

ПОЛИМЕРНЫЕ, БИООРГАНИЧЕСКИЕ И ГИБРИДНЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ

УДК 582.286.292

НАНОКОМПОЗИТЫ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

© 2023 г. В. В. Ревин¹, Е. В. Лясыкина^{1,*}, А. О. Богатырева¹, Н. Б. Назарова¹, Е. С. Упыркина¹,
И. В. Кургаева¹, Р. Г. Васильев²

¹Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, Саранск, Россия

²Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

*E-mail: liyaskina@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.06.2022 г.

После доработки 26.10.2022 г.

Принята к публикации 29.10.2022 г.

Получены биоконпозиты с антибактериальным действием на основе бактериальной целлюлозы (БЦ), хитозана и фузидовой кислоты в виде пленок, гидрогелей и аэрогелей. Исследована их структура методами атомно-силовой микроскопии, сканирующей электронной микроскопии, ИК-спектроскопии и компьютерной микротомографии. Показано, что толщина волокон БЦ, образуемой штаммом *Komagataeibacter sucrofermentans* В-11267 на среде с мелассой, составляет 50–60 нм. Полученные наноконпозиты имеют высокую антибактериальную активность в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* и *Bacillus licheniformis* и могут быть использованы в качестве материалов медицинского назначения, в том числе в тканевой инженерии и в качестве раневых покрытий с антибактериальными свойствами.

DOI: 10.56304/S1992722323010107

ВВЕДЕНИЕ

Сегодня функциональные носители биологически активных соединений и абсорбенты с высокой удельной поверхностью широко используются в биомедицине [1, 2]. Особое внимание привлекают биосовместимые и биоразлагаемые фибриллярные наноматериалы, к числу которых относится бактериальная целлюлоза (БЦ).

Целлюлоза хорошо известна как один из самых распространенных биоразлагаемых материалов в природе. Ее традиционно получают из растений, но она также может образовываться благодаря определенным видам бактерий [3, 4]. БЦ в основном продуцируется микроорганизмами, принадлежащими роду *Komagataeibacter* [5, 6].

БЦ имеет уникальную наноразмерную сетчатую структуру и состоит из агрегатов целлюлозных фибрилл диаметром ~20–60 нм, поэтому ее часто называют бактериальной наноцеллюлозой и наряду с микрофибриллярной и нанокристаллической целлюлозой относят к наноцеллюлозным материалам [6–10]. Такая уникальная микроморфология обеспечивает БЦ большую площадь поверхности, высокую водоудерживающую способность, пористость, механическую прочность (200–300 МПа), влажность (>90%), кристалличность (84–89%), термостабильность (до 300°C) и степень полимеризации (до 8000) [7].

Бактериальная наноцеллюлоза в последние 10 лет привлекает огромное внимание исследователей как биоматериал для тканевой инженерии [8, 11, 12], создания раневых покрытий [7, 13–16] и систем контролируемой доставки лекарственных средств [9, 17–20].

В отличие от синтетических полимеров она является биологически совместимой, не токсична, не вызывает аллергии и физического отторжения. Гель-пленка БЦ поддерживает оптимальный баланс влажности, стимулирующий заживление; отлично пропускает жидкости и газы; активно насыщается лекарственными препаратами и свободно отдает их в поврежденную зону; поглощает продукты распада тканей; служит почти непреодолимым физическим барьером для инфекции, создает благоприятные условия для свободной миграции и пролиферации клеток в трехмерном пространстве.

Однако БЦ в нативном состоянии не проявляет антимикробного действия. Существует несколько успешных попыток придания БЦ антимикробных свойств. Созданы композиты с антибактериальной активностью на основе БЦ, серебра, меди и цинка [21–25]. Получены материалы медицинского назначения с антибактериальным действием на основе БЦ и антибиотиков (тетрациклин, гентамицин, амоксициллин, амоксицилин, цефтриаксон и др.) [25–29].

Особый интерес к БЦ вызван возможностью получения на ее основе новых функциональных и конструкционных материалов [30–32]. Получены биокомпозиты на основе БЦ и хитозана для использования в качестве раневых покрытий [32, 33]. Хитозан в биокомпозите оказывает антибактериальное действие в отношении *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, обладает ранозаживляющим действием и ускоряет эпителизацию. Разработаны гибридные нанокompозиты на основе БЦ и альгината для использования в качестве матриц для тканевой инженерии, пленок для раневых покрытий и средств доставки лекарственных препаратов [34, 35].

Цель данного исследования – получение и исследование биокомпозитов с антибактериальным действием на основе БЦ, хитозана и фузидовой кислоты в виде пленок, гидрогелей и аэрогелей как функциональных материалов широкого спектра применения, в частности в медицине.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Получение БЦ. БЦ получена с помощью штамма бактерии *Komagataeibacter sucrofermentans* Н-110, который был выделен из чайного гриба, идентифицирован на основании анализа 16S рРНК и депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под номером *K. sucrofermentans* ВКПМ В-11267 [5]. Для получения БЦ использовали среду с мелассой в концентрации 55 г/л, рН 4.5. Инокулят выращивали на шейкере-инкубаторе ES-20/60 (BIOSAN, Латвия) при скорости перемешивания 250 об./мин и температуре 28°C в течение одних суток. Полученным инокулятом в количестве 10% от объема среды засеивали контейнеры, содержащие 500 мл среды, и осуществляли культивирование в статических условиях при температуре 28°C в течение пяти суток. Полученную БЦ трехкратно обрабатывали 0.1 Н раствором NaOH при 80°C в течение 30 мин для удаления клеток и компонентов среды. От раствора щелочи целлюлозу отмывали 0.5%-ным раствором уксусной кислоты и дистиллированной водой до нейтральной реакции. Гель-пленки БЦ высушивали до постоянной массы при температуре 60°C.

