

Егоров Антон Романович

**ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СИНТЕЗА И ПОТЕНЦИАЛЬНОГО
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НОВЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ХИТИНА И ХИТОЗАНА**

1.5.15. Экология (химические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Москва 2024

Работа выполнена на кафедре неорганической химии факультета физико-математических и естественных наук, а также на департаменте экологии человека и биоэлементологии Института экологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (РУДН).

Научный руководитель:

Критченков Андрей Сергеевич

доктор химических наук, профессор департамента экологии человека и биоэлементологии Института экологии РУДН

Официальные оппоненты:

Варламов Валерий Петрович

доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией биополимеров Института биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН, президент Российского хитинового общества

Акопова Татьяна Анатольевна

доктор химических наук, профессор, заведующая лабораторией твердофазных химических реакций Института синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН)

Защита диссертации состоится «__» _____ 2024 г. в __ час. __ мин. на заседании Совета по защите докторских и кандидатских диссертаций ПДС 0800.002 при Российском университете дружбы народов им. Патриса Лумумбы по адресу: 115093, Москва, Подольское ш., 8с5.

С диссертацией можно ознакомиться на сайте <https://www.rudn.ru/science/dissovet> и в Учебно-научном информационном библиографическом центре Российского университета дружбы народов им. Патриса Лумумбы по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

Автореферат разослан «__» _____ 2024 года.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат биологических наук,

Е.В. Аникина

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В современной экологической химии одним из важнейших направлений является развитие методов зеленой химии, о чём напрямую указывает всемирно известный химик-эколог Стэнли Манахан в своих фундаментальных работах в области химии окружающей среды, ставшими классическими для подготовки высококвалифицированных химиков-экологов^{1,2}. Зелёная химия представляет собой совокупность методов и подходов, цель которых заключается в усовершенствовании химических процессов, направленном на уменьшение отрицательного влияния на окружающую среду. Согласно двенадцати принципам зелёной химии, сформулированными Полом Анастасом и Джоном Уорнером в 1998 году³, к важнейшим химическим решениями для минимизации отрицательного влияния химических процессов на окружающую среду относят (*i*) использование экологически безопасных растворителей и экологически безопасных реагентов, и (*ii*) разработку методов и подходов для ощутимого снижения количеств реагентов, представляющих опасность для окружающей среды.

В рамках данной диссертационной работы получили развитие оба вышеупомянутых типа химических решений применительно к химии хитина и хитозана. Во-первых, в разработанных методиках химической модификации хитина и хитозана в качестве реакционной среды была использована вода как самый экологически чистый растворитель. Особенно это важно для химии хитина, поскольку исследования, сосредоточенные на использовании воды в качестве среды для химической модификации хитина представлены в литературе лишь единичными примерами. В подавляющем же большинстве работ в качестве растворителя используются токсичные и агрессивные системы: диметилацетамид/ LiCl или же концентрированная щёлочь/мочевина. Во-вторых, в данной работе для интенсификации химических превращений используется ультразвуковое облучение, которое позволяет в разы уменьшить количества реагентов для химической модификации в сравнении с традиционными подходами. Кроме того, использование ультразвука позволяет существенно сократить и время протекания реакций (иногда в десятки раз).

Повышенный спрос на экологичные катализаторы в рамках развития зелёной химии значительно расширил использование хитозана и хитина в качестве органокатализаторов. Однако зачастую упомянуты природные полисахариды характеризуются недостаточной каталитической активностью, но их химическая модификация способна преодолеть имеющиеся недостатки. Следовательно, химическая модификация хитозана и хитина является актуальным направлением в области поиска новых экологичных высокоэффективных катализаторов органических превращений. В данной диссертационной работе это направление также получило свое развитие: полученные в рамках диссертационного исследования производные хитозана были использованы как зеленые катализаторы селективного окисления спиртов в карбонильные соединения.

¹ Fundamentals of sustainable chemical science / Manahan S. E.: CRC Press, 2009. – 392 p.

² Environmental chemistry / Manahan S. E.: CRC Press, 2017. – 752 p.

³ Green Chemistry: Theory and Practice / Anastas P. T., Warner J. C.: Oxford University Press, 1998. – 148 p.

В 2018 году Европейской комиссией официально было озвучено, что загрязнение воды и почвы антибиотиками представляет собой «крайне серьезную проблему для здоровья населения и важную экологическую проблему»⁴. С этим утверждением согласились специалисты Индии, Китая, России, США, Японии и других стран⁵.

Сточные воды учреждений здравоохранения, фармацевтических предприятий и животноводческих комплексов представляют собой важнейший источник поступления антибиотиков в окружающую среду. Это связано с тем, что антибиотики практически не подвергаются биохимической трансформации в очистных сооружениях⁶. Самое важное и тревожное негативное последствие попадания антибиотиков в окружающую среду заключается в формировании к ним резистентности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Кроме того, антибиотики приводят к нарушению функционирования очистных сооружений и систем компостирования, аккумулируются в сельскохозяйственных растениях и животных, а также в рыбе⁵.

Одной из важнейших и эффективных стратегий устранения упомянутой выше экологической проблемы является снижение уровня потребления антибиотиков. Для достижения этой цели используется законодательное регулирование, медицинские и химические решения. Медицинские решения заключаются в разработке новых протоколов лечения, предполагающих использование меньших доз антибиотиков, в то время как химические решения включают (i) синтез новых экологически безопасных фармакологически активных соединений, являющихся альтернативой традиционным антибиотикам, а также (ii) разработку систем адресной доставки и пролонгированного высвобождения антибиотиков, что позволяет значительно снизить частоту приёма и дозу препарата. В рамках данной работы получили своё развитие оба типа химических решений обозначенной экологической проблемы. В первой части работы были получены нетоксичные производные природных биосовместимых биodeградируемых полимеров – хитина и хитозана, которые по своей антибактериальной активности сопоставимы с традиционными антибиотиками. Во второй части работы были получены системы пролонгированного высвобождения антибиотиков, позволяющие в экспериментах *in vivo* достичь терапевтического эффекта при меньшей дозе препарата.

В связи с вышесказанным **цель работы** состояла в развитии методов зеленой химии для химической модификации хитина и хитозана, а также в разработке новых малотоксичных высокоэффективных антибактериальных систем на основе хитозана. **Задачи работы** заключались в (i) выявлении акустических условий (частота и мощность ультразвукового облучения), позволяющих интенсифицировать синтез производных хитозана и хитина в воде; (ii) разработке методик синтеза производных хитозана и хитина под действием ультразвука в самом экологически чистом растворителе – воде; (iii) получении на основе производных данных полисахаридов

⁴ Kinrys G., Gold A. K., Worthington J. J., Nierenberg A. A. Medication disposal practices: Increasing patient and clinician education on safe methods // Journal of International Medical Research. – 2018. – V. 46, № 3. – P. 927-939.

⁵ Kraemer S. A., Ramachandran A., Perron G. G. Antibiotic Pollution in the Environment: From Microbial Ecology to Public Policy // Microorganisms. – 2019. – V. 7, № 6. – P. 180.

⁶ Aydin S., Aydin M. E., Ulvi A., Kilic H. Antibiotics in hospital effluents: occurrence, contribution to urban wastewater, removal in a wastewater treatment plant, and environmental risk assessment // Environmental Science and Pollution Research International. – 2019. – V. 26, № 1. – P. 544-558.

систем с выраженной противомикробной, а также каталитической активностью в сочетании с минимальной токсичностью.

Научная новизна работы заключается в том, что (i) выявлены акустические условия, позволяющие интенсифицировать в взаимодействии в воде хитина и хитозана с бромидом 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия и ДЦК-опосредованное взаимодействие хитозана с ципрофлоксацином; (ii) в соответствии с принципами зеленой химии разработаны методики синтеза селенсодержащих производных хитина и хитозана; (iii) на основе хитозана впервые получен ряд систем пролонгированного высвобождения ципрофлоксацина: (a) конъюгаты ципрофлоксацин-хитозан без рН-чувствительного спейсера, (b) конъюгаты ципрофлоксацин-хитозан со спейсером, (c) загруженные ципрофлоксацином самособирающиеся наночастицы (на основе конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан без спейсера), (d) загруженные наночастицы на основе конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан без спейсера, полученные методом ионотропного гелеобразования, (e) загруженные наночастицы на основе конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан со спейсером, приготовленным методом ионного гелеобразования; (iv) выявлена высокая противомикробная активность в сочетании с низкой токсичностью у селенсодержащих производных хитина и хитозана (v) установлено, что загруженные ципрофлоксацином самоорганизующиеся наночастицы на основе конъюгатов без спейсера характеризуются (1) хорошим профилем высвобождения антибиотика, (2) высокой антибактериальной активностью и низкой токсичностью *in vivo* и требуют меньшей дозы антибиотика для достижения терапевтического эффекта; (vi) выявлена высокая каталитическая активность наночастиц селенсодержащих производных в реакции окисления 1-фенилэтилового спирта в ацетофенон бромом при комнатной температуре.

Практическая ценность работы состоит в том, что в результате работы (i) получили развитие методы зеленой химии в химической модификации хитина и хитозана, (ii) синтезированы новые высокоэффективные «зелёные» катализаторы, а также (iii) получены новые высокоактивные *in vivo* нетоксичные антибактериальные соединения.

Методология и методы. Для выполнения работы применялись современные физико-химические методы анализа, а также классические и современные методы синтетической химии.

Апробация работы. Результаты работы докладывались на ряде всероссийских и международных конференций в виде устных и стендовых докладов.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов работы подтверждается исследованиями с помощью ряда физико-химических методов: ИК-спектроскопией, спектроскопией ЯМР, масс-спектрометрией высокого разрешения, элементным анализом, рентгеноструктурным анализом, термогравиметрическим анализом и др.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 6 статей в журналах, реферируемых в базах данных Web of Science и Scopus. Также опубликован ряд тезисов докладов на конференциях.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 132 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературных данных,

обсуждения полученных результатов, экспериментальной части, основных результатов и выводов, а также списка цитируемой литературы, включающего 237 наименований; в диссертации 4 главы. Диссертация содержит 12 схем, 20 таблиц и 15 рисунков.

Положения, выносимые на защиту:

1. Возможность интенсификации ультразвуком в *самом экологически чистом растворителе (воде)* взаимодействия хитина и хитозана с бромидом 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия и ДЦК-опосредованного взаимодействия хитозана с ципрофлоксацином без деструкции полисахаридной цепи.
2. Методики *зеленого сонохимического синтеза* селенсодержащих и ципрофлоксациновых производных упомянутых полисахаридов и наночастиц на их основе.
3. Высокая каталитическая активность наночастиц селенсодержащих производных – *новых зеленых катализаторов* в реакции окисления 1-фенилэтилового спирта в ацетофенон бромом.
4. Высокая противомикробная активность в сочетании с *низкой токсичностью* селенсодержащих производных хитозана и наночастиц на их основе (потенциальная альтернатива традиционным антибиотикам).
5. Подход к получению наночастиц на основе конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан с хорошим профилем высвобождения антибиотика, их высокая антибактериальная активность в сочетании с *низкой токсичностью* (в том числе *in vivo*).

Личный вклад соискателя. Автор выполнил все приведённые в работе химические эксперименты, принимал участие в биологических экспериментах, обработал полученные результаты, подготовил обзор литературных данных и принял непосредственное участие в интерпретации и обобщении полученных экспериментальных данных, а также в подготовке статей для публикации.

Работа выполнена в рамках реализации следующих проектов (грантов): РФФ 23-23-00021 (диссертант является **руководителем** данного гранта). Результаты исследований автора, составившие основу данной диссертации, были отмечены Шорыгинской премией (2022 год, Москва).

