

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Локова Анастасия Юрьевна

**Катионные полимеры и поликомплексы для создания
биоцидных покрытий: физико-химический аспект**

1.4.7. Высокомолекулярные соединения

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2025

Диссертация подготовлена на кафедре высокомолекулярных соединений в лаборатории синтеза и изучения свойств полимеров химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель – **Ярославов Александр Анатольевич**
*доктор химических наук, профессор,
член-корреспондент РАН*

Официальные оппоненты – **Шифрина Зинаида Борисовна**
*доктор химических наук, доцент,
ФГБУН Институт элементоорганических
соединений им. А.Н. Несмиянова Российской
академии наук, лаборатория
макромолекулярной химии, заведующий
лабораторией, главный научный сотрудник*

Клячко Наталья Львовна
*доктор химических наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова»,
химический факультет, кафедра химической
энзимологии, заведующий кафедрой*

Кусков Андрей Николаевич
*доктор химических наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Российский химико-
технологический университет имени Д.И.
Менделеева», факультет химико-
фармацевтических технологий и
биомедицинских препаратов, кафедра
технологии химико-фармацевтических и
косметических средств, профессор*

Защита диссертации состоится «26» ноября 2025 г. в 12 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МГУ.014.9 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, МГУ имени М.В. Ломоносова, стр. 40, Химический факультет, Лабораторный корпус «А», кафедра высокомолекулярных соединений, ауд. 501.

E-mail: dolgova2003@mail.ru (ученый секретарь)

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3599>

Автореферат разослан «___» октября 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета МГУ.014.9,
кандидат химических наук

А.А. Долгова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Окружающий нас мир населяют различные микроорганизмы. Полезные микроорганизмы лежат в основе пищевых цепочек, разлагают органические вещества и помогают сохранять здоровье нашей планеты и нашего организма. Другие микроорганизмы относятся к разряду болезнетворных (патогенных) и подлежат уничтожению. Для борьбы с патогенными микроорганизмами применяют широкий круг веществ, которые получили название биоцидов. Классические низкомолекулярные биоциды (НМБ) зарекомендовали себя как эффективные средства для уничтожения бактерий и грибов. Однако, зачастую НМБ не обладают длительным действием, вызывают развитие устойчивости (резистентности) у микроорганизмов, показывают слабую адгезию к обрабатываемым поверхностям, формируют хрупкие покрытия, демонстрируют высокую токсичность по отношению к животным и человеку. Это заставляет обратиться к поиску биоцидов, лишённых указанных недостатков. Решение этой актуальной задачи позволит расширить спектр биоцидных рецептур, способных уничтожать микроорганизмы в водном растворе и на поверхности.

Степень разработанности темы. Один из активно обсуждаемых подходов к созданию эффективных антимикробных препаратов заключается в использовании биологически инертных полимеров, которые могут выступать в роли матрицы для иммобилизации (концентрирования) НМБ, или полимеров, обладающих собственной биоцидной активностью. К числу последних относятся полимеры линейного строения с катионными группами. Поскольку большинство известных микроорганизмов несет отрицательный поверхностный заряд, они способны сорбировать на своей поверхности катионные полимеры (поликатионы). Такое взаимодействие сопровождается диффузией полимера через клеточную стенку, связыванием полимера с цитоплазматической мембраной и ее разрушением, что в конечном итоге приводит к гибели клетки.

Катионные полимеры способны связываться с противоположно заряженными линейными полимерами (полианионами), в результате чего происходит формирование интерполиэлектролитных комплексов (ИПЭК), стабилизованных множественными солевыми связями между ионными группами обоих полимеров. Нестехиометрические ИПЭК (НИПЭК) с избытком катионного полимера («катионные ИПЭК») представляют собой сополимеры с гидрофобными блоками, сформированными из взаимно нейтрализованных участков поликатиона и полианиона, и гидрофильными блоками, представленными последовательностями свободных, не связанных в ИПЭК, катионных групп. Катионные ИПЭК сохраняют биоцидные свойства, присущие исходным поликатионам. При этом гидрофобные блоки повышают эффективность связывания ИПЭК с поверхностью клеток, выполняя роль «якоря», проникающего вглубь цитоплазматической мембранны, и могут быть использованы для иммобилизации гидрофобных биологически активных веществ. Варьируя состав ИПЭК (соотношение катионного и анионного компонентов), можно в широких пределах изменять гидрофильно-гидрофобный баланс поликомплексных частиц, их размер, растворимость в воде и ряд других параметров, которые определяют их биоцидное действие.

Поведение биоцидных рецептур тестируют на культивируемых клеточных линиях, смесях клеток и разнообразных модельных системах. Последние используются в том случае, если основной целью исследования является изучение физико-химических аспектов взаимодействия «полимер-клетка»: миграции полимера по клеточной

поверхности и между клетками, влияния полимера на распределение липидов в цитоплазматической мемbrane, встраивания полимера в липидный бислой, агрегации, слияния и разрушения клеток. В качестве моделей хорошо себя зарекомендовали полимерные микросферы и бислойные липидные везикулы – липосомы.

Цель настоящей работы заключалась в установлении корреляции между молекулярно-массовыми характеристиками поликатиона/НИПЭК и целостностью биологической мембраны в контакте с поликатионом/НИПЭК, а также в проведении количественной оценки токсичности поликатиона/НИПЭК по отношению к культивируемым бактериальным клеткам.

Для достижения поставленной цели требовалось выполнить следующие **задачи**:

1. Получить НИПЭК из линейного катионного полимера с фиксированной молекулярной массой и линейного анионного полимера с варьируемой молекулярной массой.
2. Сформировать покрытия из НИПЭК на твердой поверхности и количественно оценить их устойчивость к обработке водой, провести сравнительное исследование морфологии покрытия до и после такой обработки.

3. Установить взаимосвязь между строением и макромолекулярными характеристиками катионных ИПЭК и протеканием конкурентных реакций в системе «НИПЭК + липосома».

4. Сравнить проницаемость традиционных анионных липосом и анионных липосом со встроенными функциональным элементом (порообразователем) после формирования их комплексов с катионным полимером.

5. Провести сравнительное исследование биологической активности катионного полимера и НИПЭК разного состава в растворе и в покрытии.

