) – один час, 12-перстная кишка/тощая кишка (pH 6.0) – один час, слепая кишка и проксимальный отдел толстой кишки (pH 6,0) - пять часов, дистальные отделы толстой кишки, прямая кишка (pH 7.0) – 12-14 часов). Образцы биогеля, содержащие пробиотический штамм, помещали в лунки четырех-луночного планшета с соответствующими буферными растворами на вышеописанные временные интервалы при температуре 37°C, при постоянном перемешивании. По истечению времени нахождения образцов в растворе отбирали аликвоты буфера с бактериями, элиминированными из гелевых образцов, и методом последовательного разведения и посевом на питательные агаризованные среды определяли титр элиминировавших в раствор из образцов бактерий, в лунках производили смену буферных растворов.

В обоих моделях образцы геля, загруженные бактериями, проходя кислую среду желудка, демонстрировали понижение титра на один порядок. Проходя щелочную среду кишечника, образец геля постепенно высвобождает транспортируемые бактерии. После прохождения всего ЖКТ как мыши, так и человека гелевые образцы сохраняли остаточное количество бактерий - возможно это связано с тем, что в модели нет возможности подвергнуть гелевые образцы механическому и ферментативному воздействию. Но даже такая модель позволяет судить, что данный гелевый образец хорошо сохраняет бактериальное содержимое в условиях кислого pH желудка и способен эффективно его высвободить в щелочной среде на протяжении всего кишечника.

Для проверки сохранности и разгрузки бактериальных компонентов в условиях живого организма был проведен эксперимент по кормлению модельных животных (мышь) гелевыми образцами, загруженными бактериальным агентом. Были использованы безмикробные беспородные мыши в возрасте 10-12 недель (самцы). Для удобства кормления животных были сформированы агаровые таблетки, с включением гелевых образцов, нагруженных бактериями. В качестве контроля использовали метод внутрижелудочного питания (гаваж). Через два часа после поедания геля/гаважа мышь вскрывали, собирали содержимое участков кишечника размером 1 см из следующих отделов: двенадцатиперстная кишка, тонкая кишка, слепая кишка, проксимальный отдел толстой кишки, дистальный отдел толстой кишки. Далее методом последовательного разведения и посева на питательные агаризованные среды определяли титр бактерий, выгрузившихся в каждой точке забора материала.

При кормлении животного гелевым образцом бактерии обнаруживаются впервые в 12-перстной кишке через два часа в небольшом количестве, меньше загруженного в гелевой образец количества бактерий на два порядка, тогда как при желудочном кормлении – только в середине тонкой кишки меньше загруженного в гелевой образец количества бактерий на четыре порядка.

При кормлении гелевым образцом после шести часов высвобождения бактерий из гелевых образцов бактерии обнаруживали во всех отделах кишечника, причем в наибольшей концентрации в проксимальной и дистальной частях толстой кишки, а при желудочном способе кормления на пять порядков ниже. Таким образом, применение гелевого носителя для доставки бактериального терапевтического компонента *E. faecium* L3 в ЖКТ мыши продемонстрировала хорошие показатели по сравнению с методом желудочного кормления бактериями.

Таким образом образцы геля (криогель сульфозтилхитозана, сшитого глутаровым альдегидом) продемонстрировали хорошие результаты по сохранности бактерий разного вида как при температуре +4°C, так и при эквиваленте комнатной (+22°C) температуры, что делает данный носитель очень экономически выгодным. Эксперименты *in vitro* по

моделированию прохождения гелевых образцов, нагруженных пробиотическими бактериями *E.Fecium* L 3, ЖКТ животных (мышь) и человека и кормлению *in vivo* модельных (мыши) животных кормовой добавкой в виде геля, нагруженного пробиотическими бактериями, продемонстрировали возможность эффективной доставки бактерий в кишечник животных, с сохранением высокого титра бактерий и достижением терапевтического эффекта, что позволяет ожидать хороших результатов применения таких носителей в животноводстве и, в перспективе – у человека.

Список литературы

1. Tohidifar P. et al. The Mechanism of Bidirectional pH Taxis in *Bacillus subtilis* // J Bacteriol / ed. Stock A.M. 2020. Vol. 202, № 4.38;
2. Gauvry E. et al. Effects of temperature, pH and water activity on the growth and the sporulation abilities of *Bacillus subtilis* BSB1 // International Journal of Food Microbiology. 2021. Vol. 337. P. 10891.
3. Патент на изобретение 2756421 С1, 30.09.2021. Заявка № 2020144093 от 29.12.2020. «Способ радиационной стерилизации биоразлагаемых гидрогелей на основе хитозана» Авторы Самохин А.Г., Корель А.В., Кузнецов В.А., Ткаченко В.О., Брызгин А.А., Землякова Е.О., Пестов А.В.

УДК 66.095.118

МЕХАНИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА КАК ФАКТОР, ВЛИЯЮЩИЙ НА ГЕТЕРОГЕННОЕ ДЕАЦЕТИЛИРОВАНИЕ α - И β -ХИТИНА

Кусков Т.Е., Подгорбунских Е.М., Бухтояров В.А., Бычков А.Л.

Институт химии твёрдого тела и механохимии Сибирского отделения
Российской академии наук
634021, Россия, г. Новосибирск, ул. Академика Киренского, 42

Хитин - один из наиболее распространенных природных полимеров, состоящий из N-ацетилглюкозамидных единиц. В природе хитин представлен в виде двух кристаллических модификаций: α - и β -хитина. Наиболее устойчивая и распространенная форма, α -хитин, обладает антипараллельным расположением полимерных цепей, в то время как в случае β -хитина полимерные цепи расположены параллельно, что значительно влияет на химические и физические свойства [1].

Ключевым процессом в переработке хитина является деацетилирование, в результате которого образуется хитозан. Хитозан обладает уникальными биологическими и химическими свойствами, такими как биосовместимость, биоразлагаемость и способность к связыванию с различными молекулами, что делает хитозан привлекательным материалом для использования в медицине, фармацевтике, биотехнологии и других отраслях [2].

Одним из способов модификации структуры и свойств хитина является механическая обработка. С помощью механической обработки можно влиять на размер частиц, кристалличность и доступность активных групп в структуре хитина, что может повлиять на кинетику деацетилирования [3].

Целью работы являлось исследование влияния длительности механической обработки на характер кинетической зависимости гетерогенного деацетилирования α - и β -хитина.

В работе были использованы α -хитин (Sigma-Aldrich) и β -хитин, полученный из хребтов кальмара по методике, предложенной в работе [4], включающей в себя стадии деминерализации и депротеинизации. ИК-спектры образцов были записаны с помощью ИК-спектрометра FT-801 (Симекс, Россия). Рентгенофазовый анализ проводился с помощью дифрактометра D8 ADVANCE (Bruker, Германия). Потенциометрическое титрование проводилось с использованием автоматического титратора Титрион-1 (ЭЛЕКТРОНПРИБОР, Россия). Механическая обработка образцов α - и β -хитина проводилась на шаровой мельнице АГО-2 (ИХТТМ СО РАН, Россия) в течение 5-45 минут при ускорении мелющих тел 20g.

Для достижения поставленной цели были получены кинетические зависимости гетерогенного деацетилирования исходных и механически обработанных α - и β -хитина с использованием 50% раствора NaOH при 100°C в течении 120 минут. Значения степени деацетилирования были определены с помощью методов рентгенофазового анализа (РФА), ИК-спектроскопии и потенциометрического титрования, после чего были усреднены в диапазоне применимости методов и пересчитаны в значения степени превращения хитина. Кинетические зависимости гетерогенного деацетилирования исходных и механически обработанных α - и β -хитина представлены на рис. 1.

Было показано, что процесс гетерогенного деацетилирования α - и β -хитина происходит в 2 стадии: быструю реакцию в первые 5-10 минут, описываемую моделью реакции псевдопервого порядка и диффузионно-контролируемый процесс, описываемый моделью линейной кинетики, что было показано также в других литературных данных [5]. Кинетическая зависимость гетерогенного деацетилирования β -хитина описывается моделью реакции псевдопервого порядка.

При рассмотрении кинетики деацетилирования α -хитина было показано, что с увеличением продолжительности механической обработки скорость первой стадии гетерогенного деацетилирования α -хитина увеличивается, в то время как скорость второй стадии – уменьшается. После двух часов реакции деацетилирования значение степени деацетилирования равно 78% и не зависит от продолжительности механической обработки. Следовательно механическая обработка способствует увеличению доступности ацетамидных групп на первой стадии гетерогенного деацетилирования α -хитина.

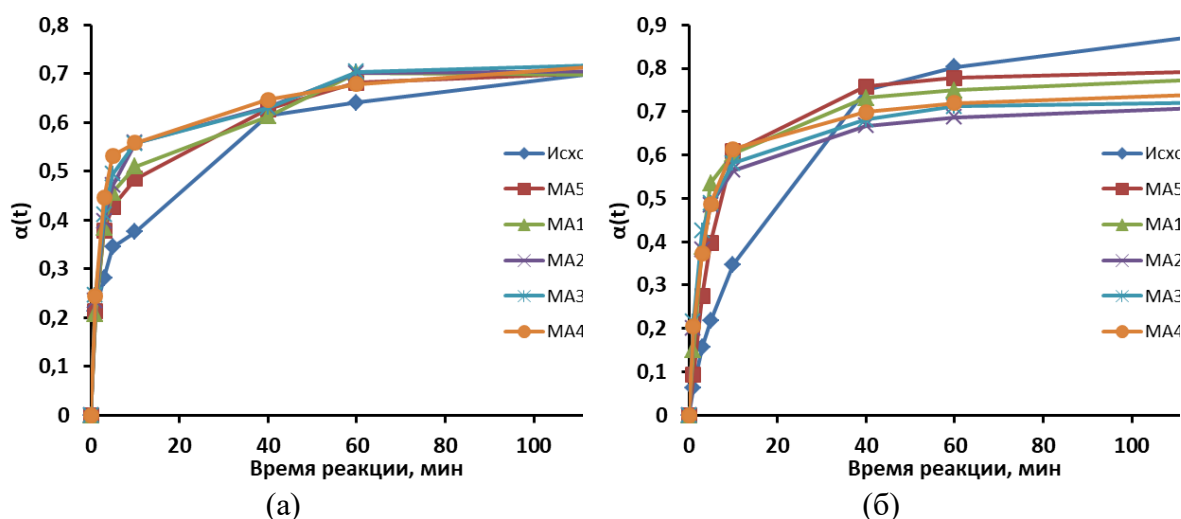


Рис. 1. Кинетические зависимости реакции гетерогенного деацетилирования при разных продолжительностях механической обработки (0, 5, 10, 20, 30 и 45 минут): (а) α - и (б) β -хитина.

При рассмотрении кинетики деацетилирования β -хитина было замечено, что скорость реакции также увеличивается с увеличением продолжительности механической обработки, однако значение степени деацетилирования после двух часов реакции деацетилирования уменьшается от 92% в случае исходного β -хитина до 80% в случае образцов β -хитина, механически обработанных 10-45 минут, что близко к значению 78% для α -хитина. Данное явление, вероятно, связано с перестройкой кристаллической структуры β -хитина в ходе процесса гетерогенного деацетилирования, однако для подтверждения данной гипотезы требуются дополнительные исследования.

Таким образом было показано, что гетерогенное деацетилирование α -хитина является двухстадийным процессом. Первая стадия гетерогенного деацетилирования α -хитина представляет собой кинетически затрудненный процесс. Вторая стадия представляет собой диффузионно-затрудненный процесс, лимитирующийся внешней диффузией гидроксид анионов через слой тормозящего продукта. Гетерогенное деацетилирование β -хитина описывается моделью реакции псевдопервого порядка, что указывает на лимитирование химической реакцией. Показано, что механическая

обработка способствует увеличению доступности ацетамидных групп для протекания гетерогенного деацетилирования как α -хитина, так и β -хитина.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-73-10053, <https://rscf.ru/project/24-73-10053/>

Список литературы

1. Tsurkan, M.V., Voronkina, A., Khrunyk, Y., Wysokowski, M., Petrenko, Y., Ehrlich, H. Progress in chitin analytics // Carbohydr. Polym. 2021. Vol. 252. # 117204.
2. Zhang, W., Zhao, Y., Xu, L., Song, X., Yuan, X., Sun, J., Zhang, J. Superfine grinding induced amorphization an increased solubility of α -chitin // Carbohydr. Polym. 2020. Vol. 237. # 116145.
3. Kou, L., Hu, Z., Zhang, L., Chang, Y., Wang, P., Shang, J., Zhou, J. Preparation of chitin nanofibers through esterification and partial deacetylation followed ultrasonic treatment and their application for antireflective coating // Mater. Today Commun. 2023. Vol. 36. # 106695.
4. Kurita, K., Tomita, K., Tada, T., Ishii, S., Nishimura, S.-I., Shimoda, K. Squid Chitin as a Potential Alternative Chitin Source: Deacetylation Behavior and Characteristic Properties // J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem. 1993. Vol. 31. P. 485-491.
5. Novikov, V.Yu., Derkach, S.R., Konovalova, I.N., Dolgopyatova, N.V., Kuchina, Y.A. Mechanism of Heterogeneous Alkaline Deacetylation of Chitin: A Review // Polymers. 2023. Vol. 15. # 1729.

УДК 547-3

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ N-ЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИТОЗАНА

*Луньков А.П.¹, Дрозд Н.Н.², Шагдарова Б.Ц.¹, Овсепян Р.А.³, Свешникова А.Н.³,
Жуйкова Ю.В.¹, Ильина А.В.¹, Варламов В.П.¹*

¹ ФГУ «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук
119071, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации
125167, Россия, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4

³ ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии» Российской академии наук
109029, Россия, г. Москва, ул. Средняя Калитниковская, 30

Неконтролируемые кровотечения, возникающие при хирургических вмешательствах, травмах, а также полученные в условиях боевых действий [1] являются критическими состояниями и требуют незамедлительных действий [2]. Кровотечения из-за травм являются причиной потенциально предотвратимых смертей, в том числе, среди раненых в ходе боевых действий [3–5]. Около 50 % летальных случаев при повреждении магистральных сосудов связаны с неправильной тактикой/невозможностью своевременной остановки кровотечений. Простым и эффективным способом остановки кровотечений является использование местных гемостатических средств (МГС). Эти материалы способны эффективно останавливать кровотечение без вреда для организма. Низкотоксичный биополимер хитозан является перспективным материалом для разработки МГС. Хитозан линейный полисахарид, состоящий из случайной последовательности звеньев D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина соединённых β-1,4-гликозидными связями. Исследования в области хитозановых гемостатиков начались с нескольких публикаций 1980-х годов [6,7]. Результаты этих исследований легли в основу разработок множества коммерческих «хитозановых» гемостатиков. Общепринятым представлением является то, что остановка кровотечений связана с неспецифическим взаимодействием поликатиона (протонированного хитозана) с отрицательно заряженными компонентами крови. Однако, широкие возможности химической модификации хитозана позволяют значительно улучшить гемостатические свойства полимера – результаты множества последних исследований свидетельствуют о том, что эффективность материалов на основе производных хитозана значительно превосходит исходный хитозан [8]. Несмотря на общую позитивную тенденцию в исследованиях применения производных хитозана в составе гемостатических материалов, разрозненные данные не позволяют сделать однозначные выводы о влиянии заместителей различной природы на свойства хитозана. Среди производных хитозана полифенольные и гидрофобные производные рассматриваются как наиболее перспективная основа МГС. Гидрофобные производные являются наиболее изученными с точки зрения механизма взаимодействия с кровью [9–11]. Тем не менее, исследования

влияния степени замещения (СЗ) на гемостатический потенциал производных и возможный синергизм новых заместителей практически отсутствуют.

Цель работы – синтез и характеристика производных хитозана, тестирование *in vitro/in vivo* новых макромолекулярных структур, способных эффективно останавливать кровотечение. В ходе работы был синтезирован и охарактеризован ряд N-замещенных производных хитозана (237 кДа, СД 85%), содержащих два заместителя, проведена оценка гемостатического потенциала новых соединений *in vitro/in vivo* [12]. Новые производные содержали N-(3,4-дигидроксibenзил) — аналог L-DOPA и дополнительный структурный фрагмент (гидрофобный, остаток аминокaproновой кислоты и т.д.). СЗ по каждому фрагменту составила около 10% (¹H ЯМР). Среди новых структур были выявлены соединения, оказывающие положительное влияние на свертывание крови: содержащие 3,4-дигидроксibenзил + 4-(тетрадецилокси)бензил (ДГБХ-ОБ), 3,4-дигидроксibenзил + гидроксипропилазид ДГБХ-N₃. В отличие от хитозана эти соединения демонстрировали образование геля при контакте с донорской кровью, содержащей антикоагулянт (цитрат натрия). Количественная оценка агрегации производных с кровью *in vitro* (в различных средах) показала усиление агрегации с кровью до 5 раз в сравнении с контролем (хитозан). Токсичность производных хитозана в МТТ-тесте (3Т3, HepG2 и Huh7) не превышала значения для хитозана. Исследования на мышинной модели кровотечения хвоста *in vivo* показали, что растворы соединений ДГБХ-N₃ и ДГБХ-ОБ способствовали остановке кровотечения. Результаты исследования показали, что происходило снижение среднего времени кровотечения в сравнении с контролем (H₂O) для хитозана (в ~1.4 раза), которое снижалось ещё больше в случае производных (в ~2.5 раза). Важно отметить, что в концентрации 200 мкг/мл новые соединения не оказывали значительного влияния на тромбодинамику. Механизм действия новых производных, по всей видимости, связан с неспецифическим взаимодействием с компонентами крови. Предположительно (по первичным данным микроскопии), производные, в отличие от хитозана активно связываются с фибриногеном. Таким образом, новые производные обладают потенциалом для создания материалов с гемостатическими свойствами.

Список литературы

1. B.L. Bennett, L. Littlejohn, Review of New Topical Hemostatic Dressings for Combat Casualty Care, Mil. Med. 179 (2014) 497–514. <https://doi.org/10.7205/MILMED-D-13-00199>.
2. J. Granville-Chapman, N. Jacobs, M.J. Midwinter, Pre-hospital haemostatic dressings: A systematic review, Injury. 42 (2011) 447–459. <https://doi.org/10.1016/J.INJURY.2010.09.037>.
3. J.T. Howard, R.S. Kotwal, C.A. Stern, J.C. Janak, E.L. Mazuchowski, F.K. Butler, Z.T. Stockinger, B.R. Holcomb, R.C. Bono, D.J. Smith, Use of Combat Casualty Care Data to Assess the US Military Trauma System during the Afghanistan and Iraq Conflicts, 2001-2017, JAMA Surg. 154 (2019) 600–608. <https://doi.org/10.1001/jamasurg.2019.0151>.
4. C.C. Clifford, Treating traumatic bleeding in a combat setting., Mil. Med. 169 (2004) 8–10.
5. M.A. Khan, M. Mujahid, A review on recent advances in chitosan based composite for hemostatic dressings, Int. J. Biol. Macromol. 124 (2019) 138–147. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.045>.
6. G. Brandenburg, L.G. Leibrock, R. Shuman, W.G. Malette, H. Quigley, Chitosan: A New Topical Hemostatic Agent for Diffuse Capillary Bleeding in Brain Tissue, Neurosurgery. 15 (1984) 9–13. <https://doi.org/10.1227/00006123-198407000-00004>.

7. W.G. Malette, H.J. Quigley, R.D. Gaines, N.D. Johnson, W.G. Rainer, Chitosan: A New Hemostatic, *Ann. Thorac. Surg.* 36 (1983) 55–58. [https://doi.org/10.1016/S0003-4975\(10\)60649-2](https://doi.org/10.1016/S0003-4975(10)60649-2).
8. A.P. Lunkov, A.A. Zubareva, V.P. Varlamov, A.M. Nechaeva, N.N. Drozd, Chemical modification of chitosan for developing of new hemostatic materials: A review, *Int. J. Biol. Macromol.* 253 (2023) 127608. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127608>.
9. H. Choudhary, M.B. Rudy, M.B. Dowling, S.R. Raghavan, Foams with Enhanced Rheology for Stopping Bleeding, *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 13 (2021) 13958–13967. https://doi.org/10.1021/ACSAMI.0C22818/ASSET/IMAGES/LARGE/AM0C22818_0009.JPEG.
10. A. Chaturvedi, M.B. Dowling, J.P. Gustin, T.M. Scalea, S.R. Raghavan, J.D. Pasley, M. Narayan, Hydrophobically modified chitosan gauze: a novel topical hemostat, *J. Surg. Res.* 207 (2017) 45–52. <https://doi.org/10.1016/J.JSS.2016.04.052>.
11. I.C. Macintire, M.B. Dowling, S.R. Raghavan, How Do Amphiphilic Biopolymers Gel Blood? An Investigation Using Optical Microscopy, *Langmuir*. 36 (2020) 8357–8366. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00409>.
12. A.P. Lunkov, N.N. Drozd, B.T. Shagdarova, R.A. Ovsepyan, A.N. Sveshnikova, Y.V. Zhuikova, A.V. Il'ina, V.P. Varlamov, Tuning chitosan properties to enhance blood coagulation, *Int. J. Biol. Macromol.* 296 (2025) 139653. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.139653>.

УДК 547.458.1:[579.61+616-003.93]

ФОРМИРОВАНИЕ *IN SITU* ОРГАНО-НЕОРГАНИЧЕСКИХ ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ СМЕСИ ГЛЮКОМАННА С ХИТОЗАНОМ

Малинкина О.Н., Приданкина Д.В., Астанкова А.С., Шиповская А.Б.

Институт химии Саратовского национального исследовательского государственного
университета имени Н.Г. Чернышевского,
410012, Россия, г. Саратов, ул. Астраханская, 83

Гибридные органо-неорганические гидрогели, формирующиеся *in situ* непосредственно на раневой поверхности являются перспективными реконструктивно-терапевтическими материалами. В работе обсуждаются результаты исследования кинетики гелеобразования *in vitro* и *in situ*, сорбционных, адгезионных и биологических свойств глицереогидрогелей на основе смеси двух полисахаридов: разветвленного глюкоманнана (ГМ) и линейного хитозана (ХТЗ).

Гелеобразующую композицию получали смешением исходных растворов полисахаридов (ГМ, гидрохлорид ХТЗ) и золь-гель прекурсора $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 3 \text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ с последующим доведением значения pH многокомпонентной системы до ~ 5.5 . Дополнительно использовали модифицирующие добавки $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 3 \text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ и $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$. Время гелеобразования *in vitro* при $20 \pm 2^\circ\text{C}$, оцененное методом ротационной вискозиметрии (Brookfield DV2T), составило 3 ± 1 мин, время потери текучести *in situ* на интактной дермальной и раневой поверхностях – 4 ± 1 и 5 ± 1 мин, соответственно. Иммерсионным методом в условиях, близким к физиологическим (имитация плазмы крови человека, $\text{pH}=7.4$, $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$), выявлена высокая сорбционная активность тестируемых образцов и их способность к биорезорбции в течение 50 ± 5 ч. Сила дермоадгезии *ex vivo* (W_D), определенная в условиях разрушения адгезионного контакта (Tinius Olsen H1KS) гидрогелевого материала от дермальной поверхности кожи крыс, оказалась равной 16.2 ± 0.8 кПа. Для контрольного фармацевтического препарата «Метрогил Дента» $W_D=13.2 \pm 0.7$ кПа.

Исследование антибактериальной активности полученных глицереогидрогелей проводили с использованием стандартных моделей микроорганизмов: шаровидных грамположительных *Staphylococcus aureus* и палочковидных грамотрицательных *Pseudomonas aeruginosa*. Методом диффузии в агар установлена умеренная антибактериальная активность *in vitro* тестируемых образцов в отношении штаммов тест-культур *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Оценку гемостатической и ранозаживляющей активности *in vivo* проводили путем разовой обработки резаной раны в дорсальной области половозрелых нелинейных альбиносов крыс-самок (по 6 особей в группе) в сравнении с контрольной группой при ежедневной обработке фармацевтическим антибактериальным ранозаживляющим препаратом «Левомеколь». Нанесение смесевой композиции на дно резаной раны сопровождалось образованием монолитного формоустойчивого глицереогидрогелевого покрытия и способствовало остановке кровотечения в течение 7.0 ± 0.5 мин, в контрольной группе – 20.0 ± 1.2 мин. Средняя линейная скорость ранозаживления составила 9.9 ± 0.5 мм/сут, в контроле – 2.4 ± 0.1 мм/сут. Установлено, что присутствие на резаной ране у крыс глицереогидрогелей не доставляло дискомфорта и не вызывало побочных эффектов у экспериментальных

животных, а также не влияло на их двигательную активность и аппетит. За весь период наблюдения не было отмечено ни одного случая нагноения раны или осложненного течения раневого процесса.

Проведенные исследования показывают перспективность использования разработанных органо-неорганических глицерогидрогелей на основе смеси глюкоманнана и хитозана в качестве быстро гелируемых на ране высокоэффективных и биорезорбируемых раневых покрытий и фармацевтических биотрансплантатов. Препарат проявляет бактериостатическое действие, высокий гемостатический эффект, проявляет умеренные дермоадгезивные характеристики и обладает высоким ранозаживляющим действием.

Авторы выражают благодарность Хониной Т.Г. (ГБУН ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН, г. Екатеринбург) за предоставленный глицеролат кремния, ИБФРМ РАН (г. Саратов) за возможность проведения эксперимента по антибактериальной активности, Бучарской А.Б. (СГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, г. Саратов) за предоставление экспериментальных животных и содействие в реализации исследования.

УДК 661.183:664.22:577.114

БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ ПЛЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И КРАХМАЛА С НАНО-TiO₂ ДЛЯ УПАКОВКИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ С ПРОЛОНГИРОВАННЫМ СРОКОМ ХРАНЕНИЯ

Масленникова М.С., Саломатина Е.В., Смирнова О.Н., Смирнова Л.А.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

В 2024 году мировое производство пластмасс достигло 460 миллионов тонн. Более трети этого объёма используется в упаковочной промышленности. Широкое распространение одноразовых пластиковых изделий, их ненадлежащее хранение и утилизация приводят к деградации под действие факторов окружающей среды до микро- и наночастиц. Эти частицы мигрируют из одной экосистемы в другую, накапливаясь в воде, почве, атмосфере, в организмах рыб, птиц и млекопитающих, и по пищевой цепи попадают в организм человека с негативными последствиями для здоровья. В связи с этим в мире наблюдается тенденция по разработке и внедрению биоразлагаемых полимерных материалов из возобновляемых природных источников. Наиболее целесообразным с экономической точки зрения является использование крахмала. Однако крахмал не обладает пленкообразующей способностью. Перспективным является совмещение крахмала с хитозаном, обладающим наряду с пленкообразующими свойствами огромным комплексом полезных свойств.

Целью работы являлась получение композиций хитозана с модифицированным крахмалом и наночастицами диоксида титана (НЧ TiO₂), изучение структурных, физико-химических и антибактериальных свойства пленочных материалов на их основе.

С целью совмещения хитозана с крахмалом в растворе была проведена модификация последнего привитой полимеризацией с акриламидом. Определены оптимальные условия совмещения хитозана с модифицированным крахмалом в растворе, обеспечивающие наилучшие пленкообразующие способности. Содержание хитозана в композиции составляло 25 %. Из полученного раствора были сформированы плёнки с прочностью на разрыв 17.9 МПа при деформации 8,1%.

Для придания пленкам комплекса функциональных свойств в состав композиции вводили НЧ TiO₂, которые обладают УФ-защитными свойствами и антибактериальной активностью. Добавление небольших концентраций НЧ TiO₂ приводит к увеличению прочностных характеристик плёнок. При содержании 2 масс.% НЧ значение разрушающего напряжения возрастает до 47.4 МПа при деформации 6,5%.

Дополнительно была проведена пластификация композиции глицерином. Наилучшие прочностные показатели были достигнуты при введении 25 масс.% ГЛЦ, при этом величина разрушающего напряжения составила 38.7 МПа, а предельная деформация – 12.1%.

Положительными свойствами полученного плёночного материала, перспективного для упаковки, является низкая газопроницаемость по кислороду (0.001 barrer) и способность поглощать ультрафиолетовое излучение за счёт перехода $Ti^{+4} + e^- \rightleftharpoons Ti^{+3}$. Паропроницаемость плёнок составляет 0.21 кг/(м²·сут). Для улучшения гидрофобных свойств плёнок была проведена их поверхностная обработка растворами

пальмитиновой кислоты и биodeградируемого сополимера хитозана с капролактоном (толщина покрытия 2.5 мкм). Достигнуто повышение угла смачивания с 65 до 106° - пленки становятся гидрофобными.

Доказана антибактериальная активность композиций в отношении бактерий *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. В опытах с микромицетами *Aspergillus niger* установлено, что пленки являются биоразлагаемыми.

Плѐнки на основе разработанной рецептуры были исследованы в качестве упаковочного материала для продления срока хранения пищевых продуктов (сыр, зелёный виноград, хлеб). Показано, что в течение месяца не наблюдалось изменений внешних свойств продуктов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 23-74-10069.

УДК 639.28:577.15

ХИТИНОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КАМЧАТСКОГО КРАБА И КРАБА-СТРИГУНА ОПИЛИО

Новиков В.Ю.¹, Рысакова К.С.¹, Мухортова А.М.¹, Деркач С.Р.², Мухин В.А.¹

¹ Полярный филиал ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии» («ПИНРО им. Н. М. Книповича»
183038, Россия, г. Мурманск, ул. Академика Книповича, 6

² ФГАОУ ВО «Мурманский арктический университет»
183038, Россия, г. Мурманск, ул. Капитана Егорова, 15

Введение

Гидролитические ферменты, участвующие в метаболизме морских организмов, могут быть использованы в качестве катализаторов в различных биотехнологических процессах, для переработки морепродуктов, в производстве пищевых и кормовых продуктов, в медицинской промышленности и т. д. В Северо-Западном регионе России, в частности в Мурманской области, источниками таких ферментов являются отходы промысла и промышленной переработки рыб и беспозвоночных. Расширение промысла камчатского краба в Баренцевом море и краба-стригуна опилио в Карском море, а также их переработка на наземных предприятиях требуют решения проблемы утилизации органических отходов переработки – панцирей и внутренностей. Решение этой проблемы в настоящее время все более сдвигается в область биотехнологии, предполагая получение и переработку хитина с помощью ферментативных методов. Одним из направлений является биотрансформация хитина под действием ферментов.

Хитинолитические ферменты участвуют в нескольких биологических процессах, таких как переваривание хитинсодержащих питательных веществ, морфогенез, патогенез и защита от патогенов [1]. В публикациях, посвященных обнаружению и исследованию свойств хитино- и хитозанолитических ферментов из тканей ракообразных, отмечается, что отходы от промышленной переработки крабов и креветок, а именно, гепатопанкреас, могут служить потенциальным сырьем для выделения таких ферментов.

Исследования хитинолитических ферментов из различных источников не теряют актуальности в настоящее время. Основные направления применения хитинолитических ферментов преимущественно биотехнологические: создание средств биоконтроля грибковых заболеваний; разработка избирательных средств борьбы с насекомыми - вредителями сельскохозяйственных культур; разработка ферментативных методов получения биологически активных препаратов из хитина и хитозана; внедрение технологий комплексной переработки хитинсодержащих отходов переработки ракообразных и др. [2, 3].

Целью работы являлось выделение и идентификация хитинолитических ферментов методом электрофореза белков в полиакриламидном геле (ПААГ).

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали ферментные препараты (ФП), изготовленные из гепатопанкреаса крабов, обитающих в Баренцевом и Карском морях:

камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) и краба-стригуна опилио (*Chionoecetes opilio*). ФП были получены по описанной ранее методике [4].

Для концентрирования отдельных фракций белков было выполнено фракционирование ФП дробным осаждением охлажденным ацетоном при объемных соотношениях 1%-ного раствора ФП и ацетона 1:0.5; 1:1; 1:1.2; 1:1.4; 1:1.6; 1:1.8; 1:2.0; 1:2.2 и 1:2.4. Горизонтальный электрофорез в ПААГ проводили по методике U. K. Laemmli [5].

Результаты и их обсуждение

Максимальная эндо- и экзохитинолитическая активность наблюдалась во фракциях 1:1.2 в ФП обоих крабов. Максимальная протеолитическая активность ФП из камчатского краба была сосредоточена во фракциях 1:1.4 и 1:1.6. У краба стригуна опилио протеолитическая активность практически совпала с хитинолитической, но была немного сдвинута к фракции 1:1.4. Полученные результаты показали, что хитинолитическая и протеолитическая активность в гепатопанкреасах крабов соответствует разным белковым фракциям.

Электрофорез в ПААГ и сравнение его результатов с данными измерения хитинолитической и протеолитической активности после фракционирования позволил сделать вывод о наличии в обоих препаратах хитинолитических ферментов с молекулярными массами (ММ) 30.1 ± 0.5 кДа для ФП из гепатопанкреаса камчатского краба и 23.9 ± 0.7 кДа для ФП из гепатопанкреаса краба-стригуна опилио, что не противоречит данным других исследователей. В опубликованных работах, посвященных исследованиям хитинолитических ферментов других крабов, приводятся молекулярные массы ферментов от 17 до 70 кДа.

Анализ электрофоретических профилей ацетоновых фракция позволил предположить, что протеолитические ферменты имеют следующие ММ: ФП из гепатопанкреаса камчатского краба – 18.6-21.4 кДа; ФП из гепатопанкреаса краба-стригуна опилио – 32.3-36.3 кДа. Эти результаты также близки к известным данным: протеолитические ферменты изученных морских ракообразных имеют ММ в широком диапазоне значений от 17 до 40 кДа.

При больших концентрациях осадителя ацетона наблюдалась следующая картина распределения ферментативной активности. Начиная с фракции 1:1.4 эндохитинолитическая активность практически полностью исчезла. В последних фракциях также практически отсутствовала протеолитическая активность. Следы экзохитинолитической активности наблюдались вплоть до фракции 1:2.4. Отмечено небольшое повышение ее во фракции 1:2.2. Таким образом, можно предполагать, что белковые фракции 1:2.0-1:2.4 могут содержать ферменты с экзохитинолитической активностью.

Полученные результаты являются первыми, в которых выполнена идентификация хитинолитических ферментов, выделенных из гепатопанкреаса крабов *Paralithodes camtschaticus* и *Chionoecetes opilio*, и они будут использованы при дальнейшем исследовании свойств и способов выделения этих ферментов.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 25-16-00064.

Список литературы

1. Dahiya N., Tewari R., Hoondal G. S. Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: a review // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2006. – Vol. 71, No. 6. – P. 773-782. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0183-7>.

2. Мелентьев А. И., Актуганов Г. Э. Ферменты деградации хитина и хитозана // Хитозан / Под ред. К. Г. Скрыбина, С. Н. Михайлова, В. П. Варламова. – М.: Центр «Биоинженерия» РАН, 2013. – 593 с. – С. 71-114.

3. Kaczmarek M. B., Struszczyk-Swita K., Li X., Szczesna-Antczak M., Daroch M. Enzymatic modifications of chitin, chitosan, and chitooligosaccharides // Front Bioeng Biotechnol. – 2019. – Vol. 7. – P. 243 (26 p.). <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00243>.

4. Рысакова К. С., Новиков В. Ю., Шумская Н. В., Мухортова А. М. Выделение хитиназ из гепатопанкреаса камчатского краба и краба-стригуна опилио // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана (Росхит-23): Шестнадцатая Всероссийская конференция с международным участием, 2–6 октября 2023 г., г. Владивосток: материалы конференции. – Владивосток: Издательство Дальневосточного федерального университета, 2023. – С. 55-59.

5. Westermeier R. Electrophoresis in Practice. A Guide to Methods and Applications of DNA and Protein Separations. – Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2005. – 427 p.

УДК 577.114.4:544.431

ВЛИЯНИЕ КАТИОНОВ ЩЕЛОЧНЫХ МЕТАЛЛОВ НА РЕАКЦИЮ ДЕАЦЕТИЛИРОВАНИЯ ХИТИНА В КОНЦЕНТРИРОВАННОМ РАСТВОРЕ ЩЕЛОЧИ

Новиков В. Ю.¹, Коновалова И. Н.², Долгопятова Н. В.², Паукишта О. И.²

¹ Полярный филиал ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии» («ПИНРО им. Н. М. Книповича») 183038, Россия, г. Мурманск, ул. Академика Книповича, 6

² ФГАОУ ВО «Мурманский арктический университет» 183038, Россия, г. Мурманск, ул. Капитана Егорова, 15

Введение

Реакция щелочного деацетилирования хитина лежит в основе промышленного способа получения хитозана. Разработаны основные приемы регулирования свойств хитозана – молекулярной массы (ММ) и степени деацетилирования (СД). Однако, регулирование последней ограничено особенностями реакции деацетилирования, не позволяющими получить СД около 100 % при однократной обработке хитина раствором щелочи.

Возникла необходимость более глубокого изучения механизма деацетилирования хитина в концентрированных растворах щелочи.

В наших предыдущих исследованиях мы рассмотрели особенности реакции деацетилирования хитина на разных этапах реакции. На первом участке деацетилирования (первые 30-60 минут) сделаны выводы о вызывающих реакцию реакционных частицах – гидроксид-ионах с разной степенью гидратации [1]. При увеличении концентрации щелочи выше концентрации границы полной гидратации (ГПГ) гидратная оболочка гидроксид-ионов начинает уменьшаться, так как в растворе практически не остается «свободной» воды, не связанной в гидратные оболочки катионов и анионов щелочи. Экспериментальные результаты показывают, что в области ГПГ начинается реакция деацетилирования, скорость которой затем растет с увеличением концентрации щелочи.

В настоящем исследовании с целью более глубокого понимания механизма реакции изучено влияние природы катионов щелочных металлов на кинетику щелочного деацетилирования хитина.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования были хитин и хитозан, полученные из панциря камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) традиционным методом, включающим щелочную депротеинизацию и кислотную деминерализацию. Для деацетилирования использовали растворы гидроксидов калия, натрия и лития с концентрациями от 20 до 50% для КОН и NaOH и от 5 до 17.5% для LiOH. Деацетилирование проводили при температуре $100.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$, продолжительность обработки варьировали от 10 мин до 3 ч. Степень деацетилирования определяли методом инфракрасной спектроскопии [2].

Экспериментальные результаты и их обсуждение

Кинетика деацетилирования в растворах гидроксидов разных щелочных металлов была одинаковой по форме: кривые состояли из стадии быстрого деацетилирования (до

30 мин) и медленного деацетилирования (более 30 мин). С увеличением концентрации щелочи наблюдался рост скорости реакции.

После обработки полученный кинетических кривых было установлено, что начальная скорость деацетилирования хитина при одинаковой молярной концентрации щелочи возрастала в ряду катионов $K^+ < Na^+ < Li^+$. Единственным ограничением для получения полной концентрационной зависимости деацетилирования в растворе LiOH являлась низкая растворимость: максимальная концентрация которого LiOH составляла 17.5%.

Зависимость начальной скорости деацетилирования от отношения концентрации воды и гидроксид-ионов, приведенная на рисунке, показала достоверное влияние природы катионов на скорость реакции деацетилирования хитина.

Полученные результаты согласуются с предположением о влиянии степени гидратации гидроксид-ионов на скорость деацетилирования амидных связей.

Согласно теории Самойлова [3] природа катиона оказывает существенное влияние на гидратацию гидроксид-ионов в растворе. Катион Li^+ обладает сильной положительной гидратацией, сильно связывая молекулы воды не только в первой гидратной оболочке, но и в следующих. В результате, в объеме раствора наблюдается смещение равновесия в сторону большей гидратации катионов и меньшей гидратации гидроксид-ионов. Катион K^+ , наоборот, проявляет отрицательную гидратацию, повышая подвижность молекул воды в непосредственной близости. В результате более высокой трансляции ионов воды в растворе гидроксид-ионы имеют возможность построить более полную гидратную оболочку за счет большего количества доступной воды. В это случае равновесие смещается в сторону большей гидратации анионов и меньшей гидратации катионов.

Поэтому в растворе КОН требуется более высокая концентрация щелочи для получения той же степени гидратации OH^- , что и в растворе LiOH. Мы наблюдаем это на рис. 1. Реакция начинает ускоряться при меньшей концентрации LiOH. Для NaOH эта концентрация выше, для КОН – еще выше. Полученные результаты подтверждают связь начала реакции деацетилирования с точкой границы полной гидратации (ГПГ). ГПГ в растворе LiOH наступает при меньших концентрациях щелочи. Из данных, приведенных на рисунке, видно, что начало реакции сдвинуто в область меньших концентраций щелочи в случае LiOH. Для NaOH ГПГ лежит в области больших концентраций щелочи. Для раствора КОН ГПГ соответствует максимальному значению концентрации. Ограниченная растворимость LiOH в воде не позволяет полностью получить зависимость скорости ДА от концентрации щелочи, но имеющаяся часть зависимости подтверждает механизм.

Таким образом, полученные результаты показали значительное влияние природы катиона на скорость щелочного деацетилирования хитина. Сделано предположение, что в ряду катионов $Li^+ - Na^+ - K^+$ в результате снижения энергии гидратации катиона в растворе щелочи большее количество молекул воды оказывается связано с гидроксид-ионами, приводя к увеличению степени их гидратации и, как следствие, снижению реакционной способности при деацетилировании хитина.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 25-16-00064.

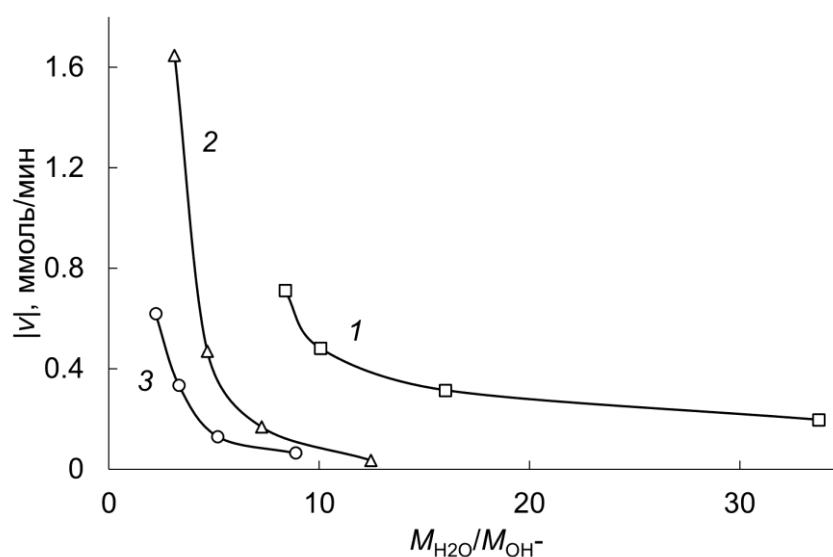


Рис. 1. Зависимость начальной скорости деацетилирования хитина от отношения концентрации воды и гидроксид-ионов в растворах LiOH (1), NaOH (2) и KOH (3).

Список литературы

1. Novikov V. Yu., Derkach S. R., Konovalova I. N., Dolgopyatova N. V., Kuchina Yu. A. Mechanism of heterogeneous alkaline deacetylation of chitin: A review // *Polymers*. – 2023. – Vol. 15, No. 7. – 1729. <https://doi.org/10.3390/polym15071729>.
2. Shigemasa Y., Matsuura H., Sashiwa H., Saimoto H., Evaluation of different absorbency ratios from infrared spectroscopy for analyzing the degree of deacetylation in chitin // *Int. J. Biol. Macromol.* – 1996. – Vol. 18, No. 3. – P. 237-242. [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(95\)01079-3](https://doi.org/10.1016/0141-8130(95)01079-3).
3. Самойлов О. Я. Структура водных растворов электролитов и гидратация ионов. – М.: Изд-во АН СССР, 1957. – 184 с.

УДК 57.021,57.085.19

ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАНА НА СИЛУ АДГЕЗИИ ПЕКТИНОВЫХ ГЕЛЕЙ К СЕРОЗНОЙ ОБОЛОЧКЕ

Падерин Н.М., Попов С.В.

Институт физиологии ФИЦ Коми научного центра Уральского отделения РАН
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50

Несостоятельность кишечных анастомозов является актуальной проблемой хирургии, которая требует разработки новых биосовместимых материалов, обладающих тканевой адгезивностью. Ранее нами было показано, что ионотропный пектиновый гель способен адгезироваться к серозной оболочке внутренних органов лабораторных крыс [1]. Однако пектиновый гель демонстрирует слабую силу адгезии, а также обладает низкой механической прочностью.

Цель работы – усилить тканевую адгезивность, механическую прочность и устойчивость в физиологической среде пектинового геля с помощью хитозана, а также определить биосовместимость пектин-хитозановых гелей *in vitro*.

Пектин (20 г) растворяли в дистиллированной воде (500 мл). Хитозан (20 г) растворяли в 0,4 М соляной кислоте (500 мл). Диализные трубки, с размером пор 14 кПа заполняли полученными растворами в заданных соотношениях (80 мл, 90°C) и выдерживали в 1,0 М растворе хлорида кальция (250 мл) в течение 48 ч при 25°C для гелеобразования. Были получены четыре пектин-хитозановых геля: П-Хит0, П-Хит25, П-Хит50 и П-Хит75 с содержанием хитозана 0, 25, 50 и 75% соответственно. Твердость и адгезию гелей к серозной оболочке тонкой кишки лабораторных крыс определяли с помощью анализатора текстуры TA-XT Plus (Texture Technologies Corp., Stable Micro Systems) до и после инкубации образцов в растворе Хэнкса при pH 5.0, 7.4 и 8.0. Для оценки биосовместимости определяли гемосовместимость, активацию системы комплемента, адсорбцию сывороточных белков и адгезию лейкоцитов брюшной полости крысы, как описано ранее [2].

Установлено, что включение хитозана (25%) в пектиновый гель увеличивает его твердость с 1.1 ± 0.1 до 3.3 ± 0.1 Н. При увеличении содержания хитозана до 50 и 75% твердость гелей снижается и составляет 1.7 ± 0.1 и 0.4 ± 0.1 Н для гелей П-Хит50 и П-Хит75, соответственно. Твердость гелей П-Хит0 и П-Хит25 уменьшается на 50-80% от исходного значения через 24 часа инкубации в физиологическом растворе при pH 5.0, 7.4 и 8.0. Твердость гелей П-Хит50 и П-Хит75 уменьшается на 5-13% через 24 часа инкубации в физиологическом растворе при pH 5.0. Однако твердость гелей П-Хит50 и П-Хит75 увеличивается на 60-90% от исходного значения через 24 часа инкубации при pH 7.4 и 8.0. При этом, масса хитозан-содержащих гелей П-Хит25, П-Хит50 П-Хит75 уменьшается на 20-60% через 24 часа инкубации в физиологических растворах, тогда как масса пектинового геля П-Хит0 не изменяется.

Установлено, что сила адгезии пектин-хитозанового геля к серозной оболочке увеличивается при увеличении содержания хитозана до 50%, тогда как дальнейшее увеличение содержания хитозана приводит к снижению силы адгезии. Так, сила адгезии свежеполученных гелей П-Хит0, П-Хит25, П-Хит50 и П-Хит75 к серозной оболочке составляет 76 ± 20 , 101 ± 12 , 130 ± 22 и 82 ± 13 мН соответственно. Обнаружено, что обработка гелей П-Хит0, П-Хит50 и П-Хит75 физиологическим раствором с pH 5.0 и 7.4

в течение 24 ч снижает их силу адгезии к серозной оболочке на 20-40%, тогда как сила адгезии геля П-Хит25 в этих условиях не изменяется. Адгезивность пектин-хитозановых гелей не изменяется после их инкубации в физиологическом растворе с pH 8.0.

Установлено, что хитозан снижает адсорбцию сывороточных белков на поверхности пектиновых гелей при pH 5.0. При pH 7.4 адсорбция белка, напротив, увеличивается при увеличении содержания хитозана в пектиновых гелях. Коэффициент гемолиза гелей П-Хит0, П-Хит25, П-Хит50 и П-Хит75 при концентрации 10 мг/мл крови составляет 2.1 ± 1.4 , 5.5 ± 1.7 , 6.7 ± 1.2 и $4.7 \pm 2.5\%$ соответственно, указывая на высокую биосовместимость пектин-хитозановых гелей. Показано, что пектин-хитозановые гели (10 мг/мл) не увеличивают концентрацию фрагмента комплемента C3a при инкубации с сывороткой крови человека. Обнаружено, что хитозан стимулирует адгезию лейкоцитов на поверхности пектиновых гелей. Так, количество адгезированных лейкоцитов на поверхности гелей П-Хит0, П-Хит25, П-Хит50 и П-Хит75 составляет 235 ± 107 , 244 ± 118 , 1304 ± 163 и 1025 ± 301 кл/мм², соответственно, через 2 часа инкубации. Количество адгезированных лейкоцитов на поверхности всех гелей достоверно не отличается и составляет 460-730 кл/мм² через 24 часа инкубации.

Таким образом, показано, что включение хитозана в состав пектинового геля увеличивает его тканевую адгезивность, механическую прочность и устойчивость в физиологической среде. Высокая биосовместимость и структурно-механические свойства пектин-хитозановых гелей делают их перспективным биоматериалом для создания тканевых адгезивов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 21-73-20005.