Получение композитов на основе БЦ и фузидина натрия. Сухие пленки БЦ разрезали на круги диаметром 10 мм и погружали в 10 мл водного раствора фузидина натрия в концентрации 200 мкг/мл на 1 ч. Затем высушивали их при температуре 60°C в течение 24 ч.

Получение композитов на основе гидрогелей БЦ и хитозана. Полученную, предварительно очищенную, гель-пленку БЦ механически измельчали в течение 10 мин с получением гидрогеля БЦ с гидромодулем 1:3. Гидрогели БЦ-хитозан полу-

чали путем смешивания гидрогеля БЦ с 2%-ным раствором хитозана в 1%-ной уксусной кислоте в соотношении 50 : 50 и сшиванием 25%-ным глутаровым альдегидом, добавленным в количестве 2% к массе гидрогеля. Для придания антимикробных свойств в композит добавляли антибиотик фузидин натрия в концентрации 200 мкг/г гидрогеля. Полученную смесь нагревали при 80°C в течение 1 ч. Полученный гидрогель несколько раз промывали деионизированной водой.

Получение композитов на основе аэрогелей БЦ и хитозана. Для получения аэрогелей полученные гидрогели замораживали в низкотемпературном холодильнике MDF-U53V (SANYO, Япония) при –50°C в течение суток и высушивали на лиофильной сушилке Freeze Dryer (Labconco, США).

Атомно-силовая микроскопия. Морфологию поверхности БЦ исследовали с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) с использованием сканирующего зондового микроскопа SPM 9600 (Shimadzu, Japan).

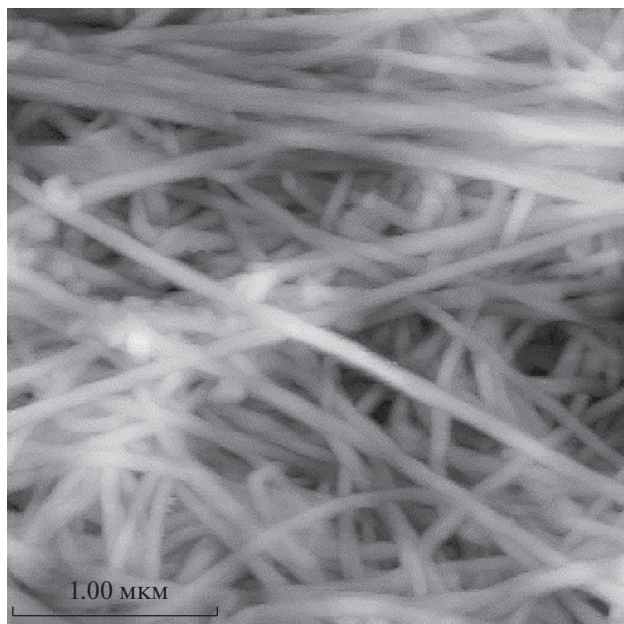
Сканирующая электронная микроскопия. Исследование микроструктуры композитов осуществляли при помощи многофункционального растрового электронного микроскопа Quanta™ 3D 200i (FEI Company, США).

ИК-спектроскопия. ИК-фурье-спектры регистрировали на ИК-спектрометре IRPrestige-21 (Shimadzu, Япония) в средней ИК-области 4000–400 см⁻¹.

Метод компьютерной микротомографии. Для морфологического анализа полученных биокомпозитов использовали микрорентгеновский томограф Skyscan 1172 (Bruker, Бельгия).

Антибактериальную активность композитов исследовали диффузионным методом дисков в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* 209 P и *Bacillus licheniformis* В-7847. Газоны тест-микроорганизма (1 × 10⁵ КОЕ/чашку) были получены на среде № 1 ГРМ для культивирования бактерий. Образцы помещали на газоны и в качестве контроля использовали раствор фузидина натрия в концентрации 200 мкг/мл. Чашки инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 24 ч. Затем ингибирующее действие тестируемых образцов на рост бактерий определяли путем измерения зон отсутствия роста.

Также антибактериальную активность биокомпозитов изучали путем подсчета КОЕ тест-микроорганизма *S. aureus* 209 после инкубирования с исследуемым материалом. Стерильные образцы биокомпозитов массой 0.5 г помещали в 20 мл бактериальной суспензии. Затем инкубировали их в шейкере-инкубаторе при 37°C в течение 24 ч. В исследуемое время отбирали 0.1 мл суспензии и проводили серийное разведение. Затем



3.0 × 3.0 мкм

Рис. 1. АСМ-изображение БЦ, полученной с помощью штамма *K. sacrofermentans* B-11267 на среде с мелассой.