Объекты исследования включали коммерческие полимеры линейного строения: катионный полидиаллилдиметиламмоний хлорид (ПДАДМАХ) со степенью полимеризации (СП) = 2900, катионный полилизин с СП = 90 и СП = 1350 и анионный полиакрилат натрия (ПАНа) с СП = 85, анионная полиакриловая кислота (ПАК) с СП = 1060 и 2660. В качестве модельных объектов, имитирующих клетки, использовали липосомы двух типов: а) сформированные из смеси электронейтрального диолеофосфатидилхолина (ДОФХ) и анионного пальмитоилолеофосфатидилсерина (ПОФС¹⁻), взятых в мольном соотношении 2:8, и б) анионные ДОФХ-ПОФС¹⁻ липосомы со встроенным липидом-переключателем, реагирующими на изменение рН внешнего раствора. Встроенный липид-переключатель имитировал действие порообразователей в клеточной мембране. Использовали покрытия из поликатиона и НИПЭК, нанесенные на поверхность стеклянной пластинки.

Предмет исследования. Формирование агрегативно стабильных ИПЭК, комплексы поликатиона/НИПЭК с анионными липосомами, целостность липосомальной мембраны со встроенным липидом-переключателем в комплексе с поликатионом, антимикробная активность поликатиона и НИПЭК в растворе и на поверхности, механизм антимикробного действия поликатионных покрытий.

Научная новизна. Впервые показано, что взаимодействие катионного ИПЭК с анионными липосомами определяется степенью полимеризации (молекулярной массой) поликатиона в составе поликомплекса. Впервые установлено, что катионный полимер ускоряет высвобождение водорастворимой соли из липосом, в мембрану которых встроен липид-переключатель при изменении рН. Этот результат демонстрирует способность поликатиона оказывать влияние на функциональный элемент биологической мембранны. Впервые показано, что полимерное покрытие из катионного

ИПЭК сохраняет антимикробные свойства после удаления большей части полимеров в ходе их многократного смывания водой. Предложен механизм антимикробного действия катионных полимерных покрытий, заключающийся в: (1) частичном растворении верхнего слоя покрытия и связывании поликатиона на поверхности клеток, (2) адсорбции клеток на поверхности покрытия и (3) миграции поликатиона между стеклянной подложкой и поверхностью клетки.

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что выявлены новые закономерности взаимодействия поликатионов и катионных ИПЭК с биологическими мембранными, состоящими из смеси анионного и электронейтрального липидов, и мембранными со встроенным функциональным элементом – липидом-переключателем (порообразователем), продемонстрированы антимикробные свойства покрытия толщиной 5-18 нм и предложен механизм действия антимикробных катионных полимерных покрытий.

Практическая значимость работы заключается в разработке подходов к получению антимикробных полимерных рецептур в виде водных растворов и покрытий. Результаты работы представляют интерес для решения широкого круга прикладных задач, включая создание рецептур с антимикробными свойствами для медицины, фармацевтики, сельского хозяйства, биологии.

Методология и методы исследования основаны на применении комплексного подхода к решению поставленных в диссертации задач. Поликомплексы получали слиянием водно-солевых растворов катионного и анионного полимеров при тщательном перемешивании получаемой смеси, липосомы – ультразвуковой обработкой водной суспензии липидов или смеси липидов и липида-переключателя, покрытия – посредством нанесения водно-солевого раствора поликатиона или НИПЭК на стеклянную пластинку с последующим высушиванием до постоянного веса. В работе использованы современные методы исследования свойств полимеров, поликомплексов и продуктов их взаимодействия с липосомами, а также антимикробной активности полимерных рецептур: лазерный микроэлектрофорез, динамическое светорассеяние, спектрофотометрия, флуоресцентная спектроскопия, электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия и методы контроля выживаемости клеток, основанные на оценке минимальной ингибирующей концентрации (МИК) и подсчете количества колониеобразующих единиц (КОЕ).

На защиту выносятся следующие положения.

1. Молекулярная масса полианиона определяет результат взаимодействия НИПЭК с анионными липосомами: диссоциацию НИПЭК с «коротким» полианионом и связывание высвободившегося поликатиона с липосомами или связывание НИПЭК с «длинным» полианионом без его диссоциации.

2. Поликатион адсорбируется на поверхности анионных липосом с липидом-переключателем и ускоряет высвобождение водорастворимой соли из липосом в окружающий раствор при понижении pH.

3. Полимерное покрытие из поликатиона или НИПЭК при 8-10-минутной обработке водой теряет до 99% полимера, при этом оставшийся на поверхности катионный полимер обеспечивает гибель не менее 95% нанесенных клеток.

4. Антимикробное действие полимерных покрытий, полученных высушиванием водного раствора поликатиона или НИПЭК, включает связывание растворенного полимера с клетками в растворе, адсорбцию клеток на поверхности покрытия и миграцию поликатиона с подложки на поверхность клетки.

Личное участие автора. Личное участие соискателя ученой степени в получении результатов, изложенных в диссертации, являлось основополагающим и заключалось в непосредственном участии на всех этапах работы: от постановки задачи, планирования и выполнения экспериментов до обсуждения и оформления полученных результатов; в подготовке публикаций по теме выполненного исследования и в участии в тематических научных конференциях. Во всех опубликованных в соавторстве работах вклад автора является основополагающим и заключался в сборе и анализе литературы, получении анионных липосом, интерполиэлектролитных комплексов, изучении взаимодействия липосом с интерполиэлектролитными комплексами и катионными полимерами, получении полимерных покрытий и изучении их морфологии и устойчивости к обработке водой.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности проведенных соискателем ученой степени исследований подтверждена тем, что работа выполнена на высоком экспериментальном уровне с использованием современного оборудования и методов исследования, а также непротиворечивостью полученных данных. Динамическое светорассеяние проводили на приборе Brookhaven 90 Plus, Brookhaven Instruments Company при фиксированном угле (90°); лазерный микроэлектрофорез проводили на приборе Brookhaven 90 Plus, Brookhaven Instruments Company в термостатируемой ячейке. Флуоресцентную спектроскопию проводили на спектрофлуориметре F-4000, Hitachi при $\lambda_{em} = 571$ нм, $\lambda_{ex} = 557$ нм; УФ-спектроскопию – на приборах UV-Mini-1240, Shimadzu и ПЭ-5400УФ, ЭКРОС. Сканирующую электронную микроскопию проводили на сканирующем электронном микроскопе JSM-6380LA, JEOL, атомно-силовую микроскопию – на микроскопе Solver PRO-M. Кондуктометрию проводили при помощи кондуктометра CDM 83, Radiometer. Для гравиметрического анализа использовали аналитически весы ВЛА-120М, Госметр, характеризующиеся I (специальным) классом точности. Эксперименты проводили в трёхкратной повторности и рассчитывали среднее значение и доверительный интервал полученной величины с помощью статистической обработки в программе Microsoft Excel.