Список литературы

1. Popov S., Paderin N., Chistiakova E., Ptashkin D. Serosal adhesion Ex Vivo of hydrogels prepared from apple pectin cross-linked with Fe³⁺ ions // International Journal of Molecular Science. 2023. Vol. 24. 1248. <https://doi.org/10.3390/ijms24021248>.
2. Popov S., Paderin N., Chistiakova E., Ptashkin D., Vityazev F., Markov P.A., Erokhin K.S. Effect of chitosan on rheological, mechanical, and adhesive properties of pectin-calcium gel // Marine Drugs. 2023. Vol. 21. 375. <https://doi.org/10.3390/md21070375>.

УДК 577.114.7

ПЛЁНКИ ХИТОЗАНА, НАГРУЖЕННЫЕ КОМПЛЕКСОМ 2-ГИДРОКСИПРОПИЛ- β -ЦИКЛОДЕКСТРИНА И β -КАРИОФИЛЛЕНА, ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Розанов Ф.М.¹, Скуредина А.А.¹, Попырина Т.Н.², Ле-Дейген И.М.¹

¹ Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова
119991, Россия, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, 1, стр. 3

² ФГБУН Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН
117393, Россия, Москва, Профсоюзная улица, 70

Функционализированные покрытия на основе природных полимеров привлекают внимание благодаря своей биосовместимости и биоразлагаемости, представляя собой экологичную альтернативу синтетическим материалам. Особый интерес среди биополимеров представляет хитозан – природное соединение, получаемое при деацетилировании хитина панцирей ракообразных и обладающее противомикробными свойствами как поликатион. На сегодняшний день покрытия на основе хитозана находят широкое применение в изготовлении перевязочных материалов и биомедицинских покрытий, в агробиотехнологии для продления срока хранения плодов, а также в косметической индустрии.

Несмотря на многочисленные достоинства хитозана как материала для покрытий, плёнки из чистого хитозана обладают недостаточными барьерными свойствами по отношению к кислороду и парам воды. Улучшение барьерных качеств плёнки зачастую достигается за счёт внедрения циклодекстринов, среди которых особое место занимает 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин (ГПЦД), обладающий хорошей растворимостью и выраженной способностью к комплексообразованию с низкомолекулярными малорастворимыми биологически активными соединениями. Особый интерес представляет создание комплексов с растительными антиоксидантами для придания пленкам дополнительных антиоксидантных свойств, улучшающих защитную функцию покрытия. В данной работе используется β -кариофиллен (БКФ) – растительный антиоксидант, встречающийся в составе многих эфирных масел, в том числе черного перца и лаванды. Однако низкая растворимость БКФ обуславливает необходимость включения его в ГПЦД.

Целью данной работы является исследование структурно-функциональных свойств плёнок высокомолекулярного хитозана, нагруженных комплексами ГПЦД с БКФ.

Комплексы были получены путём перетирания ГПЦД и БКФ в ступке. Полученные образцы были охарактеризованы методами ИК-спектроскопии, PXRD и многомерного ЯМР. Плёнки были получены методом заливки раствора хитозана с комплексом, полученного в 1% уксусной кислоте, в чашки Петри с последующим высушиванием на воздухе. Для определения механических свойств плёнок были проведены исследования деформационно-прочностных характеристик путём приложения нагрузки на разрывной машине до разрушения образцов, изучены сорбционные свойства пленок при помощи гравиметрического метода исследования сорбции, заключающегося в последовательном выдерживании плёнок в эксикаторе над

P₂O₅ и в эксикаторе с влажностью 80 % над насыщенным водным раствором сернокислого аммония, а также получены значения светонепроницаемости пленок путём определения их оптической плотности на спектрофотометре при длине волны 500 нм с последующим расчетом. С целью установления равномерности распределения компонентов по поверхности был проведен метод ИК-микроскопии с последующим построением карт распределения образца. Также была изучена антибактериальная активность плёнок на жидких средах. По результатам исследования образцы продемонстрировали значительную антибактериальную активность на модельных культурах (*E. Coli* и *B. subtilis*).

Полученные результаты демонстрируют перспективность использования таких плёнок в биомедицинских целях в качестве покрытий с антибактериальными и антиоксидантными свойствами.

Работа выполнена в рамках Государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова, кафедра химической энзимологии, номер темы 121041500039-8 и при поддержке программы развития МГУ (приборы Bruker Tensor 27 и Микран-3).

УДК 615.468.7

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИЦИДНОГО ЭФФЕКТА
IN VITRO ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ АНТИСЕПТИКОВ В ХОДЕ ИХ
ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ИЗ РАНЕВЫХ ПОВЯЗОК НА ОСНОВЕ
КАРБОКСИЭТИЛХИТОЗАНА**

*Самохин А.Г.¹, Гончарова Е.П.¹, Саейди А.¹, Дранников А.А.¹, Корель А.В.¹, Бец В.Д.¹,
Черкасова Н.Ю.¹, Батаев В.А.¹, Ткаченко В.О.³, Пестов А.В.², Землякова Е.О.²,
Литвинова Е.А.¹*

¹ Новосибирский государственный технический университет
630073, Россия, г. Новосибирск, пр-т К.Маркса, 20

² Институт органического синтеза УрО РАН им. И.Я. Постовского
620066, Россия, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской, 22/20

³ Институт ядерной физики СО РАН им. Г.И. Будкера
630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 11

В современных условиях развития медицины, фарминдустрии и материаловедения лечение ран у пациентов с различной этиологией раневого процесса по-прежнему остается сложной задачей, особенно в случае присоединения вторичной инфекции. От эффективности лечения ран зависит не только исход раневого процесса, качество жизни и дальнейшая трудоспособность пациента, но подчас и его жизнь (А.М. Морозов и соавт., 2021).

Раневые повязки различного компонентного состава и функционального назначения по праву заняли свою нишу в арсенале хирургической помощи пациентам для местного лечения как острых, так и хронических ран, а также в лечении ожоговых пациентов, доказав свою эффективность на различных стадиях раневого процесса. Материалами для изготовления раневых повязок (или покрытий) могут являться как синтетические полимерные составы, так и натуральные полимеры, такие как альгинат и хитозан. Последний, а также его производные, зарекомендовали себя как обладающие хорошими сорбционными возможностями биосовместимые материалы, в том числе пригодные в качестве носителей для различных терапевтических агентов (Blinova E. et al., 2024; Samokhin A. et al., 2023; Zemlyakova E.O. et al., 2019; Matica M.A. et al., 2019; Elgadir M.A. et al., 2015; Малютина Н.Б. и соавт., 2006).

Вместе с тем, комбинация из раневых повязок, как средств доставки, и терапевтических агентов, способных оказывать бактерицидный либо бактериостатический эффект на инфекционный очаг в области раневого ложа, является весьма эффективным средством для ведения инфицированных ран.

Целью настоящего исследования стала сравнительная характеристика бактерицидного эффекта в условиях *in vitro* различных антисептиков в ходе их высвобождения из раневых повязок на основе карбоксиэтилхитозана.

Материалы и методы. Для решения поставленных в исследовании задач авторским коллективом были изготовлены модельные образцы раневых повязок на основе карбоксиэтилхитозана (КЭХ) в размере 3х2 см, которые затем были расфасованы в герметичную упаковку и подвергнуты электронно-лучевой стерилизации на базе

Института ядерной физики СО РАН им. Г.И. Будкера на ускорителе ИЛУ-10 при эквиваленте поглощенной дозы 15-25 кГр.

Собственно КЭХ был синтезирован на базе Новосибирского государственного технического университета и Института органического синтеза УрО РАН им.В.Я.Постовского, с измельчением гранул КЭХ до требуемых фракционных размеров и последующим приготовлением гелевой массы, которая перед остыванием была формована в заранее подготовленные заливочные шаблоны для придания образцам нужной геометрической конфигурации.

Непосредственно перед постановкой бактериологического эксперимента все образцы повязок были погружены в раствор одного из трех следующих антисептиков: фурацилин в концентрации 0.02%, хлоргексидин в концентрации 0,05% и повидон-йод в концентрации 10%. Время экспозиции образцов в растворе антисептика составляло до двух часов включительно, с учетом срока достижения величины предельного равновесного набухания образцов в указанном интервале времени.

Бактериологический эксперимент был проведен с использованием суточной бактериальной культуры *E.coli* в качестве модельного штамма, высеянного на питательную среду в чашку Петри диаметром 90 мм. Поверхность образцов повязок после их насыщения антисептиком была предварительно подсушена при помощи стерильной промокательной бумаги перед помещением образцов на заселенную модельным штаммом питательную среду. Интерпретацию результатов бактериологического эксперимента проводили с учетом МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам».

Результаты исследования. Анализ бактерицидного эффекта в ходе высвобождения загруженных в образцы раневых повязок антисептиков, проведенный в ходе выкладки образцов на чашки Петри диаметром 9,0 см, содержащие культуру *E. coli*, уже в течение первых суток наблюдения продемонстрировал наличие зон подавления роста бактерий. Наибольшая зона подавления роста была зарегистрирована для образца, нагруженного повидон-йодом – зона лизиса бактериальной культуры по своим наименьшим поперечным размерам превышала площадь культивирования, предназначенную для данного образца, составив 48,0 мм. Для образца с фурацилином измеренная зона подавления роста составила 40,0 мм. Наименьшая же площадь зоны лизиса отмечена у образца, нагруженного хлоргексидином – зона подавления роста практически не превышала границ собственно образца, составив 19,7 мм.

Учитывая обозначенные в действующем МУК 4.2.1890-04 критерии интерпретации значений зон подавления роста для бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, где для большинства групп антибактериальных препаратов чувствительность бактерий к препарату нормирована в виде диаметра зон подавления роста не менее чем 15-23 мм, а резистентность обозначена как величины менее 11-18 мм (в зависимости от группы антибиотиков), то использование хлоргексидина в качестве транспортируемого в образцах антисептика представляется нецелесообразным.

Также надо отметить, что применение для нагрузки образцов раневых повязок трех вышеуказанных наименований антисептиков не приводило к разрушению образцов, что позволяет говорить о том, что примененные в ходе эксперимента антисептики не оказывают деструктивного влияния на материалы, из которых были изготовлены образцы.

Отдельно надо остановиться на характеристике зон подавления роста, полученных при применении 10%-ого раствора повидон-йода – величина таковых была значительно выше нежели чем для двух других использованных антисептиков. Опираясь

на эти результаты, основным рекомендуемым к применению антисептиком в комбинации с изготовленными образцами раневых повязок стоит рассматривать повидон-йод. Полученный результат, характеризующий как минимум неуступающую эффективность препаратов на основе повидон-йода относительно раствора хлоргексидина, согласуется с работами других авторов, изучавших терапевтические возможности применения разных классов антисептиков в ходе санации инфекционного процесса (Wildmer A.F. et al., 2024; Darouiche R.O. et al., 2010; Таран А.К., Наку В., 2006).

Таким образом, применение йодсодержащих антисептиков в комбинации с раневыми повязками на основе карбоксиэтилхитозана позволяет достигать их высвобождения из носителя (повязки) в эффективных концентрациях с достижением бактерицидного эффекта в модели бактериальной инфекции *in vitro*, а также позволяет ожидать получения подобного эффекта при применении в условиях *in vivo*.

УДК 54.03

РАЦИОНАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН И ОПТИМИЗАЦИЯ СВОЙСТВ 3D МАТРИЦ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ БИМЕДИЦИНСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

Смирнова Н.В.¹, Колбе К.А.¹, Шабарова Е.К.², Кодолова-Чухонцева В.В.¹, Юдин В.Е.¹

¹ Филиал ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» –
Институт высокомолекулярных соединений
199004, Россия, г. Санкт-Петербург, В. О. Большой пр. 31

² ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»
195251, Россия, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. муниципальный округ Академическое,
ул. Политехническая, 29 литера Б

Исследованиями последних десятилетий в области клеточных технологий и тканевой инженерии показано, что помимо химических сигналов, физические свойства матриц могут оказывать значительное влияние на адгезию, морфологию, миграцию, дифференцировку, выживаемость и функцию клеток. Основу рационального дизайна 3D материалов составляют вариации в составе и технологии изготовления пористых материалов. На основе хитозана можно получать образцы с различными механическими и структурными характеристиками, для этого необходимо адаптировать процесс формирования в зависимости от требуемых свойств для конкретного применения.

Нами были получены 3D образцы путем лиофилизации 5 wt% раствора хитозана в янтарной кислоте с последующим переводом в основную форму в результате выщелачивания в растворе щелочи (NaOH) или растворе соды (NaHCO₃). В процессе изготовления материалов для увеличения биосовместимости (Рис. 1б) мы полностью ушли от использования уксусной кислоты и задействовали янтарную кислоту. 5 wt % хитозана в растворе обеспечивает необходимую плотность и устойчивость пористой матрицы, нужную форму и размер в зависимости от поставленной задачи (Рис.1а), позволяя получить качественные и воспроизводимые результаты в рамках проводимых экспериментов.

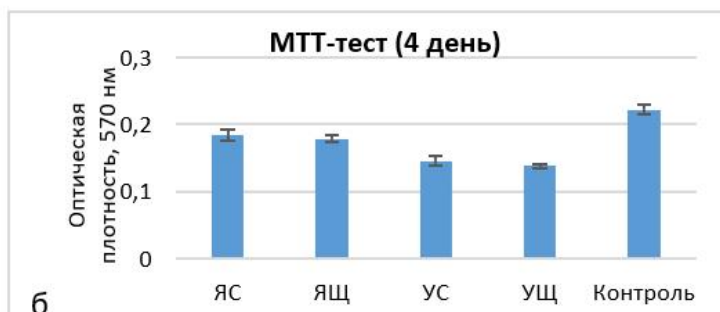
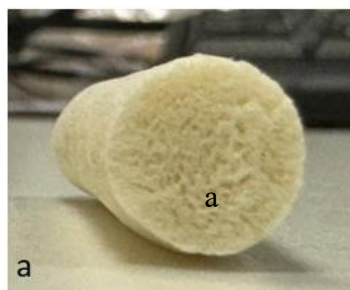


Рис. 1.

Для целей тканевой инженерии необходим высокопористый каркас, поскольку он поддерживает доступ для клеток, газообмен и транспорт питательных веществ в объеме матрицы, т.о. материалы для тканевой инженерии концентрируются на создании

архитектуры открытых пор. Для наших материалов была измерена пористость, то есть объемная доля открытых пор по сравнению с объемами всей губки. На Рис. 2 представлена зависимость пористости полученных губок от выбора осадителя и от концентрации наполнителя. Использование щелочи в качестве осадителя также повышает пористость. Для «содовых» губок концентрация ГА практически не влияет на пористость материала, для «щелочной» губки наблюдается значительное снижение пористости при увеличении концентрации ГА.

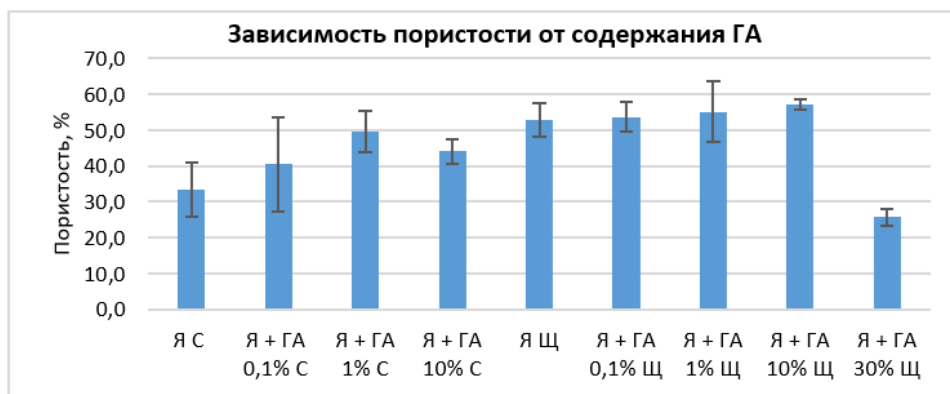


Рис. 2.

Размер пор — это расстояние между твёрдыми секциями пористой матрицы, обычно измеряемое как диаметр круглых пор или главная ось некруглых пор. Он влияет на клеточное связывание, миграцию, глубину врастания, морфологию и фенотипическую экспрессию. Проведена электронная микроскопия образцов хитозановых губок, представляющих собой срезы материалов. В полученных образцах размер пор составляет 100 - 300 мкм, что является оптимальным диапазоном. Данный размер пор позволяет клеткам проникать внутрь материала (Рис. 3г). При этом видно, что концентрация гидроксиапатита не влияет на размер пор.

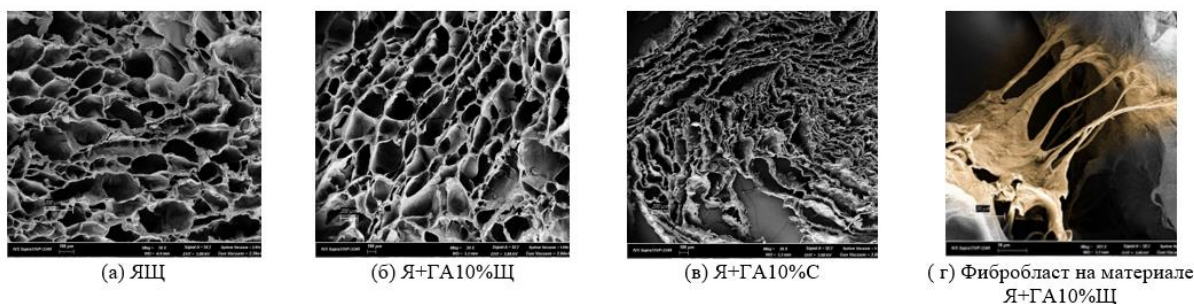


Рис. 3.

Для оценки механических характеристик хитозановых губок использовали прибор для механических испытаний в жидкой среде — биореакторторную систему BISS LigaGen. Проведение измерений в жидкой среде обусловлено тем, что материал набухает в буферном растворе, моделирующем физиологические условия. Полученные результаты, представленные в виде диаграмм (Рис. 4), выявляют различия в нагрузке при разрыве образцов, созданных по различным методикам.

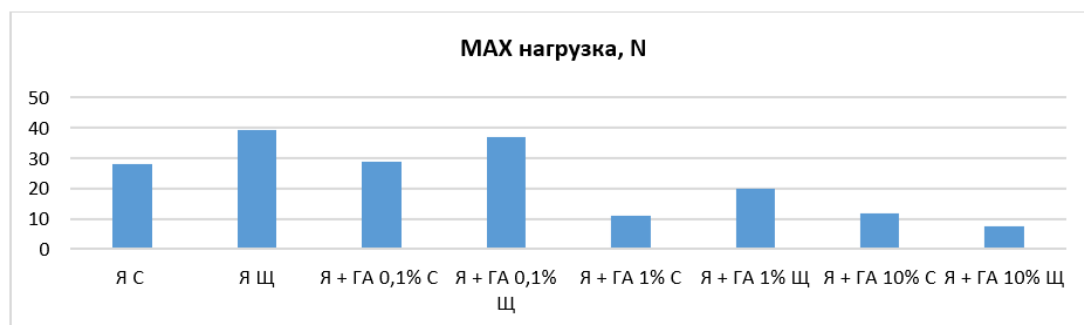


Рис. 4.

В результате нам удалось изучить механические свойства полученных образцов, их пористость, структуру и биосовместимость. **Можно заключить, что свойства разработанных материалов позволяют использовать их в костнозамещающей терапии и в регенеративных технологиях при повреждениях соединительной ткани.**

УДК 541.64:532.72

**БИОРАЗЛАГАЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА,
МОДИФИЦИРОВАННЫЕ НАНО-TiO₂, В КАЧЕСТВЕ ФОТОАКТИВНОЙ
УПАКОВКИ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ**

*Сундарева Ю.А., Думина И.С., Саломатина Е.В., Смирнова О.Н.,
Смирнова Л.А.*

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского
603022, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Около 50% пластика, объем мирового производства которого составляет порядка 400 млн.т в год, приходится на одноразовую упаковку, включая пакеты, пищевую плёнку, контейнеры и мед.изделия. При этом, лишь 9% всего пластика перерабатывается, а 79% отправляются на свалки или накапливаются в природных экосистемах. Согласно данным National Geographic и оценкам ООН, человечество ежегодно использует до 5 трлн пластиковых пакетов, средний срок службы которых составляет менее 12 минут, после чего они превращаются в не утилизируемые отходы, свыше 8 млн. тонн которых ежегодно попадает в мировой океан.

Под воздействием физических, химических и биологических факторов полимеры разлагаются до микро- (МП, размер до 5 мм) и нанопластика (НП, размером менее 100 нм). МП и НП обнаружили в 83% проб водопроводной воды, 90% коммерческой морской соли и даже в арктических льдах. Как отмечает National Geographic, если текущие тенденции накопления МП и НП сохраняются, то к 2050 году масса пластика в океане превысит биомассу всей морской фауны. Особую тревогу вызывает способность МП и НП преодолевать биологические барьеры в организме человека: частицы нанопластика диаметром менее 100 нм проникают через гематоэнцефалический барьер в мозг, провоцируя нейровоспаление и потенциально влияя на когнитивные функции. Более того, пластиковые пакеты, составляющие значительную долю отходов, разлагаются в природе до 1000 лет, непрерывно выделяя токсичные добавки – фталаты и бисфенол А.

Приведенные данные подчеркивают, что разработка и переход на биоразлагаемые материалы представляет собой не только научно-техническую задачу, но и критическую необходимость для минимизации антропогенного воздействия на биосферу и снижения рисков для здоровья населения. Это стимулировало как исследователей, так и производителей полимеров к разработке биodeградируемых упаковочных материалов на основе природных полисахаридов из возобновляемых сырьевых источников.

Одним из наиболее привлекательных биополимеров является хитозан (ХТЗ), к преимуществам которого относятся - нетоксичность, способность к биodeградации, пленкообразующие и хелатообразующие свойства, возможность модификации. Однако пленки на основе ХТЗ являются хрупкими, имеют низкие механические свойства, высокую чувствительность к влаге. Улучшить функциональные свойства материалов на основе ХТЗ можно введением наночастиц (НЧ) неорганических компонентов. К ним, прежде всего, относятся НЧ TiO₂, являющегося, как и ХТЗ биосовместимым и обладающим фотокаталитической активностью, низкой стоимостью и химической стабильностью. Кроме того, он проявляет барьерные свойства к УФ-излучению, активно поглощает этилен, и может выступать в качестве противомикробного агента, подавляя

рост микроорганизмов. В совокупности включение TiO_2 в композиции на основе полисахаридов при разработке упаковочных материалов может способствовать не только изменению их прочностных свойств, но и увеличению срока годности пищевых продуктов.

Цель работы – разработка биоразлагаемых композиций на основе ХТЗ, модифицированного наночастицами TiO_2 , перспективных в качестве упаковочных материалов. Изучение влияния молекулярной массы полисахарида, концентрации и размера НЧ TiO_2 , а также УФ-облучения на комплекс свойств композиционного материала.

НЧ TiO_2 различного размера были синтезированы золь-гель методом из изопропоксида титана. Доказана их анатазная полиморфная модификация. Дисперсии наночастиц TiO_2 вводили в водно-кислотные растворы хитозана, из которых методом полива получали пленки. После достижения пленками постоянной массы в процессе их сушки, ХТЗ в них был переведен в основную форму.

Введение НЧ TiO_2 в матрицу ХТЗ в концентрации от 0.5 до 10 масс. % приводит к увеличению прочности пленок с 34 (для чистого ХТЗ) до 120 МПа и деформации при разрыве с 4 до 10 %. Для сравнения прочность современных упаковочных материалов на основе полиэтилена составляет 8-20 МПа.

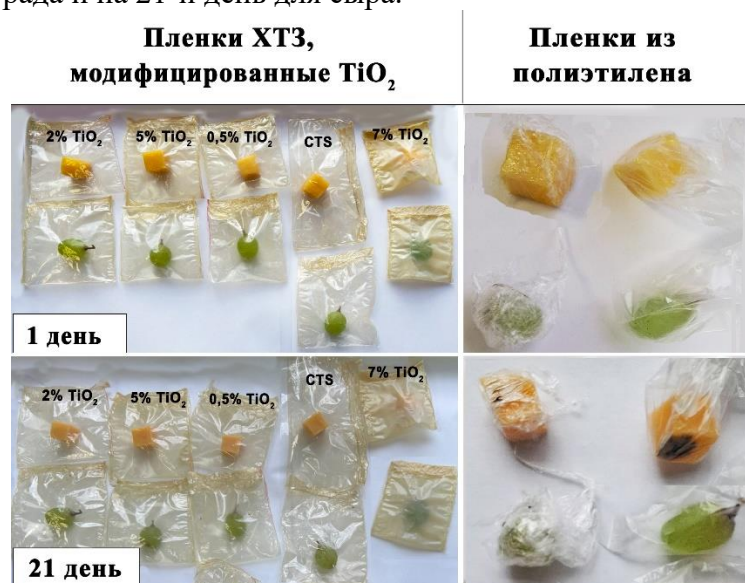
Наряду с этим наблюдается повышение модуля упругости пленок в условиях динамических механических испытаний, повышение температуры стеклования образцов (метод ДСК). Содержание влаги в TiO_2 -содержащих пленках понижается в 2 раза. Изменение указанных характеристик связано с изменением структуры композита в результате взаимодействия НЧ TiO_2 с NH_2 - и OH - группами макромолекул ХТЗ, приводящего к образованию трехмерной сетки. Это доказано методами ИК-спектроскопии, рентгенофазового анализа (уменьшается кристалличность ХТЗ), динамического рассеивания света (изменяются размеры ассоциатов макромолекул ХТЗ).

НЧ TiO_2 в структуре композитов придают материалам, перспективным в качестве упаковки, дополнительный комплекс полезных свойств. К ним относятся светозащитные свойства, обусловленные способностью TiO_2 поглощать УФ-излучение, и бактерицидные свойства, вследствие образования активных форм кислорода в результате негомолитического разрыва связи Ti-O при УФ-индуцированном одноэлектронном переходе $\text{Ti}^{4+} + e^- \rightleftharpoons \text{Ti}^{3+}$. Доказано подавление развития патогенных бактерий таких, как *S. Aureus* и *E. Coli*. По мере увеличения времени УФ- воздействия наблюдается увеличение прочности пленок в ~ 1.3 раза. Паропроницаемость разработанных композиционных пленок не превышает $22,3 \text{ г/м}^2 \times \text{сут}$.

Пленки являются биodeградируемыми как при облучении светом, так и в темноте, что выявлено при воздействии на них микромицета *A. Niger*, наиболее распространенного в почве. Время биodeградации зависит от концентрации НЧ TiO_2 в пленках.

Предварительные лабораторные испытания показали, что применение пленок на основе разработанных композиций в качестве упаковки пищевых продуктов позволяет увеличить срок их годности более, чем в два раза по сравнению с традиционным полиэтиленом. На примере сыра сорта «Российский» и винограда «Киш-Миш» было установлено, что пленки на основе хитозана, модифицированные TiO_2 в наноструктурированной форме, обеспечивают сохранение влаги, препятствуют развитию плесневых микроорганизмов и поддерживают органолептические характеристики продуктов на протяжении 60 дней хранения. В контрольной группе с

полиэтиленовой упаковкой первые признаки микробиологической порчи наблюдались на 14-й день для винограда и на 21-й день для сыра.



Совокупность полученных результатов демонстрирует высокий потенциал разработки фотоактивных биоразлагаемых упаковочных материалов на основе композиции ХТЗ - НЧ TiO_2 . При этом актуальной задачей остается поиск технологичного способа производства пленочных изделий.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ № 23-74100-69.

УДК 577.32

**ОЦЕНКА СПОСОБНОСТИ ХИТОЗАНА И N-СУКЦИНИЛ ХИТОЗАНА
КОРРЕКТИРОВАТЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ВЫЗВАННЫЕ
ПЕРОРАЛЬНЫМ ВВЕДЕНИЕМ ОЛАНЗАПИНА У МЫШЕЙ**

Шагдарова Б.Ц.¹, Варламов В.П.¹, Свирщевская Е.В.²

¹ Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина ФИЦ Биотехнологии РАН
119071, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный
научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им.
академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук
(ГНЦ ИБХ РАН)
117997, Россия, г. Москва, улица Миклухо-Маклая, 16/10

В последние годы проблема психического здоровья человека привлекает всё больше внимания. Однако применение большинства атипичных антипсихотических препаратов (ААП), включая оланзапин (OLZ), нередко сопровождается побочными эффектами, такими как увеличение массы тела и нарушение обмена веществ. В связи с этим поиск и разработка природных соединений, способных предотвращать метаболические расстройства при применении ААП, представляет собой важную научную и клиническую задачу. Известно, что изменения в микробиоте кишечника также связаны с набором веса и метаболическими изменениями, хитозан может оказывать благотворное влияние на микробиоту кишечника и может действовать как защитное вещество при приеме ААП. Биополимер хитозан (Chi) и его производные, включая N-сукцинил хитозан (SuChi), рассматриваются как перспективные терапевтические агенты для коррекции нарушений обмена веществ.

Цель работы состояла в оценке влияния низкомолекулярного Chi, его производного SuChi, а также орлистата (ORL) на метаболические и поведенческие изменения, вызванные приёмом OLZ в экспериментальной модели на мышах. В работе использовали низкомолекулярный Chi (ММ 39 кДа, СД 90%), на его основе синтезировали SuChi (СЗ 70%). Орлистат - ингибитор панкреатических и желудочных липаз, применяется для длительной терапии больных с ожирением, его использовали в качестве контрольного препарата. В ходе эксперимента мышам скормливали перловую кашу, содержащую OLZ либо комбинации OLZ+Chi, OLZ+SuChi и OLZ+ORL с добавлением небольшого количества растительного арахисового масла.

Впервые были получены данные о влиянии Chi и SuChi на метаболические изменения, вызванные антипсихотической терапией. Все добавки оказывали незначительное влияние на массу тела, что, вероятно, связано с нейрональной активностью OLZ. Вместе с тем, наблюдалось снижение уровня липидов в крови, сопровождаемое улучшением соотношения липопротеинов высокой и низкой плотности, особенно выраженное в группах Chi и SuChi по сравнению с ORL. OLZ-индуцированное лечение в течение 7 недель сопровождалось повышением уровня двух гомеостатических (BCL, MDC) и двух воспалительных (KC, TARC) хемокинов. Препараты SuChi и ORL способствовали активации экспрессии гена POMC и подавлению экспрессии AgRP, участвующих в регуляции аппетита. В поведенческом тестировании выявлен

компенсаторный эффект SuChi, нормализующий поведение мышей, получавших OLZ, до уровня, сопоставимого с интактными животными.

Таким образом, SuChi проявил более выраженное защитное действие по сравнению с Chi, демонстрируя активность, сопоставимую с ORL. Предполагается, что один из механизмов защитного действия SuChi связан с возможным электростатическим взаимодействием между отрицательно заряженными молекулами SuChi и положительно заряженными метаболитами OLZ в желудочно-кишечном тракте.

Выражаем благодарность Мельниковой В.И. (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН) за помощь в проведении экспериментов, связанных с извлечением гипоталамуса у мышей.

УДК 577.114.083

ВЛИЯНИЕ РАЗМЕРА ЧАСТИЦ ХИТИНСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ НА СКОРОСТЬ ВЫДЕЛЕНИЯ ХИТИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УЗ-ОБРАБОТКИ

Шилкова А.А.¹, Попырина Т.Н.¹, Аксенова Н.А.^{2,3}, Демина Т.С.^{1,2}

¹ Московский авиационный институт (научный исследовательский университет)
125993, Россия, г. Москва, Волоколамское шоссе, 4

² Институт регенеративной медицины Первого Московского государственного
медицинского университета им. И.М. Сеченова
119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8-2

³ Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН
119991, Россия, г. Москва, ул. Косыгина, 4

Панцири членистоногих, в т.ч. креветок, являются одним из основных типов сырья для выделения природного полисахарида хитина. В литературе представлено значительное разнообразие методов очистки хитинсодержащего сырья от белковых и минеральных компонентов. Также представлены данные об ускорении процесса депротеинирования при УЗ-обработке природного сырья в растворе щелочи [1], а также в процессе ферментационного выделения хитина [2].

Цель работы заключалась в исследовании влияния размера частиц хитинсодержащего сырья на эффективность процесса выделения хитина с использованием ультразвуковой обработки.

Хитин выделяли из панцирей криветок *Pandalus borealis* по двухстадийной методике, при которой сначала удалялись белковые компоненты (стадия депротеинирования), а потом минеральные соединения (стадия деминерализации). Исследование проводилось на различных по размеру частицах панциря креветок. На первом этапе осуществлялся процесс депротеинирования методом выдерживания хитинсодержащего сырья в растворе щелочи (2н NaOH), под воздействием ультразвука (УЗ, 35 кГц) и одновременном выдерживании в щелочи при воздействии ультразвука (2н NaOH, УЗ, 35 кГц), после чего образцы промывали дистиллированной водой и сушили. На втором этапе проводился процесс деминерализации путём выдерживания в 1н HCl в течение 1 часа или 10 дней, после чего образцы также промывали дистиллированной водой и сушили.

Выявлено, что процесс депротеинирования возможно ускорить используя одновременную обработку щелочью и ультразвуком. Из гравиметрического анализа видно, что удаление белковых соединений методом УЗ-обработки в дистиллированной воде имеет наименьшую эффективность. Во время проведения стадии деминерализации было обнаружено, что время воздействия кислоты на хитинсодержащее сырьё не оказывает значительного влияния на эффективность удаления минеральных компонентов. Установлено, что размер частиц исходного сырья влияет на скорость процессов депротеинирования и деминерализации: процесс выделения хитина протекал быстрее во фракциях образцов с меньшим размером частиц на всех стадиях. Изменение морфологии образцов в процессе очистки оценивали с помощью оптической и сканирующей

электронной микроскопии, а химическую структуру выделенного хитина подтверждали с помощью ИК-спектроскопии.

Список литературы

1. Kjartansson G.T., Zivanovic S., Kristbergsson K., Weiss J. Sonication-Assisted Extraction of Chitin from North Atlantic Shrimps (*Pandalus borealis*) // J. Agric. Food Chem. - 2006. - Vol. 54 - № 16. - P. 5894–5902.
2. Zhang Q., Duan L., Li Y. Positive effects and mechanism of ultrasound on chitin preparation from shrimp shells by co-fermentation // Ultrason. Sonochem. Elsevier B.V., - 2022. - Vol. 88 - № June. - P. 106066.

УДК 547.458:[532.74+631.8+579.64]

О ПЕРСПЕКТИВАХ ПРИМЕНЕНИЯ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО АСПАРАГИНАТА ХИТОЗАНА В ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧНОМ РАСТЕНИЕВОДСТВЕ

*Шиповская А.Б.¹, Ткаченко О.В.², Позднякова Н.Н.³, Хонина Т.Г.⁴, Шипенок К.М.¹,
Ушакова О.С.¹, Денисова А.Ю.², Каргаполова К.Ю.², Сунгурцева И.Ю.³,
Щербакова Е.В.³*

¹ ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»
410012, Россия, г. Саратов, ул. Астраханская, 83

² ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова»
410012, Россия, г. Саратов, пр. им. Петра Столыпина, 4, стр. 3.

³ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – ФИЦ СНЦ РАН
410049, Россия, г. Саратов, просп. Энтузиастов, 13

⁴ ФГБУН Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского
Уральского отделения Российской академии наук
620066, Россия, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской, 22/20

Разработка высокоэффективных агронобиохимикатов на основе биополимерных наночастиц с заданными структурой, свойствами и многоплановой биологической функциональностью позволяет решать прецизионные задачи повышения урожайности и улучшения почвенного плодородия при значимом снижении использования синтетических стимуляторов роста растений и агентов биологической борьбы. Нами высказана гипотеза, что заявляемая многофункциональность таких продуктов обеспечивается не только сверхмалой удельной поверхностью биологически активного вещества, но и его пространственной формой. Например, «рыхлая» архитектура квази-нульмерного нанообъекта, свободное пространство внутри которого значимо превышает объем полимерных цепей, может способствовать как адсорбции гидрофильных, так и солюбилизации гидрофобных компонентов экосистемы. Для разработки таких бионанопрепаратов весьма перспективно использование водорастворимых полиэлектролитных систем, получаемых из нетоксичного, биodeградируемого и ежегодно возобновляемого природного сырья, в частности, солевых комплексов хитозана с аминокислотами.

В работе проведено комплексное исследование процессов структурообразования в водных растворах катионного *L*-(*D*-)аспарагината хитозана (*CS*·*L*-(*D*-)AspA). В результате кооперативных взаимодействий между фиксированными зарядами поликатиона и низкомолекулярными противоионами (способ «снизу вверх») получены мультиплетные наноассоциаты *CS*·*L*-(*D*-)AspA [1, 2]. Для придания агрегативной и седиментационной устойчивости проведена поверхностная модификация частиц полисилоксановой оболочкой (*CS*·*L*-(*D*-)AspA·Si). В качестве золь-гель прекурсора

впервые использован фармакологически активный тетраглицеролат кремния [3]. Проведен систематический анализ физико-химических свойств нанодисперсий и выделенных из них воздушно-сухих образцов. Установлено, что наноструктуры $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ в высушенном состоянии представляют собой сферические частицы с усредненным диаметром 50-80 нм. В водной среде их размер на порядок больше, что свидетельствует о поллой гидратированной структуре частиц. Размерные характеристики $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ в значимой степени определяются концентрацией CS , $AspA$ и их мольным соотношением в системе. Выявлено, что нанофазовая сегрегация полимерного вещества в полиэлектrolитной системе интенсифицируется понижением полярности или повышением ионной силы среды. При этом, введением органических со-осадителей или солей-электролитов можно получать сферические наноассоциаты разной морфологии: от плотных наночастиц до полых сфероидальных наноструктур.

Проведено исследование биологической активности полученных бионанопрепаратов на модельных объектах, включая сельскохозяйственные растения (пшеница мягкая *Triticum aestivum* L. сорта Новоеершовская, соя *Glycine max* L. сорта Натали, огурец *Cucumis sativus* L. сорта Нежинский, салат *Lactuca sativa* L. сорта Кучерявец одесский, микрорастения картофеля *Solanum tuberosum* L. сорта Кондор), почвообитающие грибы (*Lecanicillium aphanocladii*, *Fusarium oxysporum*, *Talaromyces sayulitensis*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Pleurotus ostreatus* var. *Florida*, *Schizophyllum commune*) и бактерии (*Acinetobacter guillouiae*, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens*, *Chitinophaga polysaccharea*) из Коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (<http://collection.ibppm.ru>; accessed on 23.07.2022).

Изучение проростков четырех видов растений разных таксономических и хозяйственных групп (пшеница мягкая, соя, огурец, салат) по комплексу морфометрических, физиологических и биохимических признаков показало, что биопрепараты $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ обладают выраженной биологической активностью [4]. Это проявляется, в первую очередь, в увеличении биомассы корней, содержания фотосинтетических пигментов и изменении активности антиоксидантных ферментов. Снижение концентрации наночастиц $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ в диапазоне 0.3–0.0003 г/дл приводит к стимулированию активности антиоксидантных ферментов в корнях при снижении в листьях и, как следствие, повышению морфометрических признаков проростков и увеличению содержания фотосинтетических пигментов. В условиях культуры *in vitro* у микрорастений картофеля под влиянием наночастиц $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ также повышается биомасса корней/побегов и стимулируется антиоксидантная система. Кроме того, установлено достоверное влияние $CS \cdot L-AspA \cdot Si$ (0.0003 г/дл) и $CS \cdot D-AspA \cdot Si$ (0.003 г/дл) на морфогенетическую активность каллусных клеток и $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ (0.003 г/дл) на регенерацию растений пшеницы. По результатам исследования установлено, что для прайминга семян однодольных и двудольных сельскохозяйственных культур *in vivo* и стимулирования морфогенеза *in vitro* оптимальная концентрация наночастиц $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ составляет 0.0003 г/дл.

Полученные препараты $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ проявляют выраженную биологическую активность и в отношении исследуемых грибов и бактерий. Показано, что $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$, не зависимо от изомера, подавляет рост не только потенциально фитопатогенных грибов (*F. oxysporum*, *T. sayulitensis*), но и грибов, обладающих ростстимулирующими свойствами (*T. viride*, *T. harzianum*). Этот эффект определяется также видом гриба: *T. viride* более устойчив, чем *T. harzianum*. Ингибирование обеими изомерами $CS \cdot L-(D-)AspA \cdot Si$ роста исследуемых бактерий не превышало 20–25%.

Исключение составили *C. polysaccharea* и *P. fluorescens*, рост которых исследуемыми препаратами не подавлялся.

Обнаружено также, что все исследованные организмы могут кометаболизировать CS·L-(D-)AspA·Si. Для отдельных представителей аскомицетов (*F. oxysporum*, *T. sayulitensis*) CS·L-(D-)AspA·Si мог служить также единственным источником углерода или азота. Среди изученных бактерий только *P. fluorescens* мог использовать CS·L-(D-)AspA·Si в качестве единственного источника углерода, для *B. subtilis* была доступна только L-форма аспарагината хитозана. Утилизация CS·L-(D-)AspA·Si грибами сопровождается продукцией экстраклеточных гидролитических и окислительных ферментов, которые, по-видимому, участвуют в метаболизме этих соединений.

На основании проведенного исследования получены первые доказательства выдвинутого нами предположения, что специфическая пространственная форма полых наночастиц во многом предопределяет полифункциональность биологического действия бионанопрепарата.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект №24-16-00172, <https://rscf.ru/project/24-16-00172/>

Список литературы

1. Shipovskaya A.B., Ushakova O.S., Volchkov S.S., Shipenok X.M., Shmakov S.L., Gegel N.O., Burov A.M. Chiral nanostructured glycerohydrogel sol–gel plates of chitosan L- and D-aspartate: supramolecular ordering and optical properties. *Gels*, 2024, 10, 427, <https://doi.org/10.3390/gels10070427>
2. 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, 277, 118773, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118773>
3. Shadrina E.V., Malinkina O.N., Khonina T.G., Shipovskaya A.B., Fomina V.I., Larchenko E.Yu., Popova N.A., Zyryanova I.G., Larionov L.P. *Russian Chemical Bulletin* 2015, 64(7), 1633–1639, DOI:10.1007/s11172-015-1053-9.
4. Ткаченко О.В., Каргаполова К.Ю., Денисова А.Ю., Шипенко К.М., Шиповская А.Б. Решение о выдаче патента на изобретение РФ по заявке № 2024132518 (дата регистрации 30.10.2024) от 21.04.2025. МПК: A01N 63/10, A01N 25/32, A01N43/16.

УДК 571.27:632.4:632.938:633.11

**ВЛИЯНИЕ НАНОКОМПОЗИТОВ ХИТОЗАН-СЕРЕБРО И *Bacillus subtilis*
НА ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ПРИ
ИНФИЦИРОВАНИИ *Phytophthora infestans* И ЗАСУХЕ**

Яруллина Л.Г.¹, Черепанова Е.А.¹, Бурханова Г.Ф.¹, Заикина Е.А.¹, Цветков В.О.²,
Сорокань А.В.¹, Марданишин И.С.³, Фаткуллин И.Я.¹, Пустовая А.Д.¹, Калацкая Ж.Н.⁴,
Гилевская К.С.⁵

¹ Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук
450054, Россия, г. Уфа, ул. Максима Горького, 15

² ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»
450076, Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32

³ Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное
структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук
450054, Россия, г. Уфа, ул. Комсомольская, 27

⁴ Государственное научное учреждение «Институт экспериментальной ботаники им.
В.Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси»
220072, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Академическая, 27

⁵ Государственное научное учреждение «Институт химии новых материалов
Национальной академии наук Беларуси»
220084, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Ф.Скорины, 36

Современный арсенал нанотехнологий обеспечивает использование безопасных наноматериалов практически во всех отраслях агропромышленного сектора. В качестве активного вещества таких препаратов рассматривают соединения на основе хитозана. Такие свойства хитозана, как биосовместимость, биоразлагаемость и низкая токсичность, определяют его широкое использование в растениеводстве. Кроме того, наличие свободных реакционноспособных аминогрупп в полимерной цепи хитозана, участвующих в восстановлении ионов металлов, обеспечивает возможность получения наночастиц металлов.

Среди металлических наночастиц наиболее распространенными являются наночастицы серебра (НЧ Ag). Бактерицидное действие серебра известно давно. Однако только с развитием нанотехнологий биогенные металлы стали широко использоваться в сельском хозяйстве. НЧ серебра менее токсичны, чем ионы Ag^+ , однако эффект НЧ определяется не только их составом, но также размером входящих в него частиц и их концентрацией. Использование НЧ Ag часто ограничивается их низкой стабильностью. С этой точки зрения полисахариды являются одними из лучших биологически активных веществ для синтеза НЧ Ag. Так, НЧ коллоидного серебра, модифицированные биологически активным хитозаном, оказывают биоцидное действие на патоген и элиситорное на растение. В то же время, сведения о характере влияния НЧ Ag, покрытых

полимерной оболочкой, на защитный потенциал растений довольно малочисленны и часто противоречивы.

Цель работы – изучение влияния нанокompозитов хитозан-серебро отдельно и в смеси с *Bacillus subtilis* на устойчивость растений картофеля к инфицированию *Phytophthora infestans*, состояние про-/антиоксидантной системы, транскрипционную активность генов PR-белков и урожайность в норме и при засухе.

Исследования проводили на растениях, выращенных из мини клубней картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Удача башкирской селекции, полученных в Башкирском НИИСХ УФИЦ РАН (г. Уфа). Растения выращивали в климатической камере (световой период 16 ч, 20–22°C) спектр -15KP (Россия). Коллоидные растворы нанокompозитов хитозан-Ag (НК Хит-Ag) были синтезированы в Институте химии новых материалов НАН Беларуси. Для восстановления нитрата серебра использовали хитозан с молекулярной массой 30 кДа и степенью дезацетилирования 98%. Нанокompозиты характеризовались различным строением: Хит-Ag₄ представляет собой монодисперсные НЧ Ag, собранные в сферические агрегаты, погруженные в хитозан, тогда как строение Хит-Ag₅ соответствует структуре «ядро (наночастица Ag⁰) – оболочка (хитозан)». Концентрация хитозана в растворах НК была одинаковая и составляла 34 мг/мл, при этом концентрация серебра составляла 0,196 мг/мл для НК Хит-Ag 4 и 1,96 мг/мл для НК Хит-Ag 5. Через 15 дней после всходов растения обрабатывали НК Хит-Ag в различных разведениях отдельно и в смеси с бактериями. Часть растений после обработки выращивали в условиях искусственно создаваемой засухи до завершения вегетационного периода, поддерживая влажность почвы 45±5% от полной влагоемкости. Через 7 суток после обработки растений биопрепаратами, в них определяли содержание H₂O₂, пролина, активность каталазы, пероксидазы, транскрипционную активность генов PR-белков. Методом искусственного инфицирования изолированных листьев оценивали их устойчивость к возбудителю фитофтороза *P. infestans*. По окончании вегетации определяли урожайность и качество клубней.

Было показано, что через 5 суток после инфицирования площадь развития симптомов фитофтороза на листьях контрольных растений, растущих в условиях оптимальной увлажнённости, достигала 95-100% от всей листовой пластинки, при обработке Хит-Ag₅ в разведении 1:50 - 40%, при обработке Хит-Ag₄ в разведении 1:100 – около 60% листа. В условиях засухи степень проявления симптомов фитофтороза на листьях во всех вариантах эксперимента снижалась.

Анализ содержания пролина в растениях, растущих в нормальных условиях обеспечения почвенной влагой, выявил отсутствие стрессового воздействия исследуемых НК Хит-Ag на растения. В условиях недостатка влаги обработка растений НК Хит-Ag₅ увеличивала активность каталазы и пероксидазы. Обработка Хит-Ag₄ снижала пероксидазную активность в нормальных условиях увлажнения, но при недостатке влаги значительно стимулировала ее активность. Обработки НК Хит-Ag способствовали увеличению концентрации пероксида водорода в растениях, как в нормальных условиях, так и при недостатке влаги. Возможно, повышение уровня H₂O₂ было связано со снижением активности каталазы под влиянием НК Хит-Ag в исследуемых вариантах.

Обработка растений картофеля нанокompозитами, особенно Хит-Ag₅ стимулировала накопление транскриптов генов *StPR 3*, *StPR5*, *StPR9*, *StPR10*, метилтрансферазы, но не влияла на транскрипцию гена *StPR6* в листьях растений, инфицированных *P. infestans*. Обработка растений *B. subtilis* 26Д совместно с НК Хит-

Ag4 снижала уровень транскриптов генов *StPR3*, *StPR5*, *StPR6* у инфицированных растений при нормальной влажности, а *StPR9*, *StPR10* при засухе.

У обработанных НК Хит-Ag растений повышалась урожайность в нормальных условиях и при недостатке влаги, при этом увеличивалось содержание сухого вещества и крахмала в клубнях.

Полученные данные свидетельствуют о связи между структурой нанокompозита и его биологической активностью. Исследования показали, что нанокompозиты хитозана с серебром являются перспективными препаратами для сельского хозяйства, обладающие широким спектром биологического действия.

Работа выполнялась при финансовой поддержке гранта РФФИ № 23-16-00139 с использованием оборудования ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и УНУ «КОДИНК».