2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1. Получение селенсодержащих производных хитина и хитозана, наночастиц на их основе, исследование их противомикробной и каталитической активности

Химическая модификация хитина и хитозана играет ключевую роль в создании новых производных с привлекательными физико-химическим, механическими и биологическими свойствами⁷. В протоколах синтезов производных хитина и хитозана особо важными недостатками с точки зрения экологической химии и зеленой химии являются: (i) использование токсичных и агрессивных реакционных сред (диметилацетамид/LiCl или же концентрированная щёлочь/мочевина), что касается

⁷ Verma M. L., Kumar S., Das A., Randhawa J. S., Chamundeeswari M. Chitin and chitosan-based support materials for enzyme immobilization and biotechnological applications // Environmental Chemistry Letters. – 2020. – V. 18, № 2. – P. 315-323.

химии хитина, а также (ii) вовлечение больших избытков модифицирующих реагентов даже для достижения невысоких степеней замещения. Например, даже для такой гладкой и селективно протекающей реакции, как образование оснований Шиффа при взаимодействии хитозана с ароматическими альдегидами, при достижения низкой степени замещения (около 0.15) требуется трехкратный избыток реагента в сравнении с расчетным его количеством⁸. Таким образом, (i) переход в химии хитина от агрессивных реакционных сред к воде и (ii) разработка подходов к снижению избытка модифицирующих реагентов в химии хитина и хитозана являются важными задачами, лежащими в плоскости зеленой химии.

Селенсодержащие гетероциклические производные не описаны ни в химии хитина, ни в химии хитозана. При этом селеновые гетероциклы перспективны в качестве (i) зеленых органокатализаторов⁹ и (ii) нетоксичных антибактериальных веществ¹⁰. В связи с этим в рамках данного раздела работы было решено получить первые селенсодержащие производные хитина и хитозана путем алкилирования хитина или хитозана бромидом 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия (**схема 1 и 2**). Было сделано предположение, что эти новые производные хитина и хитозана будут обладать антимикробной активностью благодаря своей поликатионной природе. Токсичность же таких систем, как предполагалось, должна быть низкой. Это связано с тем, что конъюгация антибактериального фармакофора с полимерной матрицей хитозана зачастую способна резко снизить токсичность фармакофора без потери антибактериального эффекта¹¹. Таким образом, производные хитина и хитозана с подобными свойствами могут представлять собой интерес как альтернатива антибиотикам. Кроме того, селенсодержащий гетероциклический заместитель может придавать указанным производным способность к каталитической активности в реакции окисления спиртов в соответствующие карбонильные соединения, поскольку структурно родственные гетероциклы (например, изоселеназолон) характеризуются выраженной каталитической активностью в данном типе органических превращений и рассматриваются в качестве зеленых катализаторов.

Учитывая экологическую направленность работы, была поставлена цель не просто получить селенсодержащие производные путем алкилирования хитина и хитозана, но и достичь алкилирования в самом экологически чистом растворителе – воде, при этом максимально уменьшив количество алкилирующего реагента.

В недавних исследованиях нашей научной группой была разработана простая и удобная методика алкилирования простыми алкилгалогенидами под действием

⁸ Raik S. V., Poshina D. N., Lyalina T. A., Polyakov D. S., Vasilyev V. B., Kritchenkov A. S., Skorik Y. A. N-4-(N,N,N-trimethylammonium)benzyl chitosan chloride: Synthesis, interaction with DNA and evaluation of transfection efficiency // Carbohydrate Polymers. – 2018. – V. 181. – P. 693-700.

⁹ Singh F. V., Wirth T. Selenium reagents as catalysts // Catalysis Science & Technology. – 2019. – V. 9, № 5. – P. 1073-1091.

¹⁰ Tran P., Kopel J., Ristic B., Marsh H., Fralick J., Reid T. Antimicrobial seleno-organic coatings and compounds acting primarily on the plasma membrane: A review // Advances in Redox Research. – 2022. – V. 4. – P. 100031.

¹¹ Kritchenkov A. S., Egorov A. R., Kurasova M. N., Volkova O. V., Meledina T. V., Lipkan N. A., Tskhovrebov A. G., Kurliuk A. V., Shakola T. V., Dysin A. P., Egorov M. Y., Savicheva E. A., dos Santos W. M. Novel non-toxic high efficient antibacterial azido chitosan derivatives with potential application in food coatings // Food Chemistry. – 2019. – V. 301. – P. 125247.

ультразвука¹². В рамках данной главы диссертации был поставлен вопрос о возможности проведения зеленого ультразвукового алкилирования хитина или хитозана в воде сложным алкилирующим реагентом – бромидом 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия, с образованием новых селенсодержащих производных. Таким образом, в рамках данного раздела обсуждается (i) зеленый синтез первых селенсодержащих производных хитина и хитозана под действием ультразвука в воде и (ii) противомикробные свойства полученных соединений в сочетании с низкой токсичностью, а также (iii) их эффективность в качестве зеленых органокатализаторов в реакции окисления 1-фенилэтилового спирта в ацетофенон.

2.1.1. Синтез новых водорастворимых селенсодержащих производных хитозана и хитина

В предыдущих работах нашей научной группы было показано, что алкилирование хитозана алкилгалогенидами под действием ультразвукового облучения (80 кГц, 250 Вт) позволяет значительно сократить время реакции и уменьшить избыток необходимого количества алкилгалогенида по сравнению с традиционными (без использования ультразвука) условиями. Кроме того, указанные акустические условия не вызывают ультразвуковой деполимеризации хитозановой цепи¹³. В данном разделе были сравнены результаты обработки в воде (кислые значения pH) хитозана бромидом 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия (**схема 1**) (i) под действием ультразвукового облучения (80 кГц, 250 Вт) и (ii) в традиционных условиях (нагревание 60 °С).

¹² Kritchenkov A. S., Zhaliuzniak 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. Chitosan derivatives and their based nanoparticles: ultrasonic approach to the synthesis, antimicrobial and transfection properties // Carbohydrate Polymers. – 2020. – V. 242. – P. 116478.

¹³ Kritchenkov A. S., Zhaliuzniak 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. Chitosan derivatives and their based nanoparticles: ultrasonic approach to the synthesis, antimicrobial and transfection properties // Carbohydrate Polymers. – 2020. – V. 242. – P. 116478.

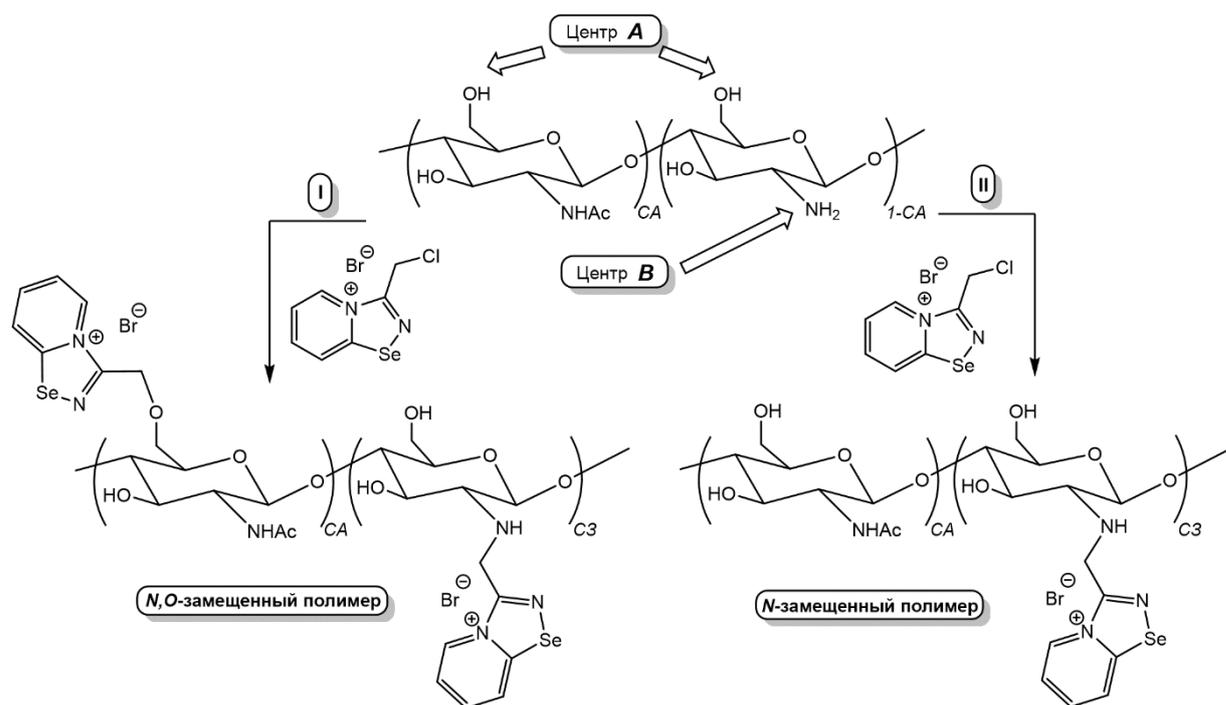


Схема 1. Получение селенсодержащих производных хитозана.

Таблица 1. Влияние ультразвукового облучения на время реакции и селективность в синтезе селенсодержащих производных хитозана.

Одинаковые условия			Традиционные условия				Ультразвуковые условия			
СЗ	Т, °С	рН	СЗ _N	СЗ _O	Реагент: хитозан	Время	СЗ _N	СЗ _O	Реагент: хитозан	Время
0.15	60 °С	3	0.15	0	1:2.2	7 ч	0.15	0	1:0.5	12 мин
0.45	60 °С	3	0.45	0	1:6	7 ч	0.45	0	1:1	12 мин
0.65	60 °С	3	0.50	0.15	1:13.5	7 ч	0.65	0	1:1.7	12 мин

На основании данных из **таблицы 1** можно утверждать, что ультразвуковая обработка значительно сокращает время реакции и количество реагента для достижения одной и той же степени замещения.

Также была оценена селективность исследуемой реакции под действием ультразвука и в традиционных условиях. Взаимодействие 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиаоло[4,5-а]пиридин-4-ия бромид с хитозаном может происходить по двум нуклеофильным центрам: **А** (группа *ОН*) и центр **В** (группа *NH₂*) (**схема 1**). Когда реакция протекает в традиционных условиях (60 °С), то происходит образование селективно *N*-замещенных производных хитозана при мольном соотношении хитозан:реагент 1:2.2 или 1:6 (**схема 1, путь II**). При увеличении мольного соотношения реагентов до 1:13.5, образуются неселективно *N,O*-замещенные производные, как показано на **схеме 1, путь I** (общая степень замещения 0.65, где степень *N*-замещения составляет 0.15, а *O*-замещения 0.50) (**таблица 1**). Ультразвуковая обработка (80 кГц,

250 Вт) приводит к селективному *N*-замещению даже в случае образования высокозамещенных продуктов (схема 1, путь II, таблица 1).

Обработку хитина бромидом 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия (схема 2) также проводили в водной среде как в традиционных, так и в ультразвуковых условиях.

При обработке хитина 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия бромид (соотношение 1:3) в воде в течение 5 часов в интервале температур от 20 до 80 °С не происходит какой-либо трансформации полисахарида. Для активации нуклеофильных свойств хитина в реакциях с алкилгалогенидами часто используют обработку хитина гидроксидом натрия¹⁴. В данном контексте особо следует отметить экологическую опасность гидроксида натрия. Обработка хитина бромидом 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия в условиях активации NaOH не приводила к образованию производных хитина при температуре 20–30 °С. При температуре 40 и 50 °С реакция протекает с образованием низкозамещенных производных хитина. Дальнейшее повышение температуры до 80 °С не вызывало увеличения степени замещения, а наоборот – приводило к образованию менее замещенных продуктов (рисунок 1, А). Причина этого факта заключается в резком увеличении скорости побочных реакций при повышении температуры. Мониторинг реакционных смесей методом ЭСИ-МС (масс-спектрометрии высокого разрешения, способ ионизации – электроспрей) выявил образование при 70 и 80 °С широкой смеси селенсодержащих соединений, среди которых был обнаружен катион 3-(гидрокси-метил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия ($m/z = 214.9716$, $[M]^+$, продукт щелочного гидролиза (хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия).