Результаты данной диссертационной работы были представлены на 10 научных конференциях: Международных научных конференциях студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2016», «Ломоносов-2017», «Ломоносов-2018» и «Ломоносов-2024», Москва, Россия; III и IV Зезинской школе-конференции для молодых ученых «Химия и физика полимеров», 2023 г. и 2024 г., Москва, Россия; XXVII Всероссийской конференции молодых ученых-химиков, 2024 г., Нижний Новгород, Россия; VII Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры-2017», Москва, Россия; VIII Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры-2020», Москва, Россия; IX Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры-2024», Москва, Россия.

Публикации. Основные материалы диссертации изложены в 5 статьях в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базе ядра РИНЦ «eLibrary Science Index» и в международных базах данных (Web of Science, Scopus, RSCI) и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения (химические науки).

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения результатов, заключения, выводов и списка цитируемой литературы (186 наименований). Работа изложена на 117 страницах, содержит 42 рисунка, 4 таблицы, 6 формул.

Основное содержание работы

Во **введении** приведена общая характеристика работы: обоснована актуальность направления исследования, обозначены практическая и теоретическая значимость результатов, полученных в работе, и продемонстрирована научная новизна; сформулированы цели и задачи диссертационной работы, описаны объекты и методы исследования; выделены положения, выносимые на защиту, и приведены сведения о достоверности и апробации результатов.

Глава 1 является **обзором литературы**, в котором описаны основные классы полиэлектролитов, способы получения и свойства интерполиэлектролитных комплексов, конкурентные реакции с участием полиэлектролитов и (био)коллоидных частиц, формирование тонких полимерных пленок и методы анализа антимикробных свойств водорастворимых полимерных рецептур и полимерных покрытий. Литературный обзор позволил обосновать выбор объектов исследования и сформулировать задачи работы.

Глава 2 - **экспериментальная часть**, в которой представлены характеристики использованных в работе коммерческих реагентов – полимеров и низкомолекулярных веществ, методики получения поликомплексов, методы исследования конкурентных реакций с участием полимеров, способы получения полимерных покрытий, а также основные экспериментальные методы изучения полиэлектролитов, поликомплексов и анализа антимикробной активности водорастворимых полимерных рецептур и полимерных покрытий.

Обсуждение результатов

Глава 3 описывает **результаты и их обсуждение**. Она состоит из 5 основных разделов, их краткое описание приводится ниже.

3.1. Формирование агрегативно стабильных интерполиэлектролитных комплексов

Нестехиометрические интерполиэлектролитные комплексы (НИПЭК) представляют собой класс веществ, состоящих из двух полимеров – с катионными и анионными группами (поликатиона и полианиона), один из которых взят в избытке. Для получения поликомплексов использовали катионный ПДАДМАХ с фиксированной СП = 2900 и анионный ПАНа с СП = 85 (ПАН₁) и 2660 (ПАН₂). Дополнительно был использован ПАНа с СП = 1060. СП первого («короткого» ПАН₁) была много меньше степени полимеризации ПДАДМАХ, СП второго («длинного» ПАН₂) была сопоставима с СП катионного полимера. Добавление водных растворов ПАНа к водному раствору ПДАДМАХ сопровождалось нейтрализацией заряда цепей ПДАДМАХ, что регистрировалось по изменению электрофоретической подвижности (ЭФП) частиц в растворе, которую измеряли методом лазерного микроэлектрофореза (**рис. 1А**). Здесь и далее концентрации полимеров представлены в молях катионных групп для ПДАДМАХ [+] и анионных групп для ПАНа [-].

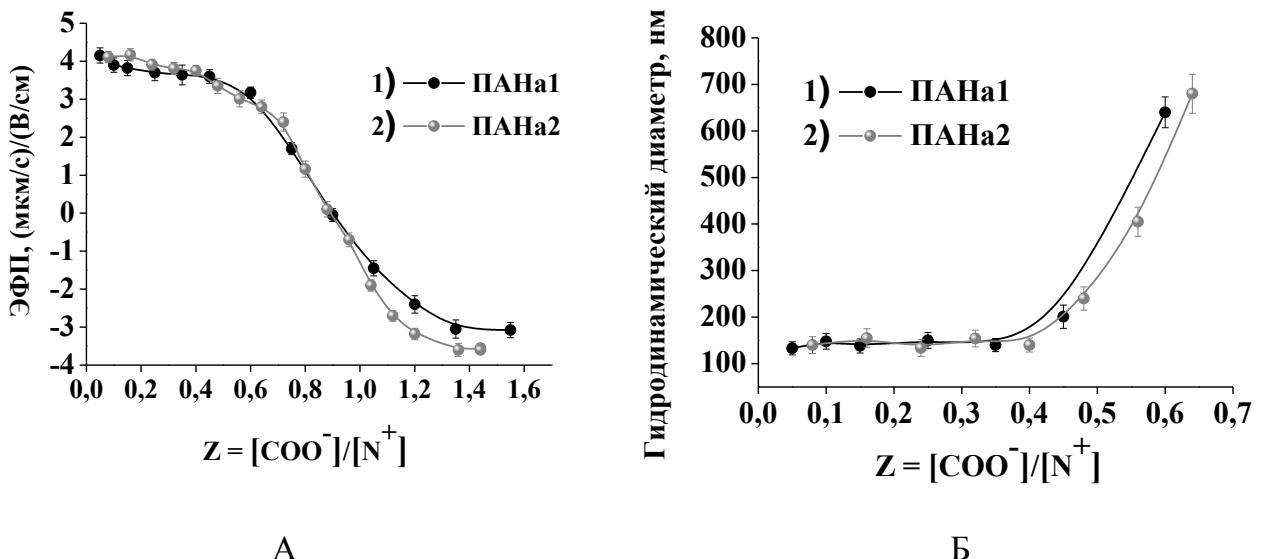


Рисунок 1. Зависимости электрофоретической подвижности (А) и гидродинамического диаметра (Б) ИПЭК от соотношения $Z = [\text{COO}^-]/[\text{N}^+]$: ПАНа1 (1) и ПАНа2 (2). $[\text{N}^+] = 5 \times 10^{-3} \text{ M}$, 10^{-3} M ТРИС буферный раствор с $\text{pH} 7$, $T = 25^\circ\text{C}$.