УДК 577.114

ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ И ТЕРМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПРИ ПРЕВРАЩЕНИЯХ: ХИТИН - ХИТОЗАН - СУЛЬФАТ ХИТОЗАНА

Абдуразаков М., Рахманова В.Н., Гуламжанов Х.А., Рашидова С.Ш.

Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

Во всем мире основным сырьевым источником хитина, хитозана и их производных служат панцири ракообразных [1]. Наличие ряда причин, связанных с недостаточным объемом, с сезонным характером добычи, которые приводят к нерегулярным поставкам вышеуказанного сырья порождают поиск новых альтернативных источников [1, 2]. Одним из перспективных вариантов решения проблемы поиска альтернативных источников сырья, содержащего хитин является использование отходов производства шелка в виде куколок тутового шелкопряда *Bombyx mori* [3].

Выявление закономерностей взаимосвязи структуры со свойствами полисахаридов - хитина, хитозана и их производных из альтернативных сырьевых источников и сравнение таковых с традиционными являются основой для быстро обновляющейся базы экспериментальных данных и их актуальность не вызывает сомнений.

Цель данной работы – исследование влияния процессов деацетилирования хитина и сульфатирования хитозана на структуру и температурные характеристики биополимеров методами широкоугольной рентгенографии и термического анализа.

Объекты и методы. Были исследованы хитин *Bombyx mori*, выделенный из отходов производства шелка, хитозан - продукт деацетилирования хитина и 8 образцов сульфата хитозана, полученных при варьировании температурных и временных параметров и при изменении соотношения компонентов сульфатирующих агентов. Подробное препаративное описание извлечения хитина из куколок тутового шелкопряда *Bombyx mori*, проведение реакций деацетилирования хитина и сульфатирования хитозана приведены в работе [4].

Рентгенографические исследования были проведены на приборе Miniflex 600 (Rigaku, Япония) с использованием монохроматизированного $\text{CuK}\alpha$ -излучения, выделенного никелевым фильтром с длиной волны $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ при напряжении 40 кВ и силой тока 15 мА. Образцы исследовались в виде порошка. Съемку проводили в диапазоне углов $2\theta = 2^\circ - 70^\circ$.

Термический анализ выполнен на синхронном термоанализаторе типа STA PT1600 фирмы «LINSEIS» (Германия) методами термогравиметрии (ТГ), термогравиметрии по производной (ТГП или ДТГ) и дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Измерения проводили в атмосфере воздуха в динамическом режиме со скоростью нагрева 10 градусов в минуту в интервале температур от 30 до 800°C. Исходная масса образцов равна 33.0 мг. При выполнении термического анализа исследуемых образцов придерживались рекомендаций, указанных в работах [5-7].

По рентгеновским дифрактограммам произведена оценка степени кристалличности χ и размеров кристаллитов L в рассмотренных образцах биополимеров.

Установлено снижение упорядоченного состояния структуры (понижение показателя степени кристалличности и размеров кристаллитов) рассмотренных биополимеров на каждом из этапов химических превращений типа: хитин - хитозан - сульфат хитозана. Если для хитина и хитозана степень кристалличности χ составляла соответственно 50.9 и 34.7 %, то для сульфатированных производных хитозана $\chi = 1.93 \div 16.23$ %. Размеры кристаллитов L хитина и хитозана находились в пределах $2.4 \div 4.3$ нм и $2.7 \div 3.7$ нм соответственно, для сульфатов хитозана $L = 1.0 \div 2.9$ нм.

Для сравнения, в работе [8] показано, что сульфат хитозана в отличие от кристаллического полужесткоцепного хитозана (выделенного из криля) имеет аморфную структуру и пониженную жесткость макромолекулярной цепи. Для сульфатирования авторами использован комплекс хлорсульфоновая кислота - ДМФА.

По динамическим термограммам определены изменения массы, скорости изменения массы, температуры начала термоокислительной деструкции, температуры максимальной скорости изменения массы, температура 30 %-ной потери массы T_{30} , влагосодержание, характер протекания эндо- и экзотермических реакций, величина коксового остатка и др.

Анализ полученных термограмм показал, что изменения массы всех исследованных образцов происходит в три этапа. На первом этапе (диапазон температур от комнатной до 181.2 °C) наблюдаются десорбционные явления, связанные с удалением из образцов молекул воды. Второй этап (в интервале температур от 155.5 до 375.5 °C) отмечен началом и быстрым развитием термоокислительной деструкции, сопровождающейся значительными потерями массы биополимеров. Третий этап (от 310.2 до 684.0 °C) характеризуется завершением процессов разложения с образованием коксового остатка.

Полученные данные интегральной и дифференциальной термогравиметрии и дифференциальной сканирующей калориметрии показывают, в целом, понижение относительной термической стабильности образцов биополимеров по мере химических превращений типа: хитин - хитозан - сульфаты хитозана по количественным оценкам таких параметров как T_{30} , температуры начала термоокислительной деструкции T_n , температуры максимальной скорости потери массы T_{max} . Так например, для хитина и хитозана T_{30} соответственно равны 292.3 и 375.5 °C, для сульфатов хитозана $T_{30} = 222.5 \div 240.6$ °C.

Таким образом, процессы щелочного деацетилирования хитина и сульфатирования хитозана приводят к заметным изменениям структуры на ее тонком и надмолекулярном уровнях, а также понижению относительной термической стабильности исследованных биополимеров. Указанные изменения (аморфизация структуры, ослабление стойкости, снижение значений молекулярной массы, повышение степени замещения, высокий уровень деацетилирования) и анализ литературных данных способствуют усилению таких качеств, как растворимость, возрастание биологической, фармакологической активности биополимеров и делает их привлекательными для практического применения в современных биотехнологиях.

Список литературы

1. K. Mohan, A.R. Ganesan, T. Muralisankar et al. (2020) Recent insights into the extraction, characterization, and bioactivities of chitin and chitosan from insects. *Trends in Food Science & Technology* 105 (2020) 17–42.
2. Н.З. Хисматуллина. Апитерапия. Пермь: Мобиле, 2005. - 296 с.

3. Милушева Р.Ю., Рашидова С.Ш. Хитин, хитозан *Bombyx mori* и наносистемы на их основе // Издательство «Фан» АН РУз. - 247 с.
4. В.Н. Рахманова, С.Ш. Рашидова. Синтез сульфатированного хитозана *Bombyx mori* и его свойства // Доклады Академии наук Республики Узбекистан. 2021. №1. - С. 60-65.
5. У. Уэндландт. Термические методы анализа. /Пер. с англ. Под ред. В.А. Степанова и В.А. Берштейна. – М.: Мир, 1978. – 528 с.
6. В.А. Берштейн, В.М. Егоров. Дифференциальная сканирующая калориметрия в физикохимии полимеров. – Ленинград: Химия, 1990. - 256 с.
7. В.Е. Ситникова. Методы термического анализа. Практикум / В.Е. Ситникова, А.А. Пономарева, М.В. Успенская. – СПб: Университет ИТМО, 2021. – 152 с.
8. И.Н. Горбачева, Е.Е. Скоринова, Г.А. Вихорева, Л.С. Гальбрайх, К.К. Бабиевский (1991) Строение и свойства сульфата хитозана. Высокомолек. соедин. Т. А 33. № 9. - С. 1899-1904.

УДК 639.2:574.5

ПОЛУЧЕНИЕ ХИТОЗАНА ИЗ ТОНКОПАЛОГО РАКООБРАЗНОГО *PONTASTACUS LEPTODACTYLUS*

Абдурасулов А.Т.¹, Вохидова Н.Р.¹, Худойбердиев Ш.Ш.², Рашидова С.Ш.¹

¹ Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

² Бухарский государственный университет
200100, Республики Узбекистан, г. Бухара, ул. М. Икбал, 11

Хитин является компонентом экзоскелета моллюсков, мидий и других, а также в больших количествах содержится в клеточных стенках грибов [1,2]. Деацетилированная форма хитина-хитозан, который состоит из полимера N-ацетил-D-глюкозамина, связанного через β -1,4-гликозидную связь.

Хитозан обладает многофункциональными свойствами и биологической активностью, поэтому его используют в фармацевтической, нанотехнологической и сельскохозяйственной промышленности. Их антимикробная активность позволила использовать их в качестве покрытий для упаковки различных пищевых продуктов при консервировании [3]. Их нетоксичность и отсутствие аллергии позволяют использовать их в биомедицине и при заживлении ран [4]. Наночастицы, покрытые хитозаном, используются для удаления тяжелых металлов, синтеза наноносителей, доставки лекарств и многого другого [5,6]. Исходя из этого, поиск новых источников хитозана представляет научно-практический интерес.

Впервые в Узбекистане из речного краба, обитающего в водоёмах страны, был получен хитин, на основе которого был синтезирован хитозан. Синтезированный хитозан был охарактеризован изучен с помощью приведённых ниже физико - химическими методами исследований.

Извлечение хитозана тонкопалого краба из панцирей краба состоит из 3 этапов: депротеинизация, деминерализация и деацетилирование. В исследовании в качестве сырья использовались три типа панцирей крабов: панцири мангровых крабов (К1), панцири мелких крабов (К2) и панцири каппа-краба (К3). Результаты стадий деминерализации, депротеинизации и деацетилирования хитозана представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты исследования образца хитозана *Pontastacus leptodactylus*

Образец сырья	Сырье (г)	Деминерализация (г)	Депротеинизация (г)	Деацетилирование (г)
К1	100	71,4	42,5	20,5
К2	100	70,6	40,4	20
К3	100	69,0	40,3	19,8

Результаты извлечения относительно большего количества хитозана из образца К2 представлены в таблице (2), а в панцире рака содержится 40.3-42.5% хитина, и получен хитозан.

Панцири крабов депротеинизировали путем перемешивания с 3,5% раствором NaOH при температуре 65°C в течение 2 часов. Затем его деминерализовали 1N HCl в течение 30 минут при комнатной температуре и высушивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Деацетилирование проводили 50% раствором NaOH при температуре 100°C в течение 5-6 часов в присутствии дистиллированной воды. Полученный хитозан тонкопалых креветок промывали водой и высушивали в печи при температуре 60°C в течение 24 часов, где степень деацетилирования составила 84% при молекулярной массе 778 кДа.

Таким образом, хитозан из тонкопалых креветок был получен из панцирей раков в три этапа: депротеинизация, деминерализация и деацетилирование. Степень деацетилирования хитозана из тонкопалых креветок по методу кондуктометрического титрования составила 84%, а молекулярная масса, определённая методом вискозиметрии 778 кДа.

Сравнительные исследования показывают, что процесс получения хитозана *Bombyx mori* и хитозана *Pontastacus leptodactylus* состоит из трёх этапов, однако хитозан, полученный из ракообразных, отличается более высокой молекулярной массой и степенью деацетилирования.

Список литературы

1. Yeul VS, Rayalu S.S. Беспрецедентный хитин и хитозан: химический обзор. *J Polym Environ.* 2013;21:606-614.
2. Younes, I., Hajji, S., Frachet, V., Rinaudo, M., Jellouli, K., & Nasri, M. (2014). Chitin extraction from shrimp shell using enzymatic treatment. Antitumor, antioxidant and antimicrobial activities of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 489–498. doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.06.013
3. Younes, I., Hajji, S., Frachet, V., Rinaudo, M., Jellouli, K., & Nasri, M. (2014). Chitin extraction from shrimp shell using enzymatic treatment. Antitumor, antioxidant and antimicrobial activities of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 489–498. doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.06.013.
4. Bhuiyan M.A, Hossain M.D, Zakaria A, Islam M.N, Uddin M.Z. Хлопковое волокно, покрытое хитозаном: физические и антимикробные свойства для использования в швейной промышленности. *J Polym Environ.* 2017;25:334-342.
5. Ul-Islom M, Shoh N, Ha J.H, Park J.K. Влияние включения хитозана на физико-химические и механические свойства бактериальной целлюлозы. *Koreyalik J Chem Eng.* 2011; 28:1736.
6. Рашидова С.Ш., Вохидова Н.Р., Рашидова Д.К. Инновационные подходы к применению полимерных препаратов на основе хитозана в агропромышленном комплексе: наука и инновационное развитие. Т. 2020 г. – 122 стр.

УДК 577.112.132

ХИТОЗАН ИЗ ЛИЧИНОК *TENEbrio MOLITOR* И ЕГО БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Авазова О.Б.¹, Рашидова С.Ш.¹, Милушева Р.Ю.¹, Хужамишукуров Н.А.²,
Отажонов А.Ш.²

¹ Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

² Ташкентский химико-технологический институт
100011, Республика Узбекистан, г. Ташкент, улица Навои, 32

Хитин представляет собой биополимер, присутствующий во многих организмах, в целом, количество хитина в этих организмах колеблется от 15–30% в крабах, 20–30% в экзоскелетах ракообразных [1], 30–40% в креветках, 5–25% в кутикуле насекомых [2] и 2–44% в клеточных стенках грибов [3].

Известно [4], что получение хитозана из этих хитиновых источников обычным щелочным деацетилизацией требует большого количества энергии и большого объема раствора щелочи. Исходя из важности вопроса, в рамках данной работы исследовано химическое превращение упорядоченных молекулярных цепей в сдвиговом потоке в щелочной среде на примере «хитин – хитозан» из личинок *Tenebrio molitor*, сопровождающееся деацетилизацией NHCOCH_3 -групп молекул хитина с превращением в хитозан, обладающего ценными биологическими свойствами, в частности, антибактериальной активностью [5].

Хитин был получен из личинок *T. molitor* с проведением необходимых процедур по выделению, очистке, сушке и идентификации. Процесс деацетилирования «хитин – хитозан» проведен в сдвиговом поле под влиянием щелочной среды в 50 %-ном растворе NaOH при постоянной температуре 100°C и начальной частоте вращения $f \approx 2,5 \text{ с}^{-1}$. Из данных, представленных на рис. 1, видно, что со временем наблюдается заметное снижение ω , т.е. уменьшение текучести реакционной смеси, что свидетельствует о реализации превращения «хитин – хитозан». Поскольку в результате данной реакции разрушается кристаллическая структура хитина и образующиеся молекулы хитозана переходят в объем щелочного раствора, то это способствует увеличению вязкости.

Сравнительное исследование показало, что при превращении «хитин – хитозан» в сдвиговом поле выход хитозана достигает 55%, тогда как при отсутствии сдвигового поля выход хитозана составляет 35%. Полученный результат свидетельствует о том, что с переводом хитина в предельно-упорядоченное состояние в реакционной среде можно увеличить выход получаемого продукта - хитозана.

Хитозан демонстрирует широкий спектр антимикробной активности в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий [6]. В табл. 1 представлены сравнительные результаты по антагонистической активности хитозана *T.molitor*.

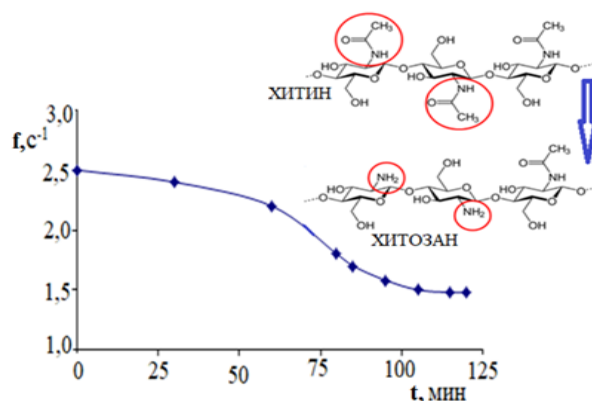


Рис. 1. Зависимость частоты вращения (f) цилиндра от времени (t) при превращении «хитин – хитозан» в сдвиговом поле под влиянием щелочной среды

Таблица 1

Хитозан *T.molitor* против фитопатогенных микроорганизмов, мм

Культуры	Контроль (уксусная кислота)	Хитозан <i>T.molitor</i> , %		
		0,1	0,3	0,5
<i>Candida albicans</i>	-	3.8±0.6	2.9±0.28	2.9±0.5
<i>Bacillus subtilis</i>	-	3,4±0.4	2.3±3.2	2.7±1.0
<i>Streptococcus aerogenes</i>	-	2.7±0.5	3.7±0.6	2.7±1.0
<i>Serratia marcescens</i>	-	2.8±2.08	2.8±2.0	2.9±2.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	2.9±0.5	2.8±0.5	2.8±0.5
<i>Escherichia coli</i>	-	1,8±0.5	2.0±0.5	2.7±1.0

Экспериментально установлено, при всех тестируемых концентрациях хитозан *T.molitor* обладает фунгицидной и бактерицидной активностью против исследованных фитопатогенных микроорганизмов. Следовательно, при концентрации хитозана *T.molitor* 0.1%, 0.3% и 0.5% зоны ингибирования в отношении грамположительных микроорганизмов *Bacillus subtilis* и *Streptococcus aerogenes* составляет 3.4 мм; 2.3 мм, 2.7 мм и 2.7 мм 3.7 мм; 2.7 мм. Зоны подавления роста и развития грамотрицательных бактерий *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* при концентрации хитозана *T. molitor* 0.1% и 0.3% составляет 2.8 мм, 2.8 мм; 2.9 мм, 2.8 мм и 1.8 мм, 2.0 мм, соответственно. Также хитозан *T. molitor* обладает противогрибковой активностью к *Candida albicans*. Следует отметить, что уксусная кислота в качестве контроля имела небольшой ингибирующий эффект с образованием неопределенных и, следовательно, неизмеримых зон ингибирования, подтверждая, что наблюдаемая антимикробная активность не обусловлена наличием уксусной кислоты (растворитель) в образцах хитозана *T. molitor* (табл. 1).

Таким образом показано, что превращение «хитин – хитозан» в сдвиговом поле обеспечивает выход хитозана 55%, тогда как при отсутствии сдвигового поля – выход хитозана 35%. Показано, что образец хитозан *T.molitor* обладает фунгицидной и бактерицидной активностью против исследованных фитопатогенных микроорганизмов.

Список литературы

1. Юл В.С., Раялу С.С. Беспрецедентный хитин и хитозан: химический обзор. Дж. Полим. Окружающая среда. 2012, 21, 606–614.
2. Кормин Ф., Абидин Н.З., Ануар Н., Абу Бакар М. Потенциал насекомых как альтернативных источников хитина: обзор химического метода экстракции из различных источников. Межд. Дж. Мол. наук. 2020, 21, 4978.
3. Ахмад С.И., Ахмад Р., Хан М.С., Кант Р. Хитин и его производные: Структурные свойства и биомедицинское применение. Межд. Ж. Биол. Макромол. 2020, 164, 526–539.
4. Mirzaeva D., Khujamshukurov N., Zokirov B., Soxibov B., Kuchkarova D. 2020. Influence of Temperature and Humidity on the Development of *Tenebrio molitor* L. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 9, 3544–3559.
5. Авазова О.Б. Холмуминов А.А., Милушева Р.Ю., Рашидова С.Ш. «Способ получения хитозана», № IAP 20110550. Государственного патентного ведомства РУз, № 2., 02.28.2012.
6. Hosseinnejad M, Jafari SM. Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan. Int J Biol Macromol. 2016;85:467–475. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.022.

УДК 577.114.4:57.021:579.64

ГИДРОФОБНОСТЬ КЛЕТОК ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ РОДОВ *ALTERNARIA*, *BIPOLARIS* И *FUSARIUM* МОЖЕТ ОПРЕДЕЛЯТЬ ИХ РАЗЛИЧНУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ОЛИГОМЕРАМ ХИТОЗАНА

Актуганов Г.Э., Мелентьев А.И., Бойко Т.Ф., Галимзянова Н.Ф.

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук
450054, Россия, г. Уфа, Проспект Октября, 69

Как известно, антимикробная активность хитозана и его олигомеров в значительной степени зависит от их молекулярной массы (M_w) и общего заряда (σ), определяемого степенью деацетилирования (СД). В то же время, рост-ингибирующее действие олигохитозанов существенно варьирует даже в отношении штаммов одного и того же вида бактерий или грибов. Повышение устойчивости микроорганизмов к действию хитозана закономерно связывают с изменениями в структуре их клеточной стенки и цитоплазматической мембраны, сопровождающимися снижением общего отрицательного заряда клеточной поверхности, перестройками в метаболизме и трофике бактериальных клеток (1, 2). Предполагается, что устойчивость грибов к хитозану может зависеть от соотношения насыщенных жирных кислот в составе их клеточной мембраны определяющих ее низкую текучесть, а также от содержания хитин-глюканового комплекса в клеточной стенке (КС) (3). Другим возможным фактором, влияющим на повышение относительной резистентности грибов к хитозану, может являться гидрофобность поверхности их клеток, также зависящей от состава КС. Косвенно это может подтверждаться значительным увеличением фунгицидной активности амфифильных производных олигохитозана с N-замещенной додецильной группой, проявляющих повышенные гидрофобные свойства (4). Синтез меланинов микромицетами, по всей видимости, также может определять их гидрофобные свойства и влиять на относительную резистентность к хитозану, тем не менее, этот аспект остается малоизученным. Целью настоящей работы являлась сравнительная характеристика гидрофобных свойств различных таксономических групп фитопатогенных грибов, отличающихся по способности продуцировать меланины, в контексте их чувствительности к олигомерам хитозана различной молекулярной массы.

Основными объектами исследования являлись штаммы микромицетов – возбудителей корневой гнили пшеницы из коллекций ВКМ и УИБ УФИЦ РАН - *Alternaria alternata* ВКМ F-3047, *Bipolaris sorokiniana* IB Г-12, *Fusarium culmorum* ВКМ F-844, *F. gibbosum* ВКМ F-848, *F. graminearum* ВКМ F-1668, *F. oxysporum* ВКМ F-137 и *F. solani* ВКМ F-142. Олигомеры хитозана получали ферментативной деполимеризацией исходного полисахарида (M_w 370 kDa, СД 80-85%, ООО «Биопрогресс», пос. Биокомбината) с помощью очищенной хитозаназы штамма *Bacillus thuringiensis* В-387 (5). Гидрофобность клеточной поверхности грибов определяли методом солевого агрегационного теста (SAT) (6). Фунгицидную активность олигохитозанов оценивали по снижению оптической плотности (ОП₆₀₀) роста тест-грибов при их культивировании в картофельно-глюкозном бульоне в 96-луночных планшетах. За минимальную ингибирующую концентрацию олигохитозанов принимали их минимальное содержание в среде, приводящее к отсутствию роста в лунках. Эксперименты проводили в 3-кратной

повторности, результаты выражали как среднее измерений $\pm$ стандартное отклонение (SD). Значимость результатов оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа, используя программный пакет Origin Pro version 9.6.5.169.

Результаты оценки фунгицидной активности олигомеров хитозана показали существенно более высокую чувствительность грибов рода *Fusarium* по сравнению с темноокрашенными микромицетами *A. alternata* и *B. sorokiniana*, синтезирующими меланины. Следует отметить, что данная закономерность была не столь очевидна в отношении более низкомолекулярных хитоолигосахаридов (M_w 2.4 кДа), демонстрирующих в целом меньшую рост-ингибирующую активность по сравнению с олигохитозаном M_w 45.3 кДа (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительная чувствительность (по значению МИК) различных групп фитопатогенных микромицетов к олигомерам хитозана и относительный уровень гидрофобности их клеточной поверхности

Тест-штамм	МИК, мкг/мл		Гидрофобность поверхности клеток по CAT-тесту $(NH_4)_2SO_4$, M**
	Олигохитозан M_w (ср.)* 45.3 кДа	ХОС M_w (ср.) 2.4 кДа	
<i>A. alternata</i> F-3047	180	750 $\pm$ 55	0.2
<i>B. sorokiniana</i> Г-12	200	675 $\pm$ 45	0.2
<i>F. culmorum</i> F-844	<19	230 $\pm$ 20	0.8
<i>F. gibbosum</i> F-848	<20	665 $\pm$ 55	0.4
<i>F. graminearum</i> F-1668	<19	485 $\pm$ 35	0.4
<i>F. oxysporum</i> F-137	<19	150 $\pm$ 20	0.8
<i>F. solani</i> F-142	<20	295 $\pm$ 25	0.6

* Средневесовая молекулярная масса согласно данным ВЭЭХ

** Минимальная концентрация сульфата аммония, при которой наблюдается агрегация спор и гиф грибов

Степень подавления роста грибов обратно коррелировала с уровнем гидрофобности грибных клеток как в случае использования низкомолекулярного (2.4 кДа), так и более высокомолекулярного (45.3 кДа) олигохитозана, хотя в последнем случае эта зависимость была более ярко выражена. Полученные данные свидетельствуют, что различия в устойчивости микромицетов к олигомерам хитозана в зависимости от гидрофобности их клеток сильнее проявляются в отношении более крупных молекул олигохитозанов, включающих от нескольких десятков до сотен мономерных остатков, и проявляющих более высокую антигрибную активность. Наряду с повышенной резистентностью к олигохитозанам, темноокрашенные микромицеты показывают более высокую степень гидрофобности, чем представители рода *Fusarium*. Данная особенность может быть связана с защитной ролью меланинов в формировании устойчивости их продуцентов к фунгицидному действию хитозана и его олигомеров, что обуславливает избирательность в их эффективности по отношению к разным видам микромицетов. Таким образом, гидрофобность клеток микромицетов может лежать в основе различных механизмов устойчивости, что может быть использовано для

структурных модификаций низших хитоолигосахаридов определенной степени полимеризации для значительного повышения их антимикробной активности.

Список литературы

1. Куликов С.Н., Тюрин Ю.А., Фассахов Р.С. и др. Антибактериальная и антимикотическая активность хитозана: механизмы действия и роль структуры // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2009. №5. С. 91-97.
2. Raafat D., Leib N., Wilmes M. et al. Development of *in vitro* resistance to chitosan is related to changes in cell envelope structure of *Staphylococcus aureus* // Carbohydr Polym. 2017. V. 157. P. 146-155. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.075>
3. Lopez-Moya. F., Suarez-Fernandez M., Lopez-Llorca L.V. Molecular mechanisms of chitosan interactions with fungi and plants // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. No. 2: 332. <https://doi.org/10.3390/ijms20020332>
4. Viegas de Souza R.H., Takaki M., de Oliveira Pedro R. et al. Hydrophobic effect of amphiphilic derivatives of chitosan on the antifungal activity against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* // Molecules. 2013 V. 18. No. 4. P. 4437-4450. <https://doi.org/10.3390/molecules18044437>
5. Aktuganov G., Lobov A., Galimzianova N. et al. Comparative potential of chitinase and chitosanase from the strain *Bacillus thuringiensis* B-387 for the production of antifungal chitosan oligomers. BioTech. 2025.14(2). 35. <https://doi.org/10.3390/biotech14020035>
6. Рубцова Е.В., Криворучко А.В., Яруллина Д.Р. и др. Влияние физико-химических свойств актинобактерий рода *Rhodococcus* на их адгезию к полистиролу и гексадекану // Фундаментальные исследования. 2013. №4-4. С. 900-904.

УДК 579.65

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ХИТИНА ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ ДЛЯ ГЕРМОЗАМКНУТЫХ ОБЪЁМОВ ОБИТАЕМЫХ ОТСЕКОВ КОСМИЧЕСКИХ АППАРАТОВ

Алехова Т.А.¹, Загустина Н.А.², Башаров А.А.³

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет
119234, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,

² Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук
119071, г. Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2

³ Ракетно-космическая корпорация «Энергия» им. С.П. Королёва,
141070, Россия, г. Королёв, Московская обл., ул. Ленина, 4а

Микробная коррозия имеет большое значение при эксплуатации изделий из различных металлов. Задача защиты от биокоррозионного повреждения в наземных условиях решается с использованием различных покрытий, на основе органических растворителей и других токсичных веществ. В условиях гермозамкнутых объектов провести такую обработку в период работы невозможно. В то же время в результате длительного мониторинга микрофлоры на станции «Мир» и Российского сегмента МКС было показано наличие коррозионно-активных микроорганизмов различных физиологических групп, грибов и бактерий. В ходе многолетнего изучения микрофлоры станции методом сканирующей лазерной микроскопии было показано, что идентифицированные в отобранных образцах грибы и бактерии способны вызывать не просто обрастание, а в экстремальных условиях при длительном воздействии могут образовывать достаточно глубокие биокоррозионные повреждения поверхности конструкционных алюминий-магниевого сплавов [1-3].

Одним из способов удаления, обезвреживания и локализации возникших загрязнений может быть покрытие поверхности в месте, где обнаружено загрязнение, пленками, с дезинфицирующими свойствами. Такие пленки могут быть получены, если их формировать с включением в состав компонентов подавляющих рост грибов и бактерий. В структуру пленок включали в качестве дезинфицирующих агентов перекисольваты и наночастицы серебра. Использование наночастиц серебра было наиболее эффективным и не вызывало посторонних эффектов. Для выполнения задачи создания и испытания безопасных покрытий формировали пленки из безвредных для человека и атмосферы станции полимеров, в том числе природных, используемых в пищевой промышленности, косметологии и медицине материалов таких, как сукцинат хитозана («Биопрогресс»), поливиниловый спирт (ПВС), карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ). Пленки из производного хитозана, в эксперименте показали небольшую бактерицидную и фунгицидную активность и были отобраны для дальнейшего использования. В структуру пленок включали в качестве дезинфицирующего агента наночастицы серебра. В дальнейшем пленки с НЧ серебра получали методом полива. При проведении испытаний в лабораторных условиях, пленки наносили на поверхность

агаризованной среды, засеянной смесью культур грибов и бактерий, выделенных с поверхности конструкционных поверхностей алюминий-магниевого сплава на РС МКС. Ранее были проведены эксперименты с монокультурами грибов и бактерий, которые были выделены непосредственно на Российском сегменте МКС [4]. В настоящем эксперименте испытывали способность пленок из сукцината хитозана подавлять рост сообщества культур грибов, которые реально формировались на станции и обнаруживались в образцах при взятии проб при постоянном мониторинге микрофлоры РС МКС. При формировании пленок кроме НЧ серебра добавлялся в низких концентрациях цитрат серебра в качестве стабилизатора.

На рис. 1 видно отсутствие роста под пленками с НЧ серебра на 2 разных сообществах грибов С1 и С2. Контрольная пленка без НЧ серебра на рис. 1б (слева), в значительной степени заросла испытываемыми культурами.

Постановка экспериментов в условиях реальных полетов (рис 2) включала моделирование искусственного загрязнения на поверхности образца алюминий-магниевого сплава АМг6. Для получения такого загрязнения на поверхность образца алюминий-магниевого сплава АМг6 диаметром 4,5 см наносили споры грибов и суспензии бактерий, подсушивали и закрывали пленками из сукцината хитозана. Полученные образцы упаковывали с многократной защитой и экспонировали на РС МКС. Время пребывания на борту МКС 2-4 месяца. Контрольный эксперимент экспонировался в наземных условиях.

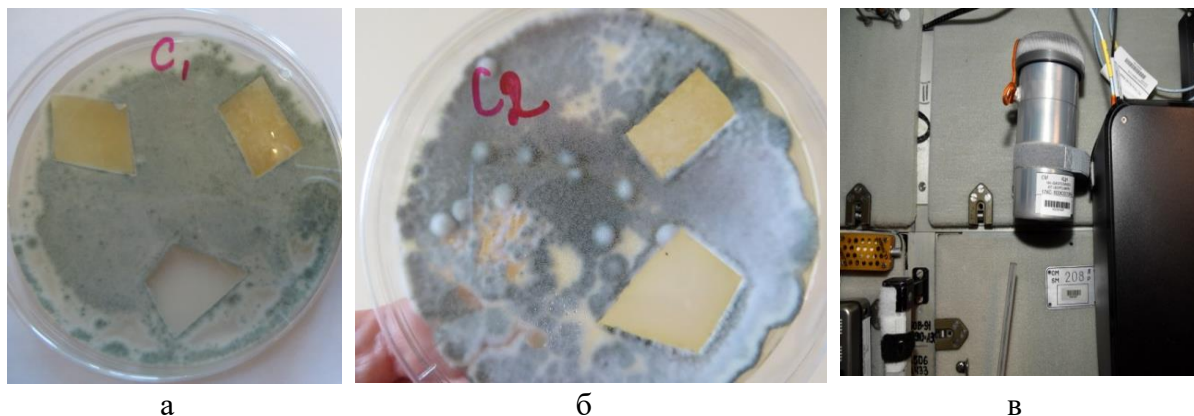


Рис. 1. Рост сообщества грибов С1 (С1: *Chaetomium globosum* Kunze, *Penicillium spinulosum* Thom, *Penicillium chrysogenum* Thom ВКМ F– 4034D, *Bacillus subtilis*) и С2 (С2: *Penicillium spinulosum* Thom, *Penicillium digitatum*, (Pers.) Sacc, *Aspergillus sydowii* Thom et Church ВКМ F– 4037D, *Bacillus subtilis*) на среде Чапека-Докса в присутствии пленок из сукцината хитозана с НЧ серебра. На рис. б слева заросшая контрольная проба; в – контейнер в условиях экспонирования на борту РС МКС с образцами алюминий-магниевого сплава.

После окончания эксперимента анализировали выживаемость микроорганизмов под пленками и проводили сравнение с образцами, экспонированными в наземных условиях.

Результаты показали, что такие пленки из сукцината хитозана с НЧ серебра и дополнительным внесением стабилизатора цитрата серебра могут быть использованы для купирования (локализации) загрязнения микроорганизмами поверхности

конструкционных материалов без применения токсичных дезинфектантов на длительный период времени в простом исполнении.

Список литературы

1. Плотников А.Д., Корнеева Е.Ю., Алехова Т.А., Загустина Н.А. Исследование влияния биокоррозионных поражений на механические характеристики образцов из алюминиевых сплавов АМГ6 И 1570С применительно к условиям эксплуатации российского сегмента МКС. //Космическая техника и технологии. 2017. № 4(19). С. 35-44.
2. Алехова Т.А., Александрова А.В., Загустина Н.А., Ревина А.А., Башаров А.А. «Разработка средств купирования микробиологического поражения конструкционных материалов в герметизированных объемах космических аппаратов» сборник «Эффект от использования МКС для России», Издательство «Роскосмос», 2016 г. С. 37-41.
3. Алехова Т.А., Шкловер В.Я., Загустина Н.А. и др. Электронно-микроскопические исследования повреждений поверхности алюминиевого сплава АМГ6, вызванных выделенными на космических станциях микроорганизмами. // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. 2010. № 9. С. 49-55.
4. Алехова Т.А., Александрова А.В., Загустина Н.А. Новожилова Т.Ю., Романов С.Ю. Микроскопические грибы на Российском сегменте международной космической станции. // Микология и фитопатология. 2009.Т. 43. Вып. 5. С. 9-19.

УДК 633.11

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ЮНИГЕЛЬ ПЛАНТУМ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ЛИСТОВОГО САЛАТА

Арипова Ф.К.^{1,2}, Гончарова Е.П.¹, Плотников К.О.³, Корель А.В.¹, Литвинова Е.А.¹

¹ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный технический университет»
630073, Россия, г. Новосибирск, пр-т К.Маркса, 20

² ФГБОУ ВО Новосибирский государственный аграрный университет
630039, Россия, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160

³ ООО «Фитодиагностика»
630039, Россия, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 154/1

Листовой салат является одной из наиболее востребованных и потребляемых зеленых культур на рынке нашей страны, выращиваемой в условиях защищенного грунта. По содержанию питательных веществ листовой салат входит в десятку самых полезных растительных продуктов: он обладает низкой калорийностью и при этом богат витаминами и микроэлементами, антиоксидантами, полифенолами [1]. Так как листовой салат является культурой, быстро реагирующей на внесение органических удобрений, это делает его удобным для проведения испытаний подобного рода препаратов [2]. А возможность подбора оптимальной дозы препарата позволит не просто повысить урожайность в масштабе выращивания в условиях тепличного комплекса, но и обеспечить улучшение питательной ценности за счет содержания незаменимых аминокислот.

Целью исследования было определение оптимальной концентрации препарата ЮНИГЕЛЬ Плантум для повышения урожайности и улучшения качества листового салата, выращиваемого на субстрате «минеральная вата» в условиях гидропоники.

В качестве объекта исследования был выбран салат сорта «Афицион» (Rijk Zwaan). Исследования проводили в тепличном комплексе «Сады Гиганта» Новосибирской области. Было проведено 3 серии опытов с применением удобрения ЮНИГЕЛЬ Плантум. Первую серию экспериментов проводили с использованием стандартной формы препарата, где доза внесения согласно инструкции составляла 0,7 г препарата на 1 м².

После использования биоудобрения в стандартной форме наблюдалось ингибирование роста растений из опытной группы, и была проведена вторая серия опытов с препаратом ЮНИГЕЛЬ Плантум, концентрация гуминовых и фульвовых кислот которого была уменьшена в 12 (Плантум_12) и 15 (Плантум_15) раз с целью подбора количества вносимых веществ, при этом метод и дозу внесения не изменяли. После анализа результатов первых двух серий для дальнейших экспериментов была выбрана форма удобрения Плантум_12, концентрация элементов которого была уменьшена в 12 раз, так как при использовании такой концентрации препарата количественные показатели салата преобладали над показателями с использованием препарата Плантум_15. Это связано с тем, что был произведен оптимальный подбор содержания гуминовых и фульвовых кислот, стимулирующих рост растений и развитие корневой системы.

При проведении первой серии экспериментов оценивали количественные и качественные показатели салата. В результате визуальной оценки темпов роста растений наблюдалось, что при использовании стандартной формы удобрения ЮНИГЕЛЬ Плантум происходит задержка роста на основных этапах развития листьев салата. Рост растений в опытной группе отставал от контроля на 7 дней. Это связано с тем, что стандартная форма удобрения ЮНИГЕЛЬ Плантум была подобрана для почвогрунта, и на растения, выращиваемые с помощью системы гидропоники, оказывала ингибирующий эффект. Однако, применение высокой дозы препарата показало, что длина междоузлий была меньше и масса салата была больше, даже при условии, что высота салата отставала от контроля. Листья салата с использованием препарата ЮНИГЕЛЬ Плантум были хорошо сформированы, без повреждений и дефектов. Для того, чтобы длина междоузлий была оптимальной при выращивании салата в системе гидропоники необходимо было оптимизировать концентрацию действующих веществ в удобрении ЮНИГЕЛЬ Плантум.

Ранее в работах было показано, что превышение внесения гуминовых кислот может задерживать рост растений из-за чрезмерной хелатации микроэлементов или нарушения гормонального баланса [3]. Содержание гуминовых и фульвовых кислот в первоначальном препарате ЮНИГЕЛЬ Плантум составило 0.43 мг на куст салата. Согласно изученным данным, норма внесения препарата гуминовых кислот Берес-8, который был одним из действующих веществ, является 0.02 мг на куст. Такая концентрация гуминовых и фульвовых кислот оптимальна для выращивания салата в полевых условиях на грунте. Так как в данной работе основной целью было определение оптимальной концентрации препарата ЮНИГЕЛЬ Плантум для повышения количественных и качественных показателей салата и разработка технологии внесения, то были проведены испытания препарата с разными концентрациями с целью оптимизации внесения удобрения.

В результате при визуальной оценке темпов роста салата, выращенного с применением Плантум_12 и Плантум_15, не наблюдалось задержки роста на основных этапах развития 14 дней и 27 дней. Масса салата с корневой системой при добавлении препарата Плантум_12 достоверно отличалась от массы растений в контрольной группе. Привес составил более 20 % к контролю. Кроме увеличения массы, было отмечено, что салат в группе Плантум_12 и Плантум_15 по высоте достиг оптимума на 5 дней раньше, чем в контроле. Масса салата в группе Плантум_15 превышала значения массы растений в группе Плантум_12 и контрольной группе, но при этом разброс показаний массы был значительным, что не позволяет считать полученные результаты достоверными. Таким образом, использование препарата Плантум_12 может повысить урожайность и экономическую эффективность технологии выращивания салата за счет возможности сокращения времени выращивания на 20%. Повышение урожайности салата на 20 % позволяет снизить себестоимость на 10–15 %, что позволит снизить время окупаемости оборудования или инвестировать в современные технологии для автоматизации процесса [4].

Таким образом, применение препарата ЮНИГЕЛЬ Плантум_12 в условиях гидропонного выращивания салата сорта «Афицион» на минераловатном субстрате демонстрирует комплексный положительный эффект, включающий: повышение продуктивности до 20% за счет улучшения морфофизиологических характеристик корневой системы растений, повышение товарных и питательных качеств продукции за счет увеличения массы сырого протеина и незаменимых аминокислот.

Полученные результаты позволяют рекомендовать данный препарат для внедрения в технологические схемы выращивания листовых овощей в условиях защищенного грунта.

Список литературы

1. Влияние биотехнологии производства микрорзелени в фитотронах городского типа на содержание функциональных ингредиентов, повышающих адаптивный иммунитет / Елисеева Л.Г., Осман А., Молодкина П.Г., Белкин Ю.Д., Сантурян Т.А. // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2022. - №5. – с. 28-31. DOI: [10.26297/0579-3009.2022.5.6](https://doi.org/10.26297/0579-3009.2022.5.6)
2. Влияние микробиологического удобрения Ризобакт на растения салата посевного в защищенном грунте / Жемякин С.В., Попова Д.А. // Проблемы продовольственной безопасности (EPFS 2023) : материалы Международной научно-практической конференции, Горки, 19-21 января 2023 г. : в 2 ч. Ч. 1. - С. 168-173.
3. Chemical Structure and Biological Activity of Humic Substances Define Their Role as Plant. Growth Promoters. / Nardi, S.; Schiavon, M.; Francioso O. / Molecules – 2021. – v. 26. – pp. 2256. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26082256>
4. Economic Analysis of Lettuce Growing in Greenhouse: A Case Study from Türkiye / Engindeniz, Dilek Yücel. // Journal of Global Agriculture and Ecology. - 2025. – v. 17(1). DOI: <https://doi.org/10.56557/jogae/2025/v17i19039>.

УДК 541.6

ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ СВОЙСТВ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИКАПРОЛАКТОНА, ХИТОЗАНА И ХИТИНА

Бакирова Э.Р., Сунаргулов А.Б., Кулиш Е.И.

ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»
450076, Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32

Синтетические полиэфиры, такие как поликапролактон (ПКЛ), вызывают большой интерес, обусловленный способностью к биоразложению. ПКЛ кроме биоразлагаемости обладает превосходной механической прочностью, прозрачностью и биосовместимостью. ПКЛ применяется в различных областях, например, в пищевой промышленности (контейнеры для пищевых продуктов, бутылки для разлива жидкости и др.), в автомобилестроении (3D печать деталей автомобилей и др.), в медицине (перевязочные материалы, клеточные каркасы для тканевой инженерии, и др.). Однако, скорость биоразложения у ПКЛ относительно небольшая. Для увеличения скорости биоразложения материалов на основе ПКЛ значительный интерес представляет введение полисахаридов, например, хитина (ХТ) и хитозана (ХТЗ) [1]. Добавление ХТ и ХТЗ также может придать материалу на основе ПКЛ способность бороться с бактериальной инфекцией, стимулировать рост и пролиферацию клеток. Варьируя количество вводимого в композицию ХТ или ХТЗ, можно целенаправленно изменять не только скорость биодеструкции материала, но и регулировать его физико-механические свойства. При получении композиционных материалов путем переработки расплава, может возникнуть проблема, связанная с неспособностью ХТ и ХТЗ при нагревании переходить без разложения в вязкотекучее состояние. Следовательно, основополагающим при создании материалов на основе ПКЛ с ХТ и ХТЗ должно стать соблюдение баланса между условиями их получения и комплексом формируемых свойств. Цель работы – изучение возможности получения композитов на основе смесей ПКЛ с ХТ и ХТЗ путем переработки расплава, а также влияния введенного наполнителя на некоторые характеристики материала.

В работе использовали ПКЛ марки Экопластик (Китай) – степень кристалличности 69%, молекулярная масса 12000. Два образца ХТЗ с молекулярной массой 116000 и 334000, степенью деацетилирования 72% и ХТ – производства ЗАО «Биопрогресс» (Россия). Приготовление композиций осуществляли в расплаве на лабораторном пластографе «Plastograph ЕС» (Германия). Затем из полученной массы формировали пленки на автоматическом гидравлическом прессе «AutoMN-NE» (США)[2]. Испытания получаемых материалов на разрыв проводили на универсальной испытательной машине «Shimadzu AGS-X» (Япония). Реологические измерения проводили на модульном динамическом реометре «Haake Mars III» (Япония).

В ходе проведенного исследования установлена принципиальная возможность получения материалов на основе композиций ПКЛ–ХТ и ПКЛ–ХТЗ. Доказано, что резкий рост вязкости и усиление аномалий течения, а также ухудшение физико-механических показателей происходит при содержании ХТЗ и ХТ более 70 масс. ч. и

размером частиц более 0.15 мм. Увеличение содержания ХТЗ и ХТ в системе сопровождается уменьшением значений разрывного напряжения и разрывного удлинения. Значения модуля упругости проходят через максимум. Показано, что уменьшение размера частиц ХТЗ и ХТ приводит к увеличению прочности, жесткости и незначительному росту значений разрывного удлинения.

Список литературы

1. Mechanical Properties and Biodegradability of Polylactide-Polysaccharide Compositions / S. Z. Rogovina, K. V. Aleksanyan, O. P. Kuznetsova, A. A. Berlin // Polymer Science, Series D. – 2019. – Vol.12, No. 3. – P. 300-304. – DOI 10.1134/S1995421219030195.
2. Влияние условий переработки на некоторые характеристики поликапролактона / Э. Р. Бакирова, Р. Ю. Лаздин, Е. М. Гизбуллина, Е. И. Кулиш // Бутлеровские сообщения. – 2023. – Т. 74, № 4. – С. 72-76. – DOI 10.37952/ROI-jbc-01/23-74-4-72.

УДК 547.96:612.396.11

БИОСОВМЕСТИМЫЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ БЛОК-СОПОЛИМЕРОВ ХИТОЗАН-КОЛЛАГЕН, ДОПИРОВАННЫЕ НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА

Бобрынина Е.А., Качалова А.И., Апрятина К.В., Черкасова Е.И., Смирнова О.Н.¹,
Смирнова Л.А., Зайцев С.Д.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского
603022, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Материалы для биоинженерии в области ранозаживления должны отвечать следующим требованиям: способствовать газообмену поврежденного участка ткани с внешней средой, обладать высокой прочностью и эластичностью, действовать как эффективный барьер против инфекционных микроорганизмов, поддерживать высокую степень адгезии и пролиферации клеток, обеспечивать достаточную влажность среды, быть нетоксичными и способствовать заживлению ран. Основой для создания таких материалов являются биополимеры. Коллаген - основной компонент внеклеточного матрикса, перспективен для применения в биоинженерии благодаря своей способности стимулировать пролиферацию фибробластов и кератиноцитов и способствовать синтезу белков, составляющих внеклеточный матрикс. Хитозан – полисахарид, характеризующийся биосовместимыми, биоразлагаемыми, хелатообразующими и сорбционными свойствами благодаря наличию amino- и гидроксильных функциональных групп, способствующий заживлению раневых поверхностей. Однако материалы на основе исходных биополимеров не обладают достаточным уровнем прочности, эластичности и бактерицидности к патогенным микроорганизмам, что делает необходимым их модификацию, например, введением наночастиц (НЧ) серебра - одних из самых эффективных антибактериальных агентов.

Целью работы стало получение смесей и блок-сополимеров на основе хитозана и коллагена, модификация их НЧ серебра и исследование влияния последних на структуру и свойства композиций. Был использован хитозан с молекулярной массой (ММ) 200 кДа и коллаген с ММ 220 кДа. Блок-сополимеры были синтезированы методом УЗ воздействия на смеси исходных биополимеров (22 кГц) при различном времени обработки. Наночастицы (НЧ) серебра получали *in situ* путем УФ-индуцированного восстановления Ag^+ из прекурсора – $AgNO_3$, находящегося в воднокислотных растворах смеси гомополимеров и их блок-сополимеров без введения дополнительных восстановителей. Кинетику формирования НЧ серебра исследовали спектрофотометрическим методом по появлению и нарастанию максимума полосы поглощения на $\lambda \sim 420$ нм, соответствующей плазмонному резонансу НЧ. Размерные характеристики НЧ были определены методами сканирующей электронной микроскопии и динамического рассеяния света и составили < 500 нм.

Показано, что полученные материалы, допированные НЧ, обладают бактерицидными свойствами к патогенным штаммам *Staphylococcus aureus*. Значения адгезии и пролиферации клеток на поверхности пленочных материалов (рис. 1) для модифицированных наночастицами композиций на уровне исходных полимеров, при

этом прочностные свойства выше для материалов на основе смесевых композиций и блок-сополимеров в сравнении с исходными гомополимерами.

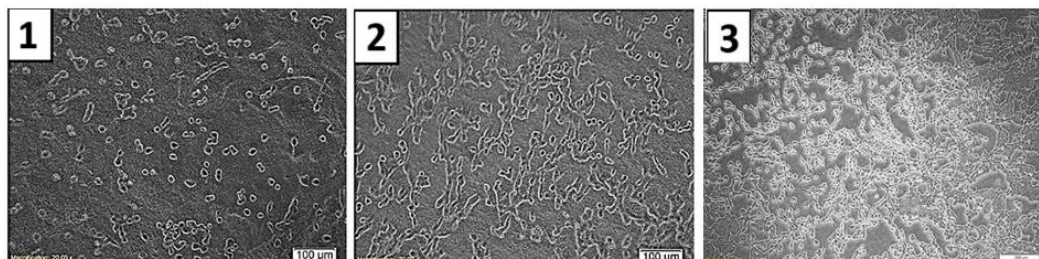


Рис. 1. Фибробласты hTERT-BJ5ta на поверхности композиционных пленок:

- 1 – XT3-коллаген, смесь,
- 2 – XT3- коллаген, 30 мин УЗ воздействия;
- 3 – XT3- коллаген, смесь + 0.2% Ag

Совокупность полученных результатов показывает перспективу дальнейшего изучения композиций на основе блок-сополимеров хитозан-коллагена, допированных НЧ серебра, с повышенной степенью бактерицидности и биосовместимости, для применения в качестве раневых покрытий.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 23-13-00342.