¹⁴ Li B., Shan C. L., Ge M. Y., Wang L., Fang Y., Wang Y. L., Xie G. L., Sun G. C. Antibacterial Mechanism of Chitosan and its Applications in Protection of Plant from Bacterial Disease // Asian Journal of Chemistry. – 2013. – V. 25, № 18. – P. 10033-10036.

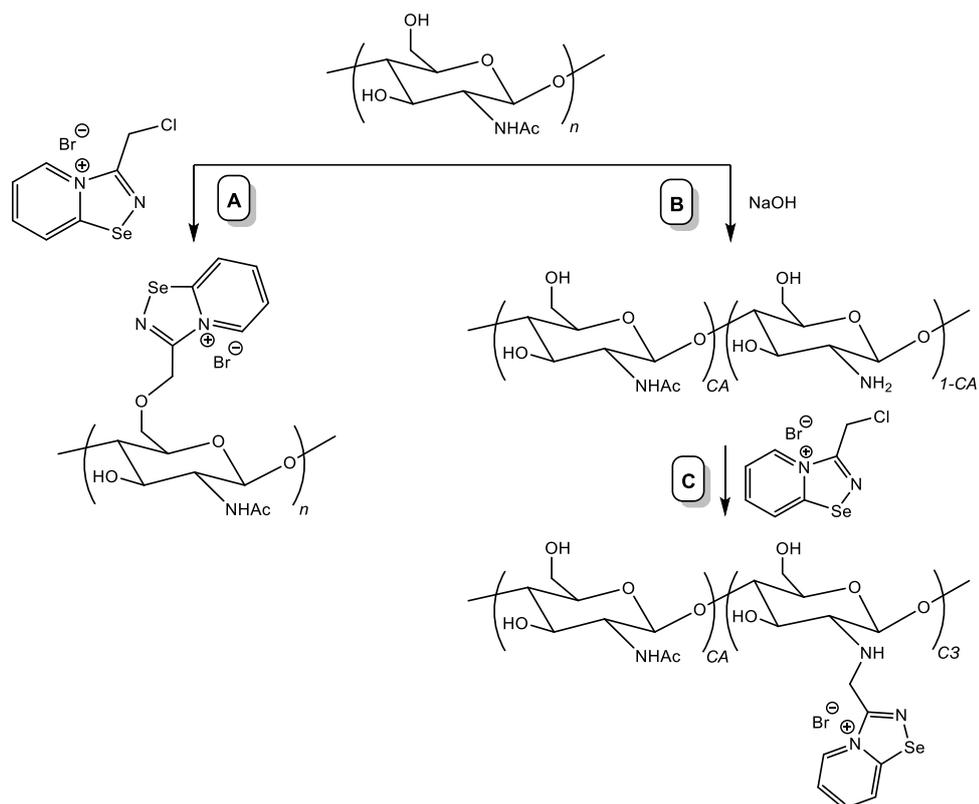


Схема 2. Получение селенсодержащих производных хитина.

Обработка хитина раствором NaOH может привести к частичному деацетилированию (**схема 2, В**). Следовательно, при взаимодействии бромида 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия с хитином в 25 % водном растворе NaOH могут образовываться смешанные *N,O*-замещенные полимеры (**схема 2, С**). Полученные результаты (**рисунок 2, В**) свидетельствуют о том, что обработка хитина бромидом 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия (3 эквивалента) в 25 % водном растворе NaOH при 40 °С не сопровождается побочным деацетилированием и протекает с образованием только *O*-замещенного производного хитина. Повышение температуры с 50 до 80 °С приводит к частичному деацетилированию хитина и образованию смешанных *N,O*-замещенных полимеров с увеличением доли *N*-замещения.

Также была проведена попытка увеличить степень замещения образующихся производных хитина, используя бóльший избыток реагента (**рисунок 1, С**). Увеличение мольного соотношения реагентов привело лишь к незначительному увеличению степени замещения.

В сонохимии алкилирование спиртов с образованием простых эфиров предполагает использование ультразвука с частотой 15–150 кГц и мощностью 80–350 Вт¹⁵. В рамках данной работы была проведена обработка ультразвуком реакционной смеси хитина с 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия бромида в воде. Было обнаружено, что оптимальные акустические условия составляют 90–100 кГц и 250–300 Вт. Также было выявлено, что при обработке хитина ультразвуком (90 кГц, 250

¹⁵ Davidson R. S., Safdar A., Spencer J. D., Robinson B. Applications of ultrasound to organic chemistry // Ultrasonics. – 1987. – V. 25, № 1. – P. 35-39.

Вт, 30 минут) не происходит заметной деполимеризации и деацетилирования полисахарида.

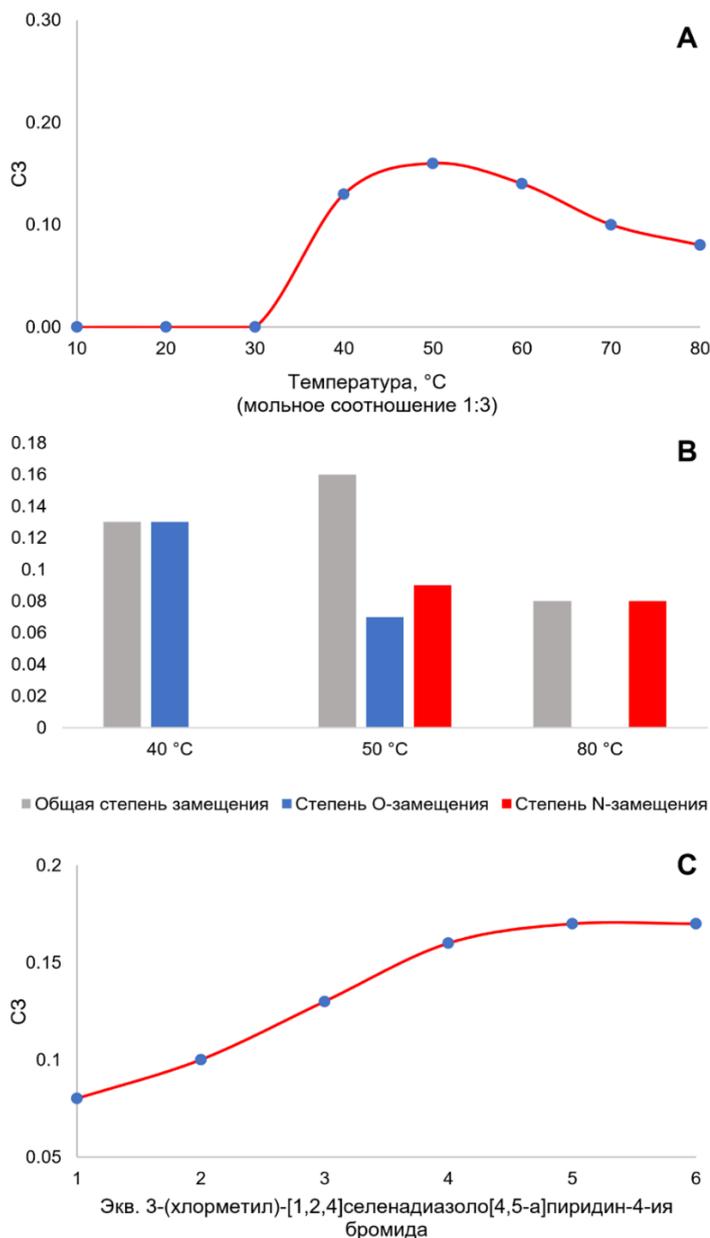


Рис. 1. Влияние различных факторов на степень замещения образующихся продуктов: температуры (А и В), мольного соотношения реагентов (С).

Для получения производных хитина с различными степенями замещения был использован избыток бромида 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазола[4,5-а]пиридин-4-ия – 3, 5 и 8 эквивалентов. Применяя акустические условия 90 кГц 250 Вт, были синтезированы новые водорастворимые производные хитина с низкой (около 0.17), средней (около 0.40) и высокой (около 0.65) степенью замещения, исходя из хитина низкой, средней и высокой молекулярной массы. Важно отметить, что предложенные методики ультразвукового синтеза удачно вписываются в концепцию «зеленой» химии, поскольку в качестве растворителя был использован самый экологически чистый растворитель – вода.

2.1.2. Получение наночастиц на основе селенсодержащих производных хитина и хитозана

Во многих случаях наночастицы на основе производных хитозана и других полисахаридов характеризуются более выраженными биологическими свойствами по сравнению с исходными полисахаридами в нативной форме¹⁶. Более того, на биологические свойства наночастиц сильно влияет их морфология, ζ -потенциал и размер. В рамках диссертационного исследования были получены наночастицы на основе наиболее активных селенсодержащих производных хитина и хитозана (**S-CS-III-M** и **S-CH-III-M**, см. п. 2.1.3) с различными гидродинамическими диаметрами и величинами ζ -потенциала. Наночастицы получали с использованием классического метода ионотропного гелеобразования триполифосфатом натрия (TPP)¹⁷. Характеристики полученных наночастиц представлены в **таблице 2**.

Таблица 2. Характеристика наночастиц.

Тип наночастиц*	Гидродинамический диаметр, нм**	V(TPP), мл	Индекс полидисперсности**	ζ -потенциал, мВ**
NP-CS-1	101±5	1.00	0.19±0.03	62.4±0.1
NP-CS-2	202±3	1.35	0.15±0.03	55.1±0.1
NP-CS-3	315±3	1.60	0.18±0.05	35.2±0.3
NP-CS-4	512±2	1.95	0.17±0.03	51.2±0.3
NP-CS-5	804±7	2.85	0.26±0.04	60.7±0.1
NP-CH-1	108±4	1.00	0.11±0.03	63.2±0.4
NP-CH-2	212±2	1.35	0.12±0.02	54.5±0.2
NP-CH-3	303±3	1.60	0.14±0.05	36.1±0.1
NP-CH-4	511±8	1.95	0.25±0.02	52.5±0.1
NP-CH-5	806±2	2.85	0.17±0.02	61.4±0.5

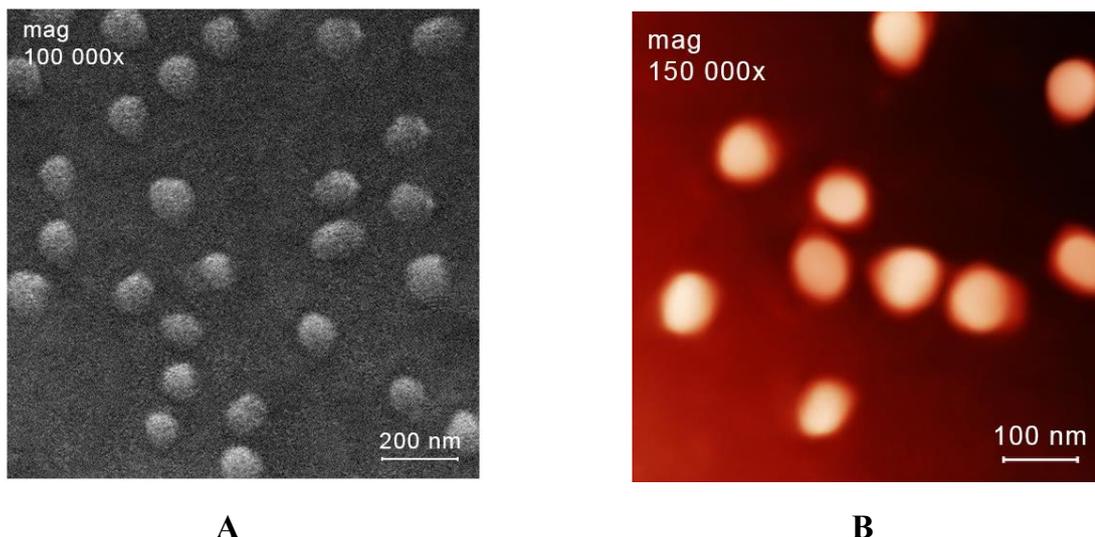
* **NP-CS** – наночастицы, полученные из хитозана; **NP-CH** – наночастицы на основе хитина.

** Среднее значение ± стандартное отклонение, n=3.

Примеры изображений СЭМ и АСМ полученных наночастиц представлены на **рисунке 2**.