Такой профиль зависимости $\mathcal{E}\Phi\Pi$ от $Z = [-]/[+]$ свидетельствует об электростатической природе взаимодействия обоих полимеров и формировании ИПЭК, стабилизованных множественными солевыми связями между противоположно заряженными группами обоих полимеров. Совпадение зависимостей для обоих ПАНа – «короткого» и «длинного» – указывает на то, что оба полимера количественно связывались с ПДАДМАХ. Таким образом, величина Z отражает не только состав полимерной смеси, но и состав образующегося ИПЭК.

Результаты измерения размера частиц обоих поликомплексов методом динамического светорассеяния представлены на **рисунке 1Б**. В обоих случаях размер частиц мало менялся вплоть до $Z = 0.4$. В этой области значений Z в растворе присутствовали положительно заряженные индивидуальные (не агрегированные) частицы поликомплекса, строение которых представлено на **рисунке 2**. Короткий ПАНа₁ формировал поликомплекс путем связывания нескольких цепей ПАНа₁ на одной цепи ПДАДМАХ; и наоборот, одна цепь длинного ПАНа₂ связывала несколько цепей ПДАДМАХ. Повышение Z сверх 0,4 сопровождалось потерей агрегативной стабильности частиц, что отражалось на росте их размера (**рис. 1Б**).

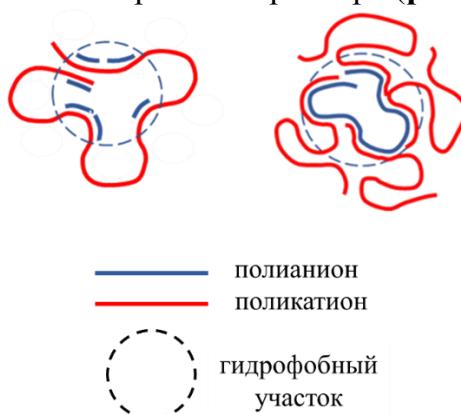


Рисунок 2. Схематическое представление строения катионных ИПЭК с «коротким» ПАНа₁ (слева) и «длинным» ПАНа₂ (справа).

Таким образом, критерий $Z \leq 0,4$ определяет диапазон составов нестехиометрических ИПЭК с избыточным положительным зарядом («катионных» НИПЭК), которые были использованы в последующих экспериментах.

3.2. Взаимодействие катионных ИПЭК с анионными липосомами. Оценка антимикробной активности катионных ИПЭК

3.2.1 Физико-химические исследования взаимодействия НИПЭК с липосомами

Липидная мембрана сферических бислойных везикул (липосом) представляет собой удобную модель цитоплазматической мембранны клеток. Липосомы готовили по стандартной методике, включающей приготовление раствора из электронейтрального ДОФХ и анионного ПОФС¹⁻ в мольном соотношении 2:8 в смеси метанол : хлороформ в соотношении 1:1, упаривание его на роторном испарителе, добавление буферного раствора ТРИС с pH 7 и обработку полученной суспензии ультразвуком. В результате была получена суспензия анионных липосом со средним размером (гидродинамическим диаметром) $85,0 \pm 5,0$ нм и ЭФП $-3,75 \pm 0,1$ (мкм/с)/(В/см).

К суспензии липосом ПОФС¹⁻-ДОФХ добавляли катионный ПДАДМАХ и два НИПЭК с «коротким» ПАН₁ и «длинным» ПАН₂ каждый с $Z = 0,1$ и $0,4$, и регистрировали ЭФП частиц в системе (рис. 3). Для удобства обсуждения полученных результатов на рисунке 3 по оси X отложена концентрация ПДАДМАХ: свободного, если он единственный добавленный полимер, или привнесённого в составе НИПЭК.