0.1 мл разведения наносили на чашки с агаром в трех экземплярах и инкубировали при 37°C для образования колоний. Через 24 ч подсчитывали единичные колонии. Эксперимент повторяли трижды для каждого штамма и регистрировали средние значения. Процент снижения жизнеспособности клеток рассчитывали по формуле

$$X = \frac{КОЕ_{t_0} - КОЕ_{t_x}}{КОЕ_{t_0}} \times 100, \quad (1)$$

где t_0 – время 0 ч, t_x – время, в которое процент снижения жизнеспособности рассчитывается.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Бактериальная целлюлоза имеет уникальную наноразмерную сетчатую структуру, состоящую

из тонких волокон диаметром, в 100 раз меньшим, чем у растительных волокон [6–9]. На рис. 1 представлена микроморфология БЦ, полученной с помощью штамма *K. sacrofermentans* B-11267 на среде с мелассой. Толщина фибрилл БЦ составляет 50–60 нм.

Благодаря уникальным свойствам БЦ является идеальным биоматериалом для использования в тканевой инженерии, для получения раневых покрытий с регенерационными и антибактериальными свойствами. Однако БЦ сама по себе не обладает антибактериальным действием. Для решения этой проблемы были получены композиты в виде пленок (рис. 2а), гидрогелей (рис. 2б) и аэрогелей (рис. 2в), где в качестве антимикробных компонентов выступали хитозан и фузидовая кислота (ФК).

Хитозан – это катионный аминополисахарид природного происхождения, сополимер глюкозамина и N-ацетилглюкозамина, получение которого осуществляют путем частичного деацетилирования хитина. Согласно [36] хитин и хитозан обладают антибактериальными свойствами в отношении многих бактерий, микроскопических грибов, вирусов, а также в отношении некоторых штаммов дрожжей.

Фузидовая кислота – антибиотик, образуемый грибом *Fusidium coccineum*, принадлежит к классу стероидов, но не обладает гормональной активностью [37]. Согласно [38] ФК обладает бактериостатической, а в высоких дозах и бактерицидной активностью преимущественно против грамположительных бактерий (особенно по отношению к стафилококкам и стрептококкам). Механизм действия связан с быстрым подавлением синтеза белка микроорганизмов [37]. В последние годы появились сообщения о том, что ФК оказывает ингибирующее действие на образование биопленок *S. aureus* и может эффективно снижать вирулентность *S. aureus* путем ингибирования экспрессии α -токсина [38]. Помимо антибактериального ФК обладает слабым иммуномодулирующим действием, которое связывают с подав-

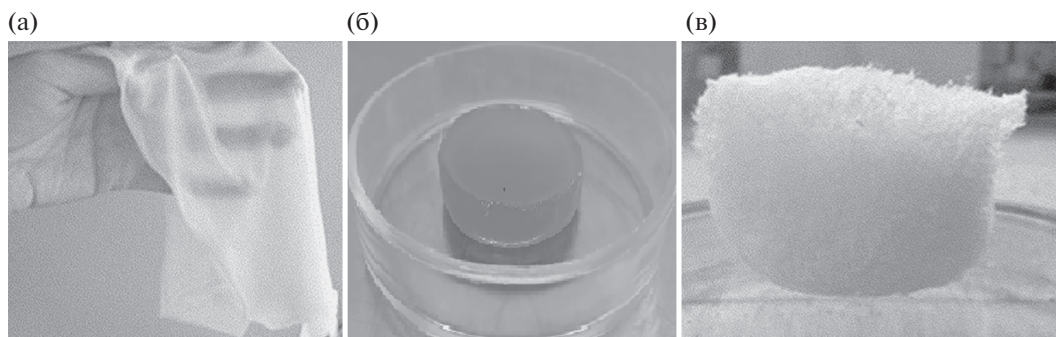


Рис. 2. Пленка БЦ (а), гидрогель на основе БЦ и хитозана (б), аэрогель на основе БЦ и хитозана (в).

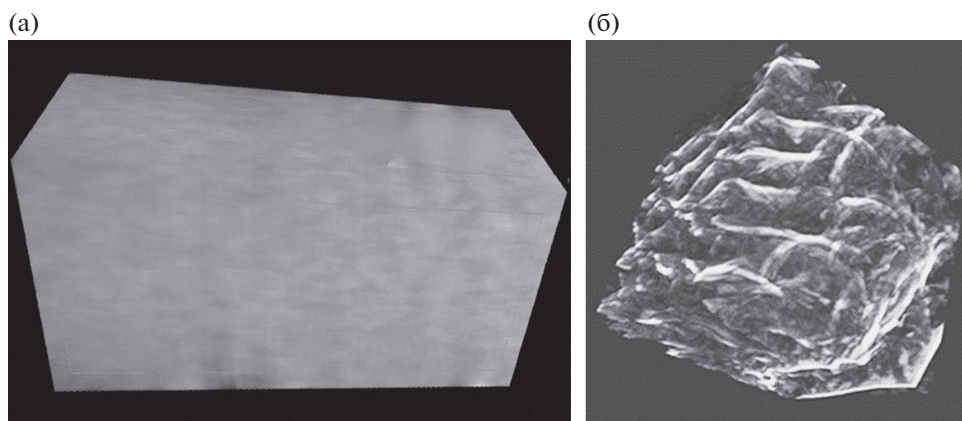


Рис. 3. Рентгеновская микротомография гидрогеля (а) и аэрогеля (б) на основе БЦ и хитозана.