УДК [616.716.8+617.52]-08:[615.46:547.995.12]-06:616.379-008.64

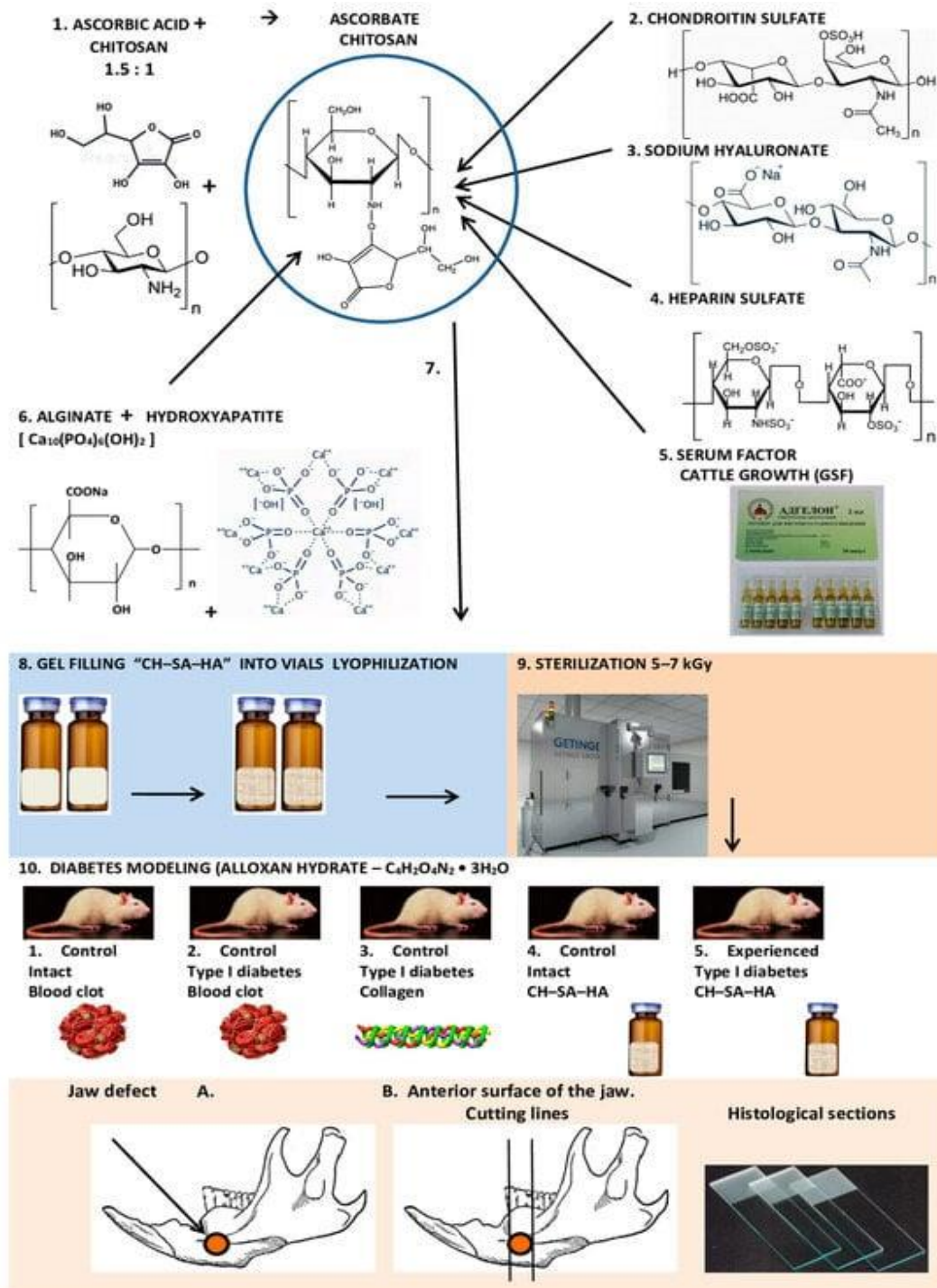
УСТРАНЕНИЕ КОСТНОГО ДЕФЕКТА В ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОДИФИЦИРОВАННОГО ХИТОЗАНА В УСЛОВИЯХ СУБКОМПЕНСИРОВАННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА I ТИПА

Большаков И.Н.¹, Патлатая Н.Н.²

¹ Кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, 660022, Россия

² Кафедра фундаментальных медицинских дисциплин Медико-биологического института, лечебного факультета, государственного образовательного учреждения высшего образования Московской области, Московского государственного областного университета, Россия

Известно, что комплексы на основе природных полисахаридов способны устранять дефекты костей. Известно, что длительная гипергликемия приводит к низкой регенерации костей и хронической воспалительной реакции. Целью данного исследования было повышение эффективности раннего костеобразования в полости критического размера при сахарном диабете в эксперименте. Использован полиэлектролитный комплекс, содержащий высокомолекулярный кватернизированный аскорбат хитозана с дополнительной степенью аминирования и степенью деацетилирования 95%, хондроитинсульфат, гиалуронат натрия, гепарин, сывороточный фактор роста адгелон, альгинат натрия и аморфный наногидроксиапатит (CH-SA-NA). Исследования проводились на пяти группах белых крыс-самок линии Вистар массой 200 г, возраст 3 месяца: группа 1 — регенерация костного дефекта у здоровых животных под сгустком крови; группа 2 — регенерация костного дефекта под сгустком крови у животных с сахарным диабетом; группа 3 — регенерация кости у животных с сахарным диабетом после заполнения костной полости коллагеновой губкой; группа 4 — заполнение костного дефекта конструкцией CH-SA-NA у здоровых животных; группа 5 — заполнение костного дефекта конструкцией CH-SA-NA у животных с сахарным диабетом (Рис.-дизайн). Присутствие полисахаридного полимера хитозана в конструкции создает прочный каркас раневого покрытия, вступая в физический синтез с природными анионными полимерами и оказывая антибактериальное и антитоксическое действие в полости кости. Как результат контактирования этого строительного материала со стенками костной полости формируется высокоорганизованная соединительная ткань, в которой полностью биodeградирует полисахаридная конструкция в виде первоначальной гелеобразной массы. В присутствии модифицированного полиэлектролитного комплекса хитозана регистрируются ранние признаки ангиогенеза и формирования новой кости, начиная с 7 дня после экспериментального формирования костного дефекта. Заполнение обширной костной полости конструкцией CH-SA-NA показало, что к концу 4-й недели на томограмме определяется 80% закрытие дефекта, а через 8 недель оно достигает 100%. Через десять недель после травмы признаков костного дефекта нет. Анализ регистрирует плотную ткань, соответствующую плотности здоровой кости. Плотность костной ткани в экспериментальной группе составила 810-1050 HU для губчатого вещества, а для компактной части - 1300-1500 HU, что выше, чем в контрольной группе. Схема исследования показана на рисунке.



При морфологическом анализе были исследованы следующие характеристики костной ткани: объемная плотность костной ткани; толщина костных трабекул (мм); межтрабекулярные промежутки (мм), остеобластная поверхность костных трабекул; остеонидная поверхность костных трабекул; эродированная (остеокластическая) поверхность костных трабекул; общая поверхность кости; свободная поверхность костных трабекул. Оценку гистоморфометрических параметров проводили в области нанесенного послеоперационного костного дефекта нижней челюсти, а также в области,

граничащей с костным дефектом (3 мм от края костного дефекта). Результаты исследования показали, что при попытке реконструкции костного дефекта критического размера в челюстно-лицевой области динамика нарушений костеобразования в условиях гипергликемии указывает на принципиальную возможность активации остеогенеза при использовании конструкций на основе модифицированных полисахаридов. Морфометрия костной ткани по указанным критериям подтвердила более высокий процент новообразованной костной ткани, наличие большей толщины костных трабекул с меньшими межтрабекулярными пространствами, большая остеобластическая активность, меньшая эрозивная поверхность трабекул. Применение хитозановой конструкции показало, что использование лиофилизированной коллагеновой губки на основе коллагена I типа может применяться в комбинации с модифицированным хитозаном. Процесс компенсации остеогенеза при использовании конструкции СН-СА-НА при субкомпенсированном сахарном диабете находится на достаточно высоком уровне. Новый продукт СН-СА-НА ранее прошел официальные медицинские испытания в формате GCP для России с целью регистрации в реестре медицинских изделий. Полисахаридный имплантат СН-СА-НА применялся у пациентов с компенсированным сахарным диабетом I типа, были получены положительные результаты при лечении генерализованного пародонтита легкой и умеренной степени тяжести, а также регенерация костных полостей после операции удаления ретинированных зубов и радикулярной кисты. При денситометрическом исследовании переформата костной ткани толщиной 5 мм была определена достаточно выраженная оптическая плотность регенерированного дефекта в сравнении с оптической плотностью костной ткани за пределами операционного поля: в области дефекта пик составил 969 единиц по шкале HU, а в симметричной области противоположной стороны – 1106 единиц. Денситометрическое исследование среза костной ткани толщиной 1 мм выявило выраженную оптическую плотность регенерированного костного дефекта по сравнению с костной тканью вне операционного поля: в зоне операции — 550 единиц по шкале HU; вне операционного поля – 650 единиц.

УДК 615.4

СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ КОЛИСТИНА НА ОСНОВЕ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КОМПЛЕКСОВ ПОЛИСАХАРИДОВ С ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЕЙ ВИТАМИНОМ В12 И ЖЕЛЕЗОМ

Боровской А.Ю., Дубашинская Н.В., Скорик Ю.А.

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения
«Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального
исследовательского центра «Курчатовский институт» – Институт
высокомолекулярных соединений
199004, Россия, г. Санкт-Петербург, Большой проспект ВО, 31

Колистин (СТ), относящийся к классу полимиксинов, сохраняет клиническую значимость в борьбе с грамотрицательными инфекциями, особенно в условиях роста антибиотикорезистентности, благодаря уникальному механизму действия, нарушающему целостность бактериальной мембраны, и относительно медленному развитию устойчивости [1]. Однако его применение ограничено выраженной нейро- и нефротоксичностью, а также крайне низкой пероральной биодоступностью (<1%), обусловленной высокой молекулярной массой и положительным зарядом молекулы, затрудняющими трансэпителиальный транспорт. Перспективным подходом к преодолению этих ограничений является формирование полиэлектролитных комплексов (ПЭК), где электростатические взаимодействия между полианионом (хондроитин-сульфат, CHS) и поликатионом (хитозан, CS) стабилизируют структуру, обеспечивая контролируемое высвобождение СТ и снижение системной токсичности. Функционализация хитозана цианокобаламином (CSB12) направлена на усиление парацеллюлярной проницаемости за счёт взаимодействия с рецепторами витамина В12 в кишечном эпителии [2], тогда как включение сидерофоров (лимонная кислота) и катионов Fe^{3+} потенцирует бактериальную абсорбцию комплекса посредством сидерофорного «тройного коня» — механизма, при котором патогены активно захватывают железосодержащие соединения.

Экспериментальные ПЭК синтезировали в водной среде лимонной кислоты (20 мг/мл), выступающей одновременно сидерофором и стабилизатором, путём последовательного введения CHS, СТ, $FeCl_3$ и одного из поликатионов (CS или CSB12). Полученные системы: [CHS-CS-СТ], [CHS-CS-СТ- Fe], [CHS-CSB12-СТ], [CHS-CSB12-СТ- Fe] — характеризовались гидродинамическими диаметрами 330, 244, 446 и 282 нм соответственно, что подтверждено методом динамического светорассеяния. Уменьшение размера частиц в присутствии Fe^{3+} может быть связано с хелатированием полисахаридами Fe^{3+} и усилением поперечных сшивок между полимерными цепями. Кинетика высвобождения СТ *in vitro* демонстрировала двухфазный профиль: в желудочном pH 1.6 за первый час высвобождалось 56%, 42%, 68% и 49% антибиотика соответственно, что коррелирует с частичным разрушением ПЭК в кислой среде, тогда при переходе к кишечному pH 6.5-7.4 процесс замедлялся, достигая через 4 часа плато на уровне 90%, 70%, 99% и 80% соответственно. Интересно, что комплексы с CSB12 показали более полное высвобождение СТ (99% против 90% для CS-СТ).

Оценка кишечной проницаемости на модели Сасо-2 выявила значительное улучшение транспорта модифицированных систем. Кажущийся коэффициент

проницаемости (P_{app}) для [CHS-CSB12-CT] и [CHS-CSB12-CT-Fe] составил 1.9×10^{-6} и 2.3×10^{-6} см/с против 0.04×10^{-6} см/с для свободного СТ, что приближается к P_{app} цианокобаламина (3.5×10^{-6} см/с), подтверждая роль В12-опосредованного транспорта. Системы на основе немодифицированного хитозана ([CHS-CS-CT], [CHS-CS-CT-Fe]) показали умеренный рост проницаемости ($0.11\text{--}0.22 \times 10^{-6}$ см/с), что объясняется мукоадгезивными свойствами CS, продлевающими контакт с эпителием.

Антимикробная активность против *Pseudomonas aeruginosa* оценивалась по минимальной ингибирующей концентрации (МИК). Комплексы с Fe^{3+} продемонстрировали двукратное снижение МИК (0,5 мкг/мл) относительно свободного СТ (1 мкг/мл), тогда как системы без железа сохраняли исходную эффективность. Этот эффект может быть связан с синергизмом между СТ и железом: бактерии, активно поглощающие Fe^{3+} через сидерофорные рецепторы, одновременно инкорпорируют антибиотик, усиливая его внутриклеточное действие.

Таким образом, стратегия совмещения ПЭК-технологии, функционализации витамином В12 и сидерофорной доставки железа позволила преодолеть ключевые ограничения колистина. Достигнутое повышение биодоступности (в 50 раз для CSB12-содержащих систем), снижение МИК и пролонгированное высвобождение открывают перспективы для разработки пероральных форм СТ с уменьшенной токсичностью. Дальнейшие исследования должны быть направлены на изучение фармакокинетики *in vivo* и оценку безопасности предложенных комплексов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект № 19-73-20157-П).

Список литературы

1. N. V. Dubashynskaya, Y. A. Skorik // Pharmaceuticals. 2020, 13, 83.
2. N. V. Dubashynskaya et al. // Polysaccharides. 2025, 6(1), 21.

УДК 636.52/.58.085.1

ХИТОЗАНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ - ПЕРСПЕКТИВНАЯ КОРМОВАЯ ДОБАВКА ДЛЯ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Буяров В.С., Кололикова И.В., Буяров А.В., Ляхова В.В.

ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет
имени Н.В. Парахина»
302019, Россия, г. Орёл, ул. Генерала Родина, 69

Большой научно-практический интерес представляют хитозан и хитозановые комплексы, которые многие исследователи рассматривают как кормовые добавки с многофункциональной активностью. **Цель исследований** - определить эффективность использования отечественных кормовых добавок на основе хитозана «Комплекс хитозановый «КХ» и «Комплекс хитозановый «КХ-аква» при промышленном выращивании цыплят-бройлеров для совершенствования существующих и создания новых технологий производства продукции птицеводства, обеспечивающих максимально полную реализацию генетического потенциала птицы, повышение производственно-экономических показателей и способствующих получению высококачественной продукции.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в условиях ООО «ПОЗЦ Свеженка» Орловской области в соответствии с методическими указаниями ВНИТИП. В 2023 г. было проведено 2 опыта и производственная проверка на общем поголовье 236186 бройлеров. В 2024 г. было проведено три научно-хозяйственных опыта (производственных апробаций) на общем поголовье 123691 бройлеров. Результаты исследований внедрены в ООО «ПОЗЦ Свеженка» (справка о внедрении от 15.11.2023 г. и акт внедрения от 19.11.2024 г.).

Кормовые добавки были произведены компанией ООО «Агрохитин» (г. Нижний Новгород). Кормовая добавка «Комплекс хитозановый «КХ» представляет собой сыпучий порошок от желтого до светло-коричневого цвета, со слабым уксусным запахом и влажностью не более 13%. В её состав входят не менее 72% хитозанов с различной молекулярной массой, а также янтарная, аскорбиновая, молочная и уксусная кислоты. **Кормовая добавка «Комплекс хитозановый «КХ-аква»** выпускается в жидкой форме. В её состав входят следующие компоненты: вода очищенная - 89%, хитозан с различной молекулярной массой - не менее 7%, а также янтарная, аскорбиновая, молочная и уксусная кислоты. Кормовые добавки не содержат антибиотики, пальмовое масло, гормональные препараты и стимуляторы роста.

Биологические свойства кормовых добавок, механизм действия. Хитозан характеризуется высокой биологической активностью, реакционной способностью и технологичностью (хорошей растворимостью). Хитозановый комплекс - специально подобранная стабильная водорастворимая смесь хитозанов различной молекулярной массы (от олигомеров до высокомолекулярного хитозана), комплексно связанных с пищевыми кислотами (аскорбиновая, янтарная, молочная, уксусная). Данные кислоты находятся в ионносвязанном виде с хитозаном, благодаря чему приобретают высокую стабильность и биодоступность в организме.

Олигосахариды хитозана - универсальные сигнальные молекулы, которые взаимодействуют с рецепторами различных клеток организма и регулируют такие

процессы, как питание, дыхание, выделение и регенерация, поддерживают метаболическое равновесие (эндозкологическое благополучие) клетки. Препарат отличается высокой адсорбционной емкостью. Попадая в организм птицы, биополимер создает пленку на слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, выводит токсины, стимулирует клеточный и гуморальный иммунитет.

Результаты исследований. В процессе реализации проекта были выполнены следующие исследования и получены научные результаты:

- изучено влияние кормовых добавок «Комплекс хитозановый «КХ» и «Комплекс хитозановый «КХ-аква» на зоотехнические показатели выращивания бройлеров, качество мяса;
- исследован морфобиохимический состав крови бройлеров при добавлении в рацион хитозановых комплексов;
- определено действие хитозановых комплексов на состав микрофлоры кишечника бройлеров с использованием метода ПЦР в реальном времени (ООО «БИОТРОФ +», г. Санкт-Петербург);
- установлена рациональная норма ввода «Комплекса хитозанового «КХ» в комбикорма для бройлеров;
- разработан рациональный режим выпойки бройлерам с питьевой водой «Комплекса хитозанового «КХ-аква»;
- проведены производственные апробации «Комплекса хитозанового «КХ» и «Комплекса хитозанового «КХ-аква», дана экономическая оценка эффективности их применения в бройлерном птицеводстве.

Научные результаты, полученные в 2023 г. В первом опыте изучали эффективность использования «Комплекса хитозанового «КХ» при выращивании бройлеров (кросс «Росс-308», 35 голов в группе, содержание с плотностью посадки 19 гол./м² до 39 дней жизни). Бройлеры контрольной группы 1 получали комбикорма со стандартной питательностью; бройлерам опытных групп 2-4 в аналогичный рацион дополнительно вводили хитозановый комплекс из расчета 50, 70 и 100 г/т в течение всего периода выращивания. Использование хитозанового комплекса в кормлении бройлеров из расчета 70 г/т экономически эффективно: уровень рентабельности был на 5,69% выше, чем в контроле.

Во втором опыте изучали эффективность использования «Комплекса хитозанового «КХ» при выращивании бройлеров в условиях повышенной плотности посадки, составляющей 23,5 гол./м² (35 голов в группе, срок выращивания - 39 дней). Бройлеры контрольной группы 1 получали комбикорма со стандартной питательностью; бройлерам опытных групп 2-4 в аналогичный рацион дополнительно вводили хитозановый комплекс из расчета 50, 70 и 100 г/т в течение всего периода выращивания. Использование хитозанового комплекса в кормлении бройлеров из расчета 70 г/т экономически эффективно: уровень рентабельности был на 3,1% выше, чем в контроле.

Производственная апробация была проведена с целью научно-практического обоснования эффективности применения оптимальной дозы «Комплекса хитозанового «КХ», выявленной в первом опыте. Сроки выращивания составляли 38-40 дней, а плотность посадки бройлеров - 23,5 гол./м². Включение хитозанового комплекса в рацион бройлеров способствовало повышению уровня рентабельности на 0.35-4.26%.

Научные результаты, полученные в 2024 г. Результаты производственной апробации показали, что использование «Комплекса хитозанового «КХ» в количестве 70 г/т комбикорма при выращивании бройлеров в условиях повышенной плотности

посадки (21.0 гол./м²) и режима прерывистого освещения, применяемого в период с 11-го дня жизни по 28-й, оказало позитивное влияние на зоотехнические показатели птицы. Рентабельность производства в опытной группе 2 выросла на 5,0% по сравнению с контролем.

В первой производственной апробации установлено, что использование «Комплекса хитозанового «КХ-аква» на протяжении всего периода выращивания (с 1-го 37-й день жизни, ежедневно) в количестве 0.5 л на 1 т воды оказало позитивное влияние на продуктивность, сохранность цыплят, способствовало увеличению выхода мяса с 1 м² площади птичника. В результате повышения зоотехнических показателей уровень рентабельности в новом варианте выращивания вырос на 2.0% по сравнению с базовым. Экономическая эффективность от использования препарата за один технологический цикл выращивания бройлеров составила 115098.36 руб.

Во второй производственной апробации установлено положительное влияние использования «Комплекса хитозанового «КХ-аква» в период с 16-го по 18-й день и с 24-го по 35-й день жизни в количестве 0,5 л на 1 т воды на зоотехнические показатели выращивания бройлеров. ЕИП в новом варианте выращивания бройлеров составил 398 ед., что на 21 ед. выше, чем в базовом. Таксономический состав микробиоты содержимого кишечника цыплят опытной группы имел более низкое содержание условно-патогенных и патогенных микроорганизмов по сравнению с контролем, что свидетельствует об отсутствии дисбактериоза и более высоком уровне защиты организма. Уровень рентабельности в новом варианте выращивания вырос на 3,1% по сравнению с базовым. Экономическая эффективность от использования хитозанового комплекса за один технологический цикл выращивания бройлеров составила 174081.09 руб.

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что хитозановые комплексы оказали положительное влияние на зоотехнические и экономические показатели выращивания цыплят-бройлеров на промышленной птицефабрике и является ценной кормовой добавкой для бройлеров. Необходимо отметить, что важнейшими факторами, определяющими высокую эффективность и перспективность экологически безопасных природных биологически активных кормовых добавок в птицеводстве, являются возможность их применения в качестве альтернативы кормовым антибиотикам, а также использование их при производстве пользующейся спросом органической (экологически чистой) продукции. Это важно для формирования здорового типа питания, повышения продолжительности и качества жизни людей. В связи с этим, необходимо продолжить и углублять комплексные исследования, направленные на изучение влияния хитозановых комплексов на продуктивность и качество мяса сельскохозяйственной птицы, в том числе при переходе на органические технологии производства.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №23-26-00031, <https://rscf.ru/project/23-26-00031/>

УДК 661.734.1, 547.995.1

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ХИТИН-ГЛЮКАНОВОГО КОМПЛЕКСА ВЫСШИХ ГРИБОВ

Винокуров В.А.¹, Грачёв А.А.², Величко А.В.³, Абдрашитов Р.Б.⁴, Кулапин А.Л.⁵

¹ ФГАОУ ВО «Российский государственный университет нефти и газа (национальный исследовательский университет) имени И.М. Губкина»
119991, Москва, Ленинский пр-т., 65

² ООО «НИИ прикладной химии «Народный концерн «Бутэк»,
Россия, г. Евпатория

³ Инженер-разработчик
Россия, г. Алушта

⁴ Биотехнолог, «Cell Tek Labs»
Россия, г. Томск

⁵ Биотехнолог
Россия, г. Воронеж

Рост высших грибов в почве или на поверхности деревьев начинается с появления гифов, которые образуют обширную сеть переплетенных между собой волокон (мицелий) диаметром 2-5 мкм. Площадь такого мицелия в почве может занимать до нескольких квадратных километров, а при благоприятных условиях из мицелия вырастают привычные для нас плодовые тела Грибов. Чаще всего, мицелий на 85-90% состоит из хитин-глюканового комплекса- прочно связанных водородными связями двух биополимеров- грибного хитина и бета-глюкана (в отличие от целлюлозы имеет разветвленное строение).

Известно, что лечебные грибы использовались для терапии многих заболеваний в течение сотен и тысяч лет. Есть ряд древних китайских трактатов о лечебных свойствах грибов. Особенно известны в Европе такие грибы, как майтаке, шиитаке, кордицепс, рейши, ежевик гребенчатый и чага.

Как пример, влияния экстрактов гриба *Laetiporus sulfureus* (трутовик серно-жёлтый) на физиологические функции различных органов человека. Здесь мы видим многочисленные виды биологической активности этого гриба - антиоксидантную, противоопухолевую, противовоспалительную и другие виды активности.

Известно также использование экстрактов лечебных грибов в косметике. Такие известные косметические компании как Сотис, Менард и Ориджинс выпустили в продажу целый ряд косметических препаратов на основе различных грибов.

Мицелий грибов по своей биологической активности часто совпадает со свойствами плодовых тел, поскольку он содержит те же активные компоненты, но в меньшем количестве. Отличия ХГК как материала от целлюлозы.

ХГК имеет преимущества и по сравнению с хитином ракообразных.

Стадии культивирования мицелия высших грибов включают наращивание биомассы на чашках Петри на средах, содержащих агар, в колбах на термостатируемой

качалке, масштабирование в стерильных условиях в биореакторах различного объёма. Обычный цикл роста мицелия составляет 7-10 дней. В результате процесса получают мицелий, взвешенный в культуральной жидкой среде. Обе фазы разделяются на проточной центрифуге и в качестве продуктов получают влажный мицелий гриба и культуральную жидкость, содержащую все продукты метаболизма-экзополисахариды, кислоты, ферменты и в ряде случаев, пигменты различной структуры.

Мицелий грибов, благодаря малому диаметру волокон (2-3мкм), высокой механической прочности и высокоразвитой поверхности может быть использован в технических целях в качестве «зеленого» армирующего материала для биоразлагаемой упаковки, для создания композиционных пластмасс, в качестве основы перевязочных материалов и др.

В наших работах мы использовали мицелий грибов в качестве носителя для так называемых фазово-переходных материалов, которые при плавлении накапливают тепловую энергию, а при застывании- отдают ее во внешнюю среду. Такие материалы называются теплоаккумулирующими и используются в строительстве и энергетике для экономии электроэнергии. Такие материалы могут эффективно работать в течение многих циклов без потери активного вещества, которое обычно при плавлении просто вытекает из матрицы.

Проводятся исследования композиционных материалов на основе мицелия грибов для создания костных цементов с антибиотиками пролонгирующего действия. ХГК играет роль не только армирующего материала, повышающего механическую прочность цемента, но и носителя, который обеспечивает длительное высвобождение антибиотиков и других лекарственных веществ из объёма.

В настоящее время проводятся доклинические и клинические испытания таких материалов.

Также нами проводились исследования активности грибного ХГК в процессах пролиферации клеток кожи и выработки коллагена. Исследования показали хорошую активность наших образцов в этих процессах, сравнимую с эталонными образцами.

Мы видим большую перспективу для использования ХГК в качестве увлажняющего агента, в борьбе со старением кожи, в качестве загущающих и стабилизирующих агентов в различных рецептурах косметики, а также носителей для лекарственных препаратов широкого назначения.

УДК 636.52:58.082.2

ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАНОВОГО КОМПЛЕКСА В КОМБИКОРМАХ НА МЯСНЫЕ КАЧЕСТВА БРОЙЛЕРОВ

Галкин В.А.¹, Воробьева Н.В.¹, Самоделкин А.Г.², Фролов В.Г.³, Тихонова Н.И.¹

¹ ФГАОУ ВО «Нижегородский государственный агротехнологический университет имени Л.Я. Флорентьева»
603107, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 97

² АНО «Нижегородский НОЦ»
603000, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Алексеевская, 6/16

³ ООО «АГРОХИТИН»
603155, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Минина, д. 41

Аннотация: Исследование влияния хитозанового комплекса (70 г/т, степень деацетилирования ~90%) в комбикормах на мясные качества бройлеров ROSS-308 (n=39280) выявило значимое снижение жирности мяса при сохранении органолептических свойств. Содержание внутреннего жира уменьшилось на 0.39%, жира в грудных мышцах – на 0.30%, в бедренных – на 0.42% (P<0.05). Оценка бульона и мяса осталась высокой (4.58-4.73 балла). Результаты подтверждают потенциал хитозана для производства диетического мяса.

Ключевые слова: хитозановый комплекс, бройлеры ROSS-308, жирность мяса, органолептическая оценка, диетические свойства.

Введение

Рост спроса на маложирное мясо птицы требует инновационных кормовых решений [1, 2]. Хитозан – биополимер из хитина ракообразных – демонстрирует перспективность как модулятор липидного метаболизма [3-5]. Однако его влияние на качество мяса современных кроссов изучено недостаточно. Цель работы – комплексная оценка воздействия хитозанового комплекса на мясную продуктивность и органолептические характеристики бройлеров кросса ROSS-308.

Материалы и методы

Дизайн эксперимента:

- Объект исследований: цыплята-бройлеры ROSS-308 (суточные, 40 г)
- Группы: Контроль (базовый рацион, n=39280) / Опыт (базовый рацион + 70 г/т хитозана, n=39280)

- Плотность посадки: 23.5 гол/м²
- Период откорма: 39 дней
- Кормление: 4-фазное (ГОСТ Р 51551-2000)

Оценивались следующие параметры:

- Мясная продуктивность: живая масса, масса потрошеной тушки, выход мышц, содержание абдоминального жира
- Химический состав: влага, белок, жир, зола в грудных/бедренных мышцах (ГОСТ 33319-2015)

- Органолептические качества: 5-балльная оценка вареного мяса и бульона (ВНИТИП, 2015)

- Статистическая обработка данных: вариационный анализ (Microsoft Excel)

Результаты и обсуждение

1. Динамика жирности мяса.

Хитозановый комплекс достоверно снизил липидный компонент мышечной ткани:

- Грудные мышцы: ↓**0.30%** (1.12% против 1.42% в контроле; $P<0.05$)
- Бедренные мышцы: ↓**0.42%** (3.42% по сравнению с 3.84% в контроле; $P<0.05$)
- Внутренний жир: ↓**0.39%** (1.20% против 1.59% в контроле; $P<0.05$). Различия были статистически значимыми ($P<0.05$)*

2. Органолептические свойства

Добавка не ухудшила органолептические характеристики продукции:

- Бульон: сохранен светло-соломенный цвет, прозрачность, выраженная наваристость (4.63 vs 4.58 балла)
- Грудные мышцы: нежность 4.6, сочность 4.5 балла (контроль: 4.6 и 4.7)
- Бедренные мышцы: улучшение вкуса до 4.7 балла (контроль: 4.5)

2. Мясная продуктивность

Различия по основным показателям недостоверны:

- Масса потрошеной тушки: 1741.54 ± 32.60 г (опыт) по сравнению с 1712.37 ± 28.70 г (контроль)
- Выход мышечной ткани: +0.69% в опытной группе

Заключение

Хитозановый комплекс (70 г/т) снижает жирность мяса бройлеров ROSS-308 на 0.30-0.42% ($P<0.05$) без ущерба ростовым показателям. Снижение содержания внутреннего жира на 0.39% улучшает товарные характеристики тушек. Органолептические свойства мяса и бульона соответствуют премиальному сегменту (>4.5 балла). Ввод хитозанового комплекса в полнорационные комбикорма для бройлеров позволяет производить мясо с повышенными диетическими свойствами для рынка здорового питания.

Список литературы

1. Фисинин В. Рынок продукции птицеводства стабилен // Животноводство России. 2019. № 3. С. 8-11.
2. Воробьева Н.В. Некоторые резервы повышения экономической эффективности откорма цыплят-бройлеров в условиях промышленного производства мяса птицы // Галкин В.А., Чичаева В.Н., Тихонова Н.И. / Journal of Agriculture and Environment. 2024. № 2 (42). DOI: <https://doi.org/10.23649/JAE.2024.42.7>
3. Хитозановые комплексы в комбикормах и питьевой воде для цыплят-бройлеров / И.А.Егоров, Т.В. Егорова, В.Г. Фролов, И.И. Ивашин // Птицеводство. 2021. №10. С. 4-8.
4. Effect of chitosan on growth performance and lipo-metabolism of broiler chickens (male) / X.Z. Ma et al. // Journal of Fujian Agricultural University (China). 2001. Vol. 16. P. 30-34.
5. Naveed M. et al. Chitosan oligosaccharide: Biological activities // Int. J. Biol. Macromol. 2019. 129:827-843. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.01.192

УДК 57.017:547.995.12

ПОЛУЧЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА О,N-(2-СУЛЬФОЭТИЛ)ХИТОЗАНА

Горностаев Л.М.^{1,2}, Фоминых О.И.², Большаков И.Н.¹, Шиндякин Д.В.¹

¹ Кафедра биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, 660022, Россия

² Кафедра биологии, химии и экологии Красноярского государственного педагогического университета им. В.П. Астафьева, Красноярск, 660049, Россия

¹ Кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, 660022, Россия

В статье представлен усовершенствованный метод синтеза О,N-(2-сульфоэтил)хитозана – водорастворимого сульфатированного производного хитозана, способного проявлять различные виды биологической активности. Разработанная технология химического синтеза кватернизированного сульфатированного хитозана исключает многочасовую экстракцию в аппарате Сокслета, используя взаимодействие хитозана с бромэтиленсульфонатом натрия в водной среде, что позволяет достичь степени сульфоэтилирования 60%. Структура синтезированного О,N-(2-сульфоэтил)хитозана была подтверждена физическими и химическими методами, в том числе с помощью ядерно-магнитного резонанса и инфракрасной спектроскопии (Рис. 1).

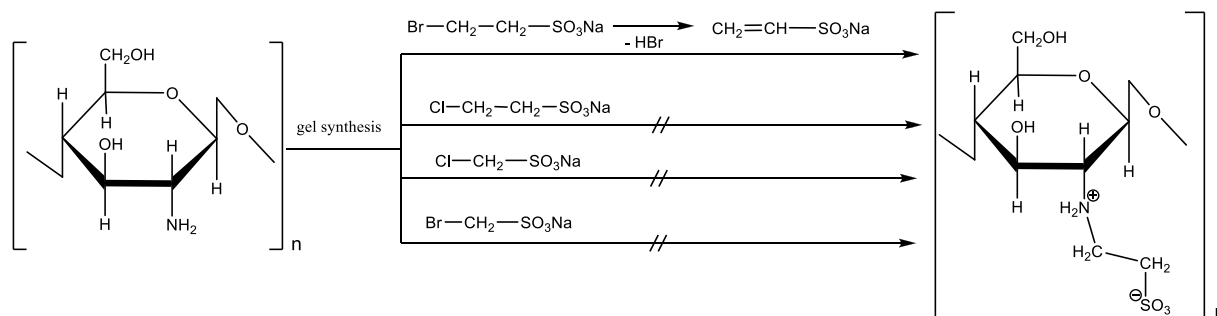


Рис. 1. Схема химического синтеза сульфатированного хитозана

Эксперименты на кроликах, получавших холестериновую диету и имевших индуцированный атеросклероз, продемонстрировали, что имплантация синтезированного геля в параадвентициальную область артерий левой задней конечности приводит к морфологическим изменениям внутренней и средней оболочек по сравнению с контрольной (правой) конечностью у тех же животных. Имплантация демонстрирует эффект разрушения мягких бляшек в течение 30 дней после хирургического вмешательства и значительно увеличивает коллатеральный кровоток. Морфометрический анализ показал уменьшение удельного объема стенки артерии на 31% в экспериментальной (левой) конечности по сравнению с контрольной (правой) у

тех же животных. При этом у особей на стандартном рационе значимых изменений не наблюдалось.

Исследование также выявило способность сульфатированного хитозана связывать липопротеиды низкой и очень низкой плотности, снижая коэффициент атерогенности плазмы крови животных. При длительном воздействии сульфатированного хитозанового гидрогеля на большой участок магистральной артерии стимулируется активная ангиогенная реакция и увеличивается перфузионная способность сосудов. Полученные результаты позволяют рассматривать данный биополимер как перспективный материал для лечения атеросклеротических поражений и хронической ишемии нижних конечностей.

Работа была выполнена в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г., принята 15 июня 2006 г.). Все манипуляции с животными проводились в соответствии с правилами, указанными в Руководстве по уходу за лабораторными животными и их использованию (Национальный исследовательский совет, 2011). Работа была одобрена Комитетом по этике Красноярского государственного медицинского университета имени Войно-Ясенецкого.

УДК 544.31.031

ТЕПЛОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СОПОЛИМЕРОВ ХИТОЗАНА С ПОЛИЛАКТИДОМ

Горюнова П.Е., Маркин А.В., Леднев И.Р., Смирнова Л.А., Зайцев С.Д.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского,
603022, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

За последнее время в мире возрос интерес к разработке альтернатив синтетическим полимерам, а именно к возобновляемым природным материалам, которые получили широкое распространение благодаря своей нетоксичности, биосовместимости и биоразлагаемости. Хитозан – это природный биополимер, получаемый из хитина, который входит в состав скелетных элементов ракообразных, насекомых, водорослей и клеточной стенки грибов. Практически неограниченные и возобновляемые сырьевые ресурсы, полимерная природа, универсальность и высокая химическая активность позволяют отнести хитозан к числу наиболее перспективных полимеров и делают его ценным материалом для применения в целлюлозно-бумажной, легкой, пищевой промышленности, медицине, сельском хозяйстве, экологии и биотехнологии. Однако для масштабного внедрения хитозана в производстве необходима его модификация, что связано с недостаточным уровнем его физико-химических свойств.

Высокая реакционная и комплексообразующая способность функциональных групп хитозана позволяют сочетать его с различными биологически активными веществами или синтетическими полимерами с целью улучшения важных характеристик каждого компонента (селективности, растворимости, стабильности, биоактивных функций). Создание композиций на основе хитозана и биосовместимых полиэфиров способствует получению композиционных систем медицинского назначения с высокими антибактериальными свойствами и улучшенными физико-механическими характеристиками.

Таким образом, модификация хитозана перспективна для создания новых биокomпозитных продуктов с известным целевым назначением, а изучение физико-химических свойств его производных методом термического анализа в широком диапазоне температур позволяет получать практически важные закономерности изменений свойств от их состава. Целью настоящего исследования было изучение температурных зависимостей теплоемкостей сополимеров хитозана с поли(D,L-лактидом) с различным содержанием последнего в области температур 6 – 350 К методом прецизионной адиабатической вакуумной калориметрии, а также исследование теплофизических свойств сополимеров в интервале 270 – 570 К методом дифференциальной сканирующей калориметрии. Полученные экспериментальные данные были использованы для расчета стандартных термодинамических функций сополимеров в интервале от $T \rightarrow 0$ до 350 К, а также стандартных характеристик их образования при 298.15 К. Экспериментально установлены наиболее общие зависимости термодинамических и термохимических характеристик сополимеров от их состава.

Работа осуществлена в Научно-исследовательской лаборатории химии природных соединений и их синтетических аналогов, созданной по ГЗ при НОЦ «Техноплатформа 2035», проект FSWR-2024-0002.

УДК 632.93

ХИТИНАЗЫ И ХИТИНАЗА-ПОДОБНЫЕ БЕЛКИ ВО ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ КОРНЕЙ ГОРОХА С ПОЧВЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Егорова А.М.¹, Шаймуллина Г.Х.², Тарчевский И.А.¹

¹ Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН
420111, Россия, г. Казань, Лобачевского 2/31

² ФГБОУ ВО Казанский государственный аграрный университет, Центр
агроэкологических исследований
420064, Россия, г. Казань, ул. Ферма-2, 53

Хитин является вторым по распространенности биополимером после целлюлозы, и широко представлен в живых организмах. Растения не содержат хитин в своем составе, но при этом имеют ферменты, способные его разрушать, поскольку он является структурным компонентом клеточных стенок многих патогенных микроорганизмов. Деградация хитина происходит при участии многочисленных хитинолитических ферментов, в том числе хитиназ, продукты деградации являются сигнальными соединениями, участвующими во взаимодействии между растениями и патогенами и в формировании фитоиммунитета. Хитиназы (Е.С. 3.2.1.14) широко представлены во многих организмах, и в растениях являются важным компонентом их защитного механизма, индуцируются при инфицировании растений патогенами и относятся к так называемым, белкам, связанным с патогенезом. Хитинолитические ферменты и хитиназы играют важную роль во взаимодействии растений с хитин-содержащими обитателями почвы. Хитиназы секретируются корнями растений в ризосферу, оказывая влияние на обитающие там микроорганизмы. В свою очередь, микроорганизмы так же оказывают влияние на экспрессию генов хитиназ в корнях растений. Для понимания особенностей взаимоотношений растений с микроорганизмами почвы при участии хитиназ конкретных видов растений может помочь анализ спектра конститутивного и индуцируемого содержания хитиназ в их корнях. Салициловая (СК) и жамоновая кислоты (и ее производное метилжасмонат (МеЖК)), участвующие в защитных реакциях растений на действие патогенов, также оказывают влияние на экспрессию, синтез и секрецию хитиназ.

Нами был проведен анализ хитиназ и хитиназа-подобных белков в корнях гороха. Поиск в геномных данных гороха позволил выявить порядка 30 генов хитиназ, относящихся к гликозил-гидролазам сем. 18 (GH18) и 19 (GH19), из которых конститутивно в корнях гороха экспрессируются 6 генов GH18 (*Psat3g005200*, *Psat6g194720*, *Psat6g194680*, *Psat1g131280*, *Psat0s5923g0040*, *Psat3g007040*) и 2 гена семейства GH19 (*Psat5g000800*, *Psat4g103520*). Все конститутивно экспрессирующиеся хитиназы GH19 содержат лизоцим-подобный домен, включая наиболее значительно экспрессируемый ген *Psat5g000800*. Этот белок аннотирован как эндохитиназа A2. Экспрессия гена *Psat5g000800* повышалась в корнях под влиянием как СК, так и МеЖК примерно в два раза в течение 72 ч. Анализ апопластной фракции белков показал, что под влиянием СК происходило усиление секреции эндохитиназы A2 в апопласт. В то время, как в корнях этот белок является конститутивным, в листьях была показана

индукция его индукция при инфицировании *Ascochyta pisi*. Экспрессия второго гена GH19 (*Psat4g103520*) и всех представителей хитиназ GH18 была в десятки раз ниже, по сравнению с экспрессией гена *Psat5g000800*. При этом экспрессия некоторых из них менялась под влиянием СК и МеЖК. Наиболее значительно изменялась экспрессия гена *Psat1g131280* аннотированного как гевеамин А. При действии МеЖК через 24 ч и 72 ч экспрессия этого гена повышалась в тысячи раз по сравнению с контролем. Таким образом, конститутивно в корнях гороха экспрессируется и синтезируется эндохитиназа А2, экспрессия которой повышалась под влиянием СК и МеЖК в два раза, и значительно индуцируется под влиянием МеЖК гевеамин А.

Наряду с активными хитиназами, в геномах растений содержится большое количество генов, кодирующих структурно-сходные с хитиназами белки, но не проявляющих непосредственной хитиназной активности так называемых хитиназа-подобных белков. Утрата ими способности расщеплять хитин связана с аминокислотными заменами в каталитически важных доменах. Для многих из них механизм действия неизвестен, но для целого ряда хитиназа-подобных белков растений показана антипатогенная активность, несмотря на неспособность разрушать хитин. Индукция хитиназа-подобных белков была показана нами в корнях гороха под влиянием одного из ключевых факторов фитоиммунитета – салициловой кислоты. Эти белки относятся к семейству GH18, структурно схожи с хитиназами класса II и запасными белками семян – нарбонинами. Анализ аминокислотной последовательности этих белков показал, что они имеют в DxDxE домене. У идентифицированных нами хитиназа-подобных белков в этом домене произошла замена второй аспарагиновой кислоты на аспарагин и последовательность аминокислот домена выглядит следующим образом – DxNxЕ. Идентифицированные хитиназа-подобные белки гороха кодируются генами *Psat1g147560*, *Psat1g147600*, *Psat1g149120* и *Psat1g148600*. Проведенный ранее транскриптомный анализ влияния СК на корни гороха показал, что экспрессия всех четырех генов хитиназа-подобных белков практически отсутствовала в контроле и повышалась в тысячи раз при действии СК и была выше по сравнению с уровнем индуцируемых хитиназ. Было обнаружено, что хитиназа-подобные белки корней гороха вызывали торможение роста патогенных грибов рода *Fusarium*. Замедлялось удлинение гифов и их ветвление, уменьшалось расстояние между септами, увеличивалось время образования спор грибов. Кроме того, мы показали, что хитиназа-подобные белки корней гороха сохранили способность связываться с хитином, что свидетельствует о возможности их связывания и с хитином клеточных стенок хитин-содержащих микроорганизмов. Это, в свою очередь, может приводит к подавлению их роста. Хитиназа-подобные белки, наряду с активной хитиназой, секретируются в апопласт. Появление в ризосфере хитиназа-подобных белков может быть дополнительным защитным механизмом растений, к которому не успели приспособиться патогены, поскольку в ходе их сосуществования происходит постоянная гонка «вооружений» как для нападения с одной стороны, так и для защиты с другой. Патогены могут ингибировать активные хитиназы растений за счет секретируемых хитиназа-связывающих белков, и в этом случае хитиназа-подобные белки могут быть отвлекающим маневром, поскольку синтезируется и секретируется в апопласт в большом количестве. В дополнение к этому, хитиназа-подобные белки могут и непосредственно затормаживать рост патогенов за счет связывания с хитином клеточных стенок, выполняя антипатогенную функцию. Таким образом, в корнях гороха имеется двухкомпонентная система, оказывающая влияние на хитин-содержащие микроорганизмы – активные хитиназы, конститутивно экспрессирующиеся на высоком уровне в корнях, и



индуцируемые хитиназа-подобные белки, в дополнение к активным хитиназам обладающие антипатогенным действием.

Исследование выполнено при поддержке гранта Академии наук Республики Татарстан и РНФ по проекту № 24-26-20123.

УДК 579.61:575.113.1:577.21:57.088.2

МОДУЛЯТОР ФЕРМЕНТАТИВНОГО ЛИЗИСА БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ДНК

Жасем К.¹, Хайруллин Р.З.², Куликов С.Н.²

¹ ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
420008, Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, 18, корп. 1

² ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии»
420015, Россия, г. Казань, ул. Большая Красная, 67

Прогресс в области высокопроизводительных омиксных технологий является причиной того, что анализ генома и транскриптома, данные микробиома и экспресс-диагностика инфекционных заболеваний на основе ДНК становятся важными инструментами в микробиологических исследованиях. Семейством высокоэффективных методов секвенирования нуклеиновых кислот является использование нанопоровых технологии, которая позволяет избежать стадий ПЦР-амплификации и химического мечения образца ДНК. Важной характеристикой метода является то, что возможно секвенирование неизвестного генетического материала, то есть к которому невозможно или не нужно подбирать праймеры. Возможности метода включают сравнительно доступное генотипирование, быстрый анализ и отображение результатов в реальном времени. Степень успешности результатов этих анализов сильно зависит от надежного выделения высококачественных нуклеиновых кислот (или иных внутриклеточных компонентов) из различных микроорганизмов. Главным препятствием для получения внутриклеточных компонентов из бактерий, становятся их клеточные стенки, которые демонстрируют значительные различия в их химической структуре в зависимости от вида. Исследования показали значительное разнообразие в тонкой структуре клеточных стенок бактерий и, следовательно, их различную чувствительность к антибиотикам и бактериолитикам. Клеточные стенки бактерий рода *Staphylococcus* являются одними из самых устойчивых к разрушающему действию литических агентов, применяемых для выделения из них нуклеиновых кислот, в особенности если генетический материал требуется получать с наименьшей степенью фрагментации. Одними из наиболее важных компонентов клеточной стенки являются полисахаридные структуры, включая пептидогликан, липополисахарид и внеклеточные полисахариды. Получение геномной ДНК или тотальной РНК из трудно поддающихся лизису бактерий может быть крайне неэффективным по сравнению с легко лизирующимися бактериальными клетками.

В связи с этим совершенствование методов извлечения минимально деградированной ДНК из клеток бактерий посредством мягкого, но эффективного разрушения клеточных стенок является актуальной задачей. Одним из таких подходов является модификация ферментативного лизиса бактериальных клеточных стенок за счёт использования модуляторов, которые обладают антибактериальной активностью благодаря различным механизмам воздействия на микроорганизмы. В их число входят ряд антимикробных пептидов, а также пептидных антибиотиков, которые вызывают лизис клеточных стенок бактерий посредством активации собственных бактериальных эндолизиннов, содержащихся как в клеточной стенке, так и в цитоплазме. Последнее

возможно благодаря взаимодействию антимикробных пептидов с цитоплазматической мембраной и нарушением её целостности и барьерных функций.