¹⁶ Olmos D., Gonzalez-Benito J. Polymeric Materials with Antibacterial Activity: A Review // *Polymers*. – 2021. – V. 13. – P. 613.

¹⁷ Sacco P., Pedroso-Santana S., Kumar Y., Joly N., Martin P., Bocchetta P. Iontropic Gelation of Chitosan Flat Structures and Potential Applications // *Molecules*. – 2021. – V. 26, № 3. – P. 660.



А **В**
Рис. 2. СЭМ (А) и АСМ (В) изображения наночастиц NP-CS-1.

2.1.3. Антимикробные свойства селенсодержащих производных хитина и хитозана и наночастиц на их основе

Антимикробная активность селенсодержащих производных как хитина, так и хитозана возрастает с увеличением степени их замещения, что объясняется увеличением катионной плотности. Полимеры с более высокой катионной плотностью в большей степени способны повреждать мембраны микробных клеток, провоцируя гибель микроорганизмов¹⁸.

Антимикробная активность производных хитозана практически не отличается от антимикробного действия соответствующих производных хитина. Вероятно, антибактериальное действие исследуемых соединений во многом определяется [1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-иевым заместителем **А**, введенным в полисахаридную цепь. В связи с этим было проведено сравнение антимикробного эффекта двух органических соединений **В** и **С**, которым соответствует введенный в полисахаридную цепь заместитель **А** (рисунок 3). Активность **В** и **С** высока и сравнима с активностью антибиотиков ампициллина, гентамицина и амфотерицина В. Однако активность высокозамещенных производных несколько превосходит действие **В** и **С**. Следовательно, полисахаридная цепь также вносит свой вклад в развитие антимикробного действия.

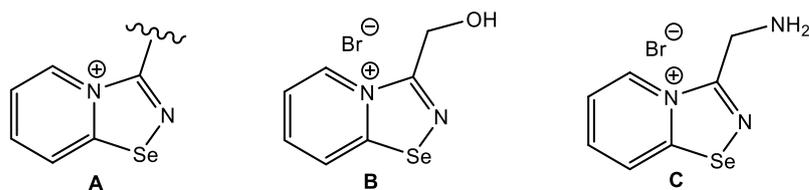


Рис. 3. [1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-иевый фрагмент (А) и его синтетические аналоги (В и С).

¹⁸ Yang Y., Cai Z., Huang Z., Tang X., Zhang X. Antimicrobial cationic polymers: from structural design to functional control // Polymer Journal. – 2018. – V. 50, № 1. – P. 33-44.

Антимикробная активность тестируемых производных слабо зависит от их молекулярной массы, хотя производные средней молекулярной массы характеризуются несколько более высокой активностью по сравнению с другими, что согласуется с литературными данными^{19,20}.

Антимикробная активность наночастиц на основе производных хитина и хитозана превышает активность исходных производных и характеризуется ярко выраженной зависимостью как от гидродинамического диаметра, так и от ξ -потенциала (таблица 7). Наиболее активные наночастицы имеют наименьший гидродинамический диаметр (около 100 нм) и высокий положительный ξ -потенциал (около +60 мВ). Этот факт можно интерпретировать, предполагая, что наночастицы наименьшего размера способны легко проникать в бактериальную клетку и, благодаря своему высокому положительному ξ -потенциалу, связываться с ДНК [6]. Наименьший антимикробный эффект выявлен у наночастиц с наименьшим значением ξ -потенциала. Антимикробная активность наночастиц не зависит от природы исходного полисахарида (производное хитина или хитозана).

В целом антибактериальная активность полученных производных хитина и хитозана, а также наночастиц на их основе чрезвычайно высока по сравнению с ранее описанными в литературе (обзоры^{21,22}).

Также была проведена оценка токсичности *in vitro* синтезированных производных хитина, хитозана и наночастиц на их основе с помощью МТТ-теста (таблица 3). при концентрациях менее 300 мкг/мл полученные полимеры, также как и исходный хитозан характеризовались практически отсутствием токсичности (жизнеспособность клеток во всех случаях составляла около 100 %). При дальнейшем увеличении концентрации высокозамещенные производные проявляли более высокую токсичность, чем низкозамещенные. Токсичность *in vitro* полученных наночастиц практически не отличается от токсичности соответствующих полимеров. Также важно отметить, что соединения **B** и **C**, соответствующие введенному в полимерную цепь фармакофору, характеризуются достаточно высокой токсичностью. Следовательно, конъюгация селенсодержащего гетероциклического антибактериального фармакофора с хитозановой цепью резко снижает его токсичность без потери антибактериального эффекта.

В этом контексте особо важной представляется экологическая составляющая полученных результатов. С фармакологической точки зрения полученные антибактериальные системы на основе хитина и на основе хитозана представляются

¹⁹ Kritchenkov A. S., Kletskov A. V., Egorov A. R., Tskhovrebov A. G., Kurliuk A. V., Zhaliuzniak N. V., Shakola T. V., Khrustalev V. N. New water-soluble chitin derivative with high antibacterial properties for potential application in active food coatings // Food Chemistry. – 2020. – V. 343. – P. 128696.

²⁰ Kritchenkov A. S., Egorov A. R., Artemjev A. A., Kritchenkov I. S., Volkova O. V., Kiprushkina E. I., Zabolodova L. A., Suchkova E. P., Yagafarov N. Z., Tskhovrebov A. G., Kurliuk A. V., Shakola T. V., Khrustalev V. N. Novel heterocyclic chitosan derivatives and their derived nanoparticles: Catalytic and antibacterial properties // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – V. 149. – P. 682-692.

²¹ Li J., Zhuang S. Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives // European Polymer Journal. – 2020. – V. 138. – P. 109984.

²² Ardean C., Davidescu C. M., Nemeş N. S., Negrea A., Ciopec M., Duteanu N., Negrea P., Duda-Seiman D., Musta V. Factors Influencing the Antibacterial Activity of Chitosan and Chitosan Modified by Functionalization // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – V. 22, № 14. – P. 7449.

одинаковыми, т.к. абсолютно в равной степени характеризуются высоким антибактериальным эффектом в сочетании с низкой токсичностью. Однако с экологической точки зрения системы на основе хитина обладают несопоставимо большим преимуществом. Это связано с тем, что получение хитозана включает стадию деацетилирования хитина, которая проводится под действием экологически опасных реагентов – щелочей (как правило, гидроксида натрия)²³. Прямое использование хитина для получения высокоактивных нетоксичных антибактериальных систем позволяет избежать стадии деацетилирования, что значительно снижает экологическую нагрузку и соответствует принципам зеленой химии.

Таблица 3. Молекулярные массы исходных хитина и хитозана, степени замещения полученных производных, антибактериальная активность и токсичность производных и наночастиц на их основе.

Образец	ММ	СЗ	Бактерии		Грибы		% 30 0	% 10 00
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>G. candidum</i>		
			Зона ингибирования, мм (СрЗнач±СО, n = 3)					
CS-L	3.7×10 ⁴		13.6±0.2	10.5±0.2	10.8±0.2	8.8±0.1	97	65
CS-M	6.9×10 ⁴		14.3±0.1	11.4±0.3	11.3±0.1	9.7±0.1	96	65
CS-H	17.8×10 ⁴		13.3±0.2	10.1±0.3	10.4±0.2	8.6±0.2	95	63
Ампициллин			30.3±0.1	—	—	—	43	22
Гентамицин			—	22.2±0.3	—	—	37	22
Амфотерицин В			—	—	28.7±0.4	26.4±0.3	27	18
В			30.8±0.3	21.4±0.3	28.5±0.3	26.2±0.1	28	16
С			30.4±0.1	21.6±0.2	28.8±0.3	26.2±0.2	29	15
S-CH-I-L	3.5×10 ⁴	0.16	18.3±0.1	10.3±0.1	16.4±0.2	16.1±0.1	94	62
S-CH-I-M	7.1×10 ⁴	0.17	20.4±0.3	12.3±0.2	28.1±0.2	18.2±0.2	91	63
S-CH-I-H	17.2×10 ⁴	0.17	17.5±0.4	10.2±0.2	16.5±0.2	15.3±0.2	93	62
S-CH-II-L	3.5×10 ⁴	0.42	24.3±0.2	15.6±0.3	19.4±0.4	18.2±0.2	92	63
S-CH-II-M	7.1×10 ⁴	0.41	26.7±0.2	17.5±0.1	23.1±0.1	23.2±0.1	92	63
S-CH-II-H	17.2×10 ⁴	0.40	27.6±0.1	15.2±0.4	18.1±0.1	17.6±0.4	93	61
S-CH-III-L	3.5×10 ⁴	0.65	33.3±0.3	24.2±0.1	23.1±0.3	22.7±0.1	93	64
S-CH-III-M	7.1×10 ⁴	0.65	34.2±0.5	26.3±0.1	29.1±0.3	27.3±0.1	91	63
S-CH-III-H	17.2×10 ⁴	0.64	32.1±0.2	23.1±0.1	22.8±0.1	21.9±0.3	93	62
S-CS-I-L	3.7×10 ⁴	0.14	18.2±0.1	10.1±0.3	16.2±0.3	16.0±0.2	96	64
S-CS-I-M	6.9×10 ⁴	0.15	20.6±0.1	12.4±0.3	28.1±0.1	18.2±0.1	93	64
S-CS-I-H	17.8×10 ⁴	0.14	17.4±0.2	10.3±0.1	16.5±0.3	15.5±0.4	93	63
S-CS-II-L	3.7×10 ⁴	0.45	24.3±0.3	15.2±0.3	19.5±0.1	18.4±0.3	91	62
S-CS-II-M	6.9×10 ⁴	0.44	26.8±0.3	17.6±0.2	23.1±0.2	23.2±0.1	93	63
S-CS-II-H	17.8×10 ⁴	0.43	27.4±0.2	15.0±0.1	18.1±0.3	17.4±0.1	93	64
S-CS-III-L	3.7×10 ⁴	0.67	33.2±0.2	24.3±0.2	23.3±0.1	22.5±0.2	92	62
S-CS-III-M	6.9×10 ⁴	0.64	34.4±0.2	26.3±0.2	29.3±0.1	27.4±0.3	92	62
S-CS-III-H	17.8×10 ⁴	0.65	32.3±0.3	23.3±0.1	22.8±0.1	21.7±0.2	93	63
NP-CS-1	7.1×10 ⁴	0.64	39.4±0.1	31.5±0.2	32.2±0.2	31.8±0.1	92	61

²³ Egorov A. R., Kirichuk A. A., Rubanik V. V., Rubanik V. V., Tskhovrebov A. G., Kritchenkov A. S. Chitosan and Its Derivatives: Preparation and Antibacterial Properties // Materials. – 2023. – V. 16, № 18. – P. 6076.

NP-CS-2	7.1×10^4	0.64	37.1 ± 0.3	29.3 ± 0.1	30.9 ± 0.1	30.6 ± 0.2	92	62
NP-CS-3	7.1×10^4	0.64	34.8 ± 0.2	26.9 ± 0.4	28.9 ± 0.3	27.7 ± 0.3	92	62
NP-CS-4	7.1×10^4	0.64	35.3 ± 0.1	27.8 ± 0.1	29.4 ± 0.1	28.5 ± 0.2	93	63
NP-CS-5	7.1×10^4	0.64	36.2 ± 0.3	28.6 ± 0.2	30.3 ± 0.2	29.8 ± 0.1	93	62
NP-CH-1	7.1×10^4	0.65	39.8 ± 0.2	31.4 ± 0.1	32.1 ± 0.4	31.5 ± 0.2	92	63
NP-CH-2	7.1×10^4	0.65	36.7 ± 0.1	29.1 ± 0.3	31.2 ± 0.3	30.6 ± 0.3	93	62
NP-CH-3	7.1×10^4	0.65	34.9 ± 0.1	26.2 ± 0.2	28.9 ± 0.1	27.4 ± 0.3	93	63
NP-CH-4	7.1×10^4	0.65	35.1 ± 0.2	27.5 ± 0.2	29.6 ± 0.2	28.3 ± 0.1	93	63
NP-CH-5	7.1×10^4	0.65	36.3 ± 0.2	28.3 ± 0.1	30.2 ± 0.1	29.6 ± 0.1	93	62

MM – молекулярная масса в Да, CS – степень замещения, %₃₀₀ и %₁₀₀₀ – выживаемость клеток в МТТ-тесте при концентрации образца 300 и 1000 мкг/мл соответственно.