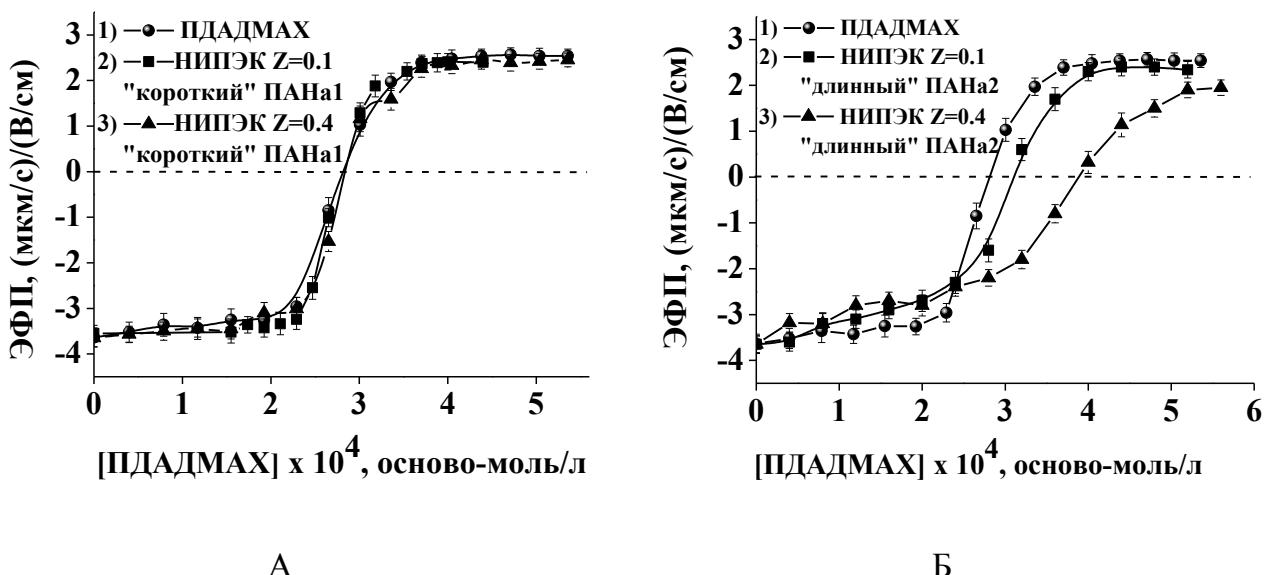


Рисунок 3. Зависимости ЭФП комплекса липосома-поликатион и липосома-НИПЭК от концентрации ПДАДМАХ. (А) ПДАДМАХ (1), НИПЭК с ПАН₁ $Z=0,1$ (2) и НИПЭК с ПАН₁ $Z=0,4$ (3); (Б) ПДАДМАХ (1), НИПЭК с ПАН₂ $Z=0,1$ (2) и НИПЭК с ПАН₂ $Z=0,4$ (3). Общая концентрация липидов 1 мг/мл, 10^{-3} М ТРИС буферный раствор с pH 7, $T = 25^\circ\text{C}$.

Рассмотрим первый случай, когда к суспензии липосом добавляли ПДАДМАХ и два НИПЭК с «коротким» ПАН₁. Как следует из данных **рисунка 3А**, индивидуальный поликатион и оба НИПЭК нейтрализуют заряд липосом при одной и той же

концентрации ПДАДМАХ. Это означает, что в обоих НИПЭК весь добавленный поликатион связался с липосомами и нейтрализовал их заряд. Это могло произойти, только если добавление обоих НИПЭК инициировало конкурентную реакцию, в которой ПДАДМАХ, изначально вовлечённый в комплекс с ПАН₁, терял полианион и формировал электростатический комплекс с анионными липосомами. Иными словами, анионные липосомы были более сильным конкурентом для связывания с ПДАДМАХ по сравнению с «коротким» ПАН₁.

Иная картина наблюдается, когда к суспензии липосом добавляли два НИПЭК с «длинным» ПАН₂. В этом случае концентрация, необходимая для нейтрализации заряда липосом, повышается в ряду ПДАДМАХ <НИПЭК Z = 0.1 <НИПЭК Z = 0.4 (рис. 3Б). Такая картина указывает на то, что НИПЭК с «длинным» ПАН₂ не диссоциирует при связывании с липосомами. Чем выше значение Z, тем больше катионных групп ПДАДМАХ были электростатически связаны с анионными звеньями ПАН₂ и по этой причине не участвовали в комплексообразовании с липосомами. Это выражалось в сдвиге нейтрализующих концентраций ПДАДМАХ в сторону более высоких значений.

Таким образом, мы видим существенно различное поведение катионных ИПЭК с «коротким» и «длинным» ПАНа при связывании их с липосомами. Липосомы «выталкивают» «короткий» ПАН₁ из НИПЭК и формируют бинарный комплекс липосома/ПДАДМАХ, а ПАН₁ высвобождается в раствор. В противоположность этому НИПЭК с «длинным» ПАН₂ взаимодействует с липосомами как единое целое, что приводит к образованию тройного комплекса ПДАДМАХ/ПАН₂/липосома.

3.2.2 Биологическое тестирование ПДАДМАХ и НИПЭК

Для количественной оценки антимикробных свойств полимерных растворов определяли их МИК. Эта величина соответствует наименьшей концентрации препарата, при которой не наблюдается рост тест-культур. Важное замечание состоит в том, что антимикробную активность тестировали в питательной среде M9 с суммарной концентрацией солей около 0,08 М. В то же время хорошо известно, что ИПЭК чувствительны к концентрации соли в водном растворе: увеличение концентрации соли приводит к диссоциации ИПЭК на исходные компоненты (поликатион и полианион). Принимая это во внимание, перед проведением антимикробного тестирования НИПЭК рецептур была исследована их стабильность в водно-солевых растворах путем измерения оптической плотности суспензии НИПЭК в присутствии увеличивающейся концентрации соли (рис. 4).

Повышение концентрации соли сначала привело к увеличению мутности раствора, то есть к росту размера частиц (их агрегации); при концентрации соли 0,35 М (для НИПЭК с участием ПАН₁) и 0,5 М (для НИПЭК с участием ПАН₂) раствор становился прозрачным, что отражало диссоциацию НИПЭК на исходные компоненты. Этот результат свидетельствовал об отсутствии диссоциации НИПЭК в питательной среде M9 с суммарной концентрацией солей 0,08М.

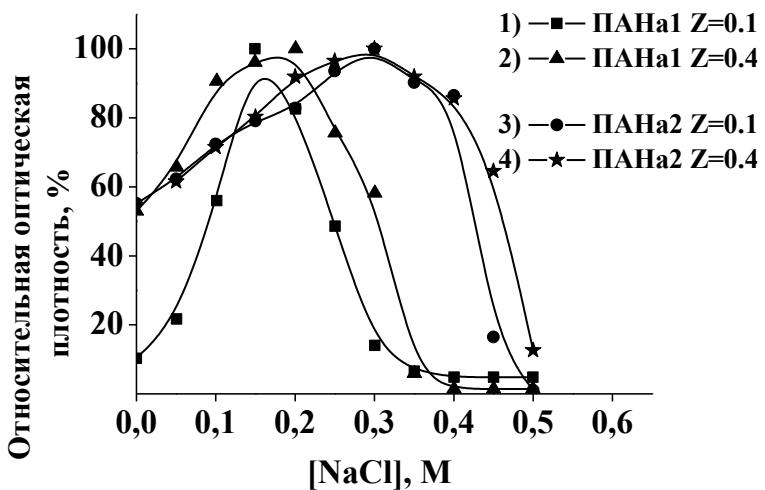


Рисунок 4. Зависимость относительной оптической плотности супензий НИПЭК от концентрации NaCl: НИПЭК с ПАНа₁ Z=0,1 (1) и Z=0,4 (2), НИПЭК с ПАНа₂ Z=0,1 (3) и Z=0,4 (4). [N⁺] = 5 × 10⁻² М, 10⁻³ М ТРИС буферный раствор с pH 7, T = 25°C.