В качестве альтернативы антибактериальным пептидам, получение которых требует значительных затрат, возможно использование непептидных модуляторов действия бактериолитических ферментов. В качестве одного из таких модуляторов может служить аминополисахарид – олигохитозан. Антибактериальные свойства данного соединения давно известны, однако благодаря значительному прогрессу в области получения олигомерных форм хитозана в последнее время стало возможным получение данных веществ с заданной химической структурой, которая значительно влияет на проявление им биологической активности. Известно, что олигохитозаны способны проникать во внутренние структуры клеток бактерий несмотря на то, что типичный размер пор в клеточных стенках грамположительных бактерий не превышает 8 нм. Такое проникновение обусловлено тем, что положительно заряженный хитозан связывается с отрицательно заряженными структурами клеточных стенок – тейхоевыми кислотами, что способствует бесконтрольному высвобождению бактериальных автолизин, которые начинают расщеплять муреин. Поскольку тейхоевые кислоты пронизывают клеточную стенку от внешних её слоёв до внутренних, вплоть до цитоплазматической мембраны, считается, что олигохитозаны достаточно легко поступают внутрь бактериальных клеток, что способствует более эффективному разрушению клеточных стенок в процессе антибактериального действия.

В нашей работе было установлено, что высокомолекулярный хитозан может выступать как модулятор ферментативного лизиса клеточных стенок стафилококков для получения бактериальной длинноцепочечной ДНК. Электрофорез полученной ДНК в геле позволил подтвердить зависимость концентрации нуклеиновой кислоты от количества хитозана в инкубационной смеси с лизостафином. Также на геле после электрофореза отчётливо наблюдается бактериальная ДНК с длиной более 10 тыс. п.н. и незначительное количество более мелких фрагментов. Это позволяет сделать вывод, что ДНК выделенная данным методом из клеток стафилококка золотистого обладает длиной, которая необходима для эффективного проведения последующего секвенирования на нанопоровом секвенаторе.

УДК 631.87:632.93

ВЛИЯНИЕ КОЙЕВОЙ КИСЛОТЫ И ХИТОЗАНА НА ИНДУЦИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS*

Краснобаева И.Л., Новикова И.И., Попова Э.В., Коваленко Н.М.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
196608, Россия, Санкт-Петербург, г. Пушкин, ш. Подбельского, д. 3

В настоящее время первостепенная задача растениеводства – снижение негативного воздействия химических пестицидов на окружающую среду и разработка новых эффективных биопрепаратов для профилактики заболеваний и защиты растений от патогенов и абиотических стрессов. В связи с этим, во всем мире все актуальнее становится поиск путей повышения эффективности микробиологических препаратов для защиты сельскохозяйственных культур от фитопатогенов с комплексной (антагонистической, иммунизирующей и ростстимулирующей) активностью. Особо привлекательны в связи с этим бактерии рода *Bacillus*, обладающие высокой антагонистической активностью в отношении фитопатогенных видов и способные индуцировать естественные защитные механизмы в растениях, не нанося вреда им, окружающей среде и здоровью человека [1, 2].

В этой связи актуальным становится разработка способов повышения эффективности микробиологических препаратов для защиты растений от фитопатогенных грибов и бактерий. Обычно предполагается, что подавление фитопатогенных микроорганизмов представителями *Bacillus* основано на двух основных механизмах: синтезу антимикробных вторичных метаболитов и сидерофоров («прямой антибиоз») и стимуляции индуцированной системной устойчивости (ISR), которая активирует систему защиты растений от вредных фитопатогенных микроорганизмов и вирусов. Согласно последним исследованиям, предполагается, что ISR играет более значительную роль в защите от фитопатогенов в ризосфере растений, поскольку маловероятно, что концентрация антибиотиков в этих условиях достигнет уровней, достаточных для прямого антибиоза (3). Для усиления индуцирующей активности биопрепаратов активно используют экзогенные иммуномодуляторы, например, природный полисахарид хитозан и его производные (4). Особенно перспективно использование хитозана как индуктора неспецифической устойчивости растений к болезням в сочетании с сигнальными молекулами и биологически активными веществами для повышения индуцирующего эффекта биопрепаратов на основе представителей рода *Bacillus* (5).

Данное исследование посвящено изучению влияния койевой кислоты и ее комплекса с хитозаном на индуцирующую активность штаммов *B. subtilis* в защите пшеницы от темно-бурой пятнистости.

Выявлена концентрационная зависимость иммуномодулирующего действия кислоты на устойчивость пшеницы к возбудителю темно-бурой ржавчины *Bipolaris sorokiniana*. Наибольшую индуцирующую активность продемонстрировали композиции хитозана (0.1%) с койевой кислотой в концентрации 0.5% и 1%, что выразилось в снижении поражения листьев растений на 65% и 70% по отношению к контролю (80%).

Штаммы *B. subtilis* ВКМ В-2604D и *B. subtilis* ВКМ В-2605D показали хорошую индуцирующую активность, снижая пораженность листьев растений пшеницы темно-

бурой ржавчиной на 50% по отношению к контролю (80%). Включение койевой кислоты в культуральную жидкость штаммов в концентрации 1% повысило их иммуномодулирующую активность в 2 раза. Установлено, что наибольшей индуцирующей активностью обладают композиции: *B. subtilis* ВКМ В-2604D и *B. subtilis* ВКМ В-2605D, КЖ+0.1% хитозан+0.5% койевая кислота и *B. subtilis* ВКМ В-2604D и *B. subtilis* ВКМ В-2605D, КЖ+0.1% хитозан+1% койевая кислота. Биологическая активность данных композиций в 3 и 6 раз превышает этот показатель у исходных штаммов.

Таблица 1

Влияние культуральной жидкости штаммов *B. subtilis* ВКМ В-2604D и *B. subtilis* ВКМ В-2605D (КЖ) и ее композиций с койевой кислотой и хитозаном на устойчивость пшеницы к темно-бурой пятнистости (метод отделенных листьев, сорт Саратовская 29)

Вариант опыта	Пораженность листьев темно-бурой пятнистостью, %
Контроль	80
<i>B. subtilis</i> ВКМ В-2604D и <i>B. subtilis</i> ВКМ В-2605D, КЖ	30
<i>B. subtilis</i> ВКМ В-2604D и <i>B. subtilis</i> ВКМ В-2605D, КЖ+ 1.0% койевая кислота	15
<i>B. subtilis</i> ВКМ В-2604D и <i>B. subtilis</i> ВКМ В-2605D, КЖ+ 0.5% койевая кислота	25
<i>B. subtilis</i> ВКМ В-2604D и <i>B. subtilis</i> ВКМ В-2605D, КЖ+ 0.1% хитозан+0.5% койевая кислота	10
<i>B. subtilis</i> ВКМ В-2604D и <i>B. subtilis</i> ВКМ В-2605D, КЖ+ 0.1% хитозан+1.0% койевая кислота	5
НСР _{0.05}	4.5

Список литературы

1. Максимов И.В., Веселова С.В., Нужная Т.В., Сарварова Е.Р., Хайрулин Р.М. Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам // Физиология растений. 2015. Т. 62. № 6. С. 763–775. doi:10.7868/s0015330315060111.
2. Павлюшин В.А., Новикова И.И., Бойкова И.В. Микробиологическая защита растений в технологиях фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: теория и практика (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2020. Т. 55. № 3. С. 421–438. doi:10.15389/agrobiology.2020.3.421rus.
3. Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Gao, X. W., Borriss, R. Biocontrol mechanisms by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 – a review // Front. Microbiol. 2015a. V. 6. P. 780. doi:0.3389/fmicb.2015.00780.
4. Novikova I.I., Popova E.V., Krasnobaeva I.L., Kovalenko N.M. Biological background to using chitosan inducers to increase the efficiency of biofungicides // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2021. V. 56. № 3. P. 511-522. doi:10.15389/agrobiology.2021.3.511eng.
5. Ярулина Л. Г., Калацкая Ж. Н., Черепанова Е. А., Еловская Н. А., Цветков В.О. и др. Перспективы повышения биологической активности биопрепаратов на основе бактерий рода *Bacillus* и нанокмпозитов хитозана (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2023. Т. 59, № 5. С. 427–439. doi:10.31857/S0555109923050185.

УДК 619:615.371

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ХИТОЗАНА И МАСЛЯНЫХ АДЬЮВАНТОВ

Красочко П.А.¹, Красочко В.П.¹, Албулов А.И.², Фролова М.А.², Гринь А.В.²

¹ УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины»
210026, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. 1-я Доватора, 7/11

² ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности»
141142, Россия, Московская область, городской округ Лосино-Петровский,
пос. Биокомбината, д. 17

В технологии производства инактивированных вакцин особое место уделяется адьювантам. Это специальные депонирующие вещества, которые неспецифически повышают иммуногенность биопрепаратов. Стимулирующее свойство адьюванта проявляется при условии одновременного введения с антигеном или незадолго до его введения.

Иммуногенность вакцин находится в прямой зависимости от размера и полимерности молекул антигена, а иммуногенность низкомолекулярных антигенов (гаптенов) – от их эпитопной плотности. Адьюванты в зависимости от их свойств, стимулируют гуморальный или клеточный иммунитет, или одновременно оба вида иммунитета [1-2].

Действие адьювантов зависит от исходного иммунного статуса, предшествующего вакцинации. Адьюванты меняют динамику развития иммунитета, они ускоряют развитие и повышают уровень иммунитета, увеличивают длительность сохранения иммунитета.

Известен ряд средств, обладающих адьювантными свойствами. Это минеральные адьюванты (гидрат окиси алюминия, фосфат алюминия, фосфат кальция, хлористый кальций, алюминиево-калиевые квасцы), микробные клетки, их лизаты, мембранные и рибосомальные фракции, грибковые гликаны, мурамилдипептид, который представляет собой минимальную единицу стенки микробактерий, рибомунил (состоит из рибосом, клебсиелл, диплококков, вируса гриппа и пневмококков с примесью мембранных протеогликанов), монофосфорил липид А (M1A) (производный липополисахарида), нуклеонат натрия (натриевая соль низкомолекулярной РНК, выделенной из дрожжей), пирогенал (липополисахарид *P.aeruginosa*), продигиозан (липополисахарид *P.prodigiosum*).

Особое место занимают масляные адьюванты, в которых эмульгированные антигены конструируются по принципу «вода в масле» или «масло в воде». Размеры таких частиц обеспечивают стойкость эмульсии и иммуногенность препарата: малые липосомы диаметром 0.5–10 микрон соответствуют размерам частиц, доступных для фагоцитоза, большие липосомы (50 микрон и более) являются лишь резервуаром антигена. Липосомы снижают токсичность встроенных веществ, обладают хорошей биосовместимостью, могут содержать несколько антигенов и даже дополнительные

адьюванты [3-4].

В качестве адьювантов для вакцин могут служить все известные цитокины, участвующие в механизме развития антиинфекционного иммунитета. В эксперименте различные виды цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ФИО и др.), введенные одновременно с вакцинами, усиливают иммунитет против вирусных инфекций (бешенство) [5].

В последние годы широкое распространение получило использование в качестве адьювантов высокомолекулярных полисахаридов растительного (целлюлоза, карбоксиметилцеллюлоза) или животного (хитозан) происхождения [6-8].

Материалы и методы. Проведение исследований по подбору адьювантов при конструировании вакцины против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота работу проводились на кроликах. Для исследования на лабораторных животных было взято 27 кроликов, которых разделили на 9 групп по 3 головы в группе. Кроликам опытной группы 1 вводили внутримышечно инактивированный вирус ИРТ с 0.5% хитозана сукцинатом двукратно с интервалом в 14 дней в дозе 1.0 мл; животным опытной группы 2 вводили внутримышечно инактивированный вирус ИРТ с 0.5% хитозана сукцинатом двукратно с интервалом в 21 день в дозе 1.0 мл; животным опытной группы 3 вводили внутримышечно инактивированный вирус ИРТ с 10% эмульсигена двукратно с интервалом 14 дней в дозе 1.0 мл; животным опытной группы 4 вводили внутримышечно инактивированный вирус ИРТ с 10% эмульсигена двукратно с интервалом в 21 день в дозе 1.0 мл; животным опытной группы 5 вводили внутримышечно инактивированный вирус ИРТ с 15% Монтанида ИЗА 15 двукратно с интервалом в 14 дней в дозе 1.0 мл; животным опытной группы 6 вводили внутримышечно инактивированный вирус ИРТ с 15% монтанида ИЗА 15 двукратно с интервалом в 21 день в дозе 1.0 мл; животным опытной группы 7 вводили внутримышечно инактивированный вирус ИРТ без адьювантов двукратно с интервалом в 14 дней в дозе 1.0 мл, животным опытной группы 8 вводили внутримышечно инактивированный вирус ИРТ без адьювантов двукратно с интервалом в 21 день в дозе 1.0 мл, животным опытной группы 9 – контроль. Кровь у животных брали до иммунизации, через 21 день после иммунизации.

Титра антител изучали в РНГА.

Результаты исследований. При введении кроликам инактивированного вируса с различными адьювантами место инъекции было безболезненным, отрицательных последствий для организма не было установлено.

При двукратном использовании хитозана сукцината в концентрации 0.5% с интервалом в 14 дней титр антител к вирусу ИРТ у кроликов возрос с 0.67 до 5.67 $\log_2$, при двукратном его использовании с интервалом в 21 день титр антител возрос с 0.33 до 7.67 $\log_2$, при двукратном использовании эмульсигена в концентрации 10% с интервалом в 14 дней титра антител к вирусу ИРТ у кроликов возрос с 1.0 до 5.33 $\log_2$, при двукратном его использовании с интервалом в 21 день титр антител возрос с 0.33 до 7.00 $\log_2$, при двукратном использовании Монтанида ИЗА 15 в концентрации 15% с интервалом в 14 дней титра антител к вирусу ИРТ у кроликов возрос с 1.0 до 5.8 $\log_2$, при двукратном его использовании с интервалом в 21 день титр антител возрос с 1.0 до 6.00 $\log_2$. В контрольной группе титра антител был в среднем 0.33 – 1.0 $\log_2$.

Список литературы

1. Хаитов Р.М. Иммунология. Научный журнал/ Р.М. Хаитов.-М.: ГЭОТАР-Медиа, 2023.-518 с.

2. Самуйленко А.Я. Адъюванты / А.Я. Самуйленко, С.А. Гринь, В.И. Еремец, А.И. Албулов и др. – М.: ВНИТИБП, 2016.-167 с.
3. Шемельков Е.В. Влияние различных типов адъювантов на эффективность вакцин против инфекционных болезней свиней: дисс. канд. вет. Наук: 06.02.02/ Шемельков Е.В.. – Москва, 2010. – 158 с.
4. Применение нано- и коллоидных частиц в ветеринарной медицине / П. А. Красочко [и др.] – Краснодар, КубГАУ, 2023. – 420 с.
5. Алпатова Н.А. Цитокины как адъюванты противовирусных вакцин: дис. ... докт. биол. наук: 03.03.03/ Алпатова Н.А. – М., 2019-277 с.
6. Lee, W. Vaccine adjuvants to engage the cross-presentation pathway/ Lee W., Suresh M. // Front. Immunol., Sec. Vaccines and Molecular Therapeutics. - 2022.- V.13. –P. 1-20.
7. Mastelic. B. Mode of action of adjuvants: implications for vaccine safety and design. / B. Mastelic. S. Ahmed. W.M. Egan. G. Del Giudice, H. Golding, i. Gust, et al. // Biologicals. - 2010. - V. 38(5). - P. 594-601.
8. Petrovsky. N. Vaccine adjuvants: current state and future trends / N. Petrovsky, J.C. Aguilar // Immunol Cel! Biol. - 2004. - V. 82(5). - P. 488-96.
9. Shi, S. Vaccine adjuvants: understanding the structure and mechanism of adjuvanticity / S. Shi. H. Zhu, X. Xia, Z. Liang, X. Ma, B. Sun /7 Vaccine. - 2019. - v. 37(2.4). - P. 3) 1 о7-78.

УДК 619:615.371

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХИТОЗАНА СУКЦИНАТА ПРИ ЛИОФИЛЬНОЙ СУШКЕ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ

*Красочко П.А.¹, Красочко В.П.¹, Албулов А.И.², Фролова М.А.², Гринь А.В.²,
Федоринова К.М.²*

¹ УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины»
210026, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. 1-я Доватора, 7/11

² ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности»
141142, Россия, Московская область, городской округ Лосино-Петровский,
пос. Биокомбината, д. 17

Для повышения сроков хранения биопрепаратов используется ряд приемов - хранение в жидком азоте (вакцина против болезни Марека), высушивание на носителях (пылевидная вакцина против классической чумы свиней), лиофильное высушивание (живые вакцины).

Лиофилизация или сублимационная сушка микроорганизмов и биопрепаратов является одним из современных методов их обратимого консервирования.

Метод состоит из 2 приемов: замораживания и высушивания. Влагу из замороженного состояния в препарате испаряют под вакуумом, минуя жидкую фазу. В процессе сублимации влага перемещается в препарате не в виде жидкости, а в виде пара. В результате удастся сохранить в максимальной степени специфические свойства белков, свести к минимуму процессы денатурации и обеспечить живой клетке переход в состояние длительного анабиоза. Лиофилизированные препараты легче стандартизировать, упрощаются условия хранения и транспортировки.

Первый этап лиофилизации - это замораживание. Биопрепарат замораживают в ампулах или флаконах в низкотемпературных камерах при температуре от -40°C до -60°C. Скорость замораживания биопрепаратов обычно не более 0.5°C в 1 минуту. Для предохранения микроорганизмов от температурных повреждений (криоповреждений) в качестве (защитных) добавок используют обезжиренное молоко, смесь сахарозы с желатиной, пептон, глюконат натрия, сыворотки и др. Второй (главный) этап лиофилизации - сублимационная сушка. Замороженный препарат быстро переносят в сушильную камеру, герметизируют ее и включают вакуумный насос. С этого момента начинается сублимационная сушка - удаление паров влаги из замороженного материала в вакууме.

В настоящее время имеется ряд защитных сред для лиофильного высушивания биопрепаратов: среды на основе желатина (ВГНКИ № 3), среды на основе лактальбумина и желатозы, сухого обезжиренного молока [1].

Новым перспективным направлением для сушки вакцин является хитозан. Его особенностью является: высокая защитная активность, сорбционная активность, иммуностимулирующие свойства [2-5].

Целью настоящей работы явился подбор оптимальной защитной среды для лиофилизации вакцины.

Материалы и методы. Для отработки параметров лиофильной сушки

инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита проведена отработка оптимальных защитных сред. Для этого были использованы: защитная среда № 1 – желатин (2%), сахара (7,5%), агар (0,2%), антибиотики (Среда ВГНКИ № 3); защитная среда № 2 – желатин (2%), сахара (7,5%), лактальбумина гидролизат (10%), антибиотики; защитная среда № 3 – 0,25% раствор хитозана сукцината; защитная среда № 4 – 0,5% раствор хитозана сукцината; защитная среда № 5 – 1,0% раствор хитозана сукцината; защитная среда № 6 – сухое обезжиренное молоко.

Основным показателем качества лиофильной сушки биопрепаратов является изучение иммуногенной активности вакцины до и после сушки. Изучение антигенной активности полученного препарата до сушки и после сушки. Для этого было взято 10 групп мышей по 5 животных в каждой. Мышам первой опытной группы вводили подкожно в дозе 0,3 мл двукратно с интервалом в 14 дней инактивированный вирус ИРТ с защитной средой № 1 до высушивания; мышам второй опытной группы вводили подкожно по 0,3 мл двукратно с интервалом в 14 дней инактивированный вирус ИРТ с защитной средой № 1 после высушивания; мышам третьей опытной группы вводили подкожно по 0,3 мл двукратно с интервалом в 14 дней инактивированный вирус ИРТ с защитной средой № 2 до высушивания; мышам четвертой опытной группы вводили подкожно по 0,3 мл двукратно с интервалом в 14 дней инактивированный вирус ИРТ с защитной средой № 2 после высушивания; мышам пятой опытной группы вводили подкожно по 0,3 мл двукратно с интервалом в 14 дней инактивированный вирус ИРТ с защитной средой № 4 до высушивания; мышам шестой опытной группы вводили подкожно по 0,3 мл двукратно с интервалом в 14 дней инактивированный вирус ИРТ с защитной средой № 4 после высушивания; мышам седьмой опытной группы вводили подкожно по 0,3 мл двукратно с интервалом в 14 дней инактивированный вирус ИРТ с защитной средой № 6 до высушивания; мышам восьмой опытной группы вводили подкожно по 0,3 мл двукратно с интервалом в 14 дней инактивированный вирус ИРТ с защитной средой № 6 после высушивания; мышам девятой опытной группы вводили подкожно по 0,3 мл двукратно с интервалом в 14 дней инактивированный вирус ИРТ без защитных сред; мыши десятой группы – контроль. Кровь от мышей брали через 21 день после второго введения вакцины. Титр антител изучали в РНГА.

Результаты исследований. В процессе исследований было лиофильно высушено по 20 флаконов инактивированного теотропином вируса с каждой из испытываемых сред. Для оценки эффективности сушки проверена растворимость вакцины, антигенная активность полученного препарата до сушки и после сушки, активность биопрепарата в зависимости от срока хранения.

Одним из показателей качества лиофильной сушки вакцин является его растворимость. Так, после сушки биопрепарат имел хорошую растворимость – в среднем 4,0-5,0 минуты. Это защитная среда № 1 (4,2 минуты), защитная среда № 2 (5,0 минут); защитная среда № 4 (4,0 минуты) и защитная среда № 6 (4,8 минуты).

Следующим этапом работы явилось изучение антигенной активности полученного препарата до сушки и после сушки. Установлено, что антигенная активность после лиофильной сушки с изучаемыми защитными средами превышает активность инактивированного вируса ИРТ без защитных сред. Это свидетельствует об иммуностимулирующих свойствах защитных сред. Особенно это касается защитной среды с хитозаном. Так, у мышей, которым вводили инактивированный вирус ИРТ с хитозана сукцинатом в 0,5% концентрации, титр антител до сушки был $0,4 \pm 0,22$, а после сушки – $3,14 \pm 0,19 \log_2$. Титр антител у мышей других опытных групп также превышал уровень животных, которым вводили инактивированный вирус ИРТ без защитных сред.

Таким образом, для лиофильного высушивания в качестве защитной среды и адъювантантами использован хитозана сукцинат в 0,5% концентрации.

Список литературы

1. Разработка и производство биологических препаратов для профилактики инфекционных болезней животных в Беларуси. В 2 частях. Часть 1. Общие вопросы разработки и производства биопрепаратов / П. А. Красочко [и др.] ; под общ. ред. П. А. Красочко. — Минск : ИВЦ Минфина, 2024. — 432 с.
2. Варламов В. П., Ильина, А. В., Шагдарова, Б. Ц., Луньков, А. П., Мысякина, И. С. Хитин/хитозан и его производные: фундаментальные и прикладные аспекты //Успехи биологической химии. – 2020. – Т. 60. – С. 317-368.
3. Камская В. Е. Хитозан: структура, свойства и использование //Научное обозрение. Биологические науки. – 2016. – №. 6. – С. 36-42.
4. Хасина, Э. И., Сгребнева, М. Н., Ермак, И. М., & Горбач, В. И . Хитозан и неспецифическая резистентность организма //Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. – 2005. – №. 1. – С. 62-71.
5. Самуйленко А.Я., Албулов А.И., Павленко И.В., Фролова М.А., и др. Хитозан - компонент защитной среды высушивания // Ж. «Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук» 2014, Москва, № 6, с. 49-51.

УДК 663.257.4

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕКТИНА И ХИТОЗАНА В КАЧЕСТВЕ СОРБЕНТОВ ДЛЯ ОСВЕТЛЕНИЯ ВИНМАТЕРИАЛОВ

Крыласов Д.А., Ячкова В.А., Баракова Н.В., Няникова Г.Г.

Санкт-Петербургский технологический институт (технический университет),
190013, Россия, г. Санкт-Петербург, Московский проспект, 24-26/49 литера А

Хитозан и пектин по своей природе являются сложными полисахаридами. Как хитозан, получаемый из хитина, так и пектин, извлекаемый из растительных тканей, характеризуются уникальным комплексом физико-химических свойств и многофункциональностью применения в различных промышленных производствах, включая виноделие и производство слабоалкогольных напитков.

В контексте винодельческой промышленности хитозан выступает эффективным агентом стабилизации виноматериалов, решающим проблему потенциальных помутнений, вызванных металлическими включениями, полифенольными соединениями, белковыми фракциями и микробиологическими агентами. Его принципиальное преимущество заключается в наличии реакционноспособных гидроксильных и аминогрупп, обеспечивающих высокую сорбционную активность и реализацию хелатного комплексообразования.

Механизм действия хитозана предполагает комплексное извлечение ионов металлов (железа, меди, алюминия), а также фенольных соединений, что непосредственно способствует повышению степени осветления и коллоидной стабильности напитка [1]. Дополнительным значимым аспектом хитозана является выраженная антимикробная активность, препятствующая развитию нежелательной микрофлоры и минимизирующая риски микробиологических помутнений.

Сопоставимыми с хитозаном сорбционными свойствами обладают пектиновые вещества. Благодаря наличию карбоксильных групп пектины способны образовывать комплексы с ионами металлов, такими как железо, медь и алюминий, что способствует их эффективному удалению из виноматериалов [2]. Кроме того, пектины могут связывать фенольные соединения, которые часто являются причиной помутнения и окисления вина.

Исследования показывают, что пектиновые вещества обладают высокой способностью к флокуляции и агрегации коллоидных частиц, что приводит к улучшению коллоидной стабильности виноматериалов [3].

Принципиальными преимуществами применения хитозана и пектина являются их натуральное происхождение, нетоксичность и биологическая разлагаемость, что делает их максимально безопасными и экологически нейтральными компонентами в пищевой промышленности [4].

Целью данной работы было исследовать эффективность влияния пектина и хитозана на степень осветления соков и процесс дальнейшего брожения. Для этого обработке, в которой использовались разные дозировки пектиносодержащего порошка, полученного в результате ферментативной обработки яблочных выжимок, и крабового хитозана, были подвергнуты несколько образцов яблочного сока. Обработка пектином велась внесением дозы сорбента, выдерживанием в течение 20 минут при температуре 37°C и дальнейшем фильтровании. Хитозан отделялся сразу после внесения (без

выдержки) центрифугированием в течение 20 мин. при 8000 об/мин. Изменение мутности сока оценивалось на спектрофотометре при длине волны 540 нм.

Таблица 1

Показатели оптической плотности яблочного сока после обработки пектином и хитозаном

Образец	Контроль (без сорбента)	Пектин 0.5% от массы сока	Пектин 0.25% от массы сока	Хитозан 0.5% от массы сока	Хитозан 0.3% от массы сока	Хитозан 0.05% от массы сока
Оптическая плотность	0.360	0.230	0.195	0.250	0.230	0.195

Полученные образцы были поставлены на брожение после внесения порции реактивированных дрожжей в количестве 0.4 г на 100 см³ сока.



Оценку бродильной активности дрожжей проводили при сбраживании осветлённых соков по выходу диоксида углерода. Так наилучшие показатели были получены в образцах с дозой внесения хитозана 0.05% и с дозой внесения пектина 0,25%, для них выход диоксида углерода составил 5.3 г на 100 см³ и 5.0 г на 100 см³. соответственно, что на 29% и 21% выше выхода диоксида углерода контроля (4.1 г. на 100 см³). При увеличении дозировки как пектина, так и хитозана, выход диоксида углерода снизился.

Таким образом, пектин и хитозан являются эффективными сорбентами для осветления сбраживаемых соков, применяемых в пищевой промышленности.

Список литературы

1. Области применения хитозана / Г. Г. Няникова, Т. Э. Маметнабиев, И. П. Калинин [и др]. // Известия СПбГТИ (ТУ). – 2007. – №. 2. – С. 20-26.
2. Донченко, Л.В. Пектин: основные свойства, производство и применение / Л.В. Донченко, Г.Г. Фирсов. – М.: ДеЛи принт, 2007.
3. Тунакова Ю. А., Мухаметшина Е. С., Шмакова Ю. А. Исследование эффективности биополимерных сорбентов на основе пектина для выведения избыточного содержания металлов из организма // Вестник Казанского технологического университета. 2012. №8.
4. Никитенко П., Хрустицкая Л. Хитозан – полимер будущего / П. Никитенко, Л. Хрустицкая // Наука и инновации. – 2013. – №. 127. – С. 14-17.
5. Чермит З. М., Агеева Н. М., Влияние природных и активированных форм хитозана на осветление и химический состав виноматериалов // Известия вузов. Пищевая технология, № 5-6. 2016.

УДК 621.565.943

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХИТОЗАНА ИЗ ПАНЦИРЯ КРАБА И ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА КАК ДОБАВКИ В ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ

Максимова С.Н., Суровцева Е.В., Корниенко Н.Л.

ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный
университет» («Дальрыбвтуз»)
690087, Россия, г. Владивосток, ул. Луговая, 52Б

О перспективах использования панцирьсодержащих отходов ракообразных в технологии хитина и хитозана в России известно с первой половины XX века, когда была популярна и актуальна переработка антарктического криля. Основным источником хитиновых материалов, как в РФ, так и в других странах считается крабовый панцирь. Однако по ряду объективных причин на рынке практически отсутствует биополимер отечественного производства. Производители пищевых продуктов и БАД используют в основном китайский хитозан, который не всегда стабилен по качеству. В настоящее время прогнозы по организации масштабного производства отечественного биополимера неоднозначны.

В связи с этим исследование возможности использования хитозана из другого сырья, а именно из куколок тутового шелкопряда (*Bombyx mori*), в технологии пищевой продукции может рассматриваться как интересное и перспективное направление. Хитозан *Bombyx mori*, используемый в медицине и сельском хозяйстве Узбекистана, был любезно предоставлен для исследования его пищевого потенциала Институтом химии и физики полимеров АН Узбекистана (г. Ташкент). В качестве объекта сравнения использовали отечественный хитозан из панциря краба (ТУ 9289-067-00472124-03, г. Москва). Для удобства изложения материала введена аббревиатура: хитозан из крабового панциря – ХТЗ Кр, хитозан из тутового шелкопряда – ХТЗ Тш.

На первом этапе оценки пищевого потенциала хитозана из *Bombyx mori* были исследованы его органолептические характеристики, прежде всего вкус, поскольку известно свойство биополимера придавать его содержащим продуктам вязущий привкус. Результаты данных исследований изложены в статье, опубликованной в дальневосточном журнале [1].

Настоящая работа представляет результаты сравнительной оценки других технологических свойств хитозанов из разного сырья.

Из барьерных свойств устанавливали антимикробную активность 1%-ых растворов хитозанов (ХТЗ Кр и ХТЗ Тш) в 1%-ой уксусной кислоте (УК) двумя способами.

Первый способ предполагает использование дискового метода, основанного на диффузии вещества из пропитанного им диска фильтровальной бумаги в плотную питательную среду. При этом использовали стандартные тест-культуры. Контрольный образец предполагал обработку диска 1 %-ой уксусной кислотой. Диаметр диска – 6 мм. Зона роста (мм) свидетельствует: более 30 мм – высокая чувствительность, 30-12 мм – средняя, менее 12 мм – слабая. Сравнительные результаты показателей антимикробной активности ХТЗ Кр и ХТЗ Тш оценивали через 24 часа (табл. 1).

Приведенные данные позволяют выявить сходство и некоторые индивидуальные особенности обоих хитозанов, которые обладают средней чувствительностью к отдельным тест-культурам. Различия в цифровых значениях не значительные.

Таблица 1

Сравнительные показатели антимикробной активности хитозанов

Тест-культура	Зона роста, мм		
	УК	ХТЗ Кр	ХТЗ Тш
<i>E. coli</i>	отсутствует	13	12
<i>Sarcina</i>	отсутствует	12	12
<i>Bacillus</i>	отсутствует	12	13

Второй способ оценки антимикробной активности хитозанов предполагает анализ изменения микробиологических показателей (КМАФАнМ) модельных пищевых систем, содержащих УК раствор хитозана (1% в пересчете на сухое вещество). В качестве основы модельных систем использовали мышечную ткань сельди тихоокеанской (в виде фарша). Нормативное значение КМАФАнМ для данных пищевых систем – 1.0×10^5 . Результаты изложены в табл. 2.

Таблица 2

Изменение КМАФАнМ в модельных пищевых системах

Наименование исследуемого объекта	Сутки хранения					
	Фон	1	2	3	4	5
Фарш рыбный (контроль)	3.2×10^3	6.0×10^3	1.5×10^4	2.4×10^5	7.2×10^5	1.4×10^6
Фарш рыбный с УК	1.3×10^3	3.2×10^3	1.0×10^4	1.1×10^5	3.3×10^5	0.8×10^6
Фарш рыбный с ХТЗ Кр	1.0×10^3	6.0×10^3	1.8×10^4	1.2×10^5	5.0×10^5	8.0×10^5
Фарш рыбный с ХТЗ Тш	0.2×10^3	1.0×10^3	0.2×10^4	0.2×10^4	1.0×10^5	1.9×10^5

Представленные данные свидетельствуют о более высокой антимикробной активности хитозана из куколки тутового шелкопряда, позволяющей продлить срок годности пищевой модельной системы на 2 суток, в сравнении с крабовым биополимером.

Как известно, хитозан, включенный в пищевой продукт как технологическая добавка, проявляет в нем одновременно и медико-биологический эффект, повышая его биологическую ценность. Для подтверждения данного эффекта были проведены исследования по оценке относительной биологической ценности модельных пищевых систем, включающих хитозаны в разном количестве - от 0.25 до 1%. Оценку осуществляли по динамике роста инфузорий *Tetrahymena pyriformis* на пищевых системах, содержащих ХТЗ Кр и ХТЗ Тш (рис. 1).

Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют в целом об увеличении относительной биологической ценности пищевых систем при увеличении концентрации обоих хитозанов. Однако, крабовый хитозан проявляет более высокую активность, при этом его относительная биологическая ценность возрастает неравномерно.

Таким образом, с учетом результатов предыдущих исследований, можно сделать заключение о технологическом потенциале хитозана из куколок тутового шелкопряда (*Bombyx mori*), достаточным для его использования в технологии пищевых продуктов.

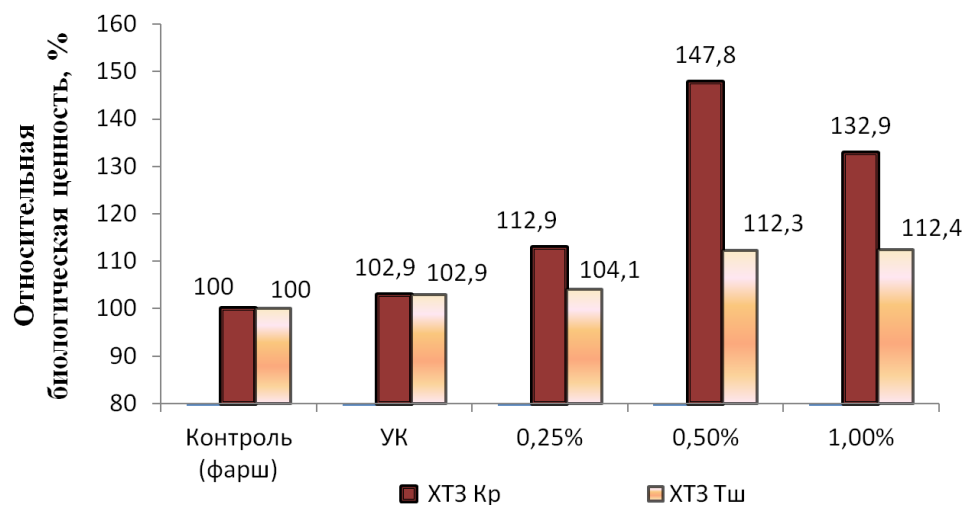


Рис. 1. Изменение относительной биологической ценности пищевых систем

Список литературы

1. Максимова С. Н., Суровцева Е. В., Пономаренко С. Ю. Оценка потенциала хитозана из *Вомбух тогі* для использования в пищевых системах // Научные труды Дальрыбвтуза. - 2025. - Т. 71, № 1. - С. 51–58.

УДК 547.458.1:[579.61+616-003.93]

ФОРМИРОВАНИЕ *IN SITU* ОРГАНО-НЕОРГАНИЧЕСКИХ ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ СМЕСИ ГЛЮКОМАННА С ХИТОЗАНОМ

Малинкина О.Н., Приданкина Д.В., Астанкова А.С., Шиповская А.Б.

Институт химии Саратовского национального исследовательского государственного
университета имени Н.Г. Чернышевского
410012, Россия, г. Саратов, ул. Астраханская, 83

Гибридные органо-неорганические гидрогели, формирующиеся *in situ* непосредственно на раневой поверхности являются перспективными реконструктивно-терапевтическими материалами. В работе обсуждаются результаты исследования кинетики гелеобразования *in vitro* и *in situ*, сорбционных, адгезионных и биологических свойств глицереогидрогелей на основе смеси двух полисахаридов: разветвленного глюкоманнана (ГМ) и линейного хитозана (ХТЗ).

Гелеобразующую композицию получали смешением исходных растворов полисахаридов (ГМ, гидрохлорид ХТЗ) и золь-гель прекурсора $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 3 \text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ с последующим доведением значения pH многокомпонентной системы до ~5.5. Дополнительно использовали модифицирующие добавки $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 3 \text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ и $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$. Время гелеобразования *in vitro* при $20 \pm 2^\circ\text{C}$, оцененное методом ротационной вискозиметрии (Brookfield DV2T), составило 3 ± 1 мин, время потери текучести *in situ* на интактной дермальной и раневой поверхностях – 4 ± 1 и 5 ± 1 мин, соответственно. Иммерсионным методом в условиях, близким к физиологическим (имитация плазмы крови человека, $\text{pH}=7.4$, $37 \pm 0.1^\circ\text{C}$), выявлена высокая сорбционная активность тестируемых образцов и их способность к биорезорбции в течение 50 ± 5 ч. Сила дермоадгезии *ex vivo* (W_D), определенная в условиях разрушения адгезионного контакта (Tinius Olsen H1KS) гидрогелевого материала от дермальной поверхности кожи крыс, оказалась равной 16.2 ± 0.8 кПа. Для контрольного фармацевтического препарата «Метрогил Дента» $W_D=13.2 \pm 0.7$ кПа.

Исследование антибактериальной активности полученных глицереогидрогелей проводили с использованием стандартных моделей микроорганизмов: шаровидных грамположительных *Staphylococcus aureus* и палочковидных грамотрицательных *Pseudomonas aeruginosa*. Методом диффузии в агар установлена умеренная антибактериальная активность *in vitro* тестируемых образцов в отношении штаммов тест-культур *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Оценку гемостатической и ранозаживляющей активности *in vivo* проводили путем разовой обработки резаной раны в дорсальной области половозрелых нелинейных альбиносов крыс-самок (по 6 особей в группе) в сравнении с контрольной группой при ежедневной обработке фармацевтическим антибактериальным ранозаживляющим препаратом «Левомеколь». Нанесение смесевой композиции на дно резаной раны сопровождалось образованием монолитного формоустойчивого глицереогидрогелевого покрытия и способствовало остановке кровотечения в течение 7.0 ± 0.5 мин, в контрольной группе – 20.0 ± 1.2 мин. Средняя линейная скорость ранозаживления составила 9.9 ± 0.5 мм/сут, в контроле – 2.4 ± 0.1 мм/сут. Установлено, что присутствие на резаной ране у крыс глицереогидрогелей не доставляло дискомфорта и не вызывало побочных эффектов у экспериментальных

животных, а также не влияло на их двигательную активность и аппетит. За весь период наблюдения не было отмечено ни одного случая нагноения раны или осложненного течения раневого процесса.

Проведенные исследования показывают перспективность использования разработанных органо-неорганических глицерогидрогелей на основе смеси глюкоманнана и хитозана в качестве быстро гелируемых на ране высокоэффективных и биорезорбируемых раневых покрытий и фармацевтических биотрансплантатов. Препарат проявляет бактериостатическое действие, высокий гемостатический эффект, проявляет умеренные дермоадгезивные характеристики и обладает высоким ранозаживляющим действием.

Авторы выражают благодарность Хониной Т.Г. (ГБУН ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН, г. Екатеринбург) за предоставленный глицеролат кремния, ИБФРМ РАН (г. Саратов) за возможность проведения эксперимента по антибактериальной активности, Бучарской А.Б. (СГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, г. Саратов) за предоставление экспериментальных животных и содействие в реализации исследования.

УДК 541.64:546.57:547.995.12:677.494

ЭЛЕКТРОСПИННИНГ НАНОВОЛОКОН ХИТОЗАНА С АНТИМИКРОБНЫМИ СВОЙСТВАМИ

*Милушева Р.Ю., Нурғалиев И.Н., Ахымбетова Г.Д., Шахобутдинов С.,
Рашидова С.Ш.*

Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

Нановолокна играют важную роль в различных областях биомедицинских исследований, начиная от доставки лекарств до заживления ран, благодаря большой площади поверхности и возможности изменения их свойств, регулируя состав и параметры процесса электроспиннинга [1-3]. Получение нановолокон, изготовленных из природных полимеров, является перспективным для систем доставки лекарств путем электропрядения смешанных полимеров или путем коаксиального прядения полимеров вместе с лекарственными средствами или активными агентами [4,5].

Электроспиннинг хитозана (ХЗ) с использованием перманганата калия представляет собой эффективный метод получения нановолокон, модифицированных окислителем. Введение перманганата калия в раствор хитозана перед процессом электроспиннинга способствует частичному окислению полимера и формированию новых функциональных групп на поверхности формируемых волокон. Такая модификация позволяет целенаправленно изменять свойства полученного материала, включая повышение антибактериальной активности, улучшение адсорбционных характеристик, а также возможное увеличение электропроводности. Повышение площади поверхности и функционализация волокон за счёт окислительных превращений открывают перспективы применения таких структур в медико-биологических и экологических целях.

Для получения нановолокон методом электроспиннинга использован ХЗ с $M_w = 262.5$ кДа. На ИК-спектре ХЗ (рис. 1) определяются характерные пики при 1655 см^{-1} , соответствующие полосе валентных колебаний Амид-I и пик при 1597 см^{-1} , соответствующий пику Амид-II.

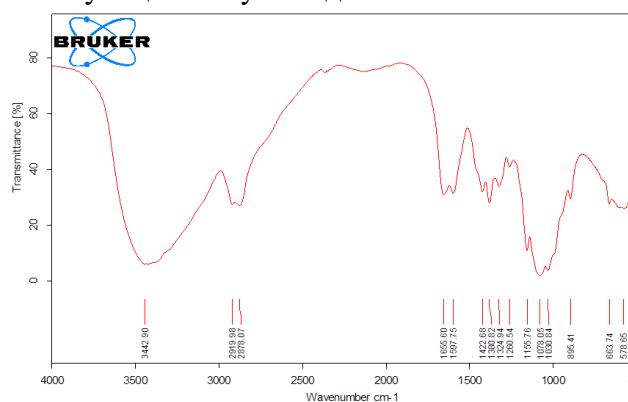


Рис. 1. ИК –спектр хитозана

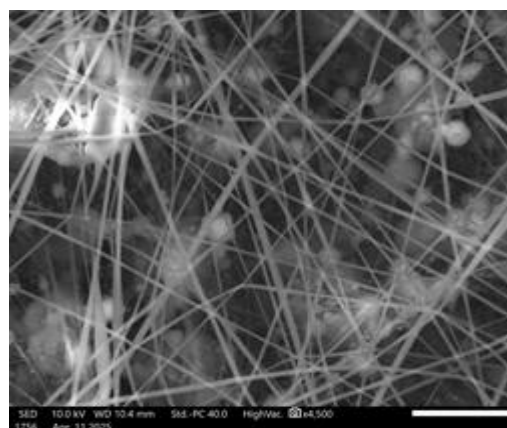


Рис. 2. SEM-снимок нановолокна ХЗ (6% р-р в ТФУК) + KMnO_4 (1%)

Для электроспиннинга нановолокон ХЗ были приготовлены растворы ХЗ в различных концентрациях 4.0-5.0-6.0 % в 90 % уксусной кислоте и в трифторуксусной кислоте. Подобрана оптимальная концентрация раствора KMnO_4 в этих растворителях (1.0 %). Полученный раствор был загружен в шприц и установлен в электроспиннинговую установку. Подача раствора осуществлялась со скоростью 0.1 мл/ч. Расстояние между капилляром шприца и коллектором составляло 10.5 см. К капилляру прикладывалось высокое напряжение в 15 кВ. Под действием электрического поля струя раствора вытягивалась, формируя тонкие волокна, которые осаждались на поверхности коллектора. Морфология полученных нановолокон представлена на микрофотографии, полученной с помощью сканирующей электронной микроскопии (SEM) (рис. 2).

На SEM-снимке нановолокон ХЗ полученных из 6% раствора ХЗ в трифторуксусной кислоте с добавлением 1% раствора KMnO_4 показано, что нановолокна имеют размеры от 84 нм в диаметре до 850 нм. Таким образом полученные нановолокна ХЗ, модифицированные перманганатом калия имеют средний размер 302 нм.

На основании экспериментальных данных и параметров электроспиннинга было проведено математическое моделирование с помощью искусственного интеллекта ширины волокон и диаметра бусинок. На основе работ Ренекера, Ярина и их коллег [6-10], было выведено уравнение, которое позволяет оценить диаметр волокна D при электроспиннинге:

$$D \approx \left(\frac{Q\eta}{\epsilon_0 E^2} \right)^{1/3}$$

где: Q – объемная скорость подачи ($\text{м}^3/\text{с}$), η – вязкость раствора ($\text{Па}\cdot\text{с}$), $\epsilon_0=8.85\times 10^{-12}$ Ф/м – диэлектрическая постоянная вакуума, $E=V/d$ – электрическое поле ($\text{В}/\text{м}$), V – напряжение (В), d – расстояние до коллектора (м). Подставив известные данные: $Q = 0.1 \text{ мл/ч} = 2.78\times 10^{-11} \text{ м}^3/\text{с}$, $V = 15 \text{ кВ} = 15\times 10^3 \text{ В}$, $d = 10.5 \text{ см} = 0.105 \text{ м} \Rightarrow E = 15000/0.105 \approx 1.43\times 10^5 \text{ В}/\text{м}$, вязкость раствора η , типичные значения для 5% раствора хитозана с Mw ~260 кДа: без KMnO_4 : $\eta \approx 0.5 \text{ Па}\cdot\text{с}$, с 1% KMnO_4 : $\eta \approx 0.2 \text{ Па}\cdot\text{с}$ (ориентировочно). Согласно расчёту без KMnO_4 $D = 430 \text{ нм}$, с KMnO_4 (вязкость $0.2 \text{ Па}\cdot\text{с}$) $D = 310 \text{ нм}$. Для расчета ширины «бусинок» W , выведено уравнение, которое определяется через соотношение сил и неустойчивость Релея-Плато: $W = C \left(\frac{\gamma}{\eta U} \right)^\delta$, где γ – поверхностное натяжение, U – приложенное напряжение, C и δ – коэффициенты, зависящие от состава раствора и режима течения. Альтернативная форма: $W = D + kL \left(\frac{Q}{U} \right)$, где k – коэффициент пропорциональности, L – расстояние между наконечником и коллектором, Q – скорость подачи раствора. Согласно расчетам оценочная ширина «бусинок» $W \approx 495 \text{ мкм}$.

Модификация хитозановых растворов перманганатом калия и последующее формирование волокон методом электроспиннинга позволяет получить нановолокна с улучшенными функциональными характеристиками. Проведенные спектроскопические и морфологические исследования подтверждают формирование новых функциональных групп и изменение структуры поверхности волокон. Расчеты, выполненные на основе моделей Ренекера, Ярина и неустойчивости Релея-Плато, показали уменьшение диаметра волокон при добавлении KMnO_4 и позволили количественно оценить параметры формирующихся структур, включая ширину «бусинок». Полученные нановолокна перспективны для использования в медико-биологических и экологических

применениях, таких как раневые покрытия, системы доставки лекарств и сорбенты для удаления загрязнителей из водных растворов.