2.1.4. Каталитические свойства селенсодержащих производных и наночастиц на их основе

В рамках данного раздела была проведена оценка каталитической активности соединений **В** и **С** (рисунок 3), селенсодержащих производных хитина и хитозана, а также наночастиц на их основе в модельной реакции окисления 1-фенилэтилового спирта в ацетофенон бромом при комнатной температуре (схема 3).

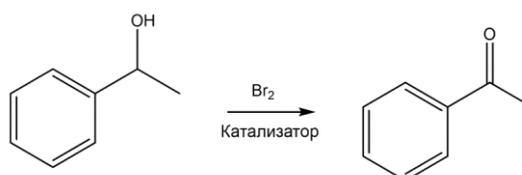


Схема 3. Модельная реакция окисления.

Таблица 4. Результаты каталитических экспериментов.

№	Образец	Растворитель	Выход, %	№	Образец	Растворитель	Выход, %
1	В	H ₂ O	0	15	S-CH-III-M	CH ₂ Cl ₂	3
2	С	H ₂ O	0	16	NP-CS-1	H ₂ O	0
3	В	MeCN	17	17	NP-CS-1	MeCN	23
4	С	MeCN	15	18	NP-CS-1	Me ₂ CO	96
5	В	Me ₂ CO	84	19	NP-CS-2	Me ₂ CO	95
6	С	Me ₂ CO	93	20	NP-CS-3	Me ₂ CO	75
7	Хитозан или хитин	H ₂ O	0	21	NP-CS-4	Me ₂ CO	53
8	Хитозан или хитин	MeCN	0	22	NP-CS-5	Me ₂ CO	22
9	Хитозан или хитин	Me ₂ CO	0	23	NP-CH-1	Me ₂ CO	50
10	S-CS-III-M	H ₂ O	0	24	NP-CH-2	Me ₂ CO	53

11	S-CS-III-M	MeCN	0	25	NP-CH-3	Me ₂ CO	33
12	S-CS-III-M	Me ₂ CO	10	26	NP-CH-4	Me ₂ CO	28
13	S-CH-III-M	H ₂ O	0	27	NP-CH-5	Me ₂ CO	15
14	S-CH-III-M	MeCN	0				

Результаты каталитических экспериментов представлены в **таблице 4**. [1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-иевые гетероциклы **B** и **C** характеризуются высокой каталитической активностью в модельной реакции, когда последняя протекает в дихлорметане как растворителе (таблица 4, эксперименты 5, 6). Ацетонитрил и особенно вода оказались неподходящими растворителями для каталитической реакции (таблица 4, эксперименты 1–4). Исходные хитозан или хитин не проявляли каталитической активности в изучаемой реакции ни в одном из использованных растворителей (таблица 4, эксперименты 7–9). Интересно отметить, что селенсодержащее производное хитозана **S-CS-III-M** продемонстрировало хотя и низкий, но значительно больший каталитический эффект, чем соответствующее производное хитина **S-CH-III-M** (таблица 4, эксперименты 12, 15). Более того, наночастицы, полученные из хитозана, также продемонстрировали значительно более высокую каталитическую активность (таблица 4, эксперименты 18–22) по сравнению с соответствующими производными хитина (таблица 4, эксперименты 23–27).

В целом каталитический эффект тестируемых наночастиц зависит от их гидродинамического диаметра. Наиболее эффективные наночастицы имеют малый размер (около 100–200 нм), а по мере увеличения гидродинамического диаметра наночастиц их каталитическая активность резко снижается. Наилучший каталитический эффект проявили наночастицы на основе производных хитозана **NP-CS-1** и **NP-CS-2**. Эти наночастицы обладают каталитической активностью, аналогичной [1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-иевых гетероциклов **B** и **C**. Однако использование наночастиц гораздо удобнее в препаративном плане, так как (i) они удаляются из реакционной смеси простым центрифугированием; (ii) выделение продукта не требует хроматографии; (iii) после промывки дихлорметаном наночастицы можно использовать повторно не менее 10 раз без потери каталитической активности.

При катализе исследуемой реакции гетероциклом **C** (рисунок 3) под контролем ЭСИ-МС удалось обнаружить аддукт брома к **C** ($m/z = 373.8221$, $[M]^+$). На основании этого вывода и литературных данных²⁴ был предположен вероятный механизм каталитического цикла (схема 4).

Важный экологический аспект полученных результатов заключается в следующем. Полученные высокоэффективные селенохитозановые каталитические системы **NP-CS-1** и **NP-CS-2** характеризуются высоким каталитическим эффектом в ацетоне, в то время как описанные в литературе подобные им изоселеназолоновые

²⁴ Balkrishna S. J., Prasad C. D., Panini P., Detty M. R., Chopra D., Kumar S. Isoselenazolones as Catalysts for the Activation of Bromine: Bromolactonization of Alkenoic Acids and Oxidation of Alcohols // The Journal of Organic Chemistry. – 2012. – V. 77, № 21. – P. 9541-9552.

гетероциклы проявляют высокую каталитическую активность в дихлорметане²⁵, в ацетоне же их активность низка. Получение **NP-CS-1** и **NP-CS-2** позволило заменить токсичный хлорорганический растворитель дихлорметан (ПДК 50 мг/м³) на значительно менее токсичный ацетон (ПДК 200 мг/м³).

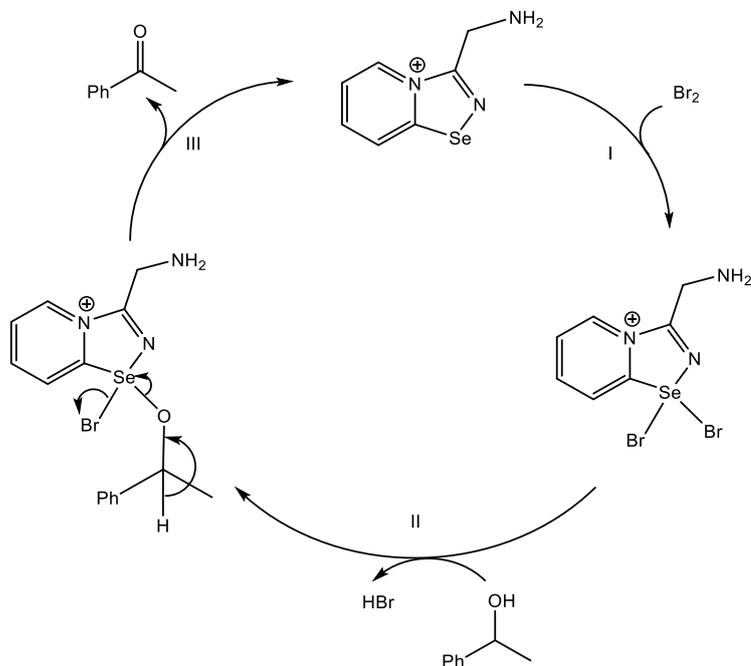


Схема 4. Вероятный механизм катализируемого окисления.

2.2. Синтез конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан и наночастиц на их основе как систем пролонгированного высвобождения антибиотика и исследование антибактериальной активности

Разработка систем пролонгированного высвобождения антибиотиков представляет собой одно из важнейших химических решений, направленных на снижение уровня использования антибиотиков в здравоохранении и сельском хозяйстве. Эта стратегия призвана снизить загрязнение окружающей среды антибиотиками, которое стало всемирно признанной важной экологической проблемой.

В рамках разработки систем пролонгированного высвобождения лекарств в данной работе, в цепь хитозана был введён достаточно гидрофобный фторхинолон – ципрофлоксацин (см. **схему 5**) с образованием конъюгатов фторхинолона (**1**), способных к самосборке в амфифильные наночастицы (**2**). Наночастицы **2** могут быть дополнительно загружены фторхинолоном (**3**). Конъюгаты типа (**1**), не способные к самосборке, были преобразованы в наночастицы, загруженные фторхинолоном (**4**),

²⁵ Balkrishna S. J., Prasad C. D., Panini P., Detty M. R., Chopra D., Kumar S. Isoselenazolones as Catalysts for the Activation of Bromine: Bromolactonization of Alkenoic Acids and Oxidation of Alcohols // The Journal of Organic Chemistry. – 2012. – V. 77, № 21. – P. 9541-9552.

путем ионотропного гелеобразования. Кроме того, были получены конъюгаты фторхинолонов, в которых фторхинолон связан с хитозаном через рН-чувствительный спейсер (5), ибо такие системы способны высвобождать фторхинолон при слегка подкисленных значениях рН, характерных для воспалительного процесса бактериальной этиологии²⁶. Кроме того, конъюгаты со спейсером (5) также могут быть дополнительно преобразованы в загруженные фторхинолонами наночастицы путем ионотропного гелеобразования (6).

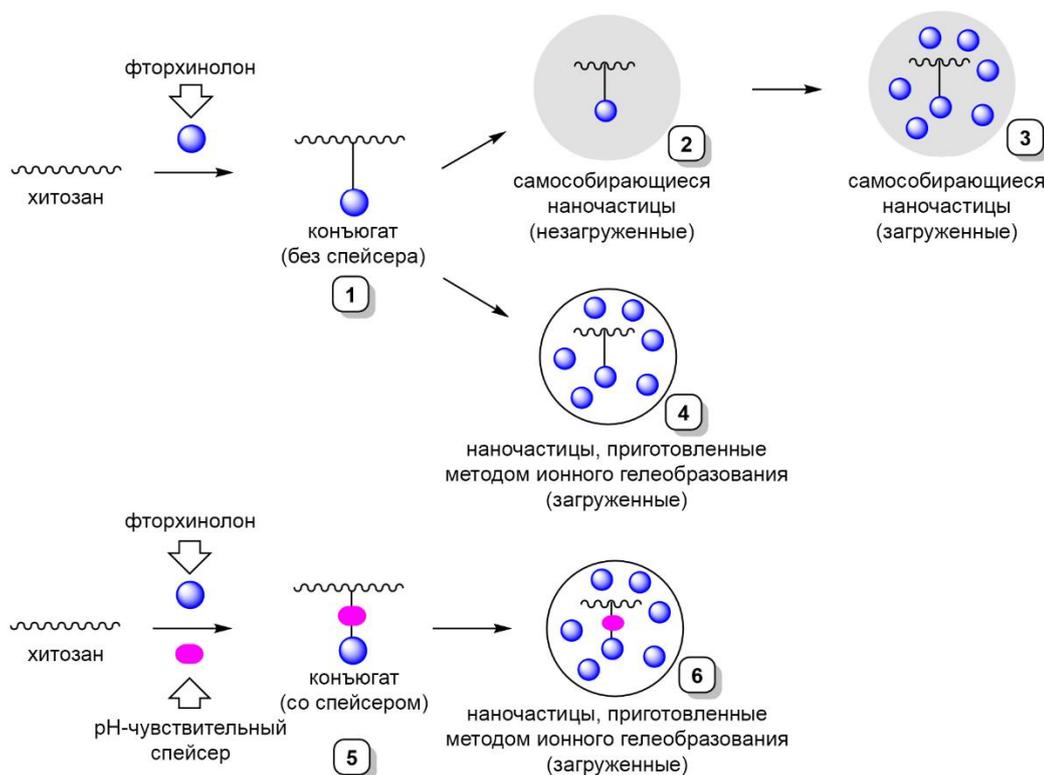


Схема 5. Общий план приготовления антибактериальных систем на основе фторхинолонов.

2.2.1. Синтез конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан, в которых ципрофлоксацин присоединен к полимерной цепи (схема 5, система 1) и самособирающихся наночастиц на основе этих конъюгатов (схема 5, система 2).