Антимикробная активность ПДАДМАХ и двух НИПЭК: с ПАНа₁ и ПАНа₂ (для обоих НИПЭК Z = 0,4) была протестирована по отношению к грамотрицательным бактериям *P. aeruginosa*; результаты представлены в **таблице 1**.

Таблица 1 – Антимикробная активность полимерных композиций в растворе (МИК), масс. %; Z – соотношение [COO⁻]/[N⁺].

Полимерная композиция	Z	МИК, масс. %
ПДАДМАХ	0	(1,0±0,1) × 10 ⁻³
НИПЭК–ПАНа ₁	0,4	(1,2±0,1) × 10 ⁻³
НИПЭК–ПАНа ₂	0,4	(1,8±0,2) × 10 ⁻³

Индивидуальный ПДАДМАХ и НИПЭК с «коротким» ПАНа₁ имели сравнимые МИК. Это согласуется с описанным выше механизмом, который описывает перестройку поликомплексов, в состав которых входит «короткий» ПАНа₁, при взаимодействии с липосомами. При этом высвобождается поликатион, который проявляет антимикробную активность, сравнимую с таковой для индивидуального ПДАДМАХ.

Значение МИК для НИПЭК с «длинным» ПАНа₂ было почти в 2 раза выше, чем у индивидуального ПДАДМАХ, что указывает на двукратное уменьшение антимикробной активности этого образца. Эти результаты коррелируют с тем фактом, что НИПЭК с «длинным» ПАНа₂ сохраняет свою целостность после взаимодействия с липосомами.

Описанные результаты указывают на то, что молекулярная масса анионного полимера влияет на взаимодействие НИПЭК с биологической мембраной и на функционирование клетки. При взаимодействии с липосомами НИПЭК могут диссоциировать или связываться целиком; механизм этой ключевой стадии будет определять всю цепочку событий, начиная со связывания НИПЭК и заканчивая влиянием НИПЭК на целостность биологической мембранны.

3.3. Взаимодействие катионного полимера с анионными липосомами со встроенным в липидную мембрану порообразователем

Клеточная (цитоплазматическая) мембрана представляет собой сложную молекулярную структуру, основными компонентами которой выступают липиды и белки. Первые формируют липидный бислой, в котором распределены функциональные элементы мембраны – белки. Взаимодействие липидного бислоя с катионными полимерами и катионными ИПЭК влияет не только на его состояние; очевидно, в это взаимодействие должны вовлекаться мембранные белки, что будет отражаться на их функциональной активности.

Для моделирования этих процессов мы использовали анионные липосомы, в мембрану которых были встроены молекулы так называемого липида-переключателя (т.н. флипосомы), способного менять свою конформацию при изменении pH внешнего раствора. Эти изменения иллюстрирует **рисунок 5**, на котором слева представлена структура липида-переключателя с параллельной ориентацией ацильных радикалов в водном растворе с pH 7. Протонирование атома азота инициирует образование внутримолекулярной водородной связи, что вызывает изменение конформации циклогексанового кольца и пространственной ориентации ацильных радикалов (**рис. 5, справа**). Этот эффект сохраняется после встраивания липида-переключателя в липосомальную мембрану, что делает липосомы, содержащие липид-переключатель, чувствительными к pH окружающего раствора. Описанные конформационные перестройки нарушают упаковку липидов в мембране и индуцируют высвобождение содержимого липосом в окружающий раствор. Внешне эти перестройки напоминают открывание и закрывание пор в липидной мембране, инициированное изменением pH внешнего раствора.

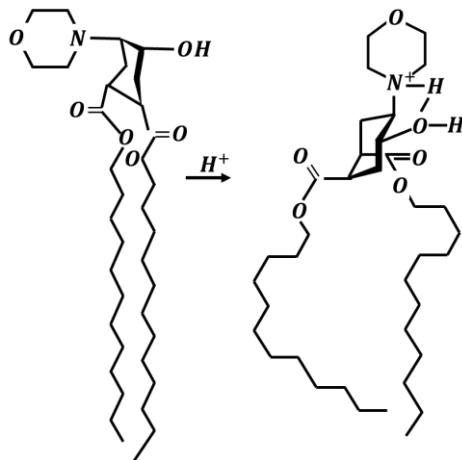


Рисунок 5. Структурная перестройка в липиде-переключателе при протонировании (схематическое представление).

Анионные ПОФС¹⁻-ДОФХ липосомы с 30 мол. % липида-переключателя были заполнены 1 М раствором NaCl. Высвобождение соли из липосом контролировали, измеряя электропроводность внешнего раствора методом кондуктометрии. Максимальную электропроводность (высвобождение максимального количества соли) получали, разрушая липосомы добавлением избытка детергента Тритон X-100. В качестве катионного полимера использовали полипептид полилизин «короткий» и «длинный» с СП = 90 и 1350, соответственно. Полилизин электростатически

адсорбировали на поверхности анионных липосом, используя описанную выше процедуру для приготовления комплексов анионных липосом с ПДАДМАХ.

Мы начали с анализа поведения трех контрольных растворов в буфере с pH 7: липосом с липидом-переключателем и тех же липосом в комплексе с коротким и длинным полилизином. Во всех случаях электропроводность растворов не менялась в течение 1 часа, что указывало на сохранение целостности липосом в этих условиях. После этого pH внешнего раствора был понижен до 5, что привело к возрастанию электропроводности в суспензии липосом (**рис. 6, кривая 1**) и суспензии обоих комплексов липосома-полилизин (**рис. 6, кривые 2 и 3**). Сравнение профилей полученных кривых позволяет сделать следующие выводы. Во-первых, комплексообразование с полилизином значительно ускоряет высвобождение соли из липосом. Во-вторых, выход соли из комплексов с «коротким» и «длинным» полилизином описывается одной и той же кинетической кривой. В-третьих, максимальное высвобождение составляет всего 30% для свободных липосом и 50% для липосом в комплексе с полилизином. Таким образом, связывание липосом с полилизином оказывает заметное влияние на способность липида-переключателя перестраиваться, способствуя высвобождению низкомолекулярного соединения.