Список литературы

1. Williams G.R., Chatterton N.P., Nazir T., Yu D.G., Zhu L.M., Branford-White C.J. Electrospun nanofibers in drug delivery: recent developments and perspectives // *Therapeutic Delivery*. – 2012. – Vol. 3. – P. 515.
2. Li X.Y., Li Y.C., Yu D.G., Liao Y.Z., Wang X. Fast disintegrating quercetin-loaded drug delivery systems fabricated using coaxial electrospinning // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2013. – Vol. 14. – P. 216–247.
3. Caracciolo P.C., Tornello P.C., Ballarin F.M., Abraham G.A. Development of electrospun nanofibers for biomedical applications: state of the art in Latin America // *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*. – 2013. – Vol. 3. – P. 39.
4. Rošic R., Kocbek P., Pelipenko J., Kristl J., Baumgartner S. Nanofibers and their biomedical use // *Acta Pharmaceutica*. – 2013. – Vol. 63. – P. 295.
5. Uppal R., Ramaswamy G.N., Arnold C., Goodband R., Wang Y. Hyaluronic acid nanofiber wound dressing: production, characterization, and in vivo behaviour // *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. – 2011. – Vol. 97B. – P. 20.
6. Reneker D.H., Yarin A.L., Zussman E., et al. Electrospinning of nanofibers from polymer solutions and melts // *Advances in Applied Mechanics*. – 2007. – Vol. 41. – P. 43–195.
7. Reneker D.H., Yarin A.L. Electrospinning jets and polymer nanofibers // *Polymer*. – 2008. – Vol. 49. – P. 2387–2425.
8. Reneker D.H., Yarin A.L., Fong H., et al. Bending instability of electrically charged jets of polymer solutions in electrospinning // *Journal of Applied Physics*. – 2000. – Vol. 87. – P. 4531–4547.
9. Yarin A.L., Koombhongse S., Reneker D.H. Bending instability in electrospinning of nanofibers // *Journal of Applied Physics*. – 2001. – Vol. 89. – P. 3018–3026.
10. Yarin A.L., Koombhongse S., Reneker D.H. Taylor cone and jetting from liquid droplets in electrospinning of nanofibers // *Journal of Applied Physics*. – 2001. – Vol. 90. – P. 4836–4846.

УДК 547.458.1

КОНЬЮГАТЫ ПРЕДНИЗОЛОНА НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА ДЛЯ ЛОКАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ВОСПАЛЕНИЙ ВНУТРЕННЕГО УХА

Новикова В.П., Дубашина Н.В., Скорик Ю.А.

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» – Институт высокомолекулярных соединений
199004, Россия, г. Санкт-Петербург, В. О. Большой пр. 31

Негнойные поражения внутреннего уха представляют собой значимую медицинскую проблему, составляя приблизительно четверть всех зарегистрированных случаев потери слуха. Современные терапевтические подходы, основанные на системном введении лекарственных средств, демонстрируют ограниченную эффективность вследствие наличия физиологического барьера - гематолабиринтной мембраны, которая существенно снижает биодоступность препаратов в структурах улитки. В данном контексте особую актуальность приобретает разработка инновационных систем доставки, способных обеспечить не только преодоление существующих барьеров, но и создание депо лекарственного вещества с контролируемым высвобождением. Подобные технологии могут значительно повысить терапевтическую эффективность за счет оптимизации фармакокинетических параметров, включая время начала действия, продолжительность терапевтического эффекта и возможность модуляции режима дозирования.

Среди перспективных фармакологических агентов для лечения воспалительных и аутоиммунных патологий внутреннего уха особого внимания заслуживает преднизолон - синтетический глюкокортикоидный препарат, обладающий выраженной противовоспалительной и иммуносупрессивной активностью. Однако его клиническое применение ограничено фармакокинетическими особенностями: быстрым элиминированием из системного кровотока, что требует назначения высоких доз и частого повторного введения, ассоциированного с развитием серьезных побочных эффектов. В последних исследованиях было продемонстрировано, что носители на основе производных хитина – сукцинил-хитина [1] и сукцинил-хитозана [2] – не только эффективно преодолевают гематолабиринтный барьер, но и проявляют самостоятельные отопротективные свойства, что делает их исключительно перспективными кандидатами для создания транспортных систем преднизолонa.

В рамках настоящего исследования был разработан метод ковалентного конъюгирования преднизолонa с хитозановыми носителями. Для обеспечения реакционной способности молекулу глюкокортикоида предварительно модифицировали путем сукцинирования, что позволило ввести карбоксильные группы, необходимые для последующего формирования амидных связей с аминогруппами полисахарида. В работе использовали два типа хитозанов, различающихся молекулярной массой (15 кДа и 60 кДа) и степенью деацетилирования (97% и 84% соответственно). Активация карбоксильных групп осуществлялась с применением карбодиимидного реагента EDC·HCl в буферном растворе с pH 6.0. Полученные конъюгаты характеризовались степенью замещения от 1.3 до 3.5 мольных % и обладали способностью к самопроизвольной агрегации в водных средах с образованием устойчивых катионных

частиц. Определение гидродинамических параметров методом динамического светорассеяния выявило образование частиц средним размером 560 нм с положительным ζ -потенциалом (+35 мВ). Дополнительная модификация поверхности сукцинильными группами позволила получить анионные частицы (степень сукцинирования 51%) с увеличенным диаметром (720 нм) и отрицательным ζ -потенциалом (-23 мВ). Исследование кинетики высвобождения *in vitro* продемонстрировало возможность пролонгированного высвобождения преднизолона в течение 40 суток, что свидетельствует о формировании стабильного лекарственного депо.

Полученные результаты, демонстрирующие воспроизводимость метода синтеза для хитозанов с различными физико-химическими характеристиками, в сочетании с доказанной способностью к контролируемому высвобождению активного вещества, создают фундамент для дальнейших доклинических исследований. Перспективными направлениями представляются изучение *in vivo* фармакокинетики, биораспределения и ототоксической эффективности разработанных конъюгатов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-75-20013, <https://rscf.ru/project/25-75-20013/>

Список литературы

1. Petrova, V.A. Preparation of N-succinyl-chitin nanoparticles and their applications in otoneurological pathology / V.A. Petrova, A.A. Panevin, S.G. Zhuravskii, E.R. Gasilova, E.N. Vlasova, D.P. Romanov, D.N. Poshina, Y.A. Skorik // International Journal of Biological Macromolecules. – 2018. – V. 120. – P. 1023–1029.
2. Panevin, A.A. Conjugation of succinate to chitosan increases the cochlear cytoprotective effect / A.A. Panevin, A.A. Golyshev, Y.A. Skorik, S.G. Zhuravskii, D.L. Sonin // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2017. – V. 50. – P. 711–714.

УДК 632.9:57.021

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ОБРАЗЦОВ
БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS*,
TRICHODERMA ASPERELLUM T-36, САЛИЦИЛАТА ХИТОЗАНА ПРИ
ВОЗДЕЛЫВАНИИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ**

Новикова И.И.¹, Попова Э.В.¹, Колесников Л.Е.², Краснобаева И.Л.¹, Колесникова Ю.Р.³,
Хигерович Л.А.¹, Радишевский Д.Ю.², Шевцов М.В.²

¹ ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
196608, Россия, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3

² ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный аграрный университет
196601, Россия, Санкт-Петербург, Пушкин, Петербургское шоссе, 2

³ ФГБНУ ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений
им. Н.И. Вавилова
190000, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44

Использование инновационных микробиологических препаратов, в том числе на основе штаммов бактерии *B. subtilis*, гриба *T. asperellum*, обладающих выраженной антагонистической и ростостимулирующей активностью - один из экологически безопасных способов оздоровления фитосанитарного состояния агроценозов [1,2]. При решении актуальной проблемы биологизации системы защиты растений также востребованно изучение активности хитозана, в том числе модифицированного салициловой кислотой, играющего важнейшую роль в активации неспецифической устойчивости растений к возбудителям болезней [3].

В результате проведенных нами исследований в условиях научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» получены новые данные по эффективности лабораторных образцов на основе штаммов *B. subtilis* И-5, *T. asperellum* T-36, 0/1% салицилата хитозана и полифункциональных комплексов на их основе при возделывании мягкой пшеницы (сорт Ленинградская 6, к-64900). Схема опыта предусматривала обработку ими семян пшеницы перед посевом, а также опрыскивание растений в период вегетации. Пораженность пшеницы болезнями оценивали по комплексу общепринятых показателей (с использованием специальных шкал учета) и расчетных фитопатологических параметров. Анализ посевов пшеницы проводили по данным измерения 14-ти показателей, отражающих особенности роста и развития растений, структуры колоса и продуктивность [4].

Наибольшим ростостимулирующим и защитным действием обладал полифункциональный комплекс Картофин, КЖ (культуральная жидкость *B. subtilis* И-5) + 0.1% салицилат хитозана и Картофин, КЖ (культуральная жидкость *B. subtilis* И-5) – композиция, применение которых позволило существенно повысить продуктивность растений на 92.1% и 51.3%. В варианте опыта Картофин, КЖ (культуральная жидкость *B. subtilis* И-5) + 0.1% салицилат хитозана отмечено сокращение межфазного периода развития растений (на 39.4%), рост высоты (на 55.6%), числа первичных корней (на 63.6%), числа узловых корней (на 118.1%), общей кустистости (на 65.2%), массы вегетативной части (на 241.3%), массы колоса (на 57.1%). Применение культуральной

жидкости Картофин, КЖ обуславливало сокращение межфазного периода развития растений (на 33.1%), увеличение высоты (на 105.7%), числа первичных корней (на 77.5%), числа узловых корней (на 82.7%), массы вегетативной части (на 206.9%), массы колоса (на 44.7%), массы корней (на 72.5%).

В наибольшей степени использование полифункционального комплекса Картофин, КЖ (культуральная жидкость *B. subtilis* И-5) + 0.1% салицилат хитозана и Картофин, КЖ (культуральная жидкость *B. subtilis* И-5) – композиция способствовало существенному снижению пораженности мягкой пшеницы мучнистой росой – биологическая эффективность достигла 69.8% и 95.4%, соответственно, а также септориозом – биологическая эффективность составила 74.3% и 74.2%, соответственно. Существенное снижение развития желтой ржавчины выявлено в вариантах опыта: Витаплан, СП (БЭ = 55.5%); 0.1% салицилат хитозана (БЭ = 56.6%); Картофин, КЖ (БЭ = 64.1%), *T. asperellum* Т-36, КЖ 1:10 (БЭ = 54.8%). В вариантах опыта Картофин, КЖ и *T. asperellum* Т-36, КЖ 1:100 зарегистрировано наибольшее снижение развития корневой гнили (БЭ = 31.8%) по сравнению с контролем.

Список литературы

1. Новикова И.И., Попова Э. В., Коваленко Н. М., Краснобаева И.Л. Влияние штаммов *Bacillus subtilis* в сочетании с салицилатом хитозана на активность пероксидазы и каталазы в листьях пшеницы при инфицировании возбудителем темно-бурой пятнистости *B. sorokiniana* // Прикладная биохимия и микробиология. 2024. т. 60. № 2. С. 193–204. doi: 10.31857/S0555109924020093
2. Домрачева Л.И., Стариков П.А., Ковина А.Л., Ашихмина Т.Я. Использование микромицетов рода *Trichoderma* и консорциумов на их основе в агробиотехнологии (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2024. № 1. С.6-18. doi: 10.25750/1995-4301-2024-1-006-018
3. Попова Э.В., Коваленко Н.М., Тютерев С.Л., Домнина Н.С., Колесников Л.Е., Борисова Е.А. Биологическая активность хитозана с разной молекулярной массой // Вестник защиты растений. №3 (93). 2017. С. 28-33.
4. Новикова И.И., Колесников Л.Е., Попова Э.В., Хассан Б.А., Прияткин Н.С., Радишевский Д.Ю., Краснобаева И.Л., Хигерович Л.А., Колесникова Ю.Р. Биологическая эффективность полифункциональных комплексов на основе штаммов *Bacillus subtilis* и салицилата хитозана при возделывании пшеницы // Прикладная биохимия и микробиология. 2024. Т. 60. № 2. С. 205-218. doi: 10.31857/S0555109924020109

УДК 615.03. 577.3. 615.03

IN SILICO ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКИНГА НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХИТОЗАНА С БЕЛКАМИ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Нурғалиев И.Н., Абилкасимов А.Б., Рашидова С.Ш.

Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

Разработка новых антимикробных агентов приобретает всё большую актуальность в связи с ростом устойчивости патогенных микроорганизмов к традиционным антибиотикам. Особое внимание уделяется природным полимерам, обладающим биологической активностью и низкой токсичностью. Одним из таких соединений является хитозан — поликатионный биополимер, получаемый путём частичной деацетилирования хитина, обладающий широким спектром антимикробной активности [1].

Модификация структуры хитозана с целью повышения его биологической эффективности и растворимости является перспективным направлением. Производные хитозана демонстрируют улучшенные свойства, такие как повышенная растворимость в воде, высокая аффинность к клеточным стенкам бактерий и способность образовывать комплексы с биомолекулами [2]. Однако молекулярные механизмы взаимодействия этих производных с мишенями в клетках микроорганизмов остаются недостаточно изученными.

Современные *in silico* методы, включая молекулярный докинг, позволяют предсказать аффинность и характер взаимодействия между потенциальными антимикробными агентами и бактериальными белками-мишенями, что значительно сокращает время и ресурсы, необходимые для *in vitro* экспериментов [3]. В частности, молекулярный докинг с белками грамотрицательных бактерий (*Pseudomonas aeruginosa*) и грамположительных (*Staphylococcus aureus*) и позволяет оценить избирательность и потенциальную эффективность производных хитозана как ингибиторов ключевых ферментов или белков наружной мембраны [4,5].

Настоящее исследование было направлено на *in silico* анализ взаимодействия некоторых производных хитозана с белковыми структурами патогенных бактерий, с целью оценки их антимикробного потенциала и выявления наиболее перспективных соединений для последующих биологических испытаний.

Для молекулярного докинга был использован онлайн-ресурс <https://cadd.labshare.cn>, где производные хитозана — четвертичная аммониевая соль, сульфатированный и фосфорилированный хитозан — были представлены в виде олигомеров из пяти мономерных звеньев. Эти производные были выбраны на основании наличия функциональных групп, способных к образованию водородных и ионных связей, а также гидрофобных взаимодействий с активными центрами бактериальных белков.

In silico моделирование показало, что данные производные демонстрируют выраженное сродство к белковым мишеням как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Все соединения показали хорошие значения энергии связывания, варьирующиеся в диапазоне от -7.26 до -8.98 ккал/моль (табл. 1). Особенно

интересны результаты взаимодействия с белками *Pseudomonas aeruginosa*, выбранной в качестве модели грамотрицательной бактерии.

Четвертичная аммониевая соль хитозана продемонстрировала энергию связывания -7.26 ккал/моль. Его катионные группы взаимодействуют с активным сайтом белка через π -стэкинг с HIS134, а также через гидрофобные взаимодействия с аминокислотными остатками TYR88, GLU90, LEU93, VAL130 и HIS134. Присутствие катионных групп способствует электростатической стабилизации комплекса.

Таблица 1

Оценка стыковки (энергия взаимодействия (ккал/моль)) для лигандов с активной стороной белка

Лиганд	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Четвертичная аммониевая соль хитозана	-7.26	-7.19
Сульфатированный хитозан	-8.27	-8.56
Фосфорилированный хитозан	-8.98	-8.26

Наиболее сильное сродство среди всех протестированных лигандов продемонстрировал фосфорилированный хитозан с энергией связывания -8.98 ккал/моль. Данный лиганд образует четыре водородные связи с остатками CYS92, LEU93, ILE35 и GLU135, а также участвует в множестве гидрофобных взаимодействий с TYR88, GLU90, LEU93, VAL130 и HIS134. Вероятно, наличие фосфатных групп способствует не только водородному связыванию, но и ионным взаимодействиям, что усиливает комплементарность к активному сайту и обуславливает высокое сродство.

Взаимодействие четвертичной аммониевой соли хитозана с белком *Staphylococcus aureus* проявило энергию связывания -7.19 ккал/моль. Его взаимодействие с активным центром белка *Staphylococcus aureus* происходит за счёт ионных и водородных связей с остатками SER57, GLY110 и TYR147. Кроме того, стабильность комплекса усиливается гидрофобными взаимодействиями с аминокислотами VAL59, LEU105, GLU109, LEU112, ILE150 и VAL151, расположенными в гидрофобной области активного сайта.

Сульфатированный хитозан, благодаря наличию сульфатных групп, демонстрирует более высокую энергию связывания -8.56 ккал/моль. Это производное формирует водородные связи с остатками VAL59, GLY110, TYR147 и GLU155, а также участвует в гидрофобных взаимодействиях с GLU109. Сульфатные группы способствуют повышенной полярности лиганда и более прочной фиксации в активном центре белка.

Фосфорилированный хитозан, обладающий фосфатными группами, показал энергию связывания -8.26 ккал/моль. Этот лиганд образует водородные связи с VAL59 и TYR147, а также участвует в гидрофобных взаимодействиях с GLN45, PRO78, LEU112, VAL151 и HIS154. Фосфатные группы обеспечивают как водородные, так и ионные взаимодействия, что способствует высокой стабилизации комплекса лиганд–рецептор.

Таким образом, можно заключить, что наличие сульфатных, фосфатных и четвертичных аммониевых групп в производных хитозана способствует их стабильному связыванию с белками бактериальных клеток. Эти результаты подчеркивают потенциал модифицированных форм хитозана как перспективных антимикробных агентов, особенно в отношении устойчивых к антибиотикам патогенов.

Список литературы

1. Research Progress on Chitosan Applications / под ред. W. Facchinatto, S.P. Campana-Filho. – Reprint. – February 2025. – 240 с. DOI: 10.3390/books978-3-7258-3097-8.
2. Scarcelli E., Catalano A., Iacopetta D., Ceramella J., Sinicropi M.S., Aiello F. Chitin, chitosan and its derivatives: antimicrobials and/or mitigators of water // *Macromol.* – 2025. – T. 5, № 2. – С. 15. – DOI: 10.3390/macromol5020015.
3. Nadeem M.S., Hayat S., Rahim F., Khan J.A., Ullah H., Taha M., Gupta G., Wadood A., Shah S.A.A., Kazmi I., Iftikhar S., Muhammad K. Synthesis, biological evaluation, molecular docking and dynamic simulation of novel benzofuran derivatives as potential agents against Alzheimer's disease // *Journal of Molecular Structure.* – 2025. – Vol. 1322, Part 1. – Article 140279. – ISSN 0022-2860. – DOI: 10.1016/j.molstruc.2024.140279.
4. Tan X., Wu X., Wang X., Tao Y., Li Y., Tang S., Zhang Q., Sheng Y. Chitosan-assisted dilute acid pretreatment with enhanced prehydrolysate fermentability and enzyme digestibility of pretreated substrates // *International Journal of Biological Macromolecules.* – 2025. – Vol. 310, Part 1. – Article 143231. – ISSN 0141-8130. – DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2025.143231.
5. Hellmann M.J., Moerschbacher B.M., Cord-Landwehr S. Fast insights into chitosan-cleaving enzymes by simultaneous analysis of polymers and oligomers through size exclusion chromatography // *Scientific Reports.* – 2024. – Vol. 14. – Article 3417. – DOI: 10.1038/s41598-024-54002-2.

УДК 595.132:591

СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА НАНОАСКОРБАТА ХИТОЗАНА *BOMBUX MORI* С ИОНАМИ АЛЮМИНИЯ

Пирнязов К.К., Асракулова Д.И., Рашидова С.Ш.

Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

Производные хитозана с органическими кислотами, в том числе наноаскорбат и аскорбат хитозана, — нетоксичные, биоразрушаемые, биосовместимые полимеры, обладающие широким спектром свойств, включая антимикробную активность [1, 2]. Как указано в литературе, нанопроизводные, содержащие алюминий, составляют около 20% объема от всех выпускаемых наноматериалов в мире, что делает их одними из самых распространенных продуктов на рынке наноматериалов [3].

Хитозан имеет в своем составе некоторую реакционноспособные функциональные группы, способные к образованию металлоорганических комплексов с ионами металлов. Функциональные группы $-NH_2$ и $-OH$ могут координироваться с Al^{3+} за счет неподеленных электронных пар атома азота или кислорода, что приводит к образованию металлокомплексов хитозана [4]. Нанопроизводные хитозана с ионами алюминия используются в очистке сточных вод для удаления бактерий и патогенов [5]. Нанопроизводные аскорбата хитозана с ионами алюминия малоизучены, в частности отсутствуют данные, подтверждающие свойства соли наноаскорбата хитозана с ионами алюминия. Нами впервые синтезирован наноаскорбат хитозана с ионами алюминия на основе хитозана *Bombux mori* и изучены биологически активные свойства.

Реакцию образования наноаскорбата хитозана *Bombux mori* с ионами алюминия проводили путём ионотропного гелеобразования в присутствии сшивающего агента (триполифосфат натрия (ТПФНа)) в водном растворе при pH 6–6,5 в течение 60 минут при комнатной температуре с варьированием соотношения компонентов хитозана, аскорбиновой кислоты и ионов алюминия. Количество аскорбиновой кислоты и ионов алюминия в составе раствора определяли методом щелочного титрования в присутствии индикатора фенолфталеина.

Полученные результаты подтверждают, что с увеличением соотношения хитозана в реакционной системе происходит закономерное увеличение pH раствора до 6.5 и выхода конечных продуктов, это свидетельствует о том, что с увеличением доли хитозана в реакционной системе снижается свободное количество аскорбиновой кислоты и остатков сульфата алюминия. Установлено, что при соотношении компонентов ХЗ: АК: Al^{+3} – 4:1:0.5 обнаружена высокая степень связывания (СС) аскорбиновой кислоты и выход конечных продуктов реакции. Далее с целью изучения антимикробные свойства наноаскорбат хитозана с ионами алюминия использовались вышеуказанного образца.

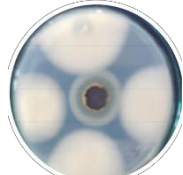
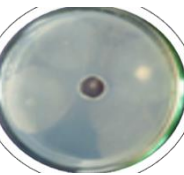
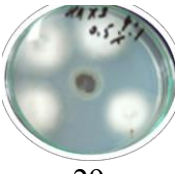
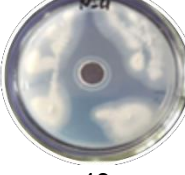
Штаммы *Fusarium oxysporum* выделяли в лабораторных условиях из корня и стебля тутовника по известным методикам. Определены степени развития штаммов и степени поражения грибами. Для приготовления питательной среды для выращивания грибов в лабораторных условиях использовали указанные методы, описанные в работе [6].

Полученные результаты показали, что наноаскорбат хитозана *Bombux mori* с ионами алюминия при соотношении компонентов 4:1:0.5 обеспечивает большую зону

подавления культуры *Fusarium oxysporum* по сравнению с исходным хитозаном и кислотами. Полученные результаты представлены в таблице. В ходе эксперимента в чашки Петри с 4×10^5 , то есть 800 000 клеток гриба, были добавлены растворы, и наблюдали за развитием мицелия гриба в течение 48-72 часов вокруг дисков. Установлено, что для развития мицелия гриба препараты НАХЗ : $Al_2(SO_4)_3$ в соотношении 4:1 образуют зоны диаметром 40-41.5 мм, обладая высокой фунгицидной активностью.

Таблица

Влияние растворов наноаскорбат хитозана с ионами алюминия на подавление роста возбудителей *Fusarium oxysporum*

№	Растворы	Зона ингибирования, мм			Δd , mm
		1 повторность	2 повторность	3 повторность	
1	ХЗ исх.	 25	 20	 26	23 ± 2
2	АК	 18	 12	 13	14 ± 2
3	НАХЗ (ХЗ:АК– 4:1)-0.5%	 24	 25	 29	26 ± 2
4	НАХЗ: Al^{3+} (ХЗ:АК: Al^{3+} – 4:1:0.5)-0.5 %	 36	 42	 42	40 ± 2

Полученные результаты показывают, что наноаскорбат хитозана с ионами алюминия взаимодействуют патогенами с поверхностями клеток патогенов, изменяют проницаемость клеточной мембраны и препятствуют прохождению необходимых веществ. Взаимодействует с цитоплазматическими компонентами, включая металл ионы, минералы и питательные вещества, что в свою очередь ограничивает размножение патогенов.

Список литературы

1. Искандаров Т.И., Романова Л.Х. и д. Первый токсикологический паспорт на препарат наноаскорхит. Министерство здравоохранения Республики Узбекистан. – Ташкент, 2021. – С. 2-6.

2. Пирниязов К.К., Рашидова С.Ш. Наноаскорбат хитозана *Bombyx mori*: синтез, структура и свойства. Издательство «Fan ziyosi». Ташкент-2022. -177 с.
3. Скупневский С.В., Иванов Д.В. Воздействие алюминия и его соединений на функции органов и тканей человека // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание – 2023 – N 1. DOI: 10.24412/2075-4094-2023-1-3-7
4. Zhang Z., Wang X., Liu T. et al. Al³⁺coordinated chitosan hydrogel with ultrahigh water absorbency and environmental response // Materials & Design 214 (2022) 110390 <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2022.110390>
5. Masheane M., Nthunya L., Malinga S., Nxumalo E., Barnard T. and Mhlanga S. Antimicrobial Properties of Chitosan-Alumina/f-MWCNT Nanocomposites // Journal of Nanotechnology. Volume 2016, Article ID 5404529, 8 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5404529>
6. Petersen J., McLaughlin S. Laboratory Exercises in Microbiology: Discovering the Unseen World through Hands-On Investigation. CUNY Academic Works. –2016. –pp. 85-99. https://academicworks.cuny.edu/qb_oers/16

УДК 595.132:591

ПОЛУЧЕНИЕ И ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА ПОЛИМЕРНОЙ ПРЕПАРАТИВНОЙ ФОРМЫ НАНОАСКОРБАТА ХИТОЗАНА *BOMBYX MORI*

Пирниязов К.К., Абдурасулов А.Т., Асракулова Д.И., Рашидова С.Ш.

Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

Поликатионные и полианионные полисахариды, содержащиеся в морских водорослях, ракообразных, мухах и коконах тутового шелкопряда, могут рассматриваться как потенциальные источники иммуномодуляторов, росторегуляторов растений. Хитозан (ХЗ) является нетоксичным, биосовместимым, биоразлагаемым полисахаридом, обладающим антимикробными, антиоксидантными, противовоспалительными и иммуностимулирующими свойствами [1]. Известно, что хитозан не растворяется в воде, но хорошо растворяются водорастворимые кислотные производные хитозана, что расширяет спектр его применения в сельском хозяйстве [2, 3]. Производные хитозана, в том числе наноаскорбат хитозана, нетоксичные, биоразлагаемые, биосовместимые полисахариды, обладающие широким спектром биологической активности, включая антимикробную [3, 4]. Антимикробные свойства наноаскорбата хитозана зависят от концентрации раствора и соотношения компонентов хитозана и аскорбиновой кислоты, использованных при синтезе комплекса [5]. Впервые получена полимерная препаративная форма наноаскорбата хитозана (размер частицы НАХЗ от 200 нм до 500 нм по результатам АСМ) с целью применения в шелководстве в качестве росторегулятора и средства против патогенов. С целью получения полимерной препаративной формы наноаскорбата хитозана (ППФ НАХЗ) подготовили раствор наноаскорбата хитозана с метилгидроксиэтилцеллюлозой (МГЭЦ) в 2 % уксусной кислоте. Метилгидроксиэтилцеллюлоза увеличивает вязкость раствора и пленкообразующие свойства наноаскорбата хитозана. Стабильность раствора ППФ НАХЗ подтверждены методом рефрактометрии в течение 30 дней. Определены противомикробные свойства полученные ППФ НАХЗ против *Fusarium oxysporum* в чашках Петри, культивируемых в агаризованной среде в течение 48 часов, было установлено, что вокруг срезов, содержащих исследуемые растворы, мицелий гриба не развивался. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Таким образом, растворы, содержащие наноаскорбат хитозана с метилгидроксиэтилцеллюлозой при соотношении компонентов хитозана и аскорбиновой кислоты 4:1 и концентрациях НАХЗ и МГЭЦ 0.025 % и 0.25 % препятствовали развитию мицелия патогенного гриба, формируя большую стерильную зону. Следует отметить, что раствор ППФ НАХЗ *Bombyx mori* (0.025 % и 0.25 %) формировал зону ингибирования шириной 38.5 ± 2 мм и обладал относительно высокими фунгицидными свойствами.

Таблица

Влияние полимерной препаративной формы наноаскорбата хитозана и его исходных компонентов на подавление роста возбудителей *Fusarium oxysporum*

№	Растворы	Зона ингибирования, мм		Δd , mm
		1	2	
1	МГЭЦ 0.25% НАХЗ 0.025%	40	36	 38.5 ± 2
2	МГЭЦ 0.5 % НАХЗ 0.1%	30	30	 30.0 ± 2
3	НАХЗ 0.1%	37	32	 34.5 ± 2
4	ХЗ 0.1%	20	25	 22.5 ± 2
5	Аскар 0.05%	-	-	 -

Список литературы

1. Рашидова С.Ш., Милушева Р.Ю. Хитин и хитозан *Bombyx mori*: синтез, свойства и применение, Фан, Ташкент, 2009, 15—17 с.
2. Пирниязов К.К. Синтез, свойства и применение аскорбат хитозана *Bombyx mori*: Дис. ... PhD. хим. наук. –Ташкент, 2020. –106 с.
3. Искандаров Т.И., Романова Л.Х. и д. Первый токсикологический паспорт на препарат наноаскорхит. Министерство здравоохранения Республики Узбекистан. –Ташкент, 2021. – С. 2-6.
4. Пирниязов К.К., Рашидова С.Ш. Наноаскорбат хитозана *Bombyx mori*: синтез, структура и свойства. Издательство «Fan ziyosi». Ташкент-2022. -177 с.
5. Пирниязов К.К., Асракулова Д.И., Рашидова С.Ш. Синтез и противомикробные свойства наноаскорбат хитозана *Bombyx mori* // Вестник Московского Университета серия химия. -2024. № 5. –С., Т 65. 424-430.

УДК 632.9: 577.1:544.77

ВЛИЯНИЕ ХИТОЗАНА И НАНОЧАСТИЦ ХИТОЗАНА НА УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ТЕМНО-БУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ

Попова Э.В.¹, Домнина Н.С.², Новикова И.И.¹, Коваленко Н.М.¹, Краснобаева И.Л.¹

¹ ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
196608, Россия, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3

² Санкт-Петербургский государственный университет
199034, Россия, Санкт-Петербург, Петергоф

К настоящему времени в создании инновационных и экологически безопасных стратегий контроля болезней растений получены многообещающие результаты при использовании обладающего широким спектром биологической активности биополимера хитозана в качестве основы получения наноматериалов, которые могут представлять практический интерес для их применения, в том числе в растениеводстве [1, 2].

Методически простым способом дробного осаждения раствора хитозана (60 кДа) щелочью получены два типа дисперсий наночастиц хитозана (НХ-5 и НХ-7), различающиеся значениями рН среды при их приготовлении, что естественно отражается на составах дисперсий. Методом атомно-силовой спектроскопии установлено, что в дисперсиях НХ-7 присутствуют только плотные сплошные наночастицы, размер которых находится в диапазоне 5-25 нм, тогда как дисперсия НХ-5 наряду с наночастицами дополнительно содержит ассоциаты макромолекул хитозана, представляющие собой гелеобразные мягкие частицы с диаметром около 100 нм [3].

Проведено сравнительное изучение фунгистатической и элиситорной активности растворов хитозана и дисперсий нанохитозана. Результаты опыта показали, что обе дисперсии обладают более высокой фунгистатической активностью по сравнению с раствором хитозана. Для дисперсии НХ-5 выявлена тенденция к большему эффекту ингибирования роста мицелия *B. sorokiniana* по сравнению с дисперсией НХ-7.

Установлено, что предобработка растений пшеницы дисперсиями НХ-5 и НХ-7 снижает пораженность листьев темно-бурой пятнистостью (*Bipolaris sorokiniana*) в три и два раза (соответственно) по сравнению с контролем, в то время как раствор хитозана в той же концентрации (по хитозану) подавляет развитие болезни только на 10% (табл. 1).

Обе дисперсии продемонстрировали высокие фунгистатическую и элиситорную активности, при этом дисперсия НХ-5 показывает большую эффективность действия по сравнению с дисперсией НХ-7. Причина такого преимущества дисперсии НХ-5 состоит в сочетании наночастиц и ассоциатов свободных макромолекул хитозана, которые при рН 5 несут положительный заряд, что, вероятно, и приводит к усилению биологического действия.

Простота метода получения дисперсий наночастиц хитозана и отсутствие других биологически активных компонентов в них, являются основными преимуществами данного подхода. Их применение в защите растений открывает большие перспективы для снижения биотических стрессов, что приведет к значительному сокращению использования агрохимикатов.

Таблица

Влияние дисперсии НХ-5, НХ-7 и раствора хитозана на развитие темно-бурой
пятнистости пшеницы

Образец	Концентрация, мкг/мл	Пораженность листьев, %
контроль	-	35
дисперсия НХ-5	500	5
	300	7
	100	10
дисперсия НХ-7	300	10
	100	15
раствор хитозана (ацетатный буфер, pH 5)	100	25
НСР _{0.05}		4.0

Список литературы

1. Chitosan nanoparticle: synthesis, characterization, and use as plant health materials. In book: Chitin-chitosan – isolation, properties, and applications [Working Title]. Written by Pranab Dutta, Arti Kumari, Madhusmita Mahanta, 2022. doi: 10.5772/intechopen.106502.
2. Nandhini R., Rajeswari E., Harish S., Sivakumar V., Gangai Selvi R. Jaya sundrasharmila D. Role of chitosan nanoparticles in sustainable plant disease management // Journal of Nanoparticle Research. 2025. Vol. 27. doi: 10.1007/s11051-024-06203-z.
3. Popova E. V., Domnina N. S., Zorin I. M., Lezov A. A., Novikova I. I., Krasnobaeva I. L. Nanostructured Chitosan: Synthesis Technique and Biological Activity // Nanobiotechnology Reports. 2023. V.18. №. 2. P. 238–246. doi: 10.1134/s2635167623700088.

УДК 612.396.172:621.798.185

ПЛЕНКИ ИЗ ХИТОЗАНА НАПОЛНЕННЫЕ НАНОЧАСТИЦАМИ ИЗ КОМПЛЕКСОВ ХИТОЗАНА С СУЛЬФАТОМ ДЕКСТРАНА

*Попырина Т.Н.¹, Альхаир А.², Гончарук Г.П.¹, Аксенова Н.А.^{3,4},
Иванов П.Л.¹, Аكوпова Т.А.¹*

¹ Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН
117393, Россия, г. Москва, ул. Профсоюзная 70

² Российский биотехнологический университет
125080, Россия, г. Москва, ул. Талалихина 33

³ Институт регенеративной медицины Первого Московского государственного
медицинского университета им. И.М. Сеченова
119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая 8-2

⁴ Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН,
119991, Россия, г. Москва, ул. Косыгина 4

В настоящее время до 90% упаковочных материалов для пищевой промышленности производят из продуктов нефтехимии – крупнотоннажных полимерных материалов, что создает серьезные проблемы загрязнения окружающей среды и утилизации отходов. В связи с этим, в упаковочной промышленности все большее внимание уделяется экологически чистым и биоразлагаемым полимерам, которые позволяют создавать саморазрушающиеся в естественных условиях под воздействием природных факторов (влаги, света, температуры, живых микроорганизмов) упаковочные материалы. Однако разработки в этой области не ограничиваются простым замещением традиционных материалов. Современные исследования фокусируются на создании биоактивных упаковочных систем, которые в том числе участвуют в сохранении качества продуктов. Основная идея заключается в том, чтобы создать упаковку, которая одновременно выступает в качестве барьера, препятствующего проникновению микроорганизмов и окислительных процессов, а также содержит активные вещества, подавляющие рост патогенной микрофлоры. Подобная упаковка может значительно продлить срок годности продуктов, снижая количество отходов и повышая безопасность продуктов питания [1].

Среди наиболее перспективных биополимеров для создания такой упаковки выделяется хитозан – продукт деацетилирования одного из самых распространенных природных полимеров – хитина, состоящий из повторяющихся звеньев D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина, соединённых β -(1→4)-гликозидной связью. Хитозан обладает рядом ценных свойств, делающих его идеальным кандидатом для применения в пищевой промышленности. Он нетоксичен, легко поддается биоразложению, что отвечает требованиям экологической безопасности, обладает высокой пленкообразующей способностью, что позволяет создавать упаковочные материалы на его основе с приемлемыми физико-механическими свойствами. Кроме вышеперечисленного, хитозан обладает антимикробными свойствами, подавляя рост многих грамотрицательных и грамположительных патогенных микроорганизмов. Однако, пленки с хитозаном

значительно слабее ингибируют мицелиальные дрожжеподобные и плесневые грибы [2]. Кроме того, при длительном хранении и эксплуатации солевых хитозановых пленок происходит их старение, что приводит к значительным структурным изменениям в них и к существенному снижению/полной утрате ими бактерицидной активности [3]. В связи с этим, для усиления/продления антимикробной активности и улучшения физико-механических свойств пленок прибегают к их наполнению различными функциональными добавками, в том числе наночастицами на основе различных природных веществ. Одними из подобных веществ может выступать сложно разветвленный глюкан - декстран/его производные, антимикробная активность которых доказана для широкого спектра грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов, а также грибов [4]. При этом, использование полианионного производного декстрана - сульфата декстрана позволяет получать наночастицы на его основе с поликатионом хитозаном методом коацервации за счет электростатических взаимодействий между ними, что подтверждено ранее [5]. Таким образом, возможно получение биоразлагаемых наночастиц из комплексов декстран сульфата-хитозана, которые можно использовать в качестве наполнителей пленок на основе хитозана для улучшения их свойств.

В связи с этим целью данной работы стало получение пленочных материалов на основе хитозана наполненных наночастицами из комплексов сульфат декстран-хитозан с последующим исследованием их свойств.

Хитозан, использовавшийся в работе, получен под действием давления и сдвиговых деформаций на твердую смесь хитина (влажность 4.3%, зольность 1.8%, молекулярная масса (ММ) 650 кДа, Xiamen Fine Chemical Import & Export, Китай) и NaOH (в мольном соотношении 1:5, соответственно) в отсутствие жидкой дисперсионной среды в опытно-промышленном двухшнековом экструдере марки «Berstorff» с диаметром шнеков 40 мм и охарактеризован при помощи потенциометрического титрования, капиллярной вискозиметрии и ИК-спектроскопии. Установлено, что полученный хитозан обладает ММ равной 140 кДа и степенью деацетилирования (СД) равной 0.93. ИК-спектр хитозана, полученный с использованием спектрофотометра Spectrum Two FT-IR Spectrometer (PerkinElmer, США) в режиме МНПВО, содержал в себе все характерные полосы и подтвердил данные потенциометрического титрования.

Наночастицы из комплексов сульфат декстран-хитозана получены методом коацервации в разных соотношениях (1:1, 1:2 и 2:1) из 0.2 масс.% растворов хитозана и сульфата декстрана в 2% CH_3COOH и дистиллированной воде, соответственно. Исследование наночастиц (определение их размера, индекса полидисперсности и дзета-потенциала) после получения проводили при помощи динамического лазерного светорассеяния с использованием анализатора размера частиц Zetatrac (Microtrac, Inc., Montgomeryville and York, США) и ПО Microtrac V 10.5.3. Установлено, что в случае использования соотношений 1:1 и 2:1 в пользу декстрана образуются наночастицы со средним размером частиц и индексом полидисперсности 96.2 нм, 0.03 и 73.1 нм, 0.04, соответственно. Дзета-потенциал полученных наночастиц в соотношении 1:1 и 2:1 составлял -30.51 мВ и -35.51 мВ, соответственно. Подобный результат говорит о высокой стабильности наночастиц и не склонности их к агрегированию. В случае использования избытка хитозана (соотношение 1:2) при получении наночастиц получены частицы с субмикронным уровнем распределения, которые образовывали суспензию и агрегировали в растворе за неделю, образуя осадок. В связи с этим для наполнения пленок использовались только образцы в соотношении 1:1 и 2:1 в пользу сульфата декстрана.

Пленки получены методом полива на подложку с последующим испарением растворителя 1 масс.% водных растворов хитозана с наночастицами декстран-сульфат хитозана в соотношении 1, 5 и 10 %. Толщина пленок составляла 90-110 мкм. После получения пленок исследованы их деформационно-прочностные свойства на растяжение путем испытаний на универсальной испытательной машине AGS-H (Shimadzu, Япония). При помощи исследования изменения оптической плотности образцов при длине волны 500 нм с помощью фотометра КФК-3 – «ЗОМЗ» (АООТ «Загорский оптико-механический завод» (ЗОМЗ), г. Сергиев Посад, Россия) установлено, что с ростом концентрации наночастиц в пленках снижается их прозрачность. Также проведено исследование сорбционной способности пленок и их антибактериальной активности.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект No 24-23-20057).

Список литературы

1. Popyrina T.N., Demina T.S., Akopova T.A. Polysaccharide-based films: from packaging materials to functional food / // Journal of Food Science and Technology. – 2023. – V. 60. – P. 2736–2747.
2. Куликов С.Н., Хайруллин Р.З. Механизм действия и роль химической структуры в антибактериальной и антимикотической активности хитозана // Хитозан / под ред. Скрыбина К.Г., Михайлова С.Н., Варламова В.П. – 2013. – М. Центр «Биоинженерия» РАН – С. 363-407.
3. Нудьга Л.А. Гофман И.В., Петрова В.А., Власова Е.Н., Волчек Б.З., Баклагина Ю.Г. Старение хитозановых пленок // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана. Материалы девятой Международной конференции. – 2008. – С. 123-126.
4. Tuchilus C.G., Nichifor M., Mocanu G., Stanciu M.C. Antimicrobial activity of chemically modified dextran derivatives // Carbohydrate Polymers. – 2017. – V. 161. – P. 181-186.
5. Anitha A., Deepagan V.G., Rani V.V.D., Menon D., Nair S.V., Jayakumar R. Preparation, characterization, in vitro drug release and biological studies of curcumin loaded dextran sulphate - chitosan nanoparticles. Carbohydrate Polymers. – 2011. – V. 84. – P. 1158-1164.

УДК 678.5, 547.64, 615.273.53

СТАБИЛЬНОСТЬ СУЛЬФАТА ХИТОЗАНА *BOMBYX MORI* И ЕГО ТОКСИЧНОСТЬ

Рахманова В.Н., Милушева Р.Ю., Рашидова С.Ш.

Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

В последние годы накоплен большой научный материал, анализ которого позволяет выявить необходимые условия проведения реакций химического превращения хитозана в сульфат хитозана (СХЗ) с выбором перспективных источников сырья, одним из которых является хитозан из хитина куколок тутового шелкопряда *Bombyx mori*. Проводятся комплексные исследования по получению и применению полученных полисахаридов в медицине, сельском хозяйстве, ветеринарии, косметологии [1-4]. Применение СХЗ для медицинских целей обусловлено его биологической активностью и низкой токсичностью. Токсичность является важной характеристикой лекарственных препаратов и зависит от их химического строения и чистоты. Отмечая биоразрушаемость и низкую токсичность сульфатированных производных хитозана как положительное свойства, следует иметь в виду, что каждый конкретный препарат имеет свои особенности, как в механизме проявления биологических свойств, так и в способности вызывать побочные действия [5]. В этом аспекте необходимо изучение стабильности полученных образцов со временем, особенно, в водных средах, поскольку, СХЗ в большинстве случаев применяется в водных растворах.

Стабильность сульфата хитозана *Bombyx mori* изучена по изменению растворимости в зависимости от степени замещения сульфогрупп в полученных образцах, а также изменению вязкости методами вискозиметрии. Также важно изучение токсикологии образцов СХЗ.

Замещение гидроксильных и аминогрупп на сульфогруппы в элементарном звене хитозана и получение водорастворимого производного – СХЗ, приводит к изменению химического потенциала цепей, повышению биологической активности данного полисахарида за счет содержания серы, увеличению его склонности к взаимодействию с различными веществами, особенно, с водой, и растворимости. Из зависимости на рис. 1 видно, что по мере повышения степени замещения (γ_s) растворимость (Р) увеличивается нелинейно до $\gamma_s \leq 0.85$, далее образцы с $\gamma_s > 0.85$ характеризуются значениями $P > 95.8$.

Полученные данные свидетельствует о высокой степени растворимости в этой области вследствие высокой степени замещения сульфогрупп. Полученные результаты подтверждают образование водорастворимого производного хитозана. Такие процессы, безусловно, отражаются на стабильности молекул сульфатированных полисахаридов.

Также очевидно, что стабильность образцов СХЗ зависит от степени замещения сульфогрупп. Исследована стабильность разбавленных растворов (критерий Дебая $C[\eta] \leq 0.5$ [6]) образцов СХЗ с различной молекулярной массой (7900-35900), характеризующихся различной степенью замещения, с помощью вискозиметрического метода [1].

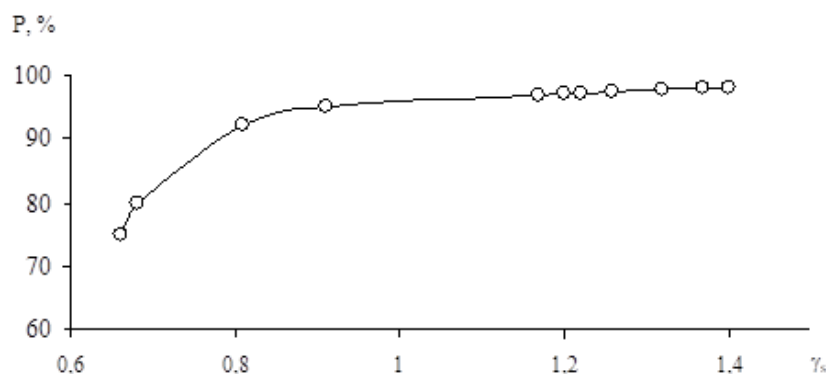


Рис.1. Зависимость растворимости (P) от степени замещения сульфогрупп образцов сульфата хитозана в воде при 25°C

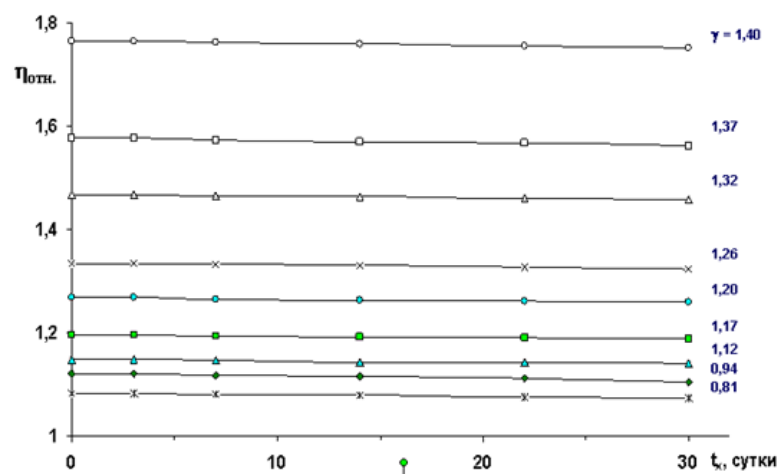


Рис.2. Зависимость относительной вязкости ($\eta_{отн.}$) от продолжительности хранения (t) для водных растворов образцов сульфата хитозана с различной степенью замещения

По величине относительной вязкости ($\eta_{отн.}$) контролировали состояние молекул СХЗ в течение 1 месяца в целях оценки стабильности данного полисахарида при хранении его водных растворов при комнатной температуре (рис. 2). Обнаружено, что относительная вязкость исходных образцов растворов сульфата хитозана различается в зависимости от степени замещения сульфогрупп, с увеличением СЗ повышается $\eta_{отн.}$. По мере хранения растворов значение $\eta_{отн.}$ практически не изменяется, не обнаруживается также заметного изменения в молекулярном строении и поведении молекул образцов СХЗ. Полученные результаты свидетельствуют о стабильности молекул СХЗ с различной степенью замещения в водных растворах.

Проведено испытание острой токсичности образцов сульфата хитозана *Bombyx mori* при различных дозах. Определены максимально-переносимая доза препарата на уровне 1000 мг/кг м.т. и абсолютно-смертельная доза - на уровне 3000 мг/кг. Средне-смертельная доза (ЛД₅₀) для СХЗ *Bombyx mori* составила 2150 мг/кг. Следовательно, по классификации лекарственных средств по токсичности СХЗ относится к малотоксичным веществам (IV класс).

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют считать, что по мере хранения растворов значение относительной вязкости ($\eta_{\text{отн}}$) практически не изменяется, не обнаруживается заметного изменения в молекулярном строении и поведении молекул образцов СХЗ. Полученные результаты свидетельствуют о стабильности молекул СХЗ с различной степенью замещения в водных растворах. Также показано, что при однократном внутривнутреннем и оральном введении сульфата хитозана препарат оказался малотоксичным.

Список литературы

1. Гамзададе А.И. Производные хитина, хитозана контролируемой структуры в качестве потенциально новых биоматериалов. // Дис. док. хим. наук. Москва. 2005. С. 10-15, 20-21, 117-138
2. Милушева Р.Ю., Рашидова С.Ш. Хитин, хитозан *Bombyx mori* и наносистемы на их основе // Ташкент. «Фан». 2016. С. 94-99.
3. Акиншина Н.Г., Рашидова Д.К., Азизов А.А. Капсулирование семян препаратами хитозана и его производными, восстанавливающими фотосинтез у растений хлопчатника (*Gossypium* L., 1753) на фоне вилта // Сельскохозяйственная биология. 2016. том 51. № 5. С. 696-704.
4. Нудьга Л.А., Плиско Е.А., Данилов С.Н. Получение хитозана и изучение фракционного свойства // Журнал общей химии. 2006 г. Т.41. №11. С. 255-259.
5. Каримова Н.Н. Изучение специфических и токсикологических свойств сульфопарина. Дисс.Магистр. работ. -2014. -с.83.
6. Аввакумова Н.И. и др. Практикум по химии и физике полимеров. М.: Химия. 1990. С. 304.