Молекула ципрофлоксацина благодаря своей карбоксильной группе $COOH$ может быть конъюгирована с первичной аминогруппой хитозана NH_2 . Для образования амидной связи путем взаимодействия карбоксильных и первичных аминогрупп успешно применяется традиционный карбодиимидный метод²⁷. В этом методе используется доступный и дешевый карбодиимид ДЦК (N,N' -дициклогексилкарбодиимид). Однако нерастворимость ДЦК в водной среде сильно

²⁶ Complex Systems and Computational Biology Approaches to Acute Inflammation / eds. Vodovotz Y., An G.: Springer, 2013. – 291 p.

²⁷ Nozaki S. Effects of amounts of additives on peptide coupling mediated by a water-soluble carbodiimide in alcohols // The Journal of Peptide Research. – 1999. – V. 54, № 2. – P. 162-167.

ограничивает его применение в химии хитозана. Поскольку основным растворителем для хитозана является вода (причём в области кислых значений pH), при конъюгации хитозана с карбоновыми кислотами отдаётся предпочтение водорастворимому карбодиимиду 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (ЭДК)²⁸. Применение ЭДК приводит к значительно более высокой конверсии аминогрупп в соответствующие амидные связи, поскольку реакция протекает в гомогенном режиме. Однако следует отметить, что ЭДК намного дороже, чем ДЦК. В рамках данной главы диссертации была проведена попытка интенсифицировать ДЦК-опосредованную конъюгацию ципрофлоксацина с хитозаном под действием ультразвука. Оптимизация акустических условий выявила в качестве наиболее подходящих ультразвуковых параметров частоту 100 кГц и мощность 280 Вт. Опосредованную ДЦК реакцию хитозана с ципрофлоксацином (**схема 6**) изучали как в традиционном, так и в ультразвуковом режиме.

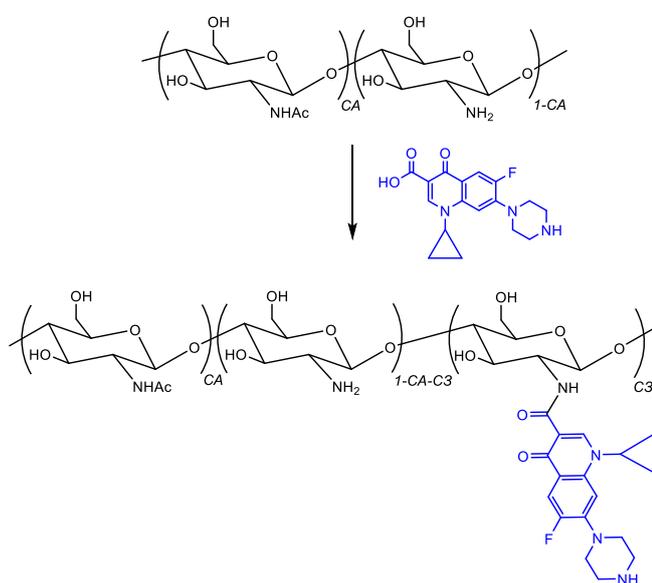


Схема 6. Конъюгация ципрофлоксацина с хитозаном.

Использование ультразвукового облучения резко сокращает как время реакции, так и требуемое количество ципрофлоксацина при условии достижения одной и той же степени замещения (**таблица 5**).

Таблица 5. Влияние ультразвукового облучения на синтез конъюгата ципрофлоксацин/хитозан без спейсера (**схема 5, система 1**).

Одинаковые параметры			Традиционные условия		Ультразвуковые условия	
C3	T, °C	pH	X3: реагент	Время	X3: реагент	Время
0.05	50 °C	3	0.5	5 ч	0.2	20 мин
0.10	50 °C	3	1.5	5 ч	0.5	20 мин

²⁸ Balkrishna S. J., Prasad C. D., Panini P., Detty M. R., Chopra D., Kumar S. Isoselenazolones as Catalysts for the Activation of Bromine: Bromolactonization of Alkenoic Acids and Oxidation of Alcohols // The Journal of Organic Chemistry. – 2012. – V. 77, № 21. – P. 9541-9552.

0.20	50 °C	3	4	5 ч	1.6	20 мин
------	-------	---	---	-----	-----	--------

Таким образом, были получены конъюгаты цiproфлорксацина с хитозаном без спейсера со степенью замещения 0.05 (**C-CS-I-L**, **C-CS-I-M**, **C-CS-I-H**), 0.10 (**C-CS-II-L**, **C-CS-II-M**, **C-CS-II-H**) и 0.20 (**C-CS-III-L**, **C-CS-III-M**, **C-CS-III-H**), причём соединения, обозначенные буквой **L** были получены из хитозана массой 3.5×10^4 Да, буквой **M** – 7.1×10^4 Да, буквой **H** – 17.2×10^4 Да. При pH = 7.0 **C-CS-I-M**, **C-CS-II-M** и **C-CS-III-M** самоорганизуются в соответствующие наночастицы унимодального распределения по размеру после обработки ультразвуком (30 кГц, 300 Вт, 5 мин): **NPs-C-CS-I-M** ($2R_h = 35 \pm 5$ нм, $\zeta = 32.4 \pm 0.3$ мВ) **NPs-C-CS-II-M** ($2R_h = 59 \pm 3$ нм, $\zeta = 35.2 \pm 0.1$ мВ) и **NPs-C-CS-III-M** ($2R_h = 97 \pm 3$ нм, $\zeta = 39.7 \pm 0.3$ мВ).

2.2.2. Синтез конъюгатов цiproфлорксацин-хитозан, в которых цiproфлорксацин связан с цепью через pH-чувствительный спейсер (схема 5, система 5)

Во многих случаях конъюгация фармакологически активного соединения с макромолекулой через pH-чувствительный спейсер приводит к значительному улучшению профиля высвобождения лекарственного средства. В данном диссертационном исследовании были получены цiproфлорксациновые производные хитозана, в которых цiproфлорксацин конъюгирован с полисахаридной цепью через pH-чувствительный гидразоновый спейсер на основе глиоксаля. Стратегия конъюгации через спейсер представлена на **схеме 7**.

Ключевой стадией в данном процессе является стадия **C**. Акустические условия для промотирования образования оснований Шиффа чрезвычайно широки, однако условия, которые позволяют промотировать эту реакцию без разрыва цепи хитозана, находятся в области 80 кГц 250 Вт. В рамках данной главы диссертации были использованы именно эти условия для промотирования реакции хитозана с соединением **2**, а также было оценено влияние ультразвука по сравнению с традиционными условиями (**таблица 6**). Данные, представленные в **таблице 6**, демонстрируют, что ультразвуковая обработка реакционных смесей приводит к значительному снижению как избытка соединения **2**, так и времени реакции необходимого для достижения той же степени замещения, что и в традиционных условиях.

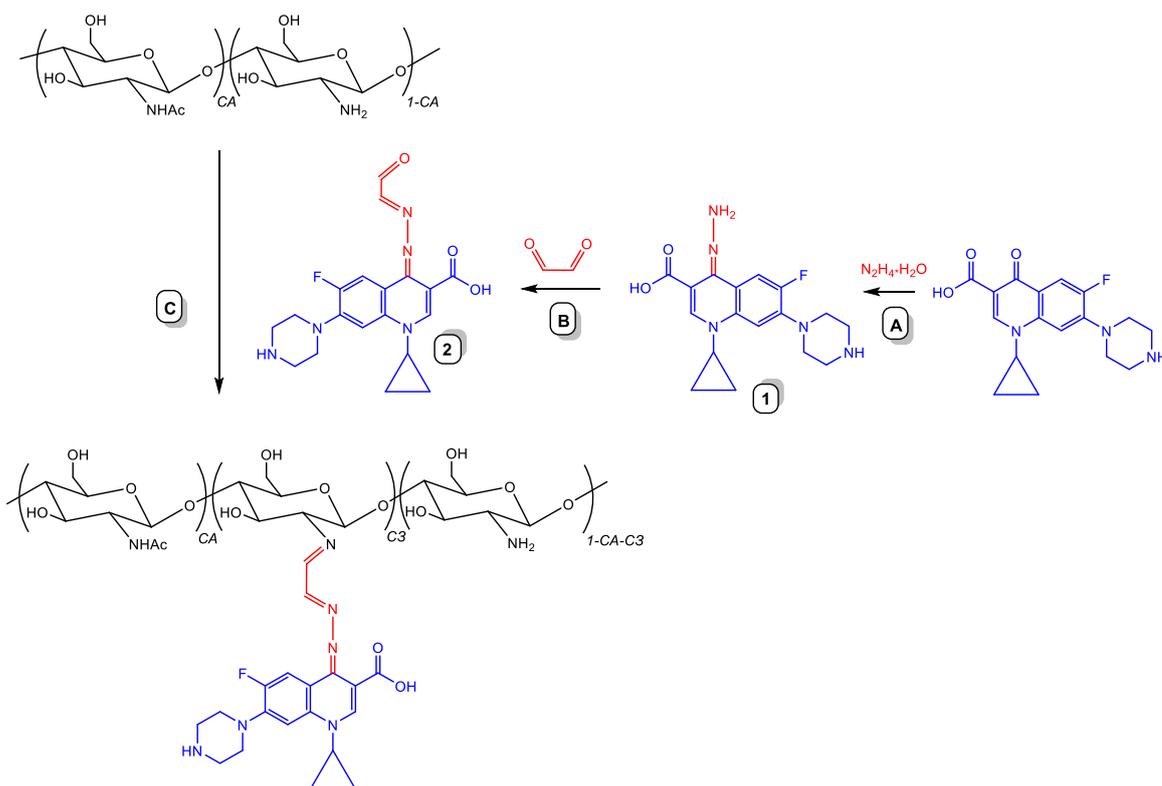


Схема 7. Конъюгация ципрофлоксацина через рН-чувствительный спейсер с хитозаном.

Таблица 6. Влияние ультразвукового облучения на синтез конъюгата ципрофлоксацина с хитозаном, содержащего рН-чувствительный спейсер.

Одинаковые параметры			Традиционные условия		Ультразвуковые условия	
СЗ	T, °C	pH	ХЗ: реагент	Время	ХЗ: реагент	Время
0.05	25 °C	3	0.9	3 ч	0.5	20 мин
0.10	25 °C	3	1.7	3 ч	0.9	20 мин
0.20	25 °C	3	3.5	3 ч	1.6	20 мин

Таким образом, были получены конъюгаты ципрофлоксацина с хитозаном без спейсера со степенью замещения 0.05 (**C-SP-CS-I-L**, **C-SP-CS-I-M**, **C-SP-CS-I-H**), 0.10 (**C-SP-CS-II-L**, **C-SP-CS-II-M**, **C-SP-CS-II-H**) и 0.20 (**C-SP-CS-III-L**, **C-SP-CS-III-M**, **C-SP-CS-III-H**), причём соединения, обозначенные буквой **L** были получены из хитозана массой 3.5×10^4 Да, буквой **M** – 7.1×10^4 Да, буквой **H** – 17.2×10^4 Да.

2.2.3. Получение наночастиц загруженных ципрофлоксацином

Загруженные ципрофлоксацином наночастицы получали одним из двух подходящих способов (*i*) загрузкой самособирающихся наночастиц (**NPs-C-CS-I-M**, **NPs-C-CS-II-M** и **NPs-C-CS-III-M**), полученных из соответствующих производных **C-CS-I-M**, **C-CS-II-M** и **C-CS-III-M**, или (*ii*) методом ионотропного гелеобразования для всех других производных, поскольку другие производные не самоорганизуются в наночастицы. Характеристики полученных наночастиц представлены в **таблице 7**.

Таблица 7. Характеристики наночастиц.