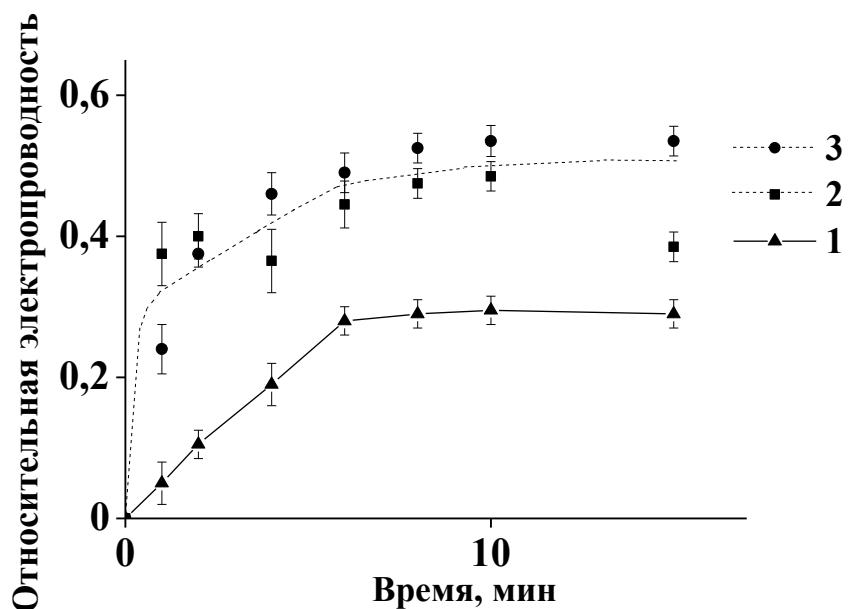


Рисунок 6. Зависимость относительной электропроводности флипосом (1) и флипосом в комплексе с полилизином СП = 90 (2) и 1350 (3) от времени. Общая концентрация липидов 1 мг/мл; концентрация полилизина = $1,5 \times 10^{-4}$ М; 10^{-3} М ТРИС буферный раствор с pH 5, T = 25°C.

Обнаруженный эффект нетривиален. Дело в том, что катионный полилизин не связывается электростатически с молекулами липида-переключателя: последние либо электронейтральны в растворе с pH 7, либо заряжены положительно в растворе с pH 5 (см. **рис. 5**). Поэтому наблюдаемый эффект ускорения вытекания соли нельзя объяснить прямым взаимодействием полилизина с молекулами липида-переключателя.

Из литературы известно, что адсорбция полилизина на поверхности смешанных липосом, сформированных из нейтрального и анионного липидов, сопровождается формированием двух типов кластеров: первый обогащен анионными липидными

молекулами, которые удерживаются вместе благодаря их взаимодействию с адсорбированным поликатионом, второй представлен нейтральными липидными молекулами. Очевидно, аналогичный процесс развивается при адсорбции полилизинана на поверхности ПОФС¹⁻-ДОФХ липосом со встроенным липидом-переключателем: полилизин собирает в кластеры молекулы ПОФС¹⁻ и вытесняет в отдельные домены молекулы ДОФХ и липида-переключателя. Это приводит к локальному концентрированию молекул липида-переключателя в пределах липосомальной мембранны, что ожидаемо сопровождается ускорением вытекания соли из липосом, связанным в комплекс с полилизином.

Полученные результаты указывают на то, что влияние поликатиона на высвобождение соли может заключаться не в прямом его воздействии на функциональные элементы биологической мембранны, а опосредованно – через изменение распределения структурообразующих липидов в мемbrane.

3.4. Формирование бактерицидных покрытий из катионных полимеров и НИПЭК

Окружающие нас поверхности загрязнены различными микроорганизмами, существенная часть которых является патогенными. Для формирования антимикробных покрытий могут быть использованы описанные выше рецептуры, представляющие собой водные растворы поликатиона или катионного ИПЭК. Такие покрытия формируются через нанесение рецептуры на поверхность с последующей сушкой. Эта процедура проста и экологически привлекательна, поскольку для получения покрытий используют водные растворы полимеров; для их нанесения могут быть использованы имеющиеся технические средства (аэрозольные баллончики, ранцевые распылители и пр.).

При этом нужно иметь в виду, что покрытия часто используют во влажной среде или эксплуатируют в помещениях, в которых периодически проводится влажная уборка, что может негативно сказаться на качестве полимерного покрытия. Ионные полимеры легко растворяются в воде, поэтому они могут быть удалены (вымыты) из покрытия при обработке водой, что приведёт к потере его антимикробных свойств.

Для получения покрытий использовали 0,12 масс. % водные растворы катионного ПДАДМАХ с СП = 2900 и катионных НИПЭК ПДАДМАХ-ПАНа с Z = 0,2 и 0,4, для получения НИПЭК использовали ПАНа с СП = 1060. 1,5 мл раствора ПДАДМАХ или НИПЭК наносили на предметное стекло и высушивали до постоянного веса при комнатной температуре. После чего определяли вес полимерного покрытия.

Затем на стекло с покрытием наносили 1,5 мл бидистиллированной воды. Через 2 минуты воду удаляли, образец сушили и снова определяли массу полимерной пленки. Для каждого полимерного покрытия было выполнено шесть последовательных циклов смывания/сушки. Результаты показаны на **рисунке 7** в виде доли полимера, оставшегося на стекле, в зависимости от количества циклов смывания/сушки n.

Каждое покрытие теряло полимер(ы) в ходе смывания. Связывание ПДАДМАХ в комплекс с ПАНа уменьшало текущую потерю массы. Однако во всех случаях после 4 циклов смывания/сушки на стеклянной поверхности оставалось менее 1 масс. % изначально нанесенных полимеров. Таким образом, все три покрытия из катионных полимерных рецептур удаляются с поверхности при обработке водой, и модификация катионного ПДАДМАХ анионным ПАНа не влияет на число циклов смывки, которые необходимы для максимального удаления покрытия с поверхности стекла.