лением продукции и секреции цитокинов, особенно интерлейкинов, фактора некроза опухолей. В клинических концентрациях ФК является ингибитором хемотаксиса нейтрофилов и подавляет функцию Т-лимфоцитов [39].

Фузидовая кислота широко используется в системном и местном лечении стафилококковых инфекций, включая штаммы, резистентные к пенициллину и другим антимикробным препаратам, являясь альтернативой для лечения заболеваний, вызванных метициллинорезистентными штаммами (MRSA) [40]. Кроме того, она гипоаллергенна, имеет низкую токсичность, резистентность и не имеет перекрестной резистентности с другими клинически используемыми антибиотиками.

Получены гидрогели на основе БЦ и хитозана в соотношении БЦ–хитозан 50:50 при использовании в качестве сшивающего агента глутарового альдегида. Методом компьютерной микротомографии показано, что все полученные гидрогели имели однородную плотную структуру (рис. 3а).

Для получения аэрогелей гидрогели замораживали и лиофильно высушивали. Методом компьютерной микротомографии показано, что полученные аэрогели представлены микропористыми структурами (рис. 3б). При сканировании этих образцов установлено, что поры присутствуют по всей толщине материала аэрогеля.

Морфологию поперечного сечения аэрогелей изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Как показано на рис. 4, все аэрогели представлены микропористыми структурами, что справедливо для всех видов лиофилизированных аэрогелей [38]. Однако размер их пор различается. Аэрогель хитозана характеризуется наибольшим размером пор (рис. 4а). Так, основное количество пор находится в диапазоне 66–220 мкм. Наибольшее количество пор имеют диаметр ~110 мкм. В композите хитозана с БЦ на-

блюдаются меньшие размеры пор (рис. 4б) с диапазоном 20–110 мкм. В среднем размер пор композита составляет 80 мкм. Наиболее тонкая и упорядоченная структура характерна для аэрогеля БЦ (рис. 4в). Размер пор аэрогелей на основе БЦ составляет 11–35 мкм, при этом наибольшее количество пор имеет диаметр 27 мкм.

Полученные биоконпозиты исследовали методом ИК-спектроскопии (рис. 5). На ИК-спектрах пленок БЦ обнаружена область поглощения при 3200–3500 см^{-1} с пиком при 3330 см^{-1} , которая соответствует валентным колебаниям гидроксильных групп, связанных межмолекулярными и внутримолекулярными водородными связями. Поглощение в областях 1161 и 1050 см^{-1} вызвано асимметричными колебаниями С–О–С группы и вибрациями С–С-, С–ОН-, С–Н-групп пиранозного кольца глюкозы. Характерные полосы при 1456, 1161 и 894 см^{-1} указывают на целлюлозу I в качестве основного компонента [41]. Другой интенсивный пик при 1650 см^{-1} был отнесен к карбонилу глюкозы целлюлозы.

На ИК-спектре чистой ФК можно выделить три выраженных пика при 3420, 1712 и 1260 см^{-1} (рис. 5, кривая 2). Поглощение при 3420 см^{-1} вызвано валентными колебаниями гидроксильных групп ФК, связанных межмолекулярными водородными связями. Поглощение при 1712 см^{-1} вызвано присутствием в молекуле ФК карбоксильной группы.

В спектре хитозана обнаружены полосы поглощения при 1645 см^{-1} (амид I) и 1380 см^{-1} (амид III). Полосы поглощения при 1153 см^{-1} (антисимметричное растяжение мостика С–О–С), 1086 и 1035 см^{-1} (скелетные колебания, связанные с растяжением С–О) характерны для структуры хитозана.

Композиты демонстрировали все пики, описанные для БЦ, и дополнительные пики, указы-

вающие на присутствие хитозана в контакте с сетью БЦ. В ИК-спектре композита обнаружены пики при 1647, 1556 и 1369 см^{-1} , принадлежащие хитозанамиду I, амиду II и амиду III соответственно. Кроме того, пик, относящийся к растяжению O–H, стал шире, что позволяет предположить, что молекулы хитозана вшиваются в водородные связи между цепями целлюлозы [42]. Кроме того, у полученного композитного материала появились пики, характерные для ФК, а именно пики в области 1710 и 1265 см^{-1} . Полосы поглощения в хитозане, находящиеся при 1645 и 1373 см^{-1} , в композитах были сдвинуты в область 1647 и 1369 см^{-1} , что может свидетельствовать о взаимодействии между цепями БЦ и хитозана, что подтверждает межмолекулярную связь аминогрупп хитозана и гидроксильных остатков БЦ посредством водородных связей.