УДК 664.8.035.76

РЕГУЛИРОВАНИЕ РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОМПОЗИЦИЙ ДЛЯ ОКРАШИВАНИЯ ВОЛОС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ХИТОЗАНА

Сажнев Н.А.¹, Молькова А.С.¹, Солнцева И.Ю.², Путина Н.В.², Кильдеева Н.Р.¹

¹ ФГБОУ ВО «Российский государственный университет им. А.Н. Косыгина
(Технологии. Дизайн. Искусство)»
117997, Россия, г. Москва, ул. Садовническая, д. 33, стр. 1

² ООО «БИГ», Россия г. Москва

Использование полисахаридов в косметических средствах обусловлено их гидрофильностью и влагоудерживающей способностью в сочетании с биосовместимостью, биоразлагаемостью и отсутствием токсичности [1]. По сравнению с синтетическими полимерами применение полисахаридов снижает риски и опасности для здоровья и окружающей среды [2]. Среди полисахаридов можно найти широкий диапазон полимеров с различным зарядом (катионные, неионные, анионные или амфотерные) и конфигурацией макромолекул в растворах. Природные полисахариды в составе косметических средств обладают специфическими свойствами, такими как увлажнение, омоложение и восстановление кожи и поэтому в последние годы проводится большой объем исследований, направленных на их применение в различных косметических средствах. При разработке средств для ухода за волосами полисахариды выступают в качестве регуляторов реологических свойств, кондиционеров, компонентов для улучшения структуры, придания пластичности и улучшения потребительских свойств косметического продукта.

Хитозан и его производные в настоящее время могут быть получены с широким спектром физико-химических и биологических свойств, востребованных для их применения в косметических и гигиенических средствах ухода. Он обладает кондиционирующим (обволакивает волосы, придаёт гладкость и блеск) и антистатическим эффектом (уменьшает электризацию волос). Обладает лёгким собственным УФ-протекторным действием и способен усиливать эффективность УФ-фильтров. Может доставлять активные вещества (витамины, пептиды) в глубокие слои кожи благодаря положительному заряду, который связывается с отрицательно заряженными клетками кожи, гипоаллергенен [3,4]. Уже сейчас на рынке косметических ингредиентов присутствуют различные производные хитозана, включая гидрохлорид хитозана, ацетат хитозана, лактат хитозана, карбоксиметилхитозан, катионные производные, олигосахариды, а также сульфат хитина и карбоксиметилхитин.

Традиционные краски для волос часто содержат агрессивные химические вещества, такие как аммиак, перекись водорода, краситель, п-фенилендиамин и его производные, которые могут вызывать раздражение, аллергические реакции и повреждение волос [5]. В связи с этим возрастает интерес к разработке альтернативных красящих композиций на основе биополимеров, обеспечивающих бережное окрашивание и дополнительный уход за волосами, тем более что современная косметическая индустрия активно развивается в направлении создания безопасных и эффективных средств для окрашивания волос, сочетающих натуральные компоненты с

высокими технологиями. Способность хитозана электростатически взаимодействовать с отрицательно заряженными поврежденными волосами приводит к образованию поверхностных полимерных пленок, способствующих кондиционированию и увлажнению, что делает этот полимер отличным функциональным ингредиентом для использования в средствах для ухода за волосами [3]. Хитозан может стать основой для создания новых красящих композиций, обеспечивающих не только стойкое окрашивание, но и укрепление волос, а использование природных компонентов делает продукт безопасным для окружающей среды [4].

Исследование реологических характеристик красящих композиций на основе хитозана имеет ключевое значение для их практического применения в косметологии, особенно в разработке безопасных и эффективных красок для волос. Вязкость влияет на технологичность нанесения, стабильность состава, красящую способность и потребительские свойства продукта. Хитозан в средствах для волос может влиять на тиксотропные свойства композиций на их основе, улучшает реологические свойства косметических средств, а также усиливать осаждение активных ингредиентов на поверхности волоса. В докладе рассматриваются возможности регулирования реологических свойств красящих композиций на основе хитозана. Исследование направлено на разработку экологически безопасной альтернативы синтетическим загустителям, соответствующей современным тенденциям натуральной косметики.

Было изучено влияние молекулярной массы, степени деацетилирования хитозана, состава композиции на вязкость и тиксотропные свойства его растворов в растворе молочной кислоты. Выбор растворителя обусловлен несколькими факторами: молочная кислота не токсична, не раздражает кожу (в отличие от HCl или уксусной кислоты) и разрешена для использования в косметике и пищевой промышленности (E270). Получены зависимости вязкости растворов хитозана от концентрации молочной кислоты и проведена оптимизация и выбор образца хитозана с со средней 340 кДа и СД 87%. Изучена стабильность растворов хитозана при хранении в течение 10 суток. Изучение кинетики изменения динамической вязкости 2% растворов хитозана в растворах молочной кислоты с концентрацией от 2 до 5% приведена на рис. 1.

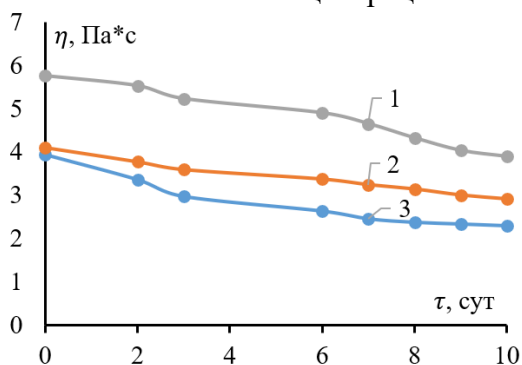


Рис. 1. Кинетика изменения вязкости 2% растворов лактата хитозана с ММ 340 кДа. Концентрация молочной кислоты при приготовлении композиции: 1 – 2%; 2 – 4%; 3 – 5%.

Все системы показывают снижение вязкости со временем, что типично для растворов солей хитозана. Однако, использование молочной кислоты снижает падение вязкости по сравнению с ацетатами хитозана, кроме того, введение в состав косметического средства традиционных рН-стабилизаторов позволит дополнительно замедлить процесс. Следует также отметить, что несмотря на снижение вязкости, она по-прежнему выше 4 Па, что является хорошим показателем для косметического средства для волос.

Композиции из хитозана и молочной кислоты представляют собой перспективное решение для создания оттеночных шампуней, так как они обладают достаточной стабильностью, что обеспечивает необходимый срок хранения и эффективность

продукта. Благодаря реологическим свойствам, композиции могут легко распределяться по волосам, обеспечивая равномерное нанесение оттенка. Таким образом, хитозан в средствах для волос улучшает их реологические свойства, кроме того, наличие в его составе положительно заряженных групп будет способствовать осаждению активных ингредиентов на поверхности волос. Активные компоненты обеспечивают комплексный уход, включая укрепление, увлажнение и защиту волос от внешних факторов, отсутствие агрессивных химических веществ делает такие шампуни безопасными для регулярного использования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 24-23-00390).

Список литературы

1. Fitriana N. et al. Polysaccharide Applications in Cosmetic // Biomass-based Cosmetics: Research Trends and Future Outlook. – 2024. – С. 273-297.
2. Mahajan A. Advancements in polymers used in hair care: a review // Int J Res Cosmet Sci. 2016. Т. 6. №. 6. С. 16.
3. Guzmán, E., Ortega, F., & Rubio, R. G. (2022). Chitosan: a promising multifunctional cosmetic ingredient for skin and hair care. *Cosmetics*, 9(5), 99.
4. Zhou Y. et al. Recent advances and perspectives in functional chitosan-based composites for environmental remediation, energy, and biomedical applications // Progress in Materials Science. 2025. С. 101460.
5. Almansoori S., Murray B.P. Paraphenylenediamine Toxicity // StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing, 2024.

УДК 631.472.74; 632.939

РОЛЬ ХИТИНАЗ В ДИНАМИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ РИЗОСФЕРЫ

Тарчевский И.А., Егорова А.М.

Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН
420111, Россия, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31

Общепринято, что ризосфера – это динамическая система, состоящая из корней и ризосферной популяции, главным образом ризосферного микробиома. В последнее время все больше обосновывается мнение о существовании единой гуморально-сигнальной сети ризосферы, в которой играют важнейшую роль фитопатогенные, симбиотические и «нейтральные» грибы. Обнаружено, что некоторые из последней категории грибов могут вызывать у растений системный иммунитет и могут называться нейтральными лишь условно.

Во многих работах было показано, что биотические и абиотические патогены индуцируют у растений (в том числе у корней) синтез хитиназ в качестве главного защитного ответа. Были обнаружены десятки видо-и ткане-специфичных хитиназ и хитиназа-подобных белков (ХПБ), подразделяемых на 7 классов и два семейства. Остаются невыясненными мишени многих хитиназ и ХПБ. В связи с этим привлекают большое внимание данные о том, что хитиназы могут не влиять подавляюще на симбиотические грибы.

Накапливается информация, что корни способны давать специфический хитиназный ответ на сигналы из ризосферы от различных представителей микробиома. Нами было показано существование двух главных стратегий протеомного ответа корней – хитиназный и ХПБ на сигналы от некротрофных и биотрофных патогенов и флавоноидно-терпеноидный – на прайминг сигналы от непатогенных микроорганизмов, вызывающих у корней системный иммунитет. Эти стратегии обнаруживали подавление активности друг друга. Необходимо заметить, что в подобных работах, как правило, исследовались возможные первичные ответы микробиома ризосферы на повышение в экссудатах корней содержания антигрибных и антибактериальных соединений. Эта информация вызвала создание большого числа трансгенных растений с обогащенной экспрессией хитиназ и, благодаря этому, обладающих большей устойчивостью к болезням.

В то же время, влияние внешних сигналов на структуру микробиома ризосферы, на более отдаленные позитивные и негативные для растений ответы, остаются неясными, несмотря на важность такой информации для практики, в том числе для использования большего числа представителей микробиома для биоконтроля.

Работа выполнена в рамках Гос. Задания ФИЦ КазНЦ РАН.

УДК 677.473:677.469

МУКОАДГЕЗИВНЫЕ БИОПОЛИМЕРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ХИТИНА И ФУКОИДАНА ДЛЯ УСИЛЕННОЙ ТЕРАПИИ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА

Устюхина И.С.¹, Дубашинская Н.В.¹, Петрова В.А.¹, Скорик Ю.А.¹

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» – Институт высокомолекулярных соединений
199004, Россия, г. Санкт-Петербург, В.О. Большой пр. 31

Бактериальный вагиноз (БВ) представляет собой распространённую вагинальную инфекцию у женщин репродуктивного возраста, патогенез которой связан с дисбиозом влагалищной микрофлоры и формированием бактериальных биоплёнок, усложняющих терапию и способствующих развитию антимикробной резистентности. Существующие лекарственные формы, включая гели, суппозитории и таблетки, обладают рядом ограничений, таких как неравномерное распределение действующего вещества, короткий период резиденции в месте нанесения и локальный дискомфорт, что негативно влияет на комплаентность пациенток [1]. В связи с этим разработка новых систем доставки лекарственных средств, обеспечивающих пролонгированное высвобождение, повышенную биодоступность и минимизацию нежелательных эффектов, приобретает особую актуальность.

Перспективным направлением в решении этой задачи является применение биополимерных систем на основе полиэлектролитных комплексов (ПЭК), сформированных из хитиновых нановолокон (CNW) и фукоидана (FUC), для локальной доставки метронидазола — препарата первой линии терапии БВ [2]. Экспериментальные данные свидетельствуют о высокой мукоадгезивной способности полученных комплексов, что обеспечивает пролонгированную фиксацию на слизистой оболочке влагалища и поддержание терапевтической концентрации препарата в очаге инфекции. Исследования кинетики высвобождения демонстрируют, что ПЭК обеспечивают контролируемое высвобождение метронидазола в течение 10 часов, что существенно превышает аналогичный показатель для традиционных лекарственных форм и позволяет оптимизировать режим дозирования, повышая приверженность пациенток к лечению. Важно отметить, что разработанные комплексы сохраняют антипротозойную активность в отношении *Trichomonas vaginalis* на протяжении всего периода высвобождения, а также не проявляют цитотоксичности в отношении клеточной линии HeLa в концентрациях 1–3 мг/мл, что подтверждает их безопасность для потенциального клинического применения.

Полученные результаты указывают на значительный терапевтический потенциал биополимерных систем доставки на основе ПЭК из CNW и FUC, сочетающих пролонгированное высвобождение, высокую мукоадгезию и благоприятный профиль безопасности. В рамках дальнейших исследований планируется изучить влияние введения биоактивных ионов металлов (Cu^{2+} , Fe^{3+} и др.) на функциональные свойства комплексов, что может привести к усилению их антимикробной активности и снижению риска развития резистентности [3]. Проведение доклинических испытаний *in vivo* позволит более детально оценить эффективность и безопасность предложенной системы,

открывая новые перспективы для применения материалов из ПЭК на основе полисахаридов в биомедицине.

Список литературы

1. Dubashynskaya N. V. et al. pH-Sensitive drug delivery system based on chitin nanowhiskers–sodium alginate polyelectrolyte complex // *Materials*. – 2022. – V. 15. – No. 17. – P. 5860.
2. Dubashynskaya N.V. et al. Mucoadhesive polyelectrolyte complexes of fucoidan and chitin nanowhiskers to prolong the antiprotozoal activity of metronidazole // *Carbohydrate Polymers*. – 2025. – V. 349. Article # 122975. doi: 10.1016/j.carbpol.2024.122975.
3. Skorik Y. A. et al. Complexation models of N-(2-carboxyethyl) chitosans with copper (II) ions // *Biomacromolecules*. – 2005. – V. 6. – No. 1. – P. 189-195.

УДК 541.64

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ТРЕХКОМПОНЕНТНЫХ ИНТЕРПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Худойбердиев Ш.Ш.¹, Вохидова Н.Р.², Рашидова С.Ш.²

¹ Бухарский государственный университет
200100, Республики Узбекистан, г. Бухара, ул. М. Икбал, 11

² Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

В последние годы наблюдается увеличение спроса на новые материалы на основе полиэлектролитных комплексов (ПЭК), которые представляют особый класс полимеров, образующихся в результате кооперативных обратимых реакций взаимодействия противоположно заряженных макроионов [1].

Исследовано влияние температуры сушки (25°C и 45°C) на физические свойства различных форм композиционных пленок желатин/КМЦ/ХЗ (80:20:0÷60:30:10) масс.%. Соотношение компонентов желатин/КМЦ/ХЗ=60:30:10 масс.% оказалось наиболее подходящим для получения пищевой упаковки из-за его высокой паропроницаемости и скорости биоразложения [2]. Получены трехкомпонентные стехиометрические интерполиэлектролитные комплексы (ИПЭК) путем последовательного смешения 0,25% раствора пектина и ХЗ, а также 1% раствора трипсина в массовом соотношении 2:1:2 и использованы в качестве носителя биологически активных веществ с пролонгирующими эффектами [3].

Исходя из этого, методом сухого формования уксусно-водных растворов ХЗ/Na-КМЦ/коллаген нами были получены их пленки с различными соотношениями от 1:0.75:0.01 до 1:0.5:0.08 масс. Результаты микроскопических исследований свидетельствуют, что независимо от соотношений исходных макромолекул на поверхности пленок трехкомпонентных комплексов ХЗ/Na-КМЦ/коллаген формируются несферические (бесформенные) наночастицы приблизительно до ≤ 1 мкм и имеют унимодальный характер. Следует отметить, что с повышением содержания коллагена в ИПЭК диаметр частиц увеличивается. При ХЗ/Na-КМЦ/коллаген=1:0.75:0.01 формируются наночастицы в диапазоне 0.1-1 мкм и частицы сравнительно равномерно распределены на поверхность полимерной матрицы. Вероятно, это связано с наличием в системе третьего компонента - коллагена, что приводит к укрупнению размера частиц ПЭК.

Таким образом, нами получены трехкомпонентных ИПЭК ХЗ/Na-КМЦ/коллаген варьированием массового соотношения компонентов. Установлено, что при массовом соотношении ХЗ/Na-КМЦ/коллаген=1:0.75:0.01 функциональные группы макромолекул Na-КМЦ максимально взаимодействуют с положительно заряженными функциональными группами коллагена посредством электростатического взаимодействия и водородными связями. Это подтверждено АСМ методами.

Список литературы

1. Худойбердиев Ш.Ш., Вохидова Н.Р., Рашидова С.Ш. Получении трехкомпонентных полиэлектролитных комплексов хитозана *Bombyx mori*. Universum: Химия и биология. 2022. 6/96. С. 37-40.
2. Jahit, I.S., Nazmi, N.N.M., Isa, M.I.N. and Sarbon, N.M. Preparation and physical properties of gelatin/CMC/chitosan composite films as affected by drying temperature //. International Food Research Journal. 2016. 23(3). pp. 1068-1074.
3. Черно Н.К., Озолина С.А., Капустян А.И. Интерполиэлектролитный комплекс хитозан-пектин как матрица для иммобилизации трипсина // Біопроцеси, біотехнологія харчових продуктів, БАР. 2010. №4(13) С. 40-43.

УДК 541.64

ТРЕХКОМПОНЕНТНЫЕ ИНТЕРПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ХИТОЗАНА *BOMBYX MORI* И МОРФОЛОГИЯ ИХ ПЛЕНОК

Худойбердиев Ш.Ш.¹, Вохидова Н.Р.², Рашидова С.Ш.²

¹ Бухарский государственный университет
200100, Республики Узбекистан, г. Бухара, ул. М. Икбал, 11

² Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

В последние годы наблюдается увеличение спроса на новые материалы на основе полиэлектролитных комплексов (ПЭК), которые представляют особый класс полимеров, образующихся в результате кооперативных обратимых реакций взаимодействия противоположно заряженных макроионов [1].

Исследовано влияние температуры сушки (25°C и 45°C) на физические свойства различных форм композиционных пленок желатин/КМЦ/ХЗ (80:20:0÷60:30:10) масс.%. Соотношение компонентов желатин/КМЦ/ХЗ=60:30:10 масс.% оказалось наиболее подходящим для получения пищевой упаковки из-за его высокой паропроницаемости и скорости биоразложения [2]. Получены трехкомпонентные стехиометрические интерполиэлектролитные комплексы (ИПЭК) путем последовательного смешения 0.25% раствора пектина и ХЗ, а также 1% раствора трипсина в массовом соотношении 2:1:2 и использованы в качестве носителя биологически активных веществ с пролонгирующими эффектами [3].

Исходя из этого, методом сухого формования были получены трехкомпонентные ИПЭК на основе ХЗ/Na-КМЦ/коллаген и их пленки с различными масс. соотношениями от 1:0.75:0.01 до 1:0.5:0.08 (рис. 1-3).

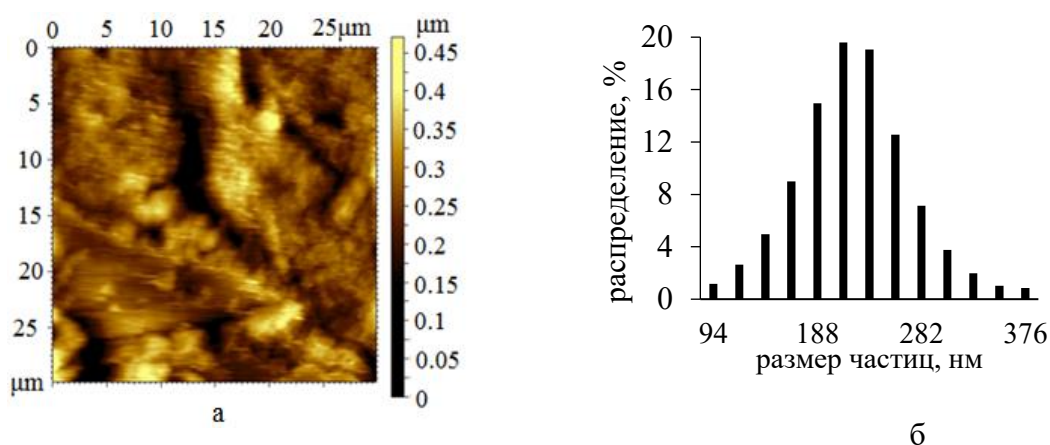


Рис. 1. Амплитудный (а) АСМ-снимок ИПЭК ХЗ/Na-КМЦ/коллаген=1:0.5:0.08 масс. и гистограмма распределения частиц (б)

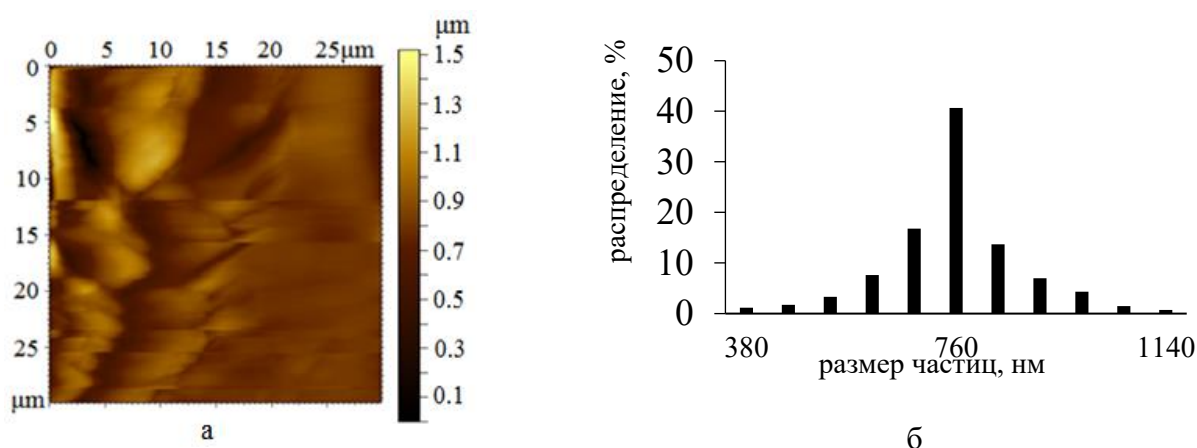


Рис. 2. Амплитудный (а) АСМ-снимок ИПЭК ХЗ/Na-КМЦ/коллаген=1:0.37:0.03 масс. и гистограмма распределения частиц (б)

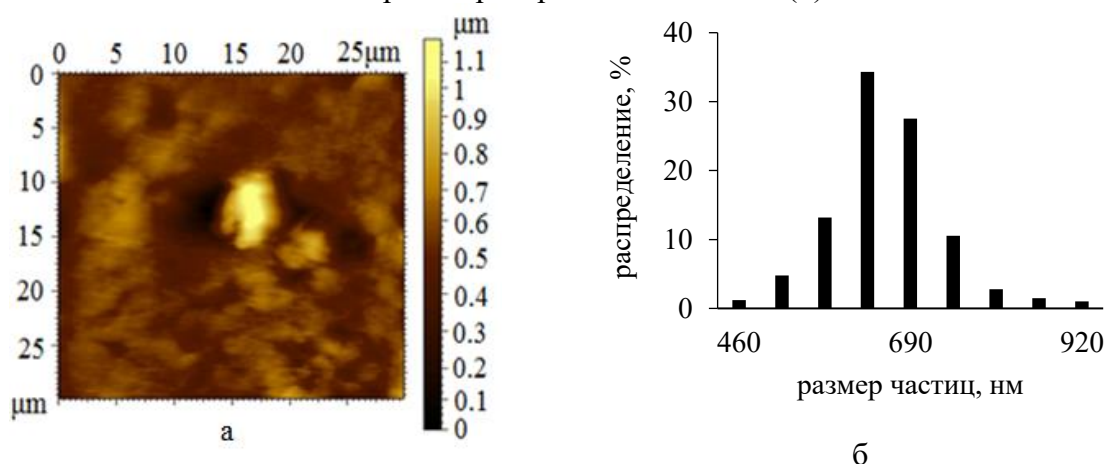


Рис. 3. Амплитудный (а) АСМ-снимок ИПЭК ХЗ/Na-КМЦ/коллаген=1:0.75:0.01 масс. и гистограмма распределения частиц (б)

Результаты микроскопических исследований свидетельствуют, что независимо от соотношения исходных макромолекул на поверхности пленок трехкомпонентных комплексов ХЗ/Na-КМЦ/коллаген формируются несферические (бесформенные) наночастицы приблизительно до ≤ 1 мкм, что распределение НЧ на поверхности пленок имеет унимодальный характер. Следует отметить, что с повышением содержания коллагена в ИПЭК диаметр частиц увеличивается. При ХЗ/Na-КМЦ/коллаген=1:0.75:0.01 масс. формируются наночастицы в диапазоне 0.1-1 мкм и частицы сравнительно равномерно распределены на поверхности полимерной матрицы. Вероятно, это связано с наличием в системе третьего компонента - коллагена, что приводит к укрупнению размера частиц ПЭК.

Таким образом, нами получены трехкомпонентных ИПЭК ХЗ/Na-КМЦ/коллаген варьированием массового соотношения компонентов. Установлено, что при массовом соотношении ХЗ/Na-КМЦ/коллаген=1:0.75:0.01 функциональные группы макромолекул Na-КМЦ максимально взаимодействуют с положительно заряженными функциональными группами коллагена посредством электростатического взаимодействия и водородными связями. Полученные фундаментальные результаты представляют интерес в применении полученных комплексов в медицинской практике.

Список литературы

1. Худойбердиев Ш.Ш., Вохидова Н.Р., Рашидова С.Ш. Получении трехкомпонентных полиэлектролитных комплексов хитозана *Bombyx mori*. Universum: Химия и биология. 2022. 6/96. С. 37-40.
2. Jahit, I.S., Nazmi, N.N.M., Isa, M.I.N. and Sarbon, N.M. Preparation and physical properties of gelatin/CMC/chitosan composite films as affected by drying temperature //. International Food Research Journal. 2016. 23(3). pp. 1068-1074.
3. Черно Н.К., Озолина С.А., Капустян А.И. Интерполиэлектролитный комплекс хитозан-пектин как матрица для иммобилизации трипсина // Біопроцеси, біотехнологія харчових продуктів, БАР. 2010. №4(13) С. 40-43.

УДК 547.995.12: 678.744.332:544.33

КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ ЭНТАЛЬПИЕЙ СГОРАНИЯ И ОБРАЗОВАНИЯ БЛОК-СОПОЛИМЕРА ХИТОЗАНА С МЕТИЛАКРИЛАТОМ И ЕГО СОСТАВОМ

*Чупрова С.В.¹, Ларина В.Н., Кокурина Н.Ю., Смирнова Л.А.¹,
Мочалова А.Е.¹, Урьяш В.Ф.²*

¹ Национальный исследовательский Нижегородский госуниверситет
им. Н.И.Лобачевского
603022, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

² Mount Sinai Medical Center, Department of Research, Miami Beach, USA

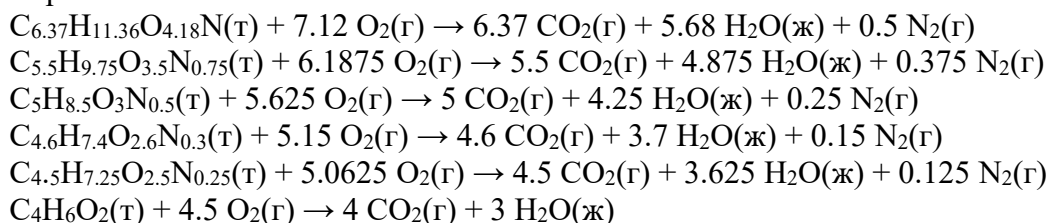
Сополимеры хитозана (ХТЗ) с метилакрилатом (МА) могут с успехом использоваться в качестве биodeградируемых композитных материалов, например, упаковочных материалов, разделительных мембран, при производстве одноразовой посуды и др. Для целенаправленного выбора состава таких материалов были изучены энтальпии сгорания ($\Delta_c H^\circ$) и рассчитаны энтальпии образования ($\Delta_f H^\circ$) ХТЗ, полиметилакрилата (ПМА) и четырех блок-сополимеров ХТЗ с МА состава 3:1, 1:1, 1:2.5 и 1.3 по молям.

Исследовали ХТЗ (β -D-1,4-N-глюкозамин, $(C_6H_{11}O_4N)_n$) производства компании “Shanghai AZ Import&Export Co., Ltd” (КНР), полученный из хитина, выделенного из панцирей крабов. Молекулярная масса его $1 \cdot 10^5$, степень деацетилирования (СД) 78%, молярная масса повторяющегося звена ХТЗ (условный моль) 168.84 г/(услов. моль). МА перед использованием сушили CaH_2 и перегоняли на установке с головкой полной конденсации, собирая фракцию с $T_{кип} = 353.2$ К и $\rho^{298} = 0.950$ г/см³. ПМА $((C_4H_6O_2)_n$, молярная масса повторяющегося звена 86.09 г/(услов. моль)) получали растворной полимеризацией МА в ацетоне при 333 К в присутствии 2,2'-азо-бис-изобутиронитрила (0.5 мас.% от массы мономера) до конверсии 7%. Полимер отделяли трехкратным переосаждением из ацетона в диэтиловый эфир. Молекулярную массу ПМА ($M_w = 6.0 \cdot 10^5$) определяли методом гель-проникающей хроматографии при 313 К на жидкостном хроматографе Prominence LC-20VP “Shimadzu” с набором колонок, наполненных полистирол-дивинилбензольными стандартами с размером пор 10 – 100 мкм. В качестве детектора использовали дифференциальный рефрактометр. Элюентом служил тетрагидрофуран. Для калибровки применяли узкодисперсные стандарты полиметилметакрилата. В качестве инициатора при блок-сополимеризации в растворе ХТЗ с МА использовали окислительно-восстановительную систему на основе пероксида водорода ($\rho(25\%$ -го раствора) = 1.4 г/см³) и аскорбиновой кислоты. Концентрация раствора уксусной кислоты в воде составляла 6 мас.%, а ХТЗ в нем – 3 мас.%. Блок-сополимеризацию проводили при 296 К в течение 24 ч. Соотношение ХТЗ/МА в сополимере составило 3:1, 1:1, 1:2.5 и 1.3 (услов. моль)/моль. Пленки на основе блок-сополимера ХТЗ с МА получали формованием из реакционных смесей на лавсановую подложку. С целью перевода солевой формы хитозана в непротонированную форму, пленки обрабатывали 5% раствором NaOH (в течение 5 мин), с последующим промыванием дистиллированной водой до pH 7.

Энтальпию сгорания образцов определяли в усовершенствованном калориметре В-08МА со статической калориметрической бомбой. Калибровку калориметрической

системы проводили по эталонной бензойной кислоте марки К-2 ($\Delta U_c = -26460.0$ Дж/г при взвешивании в воздухе). Энергетический эквивалент системы $W = 14805 \pm 3$ Дж/К с удвоенным квадратичным отклонением от среднего результата 0.02%. Образцы сжигали в виде таблеток, залитых расплавленным парафином, при давлении кислорода $3 \cdot 10^6$ Па. Для измерения подъема температуры использовали два платиновых термометра сопротивления и цифровой вольтметр, включенных в мостовую схему. Отношение в процентах массы CO_2 (экспериментальное) к массе CO_2 (расчетное) составляло для изученных образцов 99.97–100.03%.

Расчеты проведены для следующих реакций сгорания гомополимеров и блок-сополимеров:



В условиях калориметрической бомбы определяли энергию сгорания исследуемого вещества $\Delta_c U$. Исходя из среднего значения $\Delta_c U$, молярной массы (M), с учетом поправки Уошберна и поправки, обусловленной изменением числа молей газов, рассчитали стандартные величины $\Delta_c U^\circ$ и $\Delta_c H^\circ$ для реакций сгорания. По полученным значениям $\Delta_c H^\circ$ рассчитали стандартную энтальпию образования $\Delta_f H^\circ$ образцов в твердом состоянии при 298.15 К с использованием $\Delta_f H^\circ(\text{H}_2\text{O}, \text{ж}) = -285.830 \pm 0.042$ кДж/моль и $\Delta_f H^\circ(\text{CO}_2, \text{г}) = -393.51 \pm 0.13$ кДж/моль.

По полученным данным построили зависимости $\Delta_c H^\circ$ и $\Delta_f H^\circ$ блок-сополимера ХТЗ – МА от его состава (рис. 1, 2). Как видно из рисунков, имеет место S-образная зависимость термохимических характеристик от состава сополимера. До содержания МА (N_2) ~70 мол.% наблюдается отклонение кривой $\Delta_c H^\circ = f(\text{N}_2)$ от аддитивной зависимости в сторону оси состава (рис. 1). Как показали наши исследования термохимических характеристик целлюлозы и хитина, при увеличении их степени упорядоченности и прочности межмолекулярных связей происходит уменьшение по абсолютной величине энтальпии реакции сгорания полисахаридов. Это объясняется тем, что приходится затрачивать энергию на разрыв межмолекулярных связей и, как следствие, разрушение высокоупорядоченных микрообластей полисахаридов. Таким образом, полученный нами ход кривой $\Delta_c H^\circ = f(\text{N}_2)$ в интервале 0 – 70 мол.% МА можно объяснить увеличением прочности межмолекулярных связей в сополимере при введении в ХТЗ блоков ПМА. При большем содержании МА зависимость $\Delta_c H^\circ = f(\text{N}_2)$ близка к аддитивной. Более явно S-образная зависимость проявляется для $\Delta_f H^\circ$ (рис. 2). В интервале 0 – 70 мол.% МА наблюдается увеличение по абсолютной величине $\Delta_f H^\circ$ по сравнению с аддитивными значениями. Далее кривая $\Delta_f H^\circ = f(\text{N}_2)$ отклоняется от аддитивной зависимости в сторону оси состава.

Полученные термохимические данные коррелируют с результатами исследований поверхности пленок блок-сополимеров ХТЗ с МА методом сканирующей зондовой микроскопии.

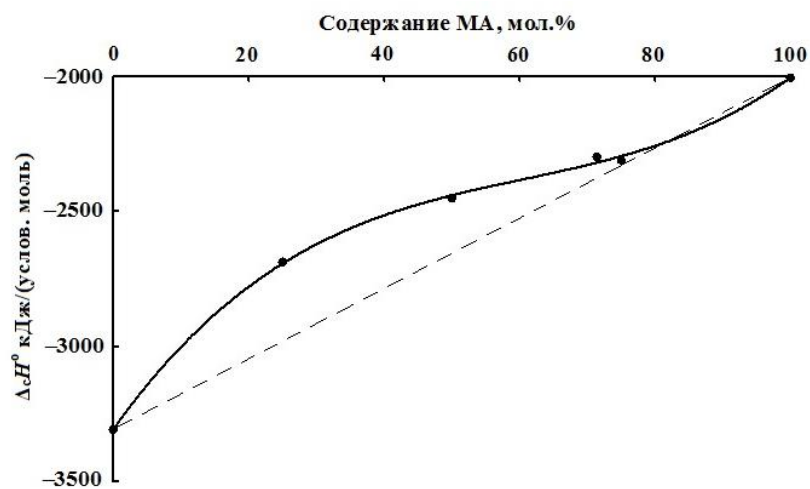


Рис. 1. Зависимость стандартной энтальпии сгорания блок-сополимера XT3 – МА от состава сополимера

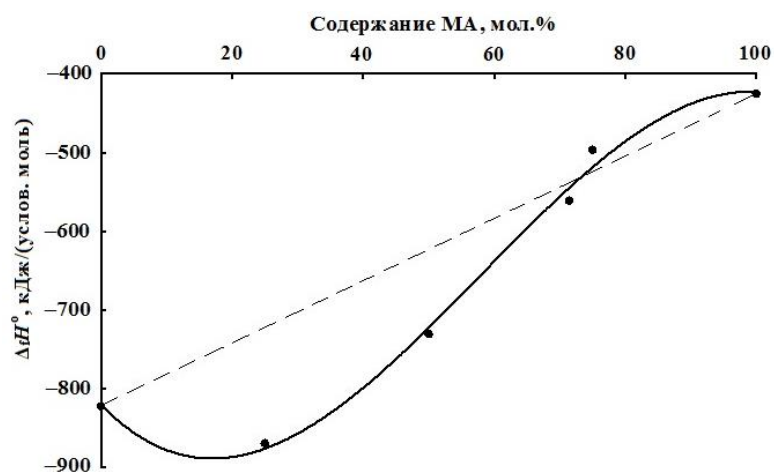


Рис. 2. Зависимость стандартной энтальпии образования блок-сополимера XT3 – МА от состава сополимера

УДК 543.42.061

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КОЛЕБАТЕЛЬНЫХ СПЕКТРОВ ХИТОЗАНА И НАНОХИТОЗАНА

Шахабутдинов С.Ш., Ашуров Н.Ш., Югай С.М., Атаханов А.А., Рашидова С.Ш.

Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

Хитозан – один из наиболее перспективных природных полимеров, обладающий биоразлагаемостью, биосовместимостью и широким спектром применения, особенно в медицине и фармацевтике. В последнее время всё большее внимание уделяется нанохитозану, который благодаря своей наноразмерной структуре демонстрирует улучшенные физико-химические и биологические свойства [1-4].

Методы колебательной спектроскопии ИК-спектр позволяет проводить детальный анализ структурных особенностей биополимеров. Сравнение спектров хитозана и нанохитозана даёт возможность выявить изменения в межмолекулярных взаимодействиях, степени ацетилирования и распределении функциональных групп, возникающих в процессе наноструктурирования.

Понимание таких изменений критически важно для оценки поведения нанохитозана в биологических системах и разработки эффективных систем доставки лекарств, биоматериалов и сенсоров. Таким образом, сравнительное спектроскопическое исследование этих форм хитозана представляет собой актуальную научную задачу с высокой прикладной значимостью.

Цель данной работы провести сравнительный анализ колебательных ИК спектров хитозана и нанохитозана, полученного с использованием триполифосфата натрия в качестве сшивающего агента, с целью выявления изменений в структуре, типах внутримолекулярных и межмолекулярных взаимодействий, а также особенностей деформационных и валентных колебаний, обусловленных процессом наноструктурирования.

Как нам известно, в спектрах хитозана наблюдаются полосы поглощения соответствующие валентным колебаниям гидроксильных групп -ОН и валентных колебаний -NH групп в области волновых чисел $3500-3200\text{ см}^{-1}$. Валентные колебания группы О-Н проявляются как широкая интенсивная полоса в области $\sim 3400\text{ см}^{-1}$, часто сильно растянутая из-за водородных связей (межмолекулярных и внутримолекулярных) [5]. Поглощения, соответствующие валентным колебаниям первичных аминогрупп -NH₂ и вторичных аминогрупп N-H в ИК-спектрах хитозана наблюдаются в области волновых чисел $3300-3500\text{ см}^{-1}$. Но при этом полосы поглощения этих групп часто перекрываются, и нужна дополнительная интерпретация с использованием метода деконволюции.

В спектрах хитозана максимум полосы поглощения, соответствующий валентным колебаниям гидроксильных -ОН и -NH групп сильно перекрывающимися за счёт водородных связей находится в области 3416 см^{-1} . Но при переходе в нанохитозан наблюдается смещение полос поглощения в сторону больших энергий 3421 см^{-1} , что указывает на изменение прочности водородных связей при формировании ионных пар между аминами хитозана и ТРР (триполифосфатом натрия). Возможно, часть водородных связей нарушается из-за ионного сшивания, приводящего к менее ассоциированному состоянию полимерных цепей (рис. 1).

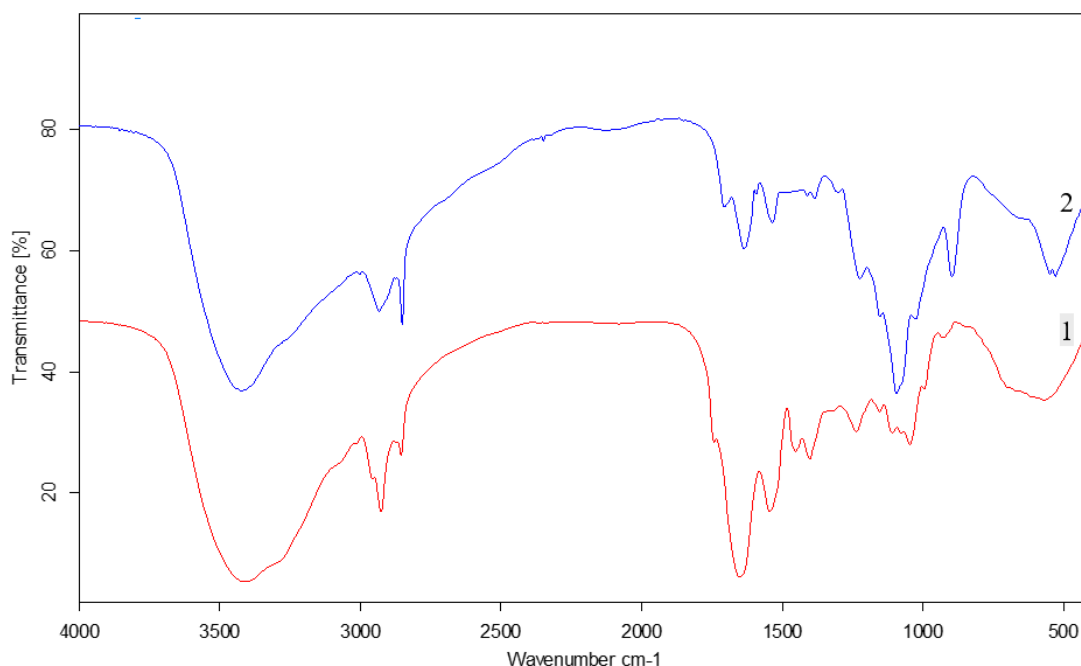


Рис.1. ИК-Фурье спектры: 1) хитозана и 2) нанохитозана

Незначительные смещения полос поглощения 2926 см^{-1} в 2933 см^{-1} и 2854 см^{-1} в 2851 см^{-1} , характерные для валентных колебаний C–H в $-\text{CH}_2-$ и $-\text{CH}_3$ групп могут быть связаны с изменением микросреды при уплотнении структуры после сшивания.

Полоса поглощения валентной колебания C=O ацетильных групп исходного хитозана наблюдается 1742 см^{-1} , а для нанохитозана 1706 см^{-1} волновых чисел. Эти смещение в нанохитозане указывает на взаимодействие карбонильной группы с фосфатными группами TPP – образование водородных или ионных связей, что понижает энергию колебаний.

В деформационных колебаниях амидной группы (Амид I) $\delta(\text{N–H})$ наблюдается также смещение в сторону меньших волновых чисел для исходного хитозана 1650 см^{-1} а для нанохитозана 1636 см^{-1} . Для симметричных деформационных колебаний $\delta(\text{N–H})$ и валентных колебаний $\nu(\text{C–N})$ (амид II), который для исходного хитозана находится в области 1544 см^{-1} и для нанохитозана в 1535 см^{-1} . Эти смещения подтверждают участие аминогрупп в ионном сшивании с фосфатами TPP (образование ионных мостиков $\text{NH}_3^+\cdots\text{OPO}_3^{2-}$).

Смещение полос поглощения деформационных колебаний $-\text{CH}_2-$ и $-\text{CH}_3$ групп от 1452 см^{-1} до 1411 см^{-1} и появление новой полосы 1384 см^{-1} свидетельствуют о переупорядочивании цепей и изменении микросреды из-за сшивания.

При переходе в нанохитозан наблюдается смещение полос поглощения соответствующий C–O–C, P=O, P–O–C групп от 1237 см^{-1} в 1224 см^{-1} , 1153 см^{-1} в 1152 см^{-1} , 1109 см^{-1} в 1093 см^{-1} , 1046 см^{-1} в 1025 см^{-1} и 994 см^{-1} в 896 см^{-1} . В нанохитозане наблюдаются новые или смещённые полосы, особенно в районе 1025 и 896 см^{-1} , что указывает на присутствие фосфатных групп из TPP и их участие в сшивании.

Таким образом, ИК-спектроскопический анализ демонстрирует, что при формировании нанохитозана с использованием триполифосфата натрия происходит значительное изменение внутримолекулярных и межмолекулярных взаимодействий за счёт ионного сшивания аминогрупп хитозана с фосфатными группами TPP, что

проявляется в характерных сдвигах полос поглощения, особенно в областях валентных и деформационных колебаний NH, C=O и P–O связей; при этом наблюдаются как плоскостные, так и внеплоскостные деформационные колебания, отражающие изменение структуры и плотности упаковки полимерной матрицы.

Список литературы

1. Varlamov V.P., Ilyina A.V., Shagdarova B.C., Lunkov A.P., Mysyakina I.S. Chitin/Chitosan and its derivatives. Usp. Experim. Biology. Khim. 2020. V. 60. P. 317-368 (in Russian). <https://doi.org/10.1134/S0006297920140084>
2. Aranaz A.R., Alcantara M.C. Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications. Polymers. 2021. V. 13. N 19. P. 3256. <https://doi.org/10.3390/polym13193256>
3. Нудьга Л.А. Получение хитозана, его производных и исследование их свойств: автореф. дис... канд. хим. наук. – Л., 1979. –20 с.
4. Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / под ред. К.Г. Скрыбина, Г.А. Вихоревой Г.А., В.П. Варламова. – М.: Наука, 2002. – 368 с.
5. J. Brugnerotto, J. Lizardi, F.M. Goycoolea, W.Argüelles-Monal, J. Desbrières, M. Rinaudo An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization // Polymer, Volume 42, Issue 8, April 2001, Pages 3569-3580

УДК 541.64

ВЛИЯНИЕ РЕЦЕПТОРНОЙ СРЕДЫ НА СКОРОСТЬ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ЖИДКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НА ОСНОВЕ СУКЦИНАТА ХИТОЗАНА

Шурина А.С., Чернова В.В., Кулиш Е.И.

ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»
450076, Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32

Современная фармакология активно развивает направление, связанное с созданием и применением жидких лекарственных форм на основе полимеров, которые обладают уникальными свойствами контролируемого высвобождения активных веществ. Одним из перспективных материалов для таких систем является сукцинат хитозана — производное искусственного биополимера хитозана, обладающее высокой биосовместимостью, биоразлагаемостью и способностью к модификации. Благодаря своим свойствам, сукцинат хитозана позволяет создавать стабильные лекарственные формы с регулируемой кинетикой высвобождения, что особенно важно для повышения эффективности и безопасности терапии. Однако успешное применение таких систем требует тщательного подбора условий, в которых происходит высвобождение активных веществ, и ключевую роль здесь играет выбор рецепторной среды.

Ранее нами был изучен выход лекарственных препаратов из полимерных систем на основе сукцината хитозана [1, 2]. В качестве рецепторной среды в этих работах была выбрана дистиллированная вода. Однако, рецепторная среда, используемая в экспериментах, должна максимально приближаться к физиологическим условиям, в которых будет происходить высвобождение лекарственного вещества *in vivo*. Правильный подбор рецепторной среды позволяет не только корректно моделировать процессы высвобождения, но и прогнозировать поведение лекарственной формы в организме. Несоответствие между условиями *in vitro* и *in vivo* может привести к искажению данных и, как следствие, к неправильной интерпретации результатов.

Важность выбора рецепторной среды обусловлена ее прямым влиянием на кинетику высвобождения лекарственного вещества. Например, в кислой среде (рН 1.2–2.0) моделируются условия желудка, тогда как в нейтральной или слабощелочной среде (рН 6.8–7.4) — условия кишечника. Это особенно важно для препаратов, предназначенных для перорального применения, где рН среды изменяется по мере прохождения через желудочно-кишечный тракт. Таким образом, выбор рецепторной среды является критически важным этапом при разработке и тестировании новых лекарственных форм, обеспечивающим их эффективность и безопасность в дальнейшем применении.

В связи с этим целью данной работы стало изучение влияния рецепторной среды на процесс высвобождения цефазолина (ЦФЗ) из жидкой лекарственной формы на основе сукцината хитозана через полупроницаемую мембрану. В качестве рецепторной среды исследовались: дистиллированная вода; изотонический раствор натрия хлорида; раствор Рингера-Локка; раствор сукцината хитозана; раствор глицерина с концентрацией 15 г/дл; раствор сукцината хитозана в физиологическом растворе и раствор глицерина в физиологическом растворе. При выборе рецепторной среды учитывали такие факторы,

как осмолярность среды (близость к осмолярности плазмы крови) и вязкость (близость к вязкости крови). Полученные в ходе исследования данные представлены в табл. 1.

Таблица 1

Скорость высвобождения ЦФЗ из жидких лекарственных форм

ЛФ	Рецепторная среда	V, %/мин
водный раствор ЦФЗ (без полимера)	дистиллированная вода	1.5
полимерная лекарственная форма на основе сукцината хитозана	дистиллированная вода	0.16
	изотонический раствор натрия хлорида	0.13
	раствор Рингера-Локка	0.12
	раствор сукцината хитозана в воде	0.08
	раствор сукцината хитозана в физиологическом растворе	0.06
	раствор глицерина	
	раствор глицерина в физиологическом растворе	0.03

Из полученных данных можно сделать ряд выводов. Во-первых, использование полимерной лекарственной формы приводит к пролонгированию высвобождения ЦФЗ через полупроницаемую мембрану. Во-вторых, при использовании в качестве рецепторной среды изотонический раствор натрия хлорида и раствора Рингера-Локка наблюдается дополнительное уменьшение скорости высвобождения ЦФЗ, что может быть связано с большей осмолярностью используемых рецепторных сред. В-третьих, при замене рецепторной среды на водный раствор полимера и на раствор глицерина, т.е. на среды с существенно большей вязкостью, наблюдается дальнейшее уменьшение скорости высвобождения ЦФЗ через полупроницаемую мембрану. И, в-четвертых, используя в качестве рецепторной среды растворов полимера и глицерина в физиологическом растворе, можно добиться дальнейшего уменьшения скорости высвобождения лекарственного вещества.