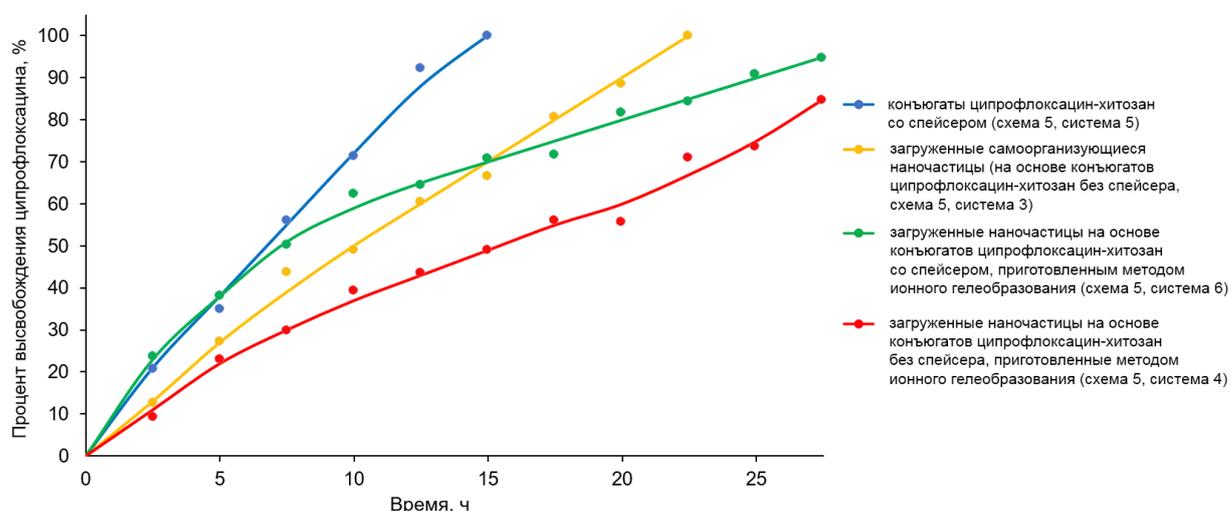
Образец	V _{тпф} , мл	2R _h , нм*	ИПД*	ζ, мВ*	Эффективность захвата, % *	Эффективность загрузки, мкг/мг* (%)
<i>Часть I (загруженные самоорганизующиеся наночастицы (схема 5, система 3))</i>						
C-L-NPs-C-CS-I-M	-	48 ± 3	0.13 ± 0.04	33.0 ± 0.5	73 ± 5	264 ± 3 (~ 26 %)
C-L-NPs-C-CS-II-M	-	83 ± 4	0.15 ± 0.03	38.4 ± 0.2	81 ± 2	283 ± 5 (~ 28 %)
C-L-NPs-C-CS-III-M	-	137 ± 2	0.12 ± 0.02	40.0 ± 0.4	93 ± 3	317 ± 2 (~ 32 %)
<i>Часть II (наночастицы на основе конъюгатов без спейсера, (схема 5, система 4))</i>						
C-L-NPs-C-CS-I-L	3.0	43 ± 2	0.09 ± 0.02	34.3 ± 0.1	31 ± 3	80 ± 2 (~ 8 %)
C-L-NPs-C-CS-I-H	3.0	49 ± 3	0.12 ± 0.03	33.2 ± 0.5	32 ± 4	80 ± 2 (~ 8 %)
C-L-NPs-C-CS-II-L	2.0	63 ± 3	0.13 ± 0.04	38.2 ± 0.3	28 ± 2	82 ± 3 (~ 8 %)
C-L-NPs-C-CS-II-H	2.0	69 ± 1	0.10 ± 0.03	39.1 ± 0.1	30 ± 3	91 ± 2 (~ 9 %)
C-L-NPs-C-CS-III-L	1.5	128 ± 4	0.15 ± 0.02	43.3 ± 0.2	27 ± 6	88 ± 4 (~ 9 %)
C-L-NPs-C-CS-III-H	1.5	126 ± 3	0.12 ± 0.03	45.8 ± 0.3	30 ± 3	98 ± 2 (~ 10 %)
<i>Часть III (наночастицы на основе конъюгатов со спейсером (схема 5, система 6))</i>						
C-L-NPs-C-SP-CS-I-L	3.0	48 ± 2	0.12 ± 0.04	32.9 ± 0.3	31 ± 5	78 ± 4 (~ 8 %)
C-L-NPs-C-SP-CS-I-M	3.0	51 ± 3	0.14 ± 0.03	33.1 ± 0.4	33 ± 5	81 ± 2 (~ 8 %)
C-L-NPs-C-SP-CS-I-H	3.0	59 ± 2	0.12 ± 0.03	32.5 ± 0.2	30 ± 3	78 ± 8 (~ 8 %)
C-L-NPs-C-SP-CS-II-L	2.0	64 ± 4	0.16 ± 0.02	35.3 ± 0.4	27 ± 4	80 ± 4 (~ 8 %)
C-L-NPs-C-SP-CS-II-M	2.0	66 ± 2	0.12 ± 0.02	36.4 ± 0.1	31 ± 1	87 ± 1 (~ 9 %)
C-L-NPs-C-SP-CS-II-H	2.0	71 ± 3	0.14 ± 0.05	36.9 ± 0.2	30 ± 2	84 ± 2 (~ 8 %)
C-L-NPs-C-SP-CS-III-L	1.5	118 ± 4	0.16 ± 0.02	45.8 ± 0.2	30 ± 3	97 ± 3 (~ 10 %)
C-L-NPs-C-SP-CS-III-M	1.5	125 ± 3	0.13 ± 0.04	45.3 ± 0.4	28 ± 2	91 ± 3 (~ 9 %)
C-L-NPs-C-SP-CS-III-H	1.5	129 ± 3	0.12 ± 0.02	46.1 ± 0.3	26 ± 4	84 ± 3 (~ 8 %)

* Среднее значение ± стандартное отклонение, n=3

2.2.4. Изучение высвобождения лекарственного средства

Экспериментальные результаты (профили высвобождения) представлены на **рисунке 4** как процент высвобожденного ципрофлоксацина в зависимости от времени. Эксперименты показали, что конъюгаты без спейсера, независимо от молекулярной массы и степени замещения тестируемого конъюгата, не высвобождают ципрофлоксацин в течении 80 часов. Ципрофлоксацин-хитозановые конъюгаты со спейсером характеризуются быстрой и достаточно равномерной кинетикой высвобождения и высвобождают 100 % препарата в течение 15 часов. Загруженные самособирающиеся наночастицы (на основе конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан без спейсера) имеют аналогичный профиль высвобождения, однако высвобождение происходит несколько медленнее и достигает 100% за 20 часов. Загруженные наночастицы, полученные методом ионного гелеобразования, также характеризуются сходными профилями высвобождения между собой. Однако наночастицы на основе конъюгатов без спейсера высвобождают лекарственное средство несколько медленнее и имеют более равномерный профиль высвобождения. На **рисунке 4** представлены результаты для систем на основе среднемолекулярного хитозана. Для исследованных образцов на основе хитозана меньшей и большей молекулярной массы различий по сравнению с результатами, представленными на **рисунке 4**, обнаружено не было. На **рисунке 4** представлены результаты для степени замещения 0.20. Для более низких

степеней замещения (0.10 и 0.05) характерно более быстрое высвобождение (на 5–10%). Это можно объяснить уменьшением содержания гидрофобного фрагмента в молекуле полимера, который связывал бы и удерживал ципрофлоксацин.



Рисунке 4. Профили высвобождения ципрофлоксацина из систем на основе хитозана средней молекулярной массы.

2.2.5. Антибактериальная активность наночастиц и конъюгатов *in vitro*

Антибактериальную активность полученных антибактериальных систем на основе фторхинолона/хитозана (конъюгатов и наночастиц) *in vitro* оценивали методом диффузии в агар. Результаты исследования представлены в **таблице 8**.

Таблица 8. Антибактериальная активность конъюгатов и наночастиц на основе ципрофлоксацина/хитозана.

Образец	Зона ингибирования, мм *	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Схема 5, система 1		
C-CS-I-M	14.2 ± 0.3	11.3 ± 0.1
C-CS-II-M	16.2 ± 0.4	13.1 ± 0.2
C-CS-III-M	20.0 ± 0.2	14.9 ± 0.1
Схема 5, система 5		
C-SP-CS-I-M	23.7 ± 0.4	18.4 ± 0.5
C-SP-CS-II-M	27.4 ± 0.1	21.6 ± 0.3
C-SP-CS-III-M	31.1 ± 0.1	23.9 ± 0.4
Схема 5, система 3; таблица 7, часть I		
C-L-NPs-C-CS-I-M	47.2 ± 0.1	42.5 ± 0.5
C-L-NPs-C-CS-II-M	47.8 ± 0.3	42.3 ± 0.4
C-L-NPs-C-CS-III-M	47.9 ± 0.2	42.6 ± 0.3
Схема 5, система 4; таблица 7, часть II		
C-L-NPs-C-CS-I-H	36.0 ± 0.5	30.9 ± 0.7
C-L-NPs-C-CS-II-H	36.5 ± 0.1	30.2 ± 0.3
C-L-NPs-C-CS-III-H	36.2 ± 0.4	31.1 ± 0.2

<i>Схема 5, система 6; таблица 7, часть III</i>		
C-L-NPs-C-SP-CS-I-M	36.3 ± 0.1	29.9 ± 0.1
C-L-NPs-C-SP-CS-II-M	36.9 ± 0.4	31.2 ± 0.3
C-L-NPs-C-SP-CS-III-M	36.4 ± 0.3	30.5 ± 0.1
<i>Антибактериальные препараты</i>		
Ципрофлоксацин	43.6 ± 0.3	38.4 ± 0.5
Хитозан	8.7 ± 0.2	7.9 ± 0.4

* Среднее значение ± стандартное отклонение, n=3

Наиболее активными антибактериальными системами оказались загруженные ципрофлоксацином самоорганизующиеся наночастицы на основе конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан без спейсера. Их антибактериальный эффект как против *S. aureus*, так и против *E. coli* сравним с действием эталонного антибиотика ципрофлоксацина (МИК для *E. coli*: ципрофлоксацин 0.10 мкг/мл, **C-L-NPs-C-CS-I-M** 0.13 мкг/мл, **C-L-NPs-C-CS-II-M** 0.11 мкг/мл, **C-L-NPs-C-CS-III-M** 0.10 мкг/мл МИК для *S. aureus*: ципрофлоксацин 2.10 мкг/мл, **C-L-NPs-C-CS-I-M** 2.60 мкг/мл, **C-L-NPs-C-CS-II-M** 2.40 мкг/мл, **C-L-NPs-C-CS-III-M** 2.05 мкг/мл).

2.2.6. Антибактериальная активность загруженных самособирающихся наночастиц на основе конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан без спейсера *in vivo*

Основываясь на результатах, описанных в предыдущих разделах, для экспериментов *in vivo* были выбраны загруженные самособирающиеся наночастицы на основе конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан без спейсера как наиболее перспективные антибактериальные системы из протестированных в данном исследовании. Они были протестированы (таблица 9) на белых крысах линии Вистар в сравнении с исходными хитозаном и ципрофлоксацином (масса тестируемого образца одинакова). Для опытов крысы были подвергнуты модельному перитониту, используя в качестве возбудителей микробную смесь, содержащую *S. aureus* и *E. coli*.

Таблица 9. Антибактериальная активность *in vivo* загруженных самоорганизующихся наночастиц на основе конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан без спейсера (схема 5, система 3; таблица 7, часть I) в сравнении с исходными хитозаном и ципрофлоксацином.

Образец	КОЕ/мл экссудата (через 7 часов после инъекции или через 31 час после инфицирования)
Контроль без обработки (через 24 часа после инфекционного заболевания)	2825
Хитозан	1930
C-L-NPs-C-CS-I-M	0 (нет роста)
C-L-NPs-C-CS-II-M	0 (нет роста)
C-L-NPs-C-CS-III-M	0 (нет роста)

Наименьшая антибактериальная активность *in vivo* отмечена у исходного хитозана. Использование хитозана в качестве антибактериального средства привело к тому, что значение КОЕ на 1 мл экссудата составило всего в 1.5 раза меньше, чем в контрольной пробе. В качестве контрольной пробы использовали инфицированную перитонитом крысу, не получавшую лечения. Довольно высокую активность проявлял ципрофлоксацин. Исследуемые наночастицы продемонстрировали чрезвычайно высокий антибактериальный эффект *in vivo*: рост колоний не был обнаружен после забора экссудата. Высокая активность наночастиц обусловлена хорошим профилем их высвобождения. Кроме того, более низкая эффективность ципрофлоксацина может быть объяснена его быстрой элиминацией. Выведение наночастиц протекает гораздо сложнее, и это может привести к усилению антибактериального действия наночастиц по сравнению с ципрофлоксацином. Особо следует отметить, что количество ципрофлоксацина в образцах тестируемых системах на основе хитозана более чем в 3 раза меньше по сравнению с количеством ципрофлоксацина в его образце такой же массы. Таким образом, использование разработанных систем приводит к снижению потребления ципрофлоксацина более чем в 3 раза.