Изучение структуры и физико-химических свойств полученных биокомпозитов является важным с точки зрения поведения лекарственных препаратов в матрице БЦ и кинетики их высвобождения. Известно, что, когда размер пор композита превышает молекулярный размер лекарственного средства, коэффициент диффузии может быть связан с пористостью и извилистостью материала. Для композитов с размерами пор, близкими к размеру молекулы лекарственного средства, или непористых материалов коэффициенты диффузии лекарств снижаются из-за стерического препятствия полимерных цепей. В таких случаях средний свободный объем молекул лекарственного средства уменьшается, а гидродинамическое сопротивление лекарственному средству увеличивается, что приводит к увеличению длины пути диффузии лекарственного средства по сравнению с композитами с размерами пор, намного большими, чем у инкапсулированного лекарственного средства. Большая площадь поверхности пор у полученных в настоящей работе композитов позволила загрузить в матрицу большое количество лекарственного средства. Однако микропористая структура композита БЦ способствует медленному высвобождению лекарственного вещества, что обеспечивает пролонгированное действие материала. Кроме того, размеры пор биокомпозита очень важны при использовании материалов в тканевой инженерии и регенеративной медицине [43]. 3D-каркасы БЦ обеспечивают почти идеальную среду для роста клеток и развития тканей в отличие от 2D-материалов, где происходит только поверхностный рост. Таким образом, создавая биокомпозиционные материалы с заданной пористостью, можно влиять на скорость высвобождения лекарственного препарата или на рост клеток и развитие тканей в случае использования в тканевой инженерии и регенеративной медицине.

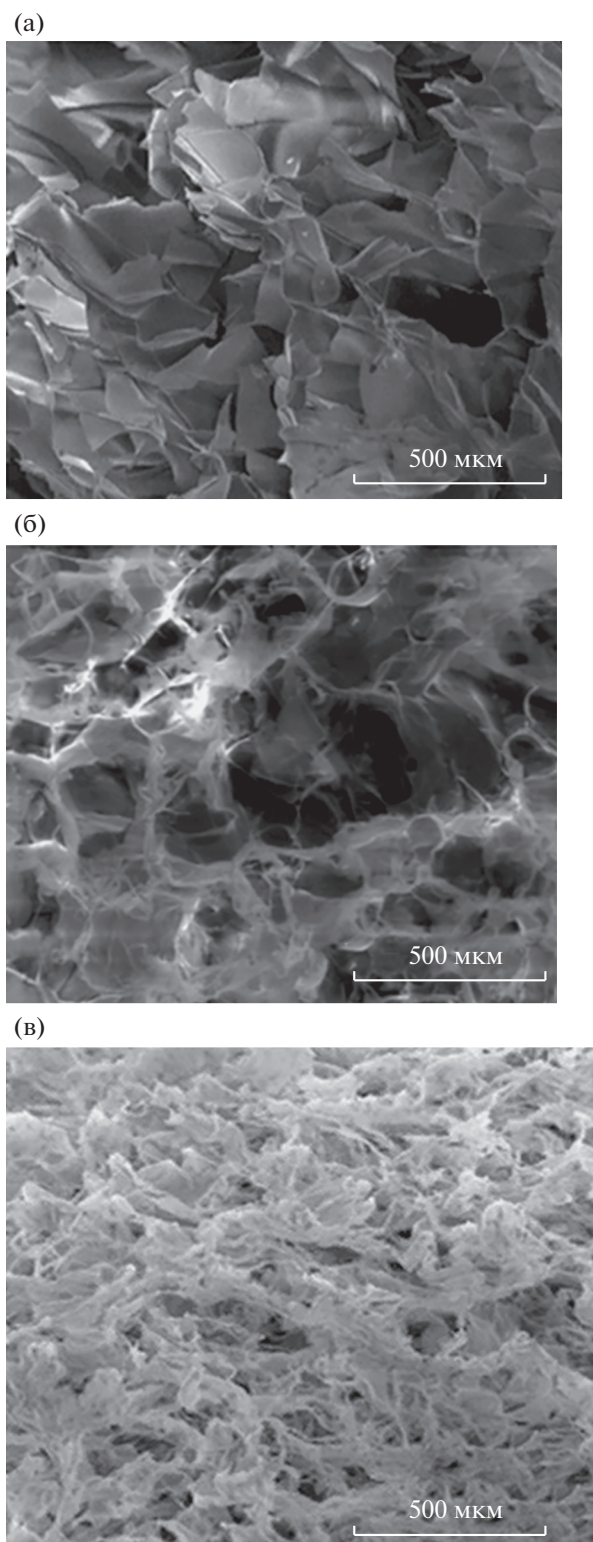


Рис. 4. СЭМ-изображения структуры аэрогелей на основе хитозана (а), композитов на основе БЦ и хитозана (б) и БЦ (в).