Таким образом, при исследовании процесса высвобождения лекарственных веществ, включая системы на основе полимеров, важно корректно подбирать рецепторную среду для максимально точного воспроизведения физиологических условий организма. Проведенные исследования демонстрируют, что использование дистиллированной воды в качестве рецепторной среды является некорректным, особенно в случаях, когда лекарственная форма предназначена для применения в средах, близких по вязкости к крови и обладающих определенной осмолярностью.

Список литературы

1. Shurshina A.S., Galina A.R., Kulish E.I. Features of the use of polyelectrolytes to prolong the action of medicinal substances // Russian Journal of Physical Chemistry B. 2022. T. 16. № 2. С. 353-360.
2. Shurshina A.S., Galina A.R., Lazdin R.Y., Chernova V.V., Kulish E.I. Influence of modifying additives on the process of the release of medicinal substances from liquid medicinal forms // Russian Journal of Physical Chemistry B. 2021. T. 15. № 4. С. 724-731.

УДК 620.3.;547.72;615.47

О ПОЛУЧЕНИИ ХИТОЗАНСТАБИЛИЗИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦ МАРГАНЦА И ИХ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Эргашев К.Х., Вохидова Н.Р., Рашидова С.Ш.

Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан,
100128, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. А. Кадырий, 7Б

Марганец (Mn) является одним из жизненно необходимых микроэлементов для организма, что участвует в многочисленных биохимических реакциях в качестве кофактора ферментов и оказывает влияние на деятельности организма, в частности, на его репродуктивную функцию. Дефицит или избыток марганца может отрицательно сказываться на общем состоянии здоровья и особенно на способности к зачатию. Например, марганец принимает участие в следующих важных процессах, такие как, антиоксидантная защита, функционирование репродуктивной системы, а также, в поддержание гормонального баланса. Учитывая его ключевую роль, марганец рассматривается как один из вспомогательных элементов в комплексной терапии бесплодия [1].

Среди биополимеров хитозан привлекает все большее внимание благодаря своим многообещающим результатам в ветеринарной медицине. Для дальнейшего улучшения свойств и внедрения новых функциональных возможностей были предприняты некоторые попытки интегрировать НЧ Mn в макромолекулу хитозана и его производных. Включение этих металлических НЧ в полимерную матрицу может помочь контролировать кристаллическую структуру, форму, структурную морфологию и размер НЧ Mn. При получении полимерстабилизированных НЧ марганца некоторые факторы, такие как, pH среды, температура, химическая природа и концентрация восстановителя играют важную роль [2].

Исходя из этого, целью нашего исследования являлась получение наночастиц Mn, стабилизированных хитозаном *Bombux mori*, и изучение их физико-химических, морфологических свойств. Для получения хитозанстабилизированных НЧ Mn в условиях *ex situ* использованы ХЗ с молекулярной массой 104×10^3 , степенью деацетилирования 86% и $MnCl_2$ марки «х.ч.». Соотношение исходных компонентов составляло $XЗ/Mn^{2+}=1:2$ моль, концентрация восстановителя $NaBH_4$ варьировалась от $1,25 \times 10^{-5}$ до 2×10^{-4} моль. Изучена зависимость гидродинамического размера частиц от концентрации восстановителя в процессе синтеза ХЗ/Mn (табл.1).

Результаты табл. 1 показывают, что при $[NaBH_4]=2,5 \times 10^{-5}$ моль относительно повышается доля наночастиц. При этом, во всех образцах средний диаметр НЧ уменьшается приблизительно на 14 раз по сравнению с размером частиц ХЗ, то есть размер частиц ХЗ сужаются до 111 нм (62%)

Результаты АСМ-исследований пленок наночастицы ХЗ/Mn показывают, что наночастицы Mn имеют кубическую форму с их унимодальным распределением по всей матрице (рис. 1). Однако на некоторых участках поверхности пленок присутствуют агрегированные наночастицы размером до 200 нм, что свидетельствует о формировании частиц с размерами от 1 до 180 нм, а средний размер НЧ является 160 нм, что составляет 70% от общего количества частиц (рис. 1. а).

Таблица 1

Влияние концентрации восстановителя на диаметр НЧ на основе ХЗ/Мп;
 $t=80\text{ }^{\circ}\text{C}$, 15 минут, $\tau=500\text{ об/мин}$

№	ХЗ: Mn^{2+} , моль	NaBH_4 , $\times 10^{-4}$, моль	d, нм	d, мкм
1	ХЗ	-		91 (100%)
2	1:2	0.125	153 (25%)	6.3 (75%)
3	1:2	0.25	111 (62%)	8.4 (38%)
4	1:2	0.5	185 (21%)	8.2 (79%)
5	1:2	1	126 (17%)	7.9 (93%)
6	1:2	2	183 (10%)	18 (90%)

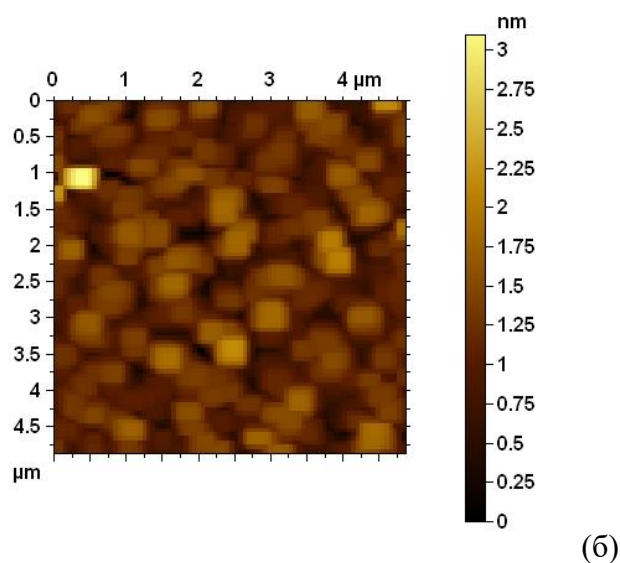
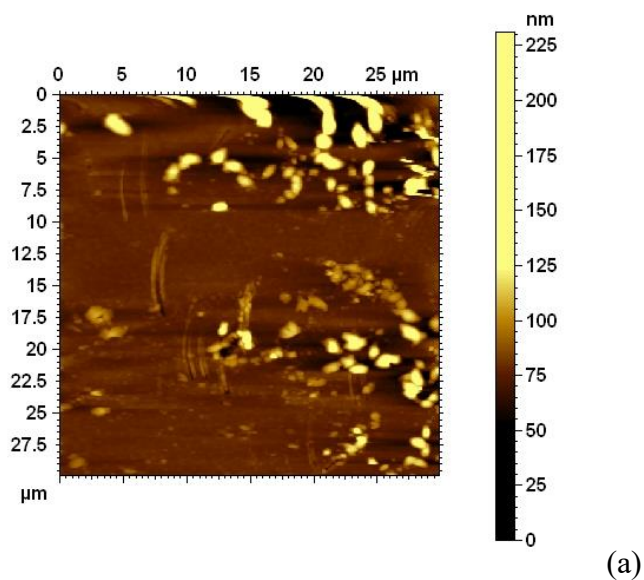


Рис. 1. АСМ-снимки пленок образцов ХЗ/Мп

Из АСМ снимок с более высокого разрешения видно, что в выбранных условиях синтеза формировались кубические НЧ Mn 1-5 нм и частицы распределены равномерно (рис. 1. б). По асимметрии гистограммы видно, что НЧ отличаются формами и размерами и 18% НЧ имеют размер до 2 нм.

Таким образом, нами разработана методика синтеза хитозанстабилизированных наночастиц марганца и выявлены оптимальные соотношения ХЗ:Mn и ХЗ/NaBH₄. Обнаружено, что концентрация [NaBH₄] = 2.5×10⁻⁵ моль является эффективной для формирования металлических НЧ со средним диаметром 1-5 нм. Полученные данные представляют прикладной интерес в ветеринарной медицине.

Список литературы

1. Soo In Kim at al. Effect of Manganese Exposure on the Reproductive Organs in Immature Female Rats. Dev. Reprod. Vol. 16, No.4, p. 295-300 (2012). <http://dx.doi.org/10.12717/DR.2012.16.4.295>
2. Vokhidova, N.R., Rashidova, S.S. The influence of synthesis conditions on the film morphology of chitosan-stabilized silver nanoparticles. Polym. Bull. 79, 3419–3436 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00289-021-03669-y>

УДК 547.963.3

ЛЕЧЕНИЕ ЭКТРОМЕЛИИ АМФИФИЛЬНОЙ ВЫСОКОПОЛИМЕРНОЙ ДРОЖЖЕВОЙ РНК, УПАКОВАННОЙ В НАНОРАЗМЕРНЫЕ ХИТОЗАНОВЫЕ КАПСУЛЫ, *PER'OS*

Ямковая Т.В.¹, Ямковая Н.В.¹, Апрятина К.В.², Ямковой В.И.¹

¹ ООО «Виталанг»

630055, Россия, г. Новосибирск, ул. Рубиновая, 4

² Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
603022, Россия, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Инфекционные болезни, в том числе новые, представляют угрозу для человечества, поскольку являются причиной трети общего ежегодного количества смертей в мире. Среди огромного количества возбудителей инфекционных болезней особое место принадлежит вирусам, в частности - вирусу оспы. Ситуация усугубляется существованием природных очагов вирусов, входящих в род *Orthopoxvirus*, увеличением в последние десятилетия масштабов и частоты эпидемических вспышек в экваториальной Африке оспы обезьян и оспы коров с возрастанием смертности среди людей. При разработке противооспенных препаратов для первоначального скрининга их эффективности могут быть использованы разные ортопоксвирусы, в частности на животных моделях – вирус эктромелии (оспы мышей).

Целью настоящего исследования является разработка безболезненного способа введения пациентам противовирусного препарата Виталанга-2. Цель достигается путем заключения лекарственной субстанции в наноразмерные хитозановые капсулы и введения их *per'os*.

При получении наноразмерных хитозановых капсул, содержащих субстанцию амфифильной высокополимерной дрожжевой РНК, инертное ядро формировали из двуокиси титана, а в качестве действующего начала использовали субстанцию Виталанга-2. В итоге получался лиофилизированный порошок наноразмерных (170-200 нм) хитозановых капсул, содержащих во внутреннем слое 40% субстанции амфифильной высокополимерной дрожжевой РНК. Препарат был назван Виталангом-4.

Лечение эктромелии. В работе использовали здоровых половозрелых животных беспородных белых мышей обоего пола, массой тела 14-16 г., полученных из питомника лабораторных животных ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор».

В эксперименте было использовано 63 мыши, из них 42 животных – в опыте (6 групп по 7 мышей в группе) и 21 – в контроле (3 группы по 7 мышей в группе).

Виталанг-4 суспендировали в стерильном физиологическом растворе (ФР) встряхивая 15-30 мин в день проведения эксперимента.

В работе использовали вирус эктромелии, штамм К-1, полученный из отдела коллекции микроорганизмов ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» и наработанный на перевиваемой клеточной линии *Vero* (клетки почки зеленой мартышки) с титром $9,33 \times 10^5$ БОЕ/мл.

Мышей опытных и контрольных групп инфицировали интраназально под эфирным наркозом летальной дозой (10 LD₅₀, содержащих 2,57 lg БОЕ) вируса эктромелии в объеме 40 мкл/мышь.

Через 1 ч после инфицирования мышам вводили препарат Виталанг-4 *per'os*, затем еще дважды в течение дня с интервалом в 4 ч в суммарной дозе 1,25 мг/кг массы (3 группы по 7 мышей в группе) и 2,5 мг/кг массы (3 группы по 7 мышей в группе). В качестве отрицательного контроля использовали 3 группы по 7 инфицированных мышей, которым через 1 ч *per'os* вводили ФР и затем еще дважды в течение дня с интервалом в 4 ч. Гибель животных учитывали ежедневно в течение последующих 16 дней, оценивали процент гибели, коэффициент защиты и среднюю продолжительность жизни.

Результаты изучения выживаемости в экспериментальных группах белых беспородных мышей, получавших Виталанг-4 *per'os*, при заражении вирусом экстремелии К-1 в дозе 10 ЛД₅₀ представлены в табл. 1.

Таблица 1

Выживаемость в экспериментальных группах мышей

Группа мышей	Число и % выживших	Число и % павших	СПЖ (сут)	КЗ
Виталанг-4, 1.25 мг/кг, n = 21	6, 28.6 %	15, 71.4%	12.43 ± 0.25	14.3%
Виталанг-4, 2.5 мг/кг, n = 21	10, 47.6%	11, 52.4%	13.86 ± 0.25	33.3%
Контроль, n = 21	3, 14.3%	18, 85.7%	10.52 ± 0.08	-

где: СПЖ – средняя продолжительность жизни, КЗ – коэффициент защиты (КЗ = % гибели в контроле - % гибели в опыте), ЛД₅₀ – 50%-я летальная доза и n - количество животных в опыте.

Исследования показали, что введение Виталанга-4 *per'os* в дозе 1.25 мг/кг массы животного в лечебной схеме вдвое увеличивало выживаемость инфицированных мышей (28.6%) по сравнению с контролем (14.3%). Применение Виталанга-4 *per'os* в дозе 2.5 мг/кг массы животного при лечении приводит к достоверно значительно большей выживаемости инфицированных мышей (47.6%) по сравнению с контролем (14.3%), при этой дозе коэффициент защиты мышей составил 33.3%.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о значительном противовирусном эффекте Виталанга-4 при введении его *per'os* мышам, инфицированным вирусом экстремелии.

УДК 633.11:632.9:57.021

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ХИТОЗАНА И ГЛИОКСАЛЯ ДЛЯ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В СЕВЕРО- ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ РФ

*Фокина М.И.¹, Успенская М.В.^{1,2}, Колесников Л.Е.³, Фатеев А.Д.⁴, Колесникова Ю.Р.⁵,
Радишевский Д.Ю.³*

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии
198504, Россия, Санкт-Петербург, Петергоф, Университетский пр-т, д. 26

² Санкт-Петербургский Политехнический Университет Петра Великого
195251, Россия, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29

³ Санкт-Петербургский государственный аграрный университет,
196601, Россия, Санкт-Петербург, Пушкин, Петербургское шоссе, 2

⁴ Университет ИТМО
1967101, Россия, Санкт-Петербург, Кронверкский пр-т, 49

⁵ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова
190000, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44

В настоящее время особую актуальность при производстве сельскохозяйственной продукции имеет использование экологически безопасных средств регуляции роста и защиты растений [1]. Современные агротехнологии возделывания сельскохозяйственных культур, в том числе пшеницы, позволяют значительно повысить адаптивный потенциал растений к абиотическим и биотическим факторам среды. Установлено, что важнейшими природными и синтетическими органическими соединениями, обладающими выраженной росторегулирующей активностью, а также способностью индуцировать устойчивость растений к фитопатогенным микроорганизмам, являются фитогормоны, фенольные и ароматические вещества [2,3]. Одним из ключевых индукторов устойчивости растений к неблагоприятным условиям окружающей среды выступает хитозан. Его применение в составе различных агрохимических композиций способствует снижению поражения растений болезнями и повышению их продуктивности [4]. Широкое применение в сельском хозяйстве находит реакционноспособный диальдегид – глиоксаль. Он не только используется в качестве сшивающего агента при формировании биополимерных соединений различного состава, но и проявляет высокую спороцидную и микобактерицидную активность [5,6].

В ходе работы были исследовано несколько способов обработки семян смесью хитозана и глиоксаля при различных концентрационных соотношениях исходных компонентов с учетом массовой доли содержания хитозана. Схема опыта предусматривала обработку семян пшеницы сортов Ленинградская 6, к-64900 и Дарья, к-64432 перед посевом. Пораженность пшеницы болезнями определяли с использованием общепринятых специальных шкал учета и дополнительных расчетных

фитопатологических параметров. Анализ посевов пшеницы проводили по данным измерения комплекса фитометрических показателей, отражающих особенности роста и развития растений, их продуктивности (4).

Применение хитозана без глиоксаля привело к значительному увеличению продуктивности растений (Y_n) по сравнению с контролем: сорт Дарья – +73.9% (с 1.0 г/растение – в контроле до 1.8 г/растение), сорт Ленинградская 6 – +196.1% (с 0.5 г/растение – в контроле до 1.4 г/растение). Наблюдалась тенденция роста продуктивности растений с увеличением доли хитозана, используемого для обработки семян, которая была особенно выражена у сорта Ленинградская 6.

Наибольшее значение продуктивности у сорта Дарья $Y_n = 2.2$ г/растение (изменение к контролю $+n = +121.0\%$) отмечено при использовании для обработки семян 5% хитозана. В указанном варианте опыта отмечено существенное увеличение числа и длины первичных корней на 129.8% и 54.4%, числа и длины узловых корней на 32.4% и 70.1%, соответственно; продуктивной кустистости на 59.0%, длины колоса на 12.1%. Кроме того, выявлено снижение пораженности растений возбудителем желтой ржавчины на 25.7% (биологическая эффективность БЭ=82.0%). У сорта Ленинградская 6 существенный рост продуктивности зафиксирован в варианте опыта, где семена были обработаны 7% хитозаном ($Y_n = 2.01 \pm 0.24$ г/растение, $+n = +313.0\%$). В данном варианте опыта отмечен выраженный рост продуктивной кустистости растений на 75.0%, числа колосков в колосе на 23,3%, числа зерен в колосе на 93.4%

Максимальное увеличение продуктивности растений сорта Ленинградская 6 ($Y_n = 2.09 \pm 0.23$ г/растение, $+n = +330.4\%$) выявлено при предпосевной обработке семян смесью глиоксаля с 6% хитозаном, что было связано с ростом продуктивной кустистости растений на 135.3%, массы корней на 467.1%, числа колосков в колосе на 4.3%, числа зерен в колосе на 78.7%.

Совместная обработка семян растений сорта Дарья хитозаном с последующей обработкой глиоксалем, по сравнению с использованием только хитозана, приводила к статистически достоверному увеличению продуктивности растений при использовании 4% хитозана – с 1.9 до 2.2 г/растение; 6% хитозана – с 1.5 до 2.5 г/растение. На сорте Ленинградская 6 использование для предпосевной обработки семян смеси хитозана с глиоксалем по сравнению с применением только хитозана приводило к росту продуктивности растений при использовании 5% хитозана – с 1.1 до 1.2 г/растение и 6% хитозана – с 1.3 до 2.1 г/растение.

Таким образом, обработка семян хитозаном, особенно в комбинации с глиоксалем, является перспективным способом повышения урожайности пшеницы и снижения ее поражаемости возбудителями болезней растений

Список литературы

1. Павлюшин В.А., Постовалов А.А. Приёмы фитосанитарной оптимизации агробиоценозов кормовых культур в Зауралье // Вестник Курганской ГСХА. 2023. № 1 (45). С. 13-22.
2. Шатилова Т.И., Герчиу Я.П., Бобков А.А., Тюленева Е.А., Попова С.А., Витол И.С., Карпиленко Г.П. Препараты фиторегуляторов в производстве и формировании качества зерновых культур // Известия ТСХА. Вып. 3. 2007. С.75-82.

3. Рябчинская Т.А., Зими́на Т.В. Средства, регулирующие рост и развитие растений, в агротехнологиях современного растениеводства // Агрохимия, 2017, № 12, с. 62–92.
4. Попова Э.В., Коваленко Н.М., Тютюрев С.Л., Домнина Н.С., Колесников Л.Е., Борисова Е.А. Биологическая активность хитозана с разной молекулярной массой // Вестник защиты растений. №3 (93). 2017. С. 28-33.
5. Серикбаев Р.Е. Изучение спороцидных и микобактерицидных свойств глиоксаля // Аграрный вестник Урала. № 7 (113). 2013. С. 22-23.
6. Michalik R., Wandzik I. A Mini-Review on Chitosan-Based Hydrogels with Potential for Sustainable Agricultural Applications // Polymers. 2020. 12. 2425. doi:10.3390/polym12102425

УДК 66.017

EXPLORING THE INFLUENCE OF POLYMER CONCENTRATION ON THE SURFACE MORPHOLOGY AND GEL FRACTION OF CHITOSAN-BASED HYDROGEL FOR USE IN TISSUE REGENERATION

Elangwe C.N.^{1,2}, Uspenskaya M.V.², Olekhnovich R.O.²

¹ Chemical Engineering Center, ITMO University, Kronverskiy Prospekt, 49A,
Saint Petersburg, 197101 Russia

² Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Porous hydrogel scaffolds play a crucial role in wound dressing, drug delivery and tissue engineering by creating an ideal environment for cell growth and tissue repair. These scaffolds need to have high porosity, possessing open and interconnected pore structures to enable nutrient flow, gas exchange, and waste elimination. This design resembles the natural extracellular matrix, encouraging cell adhesion and growth, which ultimately supports tissue healing and regeneration.

In this study, we explored the influence of oxidized pullulan concentration (2, 3, 4, 5 %w/v) on the pore architecture, and gel fraction of the synthesized hydrogel. Scanning electron microscopy, and FTIR spectroscopy were used to determine the surface morphology and chemical properties of the chitosan-based hydrogels respectively. In addition, the gel fraction which is used to indicate the stability and integrity of the hydrogels was determined.

Scanning electron microscopy of the crosslinked hydrogels exhibited well-interconnected pores with pore diameters ranging from about 78.9 to 131.6 μm , which could facilitate cell growth and migration, and drug encapsulation within the hydrogel matrix. The hydrogel samples demonstrated gel fractions ranging from 55 to 66 % as the oxidized pullulan concentration increased. This could be attributed to an increase in the crosslinking degree between chitosan and oxidized pullulan via imine bond, thereby improving the stability and integrity of the hydrogel network structure.

The results indicated that the porous hydrogel scaffolds could be used in biomedical applications such as tissue engineering, drug delivery, and wound dressing.

УДК 544.77:547.96:547.7

SYNTHESIS OF CHITOSAN-CAFFEINE NANOCOMPLEXES AND THEIR CHEMICAL INTERACTIONS

Ergasheva K.A., Vokhidova N.R.

Institute of Chemistry and Physics of Polymers of Scientific Academy of Uzbekistan,
Tashkent 100128, Uzbekistan

Caffeine (CF) is a biologically active compound with stimulant effects on the central nervous system, as well as antioxidant and anti-inflammatory properties. Due to its physiological effects on the body, it is widely used in pharmaceuticals and cosmetics. Nanocomplexes facilitate the targeted delivery of substances, thereby reducing side effects. However, due to its chemical instability, solubility, toxicity, and weak basicity, caffeine may present chemical compatibility issues with certain drugs or food substances. This is particularly true when used together with acids or antioxidants, where increased reactivity may occur. Encapsulation of caffeine into biodegradable biopolymers helps eliminate these aforementioned issues [1]. One such biopolymer is chitosan (CS) and its derivatives. Nanocapsules based on chitosan exhibit favorable characteristics in oral drug delivery, such as strong mucoadhesiveness, biocompatibility, enhanced dissolution rate of hydrophobic drugs, stability, and controlled release of the active ingredient [1]. Based on these properties, the synergistic effects of chitosan and caffeine enable the possibility of synthesizing their nanocapsules.

Based on the above, in this study we aimed to synthesize chitosan-caffeine nanocapsules. For this purpose, a 1% solution of Bombyx mori chitosan (MM 84000 Da, DAD 86%) in dilute HCl was used. Tetrahydrofuran was employed to dissolve caffeine. Initially, the mixture of their solutions was thoroughly stirred for 30 minutes and then precipitated using a Na₂SO₄ solution. The resulting precipitate was thoroughly washed with distilled water until neutral and subsequently separated and dried using a lyophilizer.

The suspension of the obtained CS:CF capsules was prepared, and the hydrodynamic sizes of the particles were analyzed using the DLS (Dynamic Light Scattering) method (figure 1).

In chitosan, it was determined that 78% of the particles had a hydrodynamic radius of 15 nm, and 22% were 52 nm in size. In caffeine, 62% of the particles measured 22 nm, while 38% were 539 nm. As for the CS:CF capsules, 84% of the particles exhibited a hydrodynamic radius of 83 nm, which confirms the formation of CS:CF nanoparticles.

The FTIR spectra of the CS:CF nanocomplex were analyzed. In chitosan, the broad peak observed at 3400–3200 cm⁻¹ is primarily attributed to O–H stretching (hydroxyl groups) and N–H stretching (amino groups). The region at 2920–2850 cm⁻¹ corresponds to C–H stretching vibrations of the aliphatic groups (CH, CH₂, CH₃) in chitosan. Vibrations in the 1650–1600 cm⁻¹ region are significant and associated with a complex structural arrangement. The peak at around 1600 cm⁻¹ is related to N–H bending of primary amines (NH₂). This is the primary peak for chitosan. Additionally, at 1420 cm⁻¹, stretching of the C–N bond, at 1380 cm⁻¹, C–H bending, and vibrations corresponding to the amid III band were observed. The 1150–1000 cm⁻¹ region is the "saccharide" area, where C–O stretching of glycosidic bonds and C–O stretching of alcohol groups are present. In this region, the peaks at 1070 cm⁻¹ and 1030 cm⁻¹ correspond to C–O bonds, while the 1150 cm⁻¹ peak is characteristic of C–O–C bridges. The FTIR spectrum of the chitosan-caffeine nanocapsules shows changes in the 3400–3200 cm⁻¹ region, which are

characteristic of O–H and N–H bonds, indicating that the vibration peaks have broadened. If a hydrogen bond exists between chitosan and caffeine, the width and intensity of this peak may change. This indicates the interaction between the widespread hydroxyl and amino groups in the molecular complexes. The encapsulation of caffeine within the chitosan matrix can be observed from the decrease in the intensity of its characteristic peaks.

This indirectly confirms the encapsulation of caffeine within the chitosan. To study the morphology of the synthesized CS-CF based complex, an SEM investigation was conducted.

The SEM image showed the formation of spherical nanoparticles of CS-CF with sizes ranging from 220 to 450 nm. The Energy-Dispersive Spectroscopy (EDS) images showed that the nanoparticles contained C, N, and O elements. The presence of Si in the elemental analysis can be explained by the use of a glass substrate for the film.

Thus, nanostructured complexes based on CS and CF were obtained, and their structure was studied using FTIR spectroscopy. The formation of spherical nanoparticles was demonstrated under the selected synthesis conditions. The obtained nanostructured CS derivatives may arouse interest in the future as containers for drug delivery.

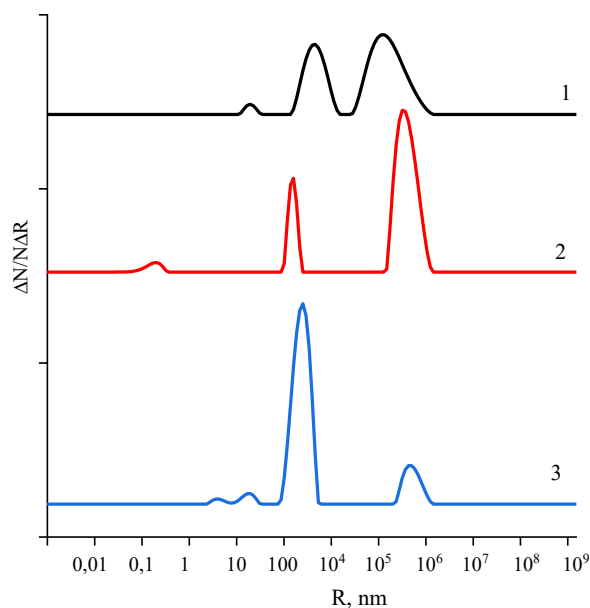


Figure 1. DLS analysis. 1) CF; 2) CS; 3) CS-CF

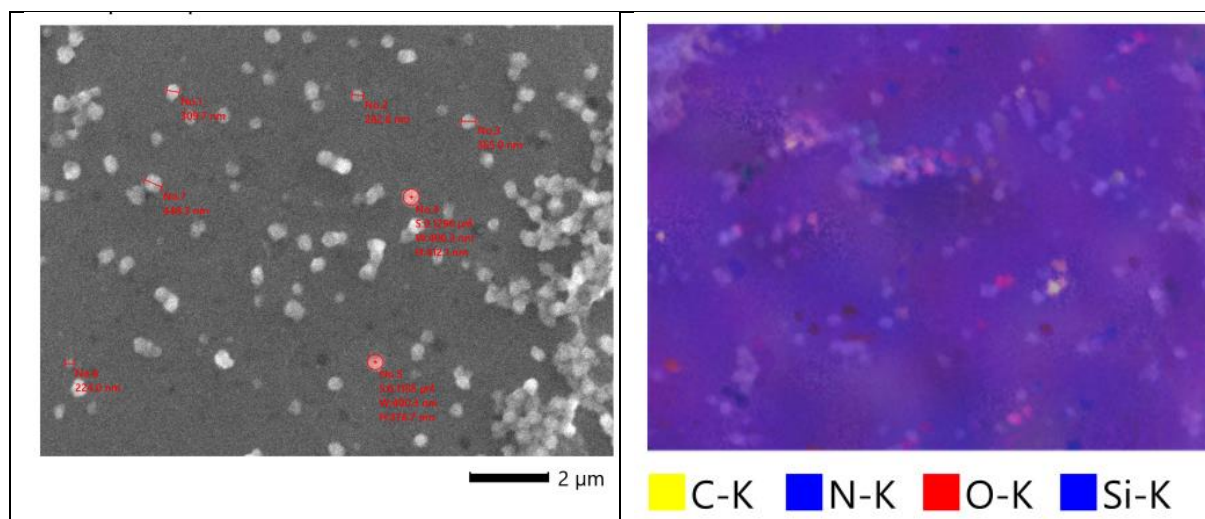


Figure 2. SEM and Energy-Dispersive Spectroscopic (EDS) analysis image of the chitosan-caffeine nanostructured complex.

References

1. McLellan, T. M., Caldwell, J. A., & Lieberman, H. R. A review of caffeine's effects on cognitive, physical and occupational performance. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2016. 71, 294–312. doi:10.1016/j.neubiorev.2016.09.001

УДК 577.3; 541.64

SYNTHESIS OF INTERPOLYELECTROLYTE COMPLEXES BASED ON *BOMBYX MORI* CHITOSAN AND β -D-CYCLODEXTRIN

Jakhonkulova Z.V., Vokhidova N.R.

Institute of Chemistry and Physics of Polymers, Academy of Sciences of Uzbekistan
100128 Tashkent A. Kadyri st., 7b

Chitosan (CS) has attracted considerable attention due to its unique physicochemical properties and is regarded as one of the most promising biopolymers for the fabrication of nanocontainers, owing to its biocompatibility, biodegradability, non-toxicity, and efficiency [1]. Interpolyelectrolyte complexes (IPECs) based on CS represent an emerging platform for targeted drug delivery systems, offering gradual, controlled, and sustained release profiles.

In this study, chitosan, acting as a positively charged polycation, was employed to form IPECs with β -D-cyclodextrin (β -CD) derivatives. Nanocontainers derived from IPECs offer several advantages, including enhanced solubility and bioavailability of poorly water-soluble drugs; protection of labile drugs against degradation; modulation of drug distribution across tissues; facilitation of cellular uptake via endocytosis and diffusion; and the co-delivery of multiple therapeutic agents, which is crucial for combination therapies [2].

To achieve this, IPECs were synthesized utilizing *Bombyx mori*-derived chitosan and β -D-cyclodextrin. A polyanion functionalized with carboxyl groups was initially prepared via the reaction of β -D-cyclodextrin with citric acid. Potentiometric titration revealed that 35.7% of the hydroxyl groups in β -D-cyclodextrin were substituted with carboxyl functionalities.

IPECs were then fabricated at mass ratios of CS/ β -CD = 1:9 and 9:1, and their hydrodynamic parameters were characterized. Dynamic light scattering (DLS) analysis demonstrated that non-stoichiometric complexes with particle sizes ranging from approximately 40 nm (10.5%) to 5 nm (89.5%) were obtained, particularly in systems prepared at a mass ratio of 3:7. The ability of these complexes to provide sustained and controlled drug release is currently under investigation.

The synthesized IPECs present significant potential for pharmaceutical and biomedical applications, particularly for the targeted delivery of hydrophobic therapeutic agents.

References

1. Hussein Osman Ammar, S. A. El-Nahas, M. M. Ghorab, A. H. Salama; Chitosan/cyclodextrin nanoparticles as drug delivery system. *J Incl Phenom Macrocycl Chem* (2012) 72:127-136. doi 10.1007/s10847-011-9950-5
2. Yan-Zuo Chen, Yu-Kun Huang, Yuan Chen, Ya-Jing Ye, Kai-Yan Lou, Feng Gao. Novel nanoparticles composed of chitosan and β -cyclodextrin derivatives as potential insoluble drug carrier. *Chinese Chemical Letters* 26 (2015) 909-913, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cclet.2015.05.044>

УДК 541.64

NANOPARTICLES UNDER “*IN SITU*” AND “*EX-SITU*” CONDITIONS AND THEIR BIOLOGICAL APPLICATIONS

*Kodirkhonov M.R.¹, Vokhidova N.R.², Rashidova S.Sh.², Kadir Khanov J.M.³,
Abdullayev N.J.¹*

¹ Namangan State Pedagogical Institute, Namangan city, Uzbekistan

² Institute of chemistry and physics of polymers of Academy of Sciences of Republic of
Uzbekistan

³ Namangan State Technical University, Namangan city, Uzbekistan

Nanoparticles are more reactive than their ions, so the first task is to develop methods for obtaining and effectively stabilizing NPs with a narrow size distribution. Silver NPs that are not properly stabilized are easily subjected to rapid oxidation and agglomeration in solutions, which makes their application difficult. The use of alkanol as a reducing agent is due to the production of pure nanoparticles that do not require additional purification from reaction side compounds. In this regard, the stabilization of Ag NPs with natural polymers is an urgent task in the creation of biologically active and environmentally friendly agricultural preparations.

This work aims to develop a method for the synthesis of chitosan-stabilized Ag NPs in the presence of chemical reducing agents and to study their physicochemical and fungicidal properties.

The isolation of chitosan (CS) was carried out in the following order: extraction of chrysalis oil, deproteinization, demineralization, bleaching from pigments, deacetylation of chitin, filtration, washing with water to pH=7, and drying of chitosan. CS samples (MM-38-55 kDa; DDA 72%) were used in the work.

The reduction of silver ions in the presence of an aliphatic alkanol was carried out as follows: 5×10^{-3} M solutions of silver nitrate were prepared with pH values from 6 to 11 using 0.1 N NaOH. Then, a calculated amount of 5×10^{-3} M AgNO₃ solution was added to the reactor equipped with a reflux condenser and titrated with a reducing agent in the CH₃-CH(OH)-CH₃/Ag⁺=10:1 mol module, and the solution was intensively stirred at the boiling points of propanol-2 on a magnetic stirrer for 1 hour. The change in the color of the solutions indicates the formation of silver nanoparticles under “*ex situ*” conditions, that is, in the absence of a stabilizing agent.

At different pH values, silver nanoparticles with different sizes and distributions were formed. The obtained samples of silver nanoparticles were studied by UV-spectroscopy.

Apparently, with an increase in the pH of the silver nitrate solution from 6 to 11, the reduction of silver ions increases (visually), which promotes the agglomeration of active nanoparticles. In this regard, for further experiments under “*in situ*” conditions, we chosen pH=6 as the optimal medium for synthesis.

The hydrodynamic radius of particles and their distribution were measured by the DLS method

The results show that at pH=6 the silver ions are rapidly reduced and the size of 86% of the particles is 225 nm, i.e. the distribution of NPs in solution is unimodal. Note that with an

increase in the pH of the medium, the polydispersity of particles increases, although their percentage in solutions increases from 70 to 92.5%. The presence of nanoparticles with sizes of 23–52–62 microns or 8.2 mm in the reaction medium indicates that at pH = 8.5–11, the redox reaction between silver ions and the reducing agent is accelerated and promotes the agglomeration of active Ag NPs under “*ex situ*” conditions.

We obtained chitosan stabilized silver NPs in the presence of 2-propanol. The reduction of silver ions with alkanol is carried out in the presence of chitosan.

It was found that the time of interaction of silver ions with propanol-2 in the presence of chitosan affects the formation and stabilization of the resulting silver NPs. Over time, the color of the reaction mixture changes from beige to brown, which such a visual change indicates the reduction of silver ions ($\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}^0$).

The results show that when the molar ratio of CS/Ag⁺ is varied from 5 to 30, the NP size decreases from 140 nm to 20 nm, respectively. This is probably because silver particles are stabilized due to their interaction with electron-donating functional groups ($-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{NHCOCH}_3$) of chitosan. Due to chemisorption, a protective chitosan layer is formed on the surface of silver NPs. In this case, NPs are physically isolated from each other, which prevents their agglomeration and oxidation, and, accordingly, the NP size decreases.

The resulting films of the CS/Ag sample were studied by scanning electron microscopy and XRD analysis.

The XRD diffraction pattern shows the spectrum of Ag NPs obtained at $n(\text{CS}/\text{Ag}^+) = 30$ mol. As can be seen from Fig. 1, the X-ray diffraction pattern contains reflections observed for Ag NPs and a polymer matrix - CS, which is consistent with JCPDS No. 04-0783.

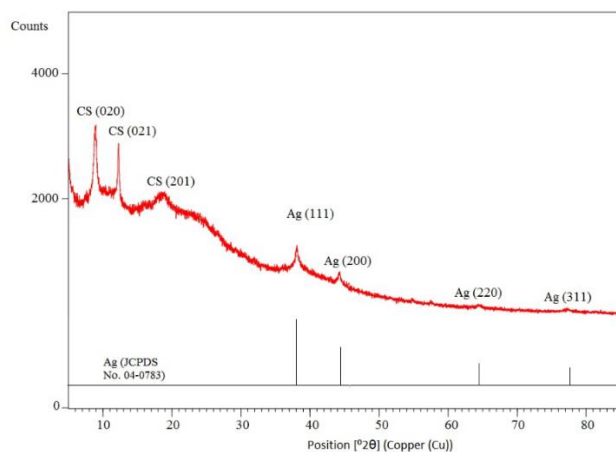


Fig. 1. Diffraction pattern of CS/Ag obtained at $(\text{CS}/\text{Ag}^+) = 30$ mol

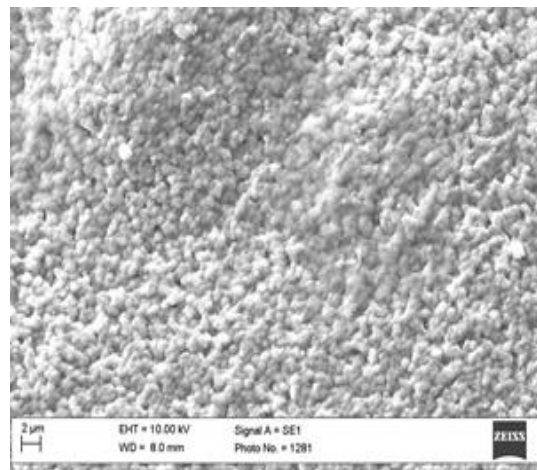


Fig. 2. Microphotographs of Ag NPs obtained in the presence of chitosan at $\text{CS}/\text{Ag}^+ = 30$ mol

The resulting films of the CS/Ag sample were studied by scanning electron microscopy (Fig. 2). As can be seen, under the chosen synthesis conditions, spherical CS/Ag nanoparticles were formed, which are monodisperse NPs uniformly distributed on the polymer matrix.

The chosen synthesis conditions, spherical CS/Ag nanoparticles were formed, which are monodisperse NPs uniformly distributed on the polymer matrix. The EDS-spectrum confirms the presence of 4.1% Ag nanoparticles in the synthesized sample at $n(\text{CS}/\text{Ag}^+) = 30$ mol.

The fungicidal properties of CS/Ag⁰ solutions were studied by testing the growth and development of phytopathogenic fungi - *Fusarium solani* 169, *Fusarium oxysporium* 280,

Verticillium dahliae 57. It was found that 0.2-0.5% acetic-water solutions of chitosan/Ag⁰ more effectively suppress the growth and development of pathogens of phytopathogenic fungi *Fusarium solani* 169, *Fusarium oxysporium* 280, and *Verticillium dahliae* 57, which form an inhibitory zone from 25 to 34 mm, respectively. At the same time, 0.5-1% solutions of CS/Ag⁰ in hydrochloric acid form a The results indicate that acetic-water solutions of chitosan/Ag⁰ have a pronounced fungicidal activity, expansion sterile zone from 17 to 24 mm.

Thus, chitosan-stabilized silver NPs were obtained in the presence of 2-propanol under “*in situ*” and “*ex situ*” conditions. The influence of various factors on the formation and stabilization of metal NPs, such as pH, R(CS/Ag⁺), synthesis time, and the molecular weight of chitosan, has been established. It was found that in the presence of reducing agents, at pH=6, 70-92.5% silver nanoparticles with controlled hydrodynamic radii are formed. The values of the diffusion coefficient for all fractions of nanoparticles at pH from 6 to 11 are determined and their inverse proportionality with the hydrodynamic radii of the particles is shown. The role of chitosan as an effective stabilizer of silver nanoparticles is revealed. It was shown that the resulting nanosystems have a pronounced fungicidal activity against pathogens of phytopathogenic fungi *Fusarium solani* 169, *Fusarium oxysporium* 280, and *Verticillium dahliae* 57, forming a sterile zone of 31-34 mm.

УДК 615.322.4

NANOCAPSULES BASED ON N-SUCCINYL CHITOSAN FROM *BOMBYX MORI* WITH FUNGICIDAL PROPERTIES AGAINST *FUSARIUM OXYSPORUM*

Vokhidova N.R.¹, Mamasoliyev U.M.¹, Asrakulova D.¹, Yiyang Jiang², Hongguo Xie²,
Heng Yin²

¹ Institute of Chemistry and Physics of Polymers of Scientific Academy of Uzbekistan
100128 Tashkent, A. Kadyri st., 7b

² Dalian Institute of Chemical Physics of Chinese Academy of Sciences
Zhongshan Road 457, Shahekou district, Dalian 116023 CN

Currently, advancements in nanotechnology have been widely applied in agriculture. [1]. In particular, insecticidal nanopreparations based on the natural polysaccharide chitosan (CS) have high biological efficacy at low doses, an increased duration of use, and are non-toxic, so they do not have a harmful effect on living systems and the environment. Due to strong intermolecular hydrogen bonding, CS is poorly soluble in physiological solvents, which somewhat limits its widespread use. By introducing succinyl groups into the side chain of chitosan, its water-soluble derivative, N-succinylchitosan (N-SCS), is synthesized. N-SCS is a biocompatible, biodegradable, and pH-sensitive polymer, similar to CS, and the abundance of electron-donating functional groups (-NH₂, -OH, and -COOH) in its macromolecule enhances the biologically active properties of N-SCS [2]. These functional groups can form covalent bonds with other molecules, increasing their hydrophilicity.

In this study, nanoparticles of 4-hydroxyphenyl-2-propen-1 derivatives and N-SCS were synthesized and the biological activity of these nanopesticides against the microorganism *Rhizoctonia solani* was studied. When the antibacterial activity of hydrophobically modified dodecylsuccinylphthaloyl CS and N-SCS was compared against gram-positive bacteria (*S. aureus* and *B. subtilis*) and the gram-negative bacterium *E. coli*, the efficacy was 87.5 [3].

Moreover, today in agriculture, synthetic pesticides are mainly used as plant protection agents. Synthetic pesticides pollute the ecosystem, that is, soil and water, harm flora and fauna that are beneficial to humans. In addition, this leads to an increase in the number of pathogenic microorganisms that are resistant to pesticides. From this point of view, today there is a high demand for environmentally safe bioactive chitosan-based preparations. Therefore, obtaining water-soluble, nanostructured N-SCS samples is of great interest. Studying the hydrodynamic parameters and morphology of nanocomposites, as well as their fungicidal properties against pathogenic microorganisms that damage agricultural crops, is of scientific and practical interest.

N-SCS-TPP NPs were synthesized based on N-SCS and their morphology and insecticidal properties were studied.

Morphological studies of nanostructures in N-succinyl chitosan macromolecules were conducted by transmission electron microscopic method. According to TEM images, in the morphology of N-SCS-TPP, spherical NPs were formed, evenly distributed over the matrix (Figure 1).

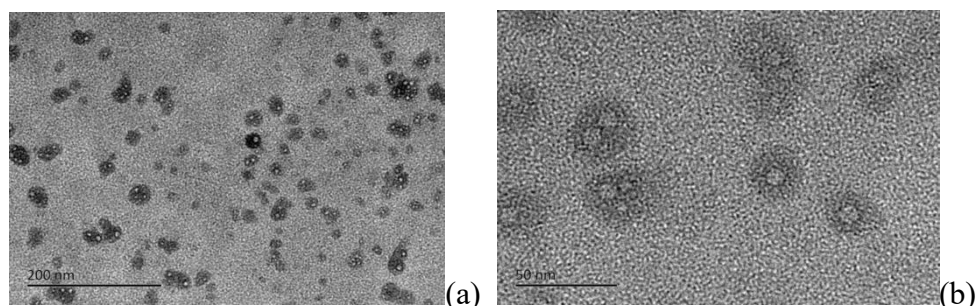


Fig. 1. TEM images of N-SCS-TPP NPs obtained by self-assembly technique, 200 nm (a); 50 nm (b)

The study of the morphology of N-SCS by the TEM method shows that the particles correspond in structure to a nanocapsule consisting of spherical and spheroid N-SCS particles filled with Na-TPP nuclei. In the pictures with different scales, mono-, bi- and multinuclear capsules are clearly visible (Fig. 1a). At a higher resolution, i.e. at a 50 nm scale, the structure of the nanocapsules is clearly visible (Fig. 1b). The average size of the capsules is approximately 12.5 nm. The results indicate that N-succinyl chitosan is a more promising polymer matrix that can be used to create effective, environmentally friendly nanocapsules for the prevention and treatment of diseases of agricultural crops.

Thus, the comparative analysis of TEM results provides a unique opportunity to observe the dynamics of morphological changes, which plays a key role in optimizing technological processes and expanding the range of application of polymer nanopreparations in plant growing. In summary, we can say that a deep study of the morphology of synthesized nanostructures opens up new prospects for its application.

The fungicidal activity of both solutions was monitored over 72 hours. After this period, it was determined that the solutions of *Bahor*, N-SCS-TPP and N-SCS, preparations produced an average sterile zone of 23 ± 2 mm, 25 ± 2 mm, and 15 ± 2 mm, respectively. In the future, it is recommended to focus on obtaining effective results by increasing the concentration and amount of the solution.

To conclude, N-SCS was obtained and titrated with Na-TPP solution to synthesize N-SCS-TPP. When titrated with Na-TPP solution, it was found that the particles self-assembled, and the N-SCS-TPP nanoparticles were wrapped with polymer to form nanocapsules. A comparative analysis of TEM microscopic images at different sizes revealed the formation of mono-, bi- and multinucleated capsules. The self-assembly of these particles led to the formation of nanostructures in solution due to electrostatic interactions and interactions between electron-donating groups, such as H-H bonds. It was found that solutions of N-SCS-TPP form sterile zones in interval 25 ± 2 mm against the pathogenic microorganisms *Fusarium oxysporum* and exhibit effective fungicidal activity, which is of both scientific and practical interest in agriculture.

Results of the study. The process of zone formation by N-SCS and N-SCS-TPP preparations inhibiting the development of pathogenic microorganism mycelium was monitored for 72 hours. The *Bahor* preparation was used as a reference.

Table 1

Fungicidal activity of solutions of biological preparations against pure cultures of the phytopathogen *Fusarium oxysporum*

№	Drugs	Average sterile zone, mm			Δd , mm
		1 return	2 return	3 return	
1	Etalon (<i>Bahor</i>)	 22	 22	 25	23±2
2	N-SCS	 14	 16	 15	15±2
3	N-SCS-TPP	 25	 26	 24	25±2

References

1. Y Yang, P Jiao. Nanomaterials and nanotechnology for biomedical soft robots. *Mater Today Adv* 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mtadv.2022.100338>
2. Ch Srimai, W Sukmongkolwongs, K Manokruang, P Worajittiphon, R Molloy, A Mahomed, R Somsunan. Enhancement of Poly (vinyl alcohol) Hydrogel Properties by *N*-Succinyl Chitosan and *Mesona chinensis* Extract for Use as Wound Dressings. *European Polymer Journal*. 2024. doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2024.113212
3. R Kumari, SS Narvi, PK Dutta. Synthesis of chitosan succinate-g-amine functionalized mesoporous silica: Inorganic-organic nanohybrid for antibacterial assessment, antioxidant activity and pH-controlled drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123763>.

Материалы Семнадцатой международной конференции
«Современные перспективы в исследовании
хитина и хитозана» (РосХит-2025)

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского».
603022, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23.

Подписано в печать 25.06.2025. Формат 60×84 1/16.
Бумага офсетная. Печать цифровая. Гарнитура Таймс.
Усл. печ. л. 14. Заказ № 204/25. Тираж 10 экз.

Отпечатано в типографии Нижегородского госуниверситета
им. Н.И. Лобачевского.
603000, Нижний Новгород, ул. Большая Покровская, 37.