2.2.7. Токсичность загруженных самоорганизующихся наночастиц на основе конъюгатов ципрофлоксацин-хитозан без спейсера

Также была оценена токсичность полученных наночастиц *in vivo* на крысах. Установлено, что однократное введение наносuspензии **C-L-NPs-C-CS-I-M**, **C-L-NPs-C-CS-II-M** или **C-L-NPs-C-CS-III-M** в дозе 2000 мг/кг не влияет на общее состояние животных: симптомов острого отравления не зарегистрировано, гибели крыс не наблюдалось. Поскольку исследуемая доза препарата не привела к гибели ни одного животного, был сделан вывод, что $LD_{50} > 2000$ мг/кг и исследуемые наночастицы относятся к IV классу опасности (малотоксичные вещества).

Таким образом, на основании экспериментальных данных как *in vitro*, так и *in vivo* исследований можно сделать вывод, что ведущие антибактериальные системы на основе хитозана **C-L-NPs-C-CS-I-M**, **C-L-NPs-C-CS-II-M** и **C-L-NPs-C-CS-III-M** нетоксичны.

3. ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Выявлены оптимальные акустические параметры для зеленого ультразвукового синтеза селенсодержащих производных хитина и хитозана при обработке данных полисахаридов 3-(хлорметил)-[1,2,4]селенадиазоло[4,5-а]пиридин-4-ия бромидом, позволяющие проводить синтез в самом экологически чистом растворителе (воде) и минимизировать количество алкилирующего реагента. С использованием данного подхода получены первые селенсодержащие производные хитина и хитозана, а также наночастицы на их основе.

2. Установлено, что ДЦК-опосредованное взаимодействие между группами COOH и NH_2 с образованием амидной связи интенсифицируется ультразвуком в воде. Используя этот подход, были получены первые конъюгаты ципрофлоксацин-хитозан, не содержащие спейсера. Также синтезированы первые конъюгаты ципрофлоксацин-хитозан, несущие антибиотик, присоединенный к полимерной цепи через рН-чувствительный спейсер. Кроме того, разработано три типа загруженных ципрофлоксацином наночастиц на основе обоих конъюгатов со спейсером или без спейсера.

3. Наночастицы селенсодержащих производных хитозана оказались высокоэффективными зелеными катализаторами окисления 1-фенилэтилового спирта в ацетофенон бромом при комнатной температуре. Использование упомянутых систем позволило осуществить замену более токсичного растворителя хлорорганического дихлорметана на более экологичный ацетон.

4. Обнаружена высокая антибактериальная и противогрибковая активность полученных селенсодержащих производных хитина и хитозана, а также наночастиц на их основе. Противомикробная активность полученных селенсодержащих систем превосходит действие классических антибиотиков (ампициллина и гентамицина) и противогрибкового препарата амфотерицина В. Кроме того, разработанные противомикробные системы на основе хитина и хитозана практически нетоксичны. Полученные результаты являются одними из лучших в литературе и имеют потенциал для дальнейших исследований *in vivo*, как экологичная альтернатива традиционным антибиотикам.

5. Загруженные ципрофлоксацином самоорганизующиеся наночастицы на основе конъюгатов без спейсера характеризуются хорошим профилем высвобождения антибиотика. Антибактериальный эффект данных систем *in vivo* превосходит эффект исходного ципрофлоксацина. Токсичность же данных наночастиц *in vivo* была почти идентична токсичности хитозана, который считается нетоксичным соединением. Данные наночастицы представляют несомненный интерес как системы пролонгированного высвобождения ципрофлоксацина. Использование разработанных систем приводит к снижению потребления ципрофлоксацина более чем в 3 раза, что крайне важно с точки зрения экологии.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ОПУБЛИКОВАНО В СЛЕДУЮЩИХ СТАТЬЯХ И СБОРНИКАХ:

Статьи в журналах, реферируемых базами данных Web of Science и Scopus:

1. Egorov A. R., Artemjev A. A., Kozyrev V. A., Sikaona D. N., Rubanik V. V., Rubanik Jr V. V., Kritchenkov I. S., Yagafarov N. Z., Khubiev O. M., Tereshina T. A., Kultyshkina E. K., Medjbour B., Khrustalev V. N., Kritchenkov A. S. Synthesis of Selenium-Containing Chitosan Derivatives and Their Antibacterial Activity // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2022. – V. 58, № 2. – P. 132-135. IF = 0.886.
2. Egorov A. R., Yagafarov N. Z., Artemjev A. A., Khubiev O., Medjbour B., Kozyrev V. A., Donovan Sikaona N., Tsvetkova O. I., Rubanik V. V., Rubanik V. V., Kurliuk A. V., Shakola T. V., Lobanov N. N., Kritchenkov I. S., Tskhovrebov A. G., Kirichuk A. A., Khrustalev V.

- N., Kritchenkov A. S. Synthesis and in vitro antifungal activity of selenium-containing chitin derivatives // *Mendeleev Communications*. – 2022. – V. 32, № 3. – P. 357-359. IF = 1.77.
3. Egorov A. R., Khubiev O., Rubanik V. V., Rubanik V. V., Lobanov N. N., Savilov S. V., Kirichuk A. A., Kritchenkov I. S., Tskhovrebov A. G., Kritchenkov A. S. The first selenium containing chitin and chitosan derivatives: Combined synthetic, catalytic and biological studies // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2022. – V. 209. – P. 2175-2187. IF = 8.025.
 4. Egorov A. R., Kurasova M. N., Khubiev O., Bogdanov N. A., Tskhovrebov A. G., Kirichuk A. A., Khrustalev V. N., Rubanik V. V., Rubanik V. V., Jr., Kritchenkov A. S. Ciprofloxacin chitosan conjugate: combined antibacterial effect and low toxicity // *Mendeleev Communications*. – 2022. – V. 32. – P. 774–776. IF = 1.77.
 5. Egorov A. R., Kurliuk A. V., Rubanik V. V., Kirichuk A. A., Khubiev O., Golubev R., Lobanov N. N., Tskhovrebov A. G., Kritchenkov A. S. Chitosan-Based Ciprofloxacin Extended Release Systems: Combined Synthetic and Pharmacological (In Vitro and In Vivo) Studies // *Molecules*. – 2022. – V. 27, № 24. – P. 8865. IF = 4.6.
 6. Egorov A. R., Kirichuk A. A., Rubanik V. V., Rubanik V. V., Tskhovrebov A. G., Kritchenkov A. S. Chitosan and Its Derivatives: Preparation and Antibacterial Properties // *Materials*. – 2023. – V. 16, № 18. – P. 6076. IF = 3.4.

Сборники материалов конференций конференций:

7. Егоров А.Р., Хрусталеv В.Н., Хубиев О.М., Белый А.Э., Голубев Р.А., Есакова В.Е., Критченков А.С. Новые функционализированные производные хитозана для пролонгированного высвобождения ципрофлоксацина // *Информация и образование: границы коммуникаций*. – 2023. – № 15(23). – С. 258-261.
8. Егоров А.Р., Критченков А.С. Синтез селенсодержащих производных хитозана и их биологическая активность // XIII Конференция молодых ученых по общей и неорганической химии: Тезисы докладов конференции (ИОНХ РАН), Москва, 3-7 апреля 2023 г. –«МЕСОЛ», 2023. – С. 298.
9. Егоров А.Р., Критченков А.С. Ультразвук-опосредованное получение ципрофлоксацинхитозановых конъюгатов и их биологические свойства // *Техническая акустика: разработки, проблемы, перспективы: материалы IV международной научной конференции (ИТА НАН), Витебск, 29-31 марта 2023 г. / под. ред. чл.-корр. Рубаника В.В. – УП «ИВЦ Минфина», 2023. – С. 62.*
10. Егоров А.Р., Критченков А.С., Семенкова Д.И., Голубев Р.А. Ультразвуковые и электрохимические реакции хитозана // *Перспективные материалы и технологии: материалы международного симпозиума (ИТА НАН), Минск, 21-25 августа 2023 г. / под. ред. В.В.Рубаника. – Минск: ИВЦ Минфина, 2023. – С. 356.*
11. Критченков И.С., Рубаник В.В. мл., Петрова-Буркина О.А., Константинов П.Е., Егоров А.Р., Артемьев А.А. Промотируемое ультразвуком азид-иновое 1,3-диполярное циклоприсоединение в химической модификации хитозана // *Техническая акустика: разработки, проблемы, перспективы: материалы международной научной конференции, Витебск, 25-28 мая 2021 г. - Витебск: УО «ВГТУ», 2021. – С. 111-112.*

Егоров Антон Романович

Экологические аспекты синтеза и потенциального использования новых систем на основе хитина и хитозана

В рамках развития методов зелёной химии выявлены оптимальные условия ультразвукового синтеза селенсодержащих производных хитина и хитозана, позволяющие использовать воду как экологически чистый растворитель. Получены первые селенсодержащие производные хитозана и их наночастицы. Показано, что ультразвук в воде активизирует ДЦК-опосредованное образование амидной связи между группами COOH и NH₂. Используя данный зелёный подход, получены конъюгаты ципрофлоксацин-хитозан без спейсера и с рН-чувствительным спейсером и загруженные ципрофлоксацином наночастицы на основе конъюгатов. Наночастицы селенсодержащих производных оказались эффективными зелёными катализаторами окисления вторичных спиртов в кетоны. позволило осуществить замену более токсичного растворителя хлорорганического дихлорметана на более экологичный ацетон. Селенсодержащие производные хитина и хитозана, а также их наночастицы, проявили высокую антибактериальную и противогрибковую активность, превосходя действие классических антибиотиков. При этом указанные системы оказались почти нетоксичными. Наночастицы с ципрофлоксацином обладают хорошим профилем высвобождения антибиотика, превосходя эффект исходного ципрофлоксацина *in vivo*, с сохранением низкой токсичности, характерной для хитозана. Использование разработанных систем приводит к снижению потребления ципрофлоксацина более чем в 3 раза, что крайне важно с точки зрения экологии.

Egorov Anton Romanovich

Environmental aspects of the synthesis and potential use of new systems based on chitin and chitosan

As part of the development of green chemistry methods, optimal conditions for the ultrasonic synthesis of selenium-containing derivatives of chitin and chitosan have been identified, allowing the use of water as an environmentally friendly solvent. The first selenium-containing chitosan derivatives and their nanoparticles were obtained. It has been shown that ultrasound in water activates the DCC-mediated formation of an amide bond between the COOH and NH₂ groups. Using this green approach, ciprofloxacin-chitosan conjugates without a spacer and with a pH-sensitive spacer and ciprofloxacin-loaded nanoparticles based on the conjugates were obtained. Nanoparticles of selenium-containing derivatives turned out to be effective green catalysts for the oxidation of secondary alcohols into ketones. made it possible to replace the more toxic solvent organochlorine dichloromethane with the more environmentally friendly acetone. Selenium-containing derivatives of chitin and chitosan, as well as their nanoparticles, showed high antibacterial and antifungal activity, surpassing the effect of classical antibiotics. Moreover, these systems turned out to be almost non-toxic. Nanoparticles with ciprofloxacin have a good antibiotic release profile, surpassing the effect of the original ciprofloxacin *in vivo*, while maintaining the low toxicity characteristic of chitosan. The use of the developed systems leads to a reduction in the consumption of ciprofloxacin by more than 3 times, which is extremely important from an environmental point of view.