Исследовалась антибактериальная активность полученных композитов. В настоящее время наблюдается возрастание резистентности болезне-

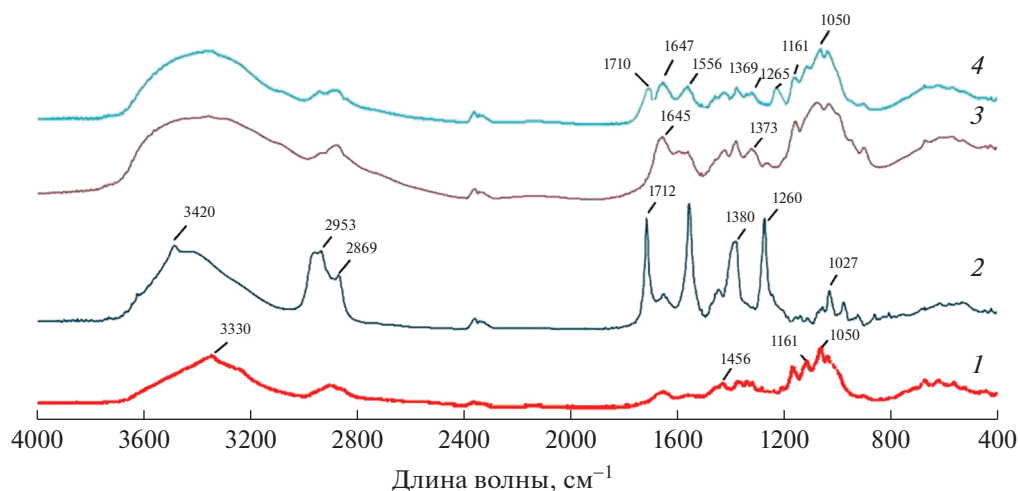


Рис. 5. ИК-спектры БЦ (1), фузидовой кислоты (2), хитозана (3), биокомпозита БЦ:хитозан:ФК (4).

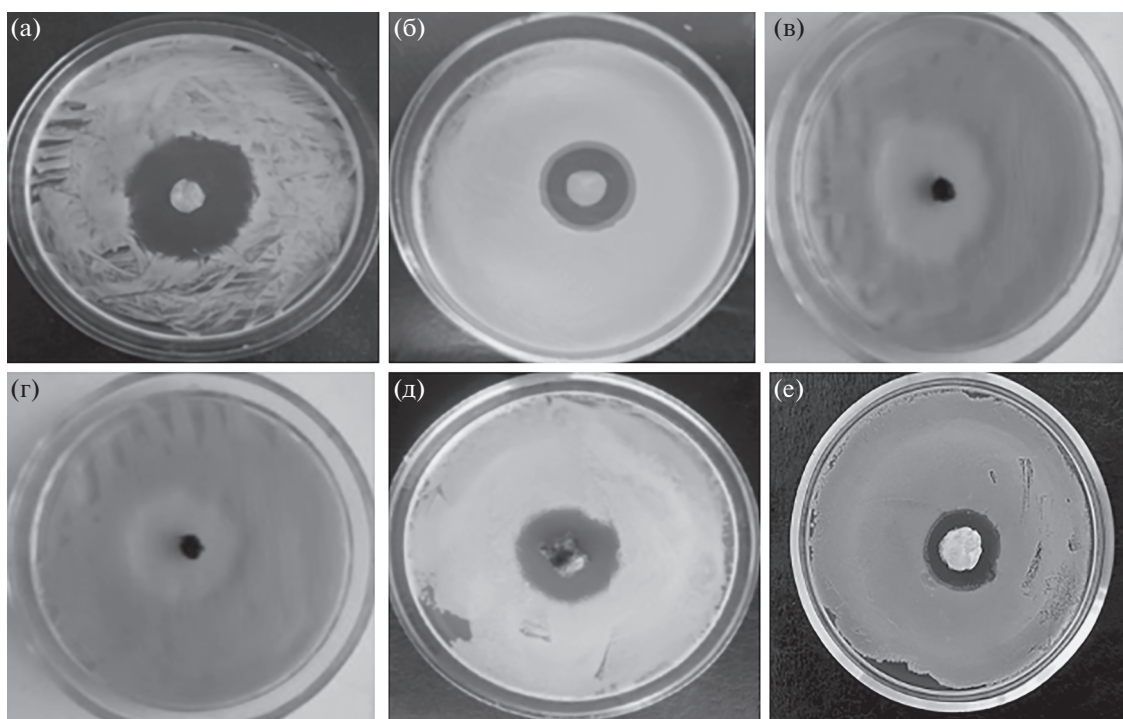


Рис. 6. Антибактериальная активность композитов на основе пленок БЦ и фузидовой кислоты (а, б), на основе БЦ, хитозана и ФК в виде гидрогеля (в, г) и аэрогеля (д, е) в отношении *S. aureus* и *B. licheniformis*.

творных бактерий к антибиотикам. В связи с этим особое внимание уделяется ФК, активной в отношении множественно резистентных грамположительных возбудителей [38–40].

В данной работе исследовали антибактериальную активность композитов на основе пленок БЦ и фузидовой кислоты, гидрогелей на основе БЦ, хитозана и ФК и аэрогелей на основе БЦ, хитозана и ФК. Поскольку ФК обладает преимущественной активностью в отношении грамполо-

жительных бактерий, в качестве тест-микробных организмов использовали бактерии *S. aureus* и *B. licheniformis*. Эффективность антибактериального действия композитов определяли по размеру зон ингибирования роста бактерий вокруг исследуемых образцов и путем подсчета КОЕ тест-микробного организма *S. aureus* 209 после инкубирования с исследуемым материалом.

При использовании композитов на основе пленок БЦ и фузидовой кислоты диаметры зоны

Таблица 1. Количество жизнеспособных клеток (КОЕ/мл) и снижение жизнеспособности клеток микроорганизмов (%) при динамическом контакте с композитами

Исследуемый материал	Время выдержки, ч	Тест-культура <i>S. aureus</i>	
		Снижение жизнеспособности клеток, %	КОЕ/мл
Аэрогель БЦ : хитозан : ФК	0	0	183×10^6
	1	2.8	178×10^6
	3	18.9	148×10^6
	8	23.8	139×10^6
	24	47.7	96×10^6
Гидрогель БЦ : хитозан : ФК	0	0	126×10^6
	1	34.0	83×10^6
	3	72.0	35×10^6
	8	88.8	14×10^6
	24	100	0
Пленка БЦ : ФК	0	0	20×10^6
	1	37.6	12×10^6
	3	85.9	3×10^6
	8	90.9	2×10^6
	24	100	0

задержки роста *S. aureus* составили 33 ± 2 мм (рис. 6а), *B. licheniformis* – 22 ± 2 мм (рис. 6б). Полученные результаты свидетельствуют о высокой антибактериальной активности композитных пленок в отношении тест-культур.

При исследовании антибактериальных свойств композитов БЦ, хитозана и ФК в виде гидрогелей выявлено, что они также обладают высокой активностью в отношении грамположительных бактерий *S. aureus* и *B. licheniformis*. Диаметр зон отсутствия роста *S. aureus* составил 32 ± 2 мм, *B. licheniformis* – 23 ± 2 мм (рис. 6в, 6г).

При исследовании антибактериальных свойств композитов БЦ, хитозана и ФК в виде аэрогелей выявили, что диаметр зон отсутствия роста тест-микроорганизмов немного меньше и составляет 25 ± 2 мм для *S. aureus* (рис. 6д) и 18 ± 2 мм для *B. licheniformis* (рис. 6е), что, вероятно, связано с пористой структурой материала.

Поэтому в целях дополнительного определения антибактериальной активности и скорости высвобождения лекарственного препарата у различных форм композитов использовали метод определения КОЕ тест-микроорганизма после инкубирования с исследуемым материалом (табл. 1).

Согласно представленным данным при использовании композитов в форме пленки и гидрогелей снижение количества микроорганизмов происходит с большей скоростью по сравнению с аэрогелями, что, вероятно, связано со структурой материала и процессом диффузии антибиотика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены и исследованы биокомпозиты с антибактериальным действием на основе бактериальной целлюлозы, хитозана и фузидовой кислоты в виде пленок, гидрогелей и аэрогелей. Полученные композиты имеют высокую антибиотическую активность в отношении грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* и *Bacillus licheniformis* и могут быть использованы как биоматериалы в тканевой инженерии и в качестве раневых покрытий с антибактериальными свойствами. Создавая биокомпозиты на основе БЦ и других биосовместимых полисахаридов, в частности хитозана, можно получать материалы с определенной структурой и свойствами, оказывая соответствующее влияние на скорость высвобождения лекарственного препарата или на рост клеток и развитие тканей в случае использования в тканевой инженерии и регенеративной медицине.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-515-80002) и Министерства науки и высшего образования РФ (грант FZRS-2020-0003).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Карпова С.Г., Ольхов А.А., Лобанов А.В. и др. // Российские нанотехнологии. 2019. Т. 14. № 3–4. С. 46. <https://doi.org/10.21517/1992-7223-2019-3-4-46-58>
2. Dubey K.A., Chaudhari C.V., Bhardwaj Y.K., Varshney L. // Adv. Struct. Mater. 2017. V. 66. P. 1. https://doi.org/10.1007/978-981-10-3328-5_1
3. Ревин В.В., Лияськина Е.В. Биотехнология бактериальных экзополисахаридов: учеб. пособие. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2019. 192 с.
4. Xue Y., Mou Z., Xiao H. // Nanoscale. 2017. V. 9. № 39. P. 14758. <https://doi.org/10.1039/c7nr04994c>
5. Revina V.V., Liyas'kina E.V., Sapunova N.B., Bogatyreva A.O. // Microbiology. 2020. V. 14. № 1. P. 86. <https://doi.org/10.1134/S0026261720010130>
6. Sharma C., Bhardwaj N.K. // Mater. Sci. Eng. C. 2019. V. 104. P. 109963. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109963>
7. Teixeira M.A., Paiva M.C., Amorim M.T.P., Felgueiras A.H.P. // Nanomaterials. 2020. V. 10 (3). P. E557. <https://doi.org/10.3390/nano10030557>
8. Luo H., Cha R., Li J. et al. // Carbohydr. Polym. 2019. V. 224. P. 115144. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115144>
9. Fahimirad S., Ajalloueiian F. // Int. J. Pharm. 2019. V. 566. P. 307. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.05.053>
10. Ullah M.W., Rojas O.J., McCarthy R.R., Yang G. // Front. Bioeng. Biotechnol. 2021. V. 9. P. 738779. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.738779>
11. Chen C., Xi Y., Weng Y. // Polymers. 2022. V. 14. P. 3335. <https://doi.org/10.3390/polym14163335>
12. Tsiklin I.L., Shabunin A.V., Kolsanov A.V. et al. // Polymers. 2022. V. 14. P. 3222. <https://doi.org/10.3390/polym14153222>
13. Kushwaha A., Goswami L., Kim B.S. // Nanomaterials. 2022. V. 12. P. 618. <https://doi.org/10.3390/nano12040618>
14. Niculescu A.G., Grumezescu A.M. // Polymers. 2022. V. 14. P. 421. <https://doi.org/10.3390/polym14030421>
15. Moradpoor H., Mohammadi H., Safaei M. et al. // Int. J. Polymer Sci. 2022. V. 1. P. 1. <https://doi.org/10.1155/2022/1214734>
16. Jankau J., Błażyńska-Spychalska A., Kubiak K. et al. // Front. Bioeng. Biotechnol. 2022. V. 9. P. 805053. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.805053>
17. Pöttinger Y., Kralisch D., Fischer D. // Ther. Deliv. 2017. V. 8. P. 753. <https://doi.org/10.4155/tde-2017-0059>
18. Huo Y., Liu Y., Xia M. et al. // Polymers. 2022. V. 14. P. 2648. <https://doi.org/10.3390/polym14132648>
19. Das S., Ghosh B., Sarkar K. // Sens. Int. 2022. V. 3. P. 100135. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2021.100135>
20. Mensah A., Chen Ya, Christopher N. et al. // Bioengineering. Basel. 2022. V. 9 (1). P. 3. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9010003>
21. Baker S., Prudnikova S.V., Shumilova A.A. et al. // J. Microbiol. Meth. 2019. V. 159. P. 42. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.02.009>
22. Ma B., Huang Y., Zhu C. et al. // Mater. Sci. Eng. C. 2016. V. 62. P. 656. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.02.011>
23. Jebel F.S., Almasi H. // Carbohydr. Polym. 2016. V. 149. P. 8. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.089>
24. Luo Z., Liu J., Lin H. et al. // Int. J. Nanomed. 2020. V. 15. P. 1. <https://doi.org/10.2147/IJN.S231556>
25. Volova T.G., Prudnikova S.V., Kiselev E.G. et al. // Nanomaterials. 2022. V. 12. P. 192. <https://doi.org/10.3390/nano12020192>
26. Shao W., Liu H., Wang S. et al. // Carbohydr. Polym. 2016. V. 145. P. 114. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.065>
27. Ye S., Jiang L., Wu J. // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2018. V. 10. P. 5862. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b16680>
28. Громовых Т.И., Садыкова В.С., Луценко С.В. и др. // Прикл. биохим. микробиол. 2017. Т. 53. № 1. С. 69. <https://doi.org/10.7868/S0555109917010093>
29. Volova T.G., Shumilova A.A., Shidlovskiy I.P. et al. // Polymer Testing. 2018. V. 65. P. 54. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9198-8>
30. Ullah H., Wahid F., Santos H.A., Khan T. // Carbohydr. Polym. 2016. V. 150. P. 330. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.029>
31. Rajwade J.M., Paknikar K.M., Kumbhar J.V. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015. V. 99. P. 2491. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6426-3>
32. Zang P., Chen L., Zhang Q., Hong F.F. // Front. Microbiol. 2016. V. 7. P. 260. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00260>
33. Cacicedo M.L., Pacheco G., Islan G.A. et al. // Int. J. Biol. Macromol. 2020. V. 147. P. 1136. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.082>
34. Shao W., Liua H., Liub X. et al. // Carbohydr. Polym. 2015. V. 132. P. 351. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.057>
35. Sulaeva I., Hettegger H., Bergen A. et al. // Mater. Sci. Eng. C. 2020. V. 110. P. 110619. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110619>

36. *Kravanja G., Primožič M., Knez Z., Leitgeb M.* // *Molecules*. 2019. V. 24. P. 1960.
<https://doi.org/10.3390/molecules24101960>
37. *Curbete M.M., Salgado H.R.* // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2016. V. 46. № 4. P. 352.
<https://doi.org/10.1080/10408347.2015.1084225>
38. *Revin V.V., Nazarova N.B., Tsareva E.E. et al.* // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2020. V. 8. P. 603407.
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.603407>
39. *Liyaskina E., Revin V., Paramonova E. et al.* // *J. Phys.: Conf. Ser.* 2017. V. 784. P. 012034.
<https://doi.org/10.1088/1742-6596/784/1/012034>
40. *Fernandes P.* // *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2016. V. 6. P. a025437.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025437>
41. *Casaburi A., Rojo U.M., Cerrutti P. et al.* // *Food Hydr.* 2017. V. 75. P. 147.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.002>
42. *Wahid F., Hu X.H., Chu L.Q. et al.* // *Int. J. Biol. Macromol.* 2018. V. 122. P. 63.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.105>
43. *Xun X., Li Y., Zhu X. et al.* // *Macromol. Biosci.* 2021. V. 21. № 11. P. 2100167.
<https://doi.org/10.1002/mabi.202100167>