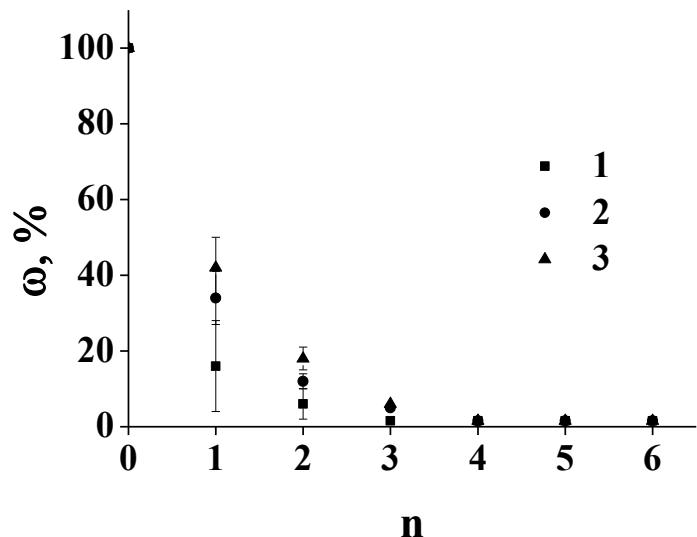


Рисунок 7. Доля полимера ω (%), оставшегося на стеклянной подложке, в зависимости от числа циклов промывки/сушки n . ПДАДМАХ (1), НИПЭК $Z=0,2$ (2) и НИПЭК $Z=0,4$ (3).

Оставшийся после 6-кратной промывки тонкий слой полимера был визуализирован с помощью метода атомно-силовой микроскопии (ACM) (рис. 8). Чтобы определить толщину покрытия, слой ПДАДМАХ был процарапан тонкой заостренной деревянной палочкой (А), а слой из НИПЭК $Z=0,4$ был прорезан зондом, используемым в методе ACM (Б). Толщина покрытия для ПДАДМАХ составила $18,0 \pm 2,0$ нм и $5,5 \pm 1,5$ нм для НИПЭК, что соответствовало толщине монослоя или нескольких слоев адсорбированного полимера/НИПЭК.

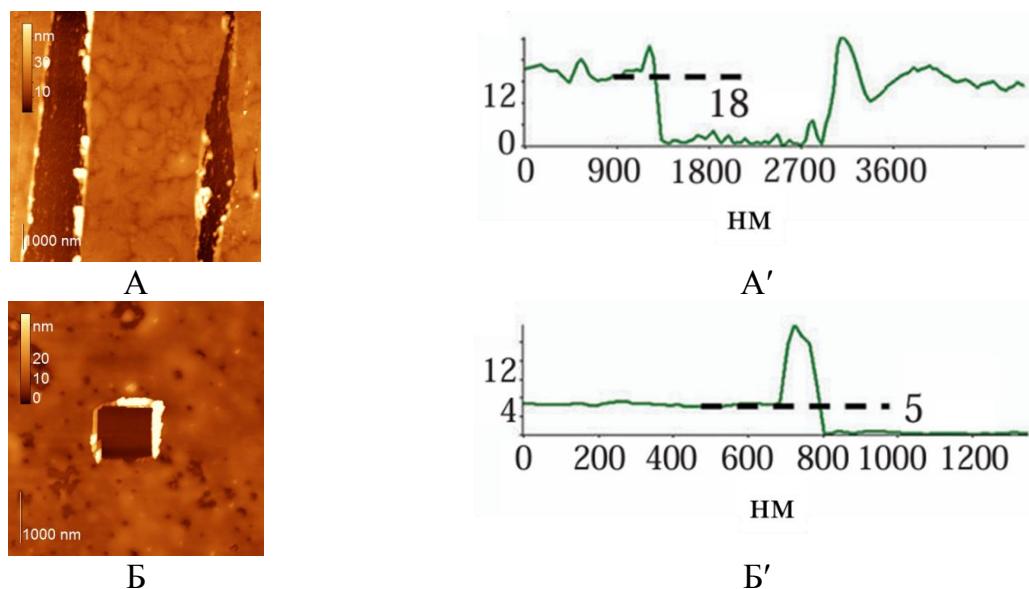


Рисунок 8. ACM-изображения шестикратно отмытых полимерных покрытий на стекле (А, Б) и гистограммы распределения толщины покрытий (А', Б'). Покрытия сформированы из ПДАДМАХ (А – А') и НИПЭК $Z=0,4$ (Б – Б').

Антибиотическая активность шестикратно отмытых полимерных покрытий была протестирована на грамотрицательных бактериях *P.aeruginosa*. Микроорганизмы наносили на отмытые полимерные покрытия, через 15 минут микроорганизмы смывали стерильной водой на агаровый субстрат, где их выращивали в течение 3 суток и затем подсчитывали КОЕ. В **таблице 2** показана в процентах доля выживших клеток после 15-минутного контакта с отмытыми покрытиями (колонки 2, 3 и 5).

Таблица 2 – Доля выживших клеток *P.aeruginosa* ω (%) после связывания с полимерным покрытием.

Покрытие	Доля выживших клеток <i>P.aeruginosa</i> ω , %			
	Количество нанесенных клеток, шт.			
	200 при 15-минутной инкубации	600 при 15-минутной инкубации	600 при 30-минутной инкубации	800 при 15-минутной инкубации
1	2	3	4	5
ПДАДМАХ	19,0	34,4	3,7	67,1
НИПЭК с Z=0,2	6,2	26,0	3,1	46,4
НИПЭК с Z=0,4	25,9	58,9	40,2	75,9

Антибиотический эффект зависел от количества клеток в нанесенной аликовете (γ) или, что то же, от плотности клеток на полимерном покрытии и от состава изначально нанесенной рецептуры. Для всех трех тестированных рецептур – ПДАДМАХ и НИПЭК с $Z = 0,2$ и $0,4$ – повышение γ приводило к увеличению доли выживших клеток (уменьшению биоцидности покрытия). Покрытие из НИПЭК с $Z = 0,2$ оказалось наиболее активным по отношению к клеткам: доля выживших клеток составляла 6% при $\gamma = 200$, 26% при $\gamma = 600$ и 46% при $\gamma = 800$.

Увеличение продолжительности инкубации клеток на поверхности с 15 до 30 минут заметно уменьшало долю выживших клеток. Так, для покрытия из НИПЭК с $Z = 0,2$ и $\gamma = 600$ доля выживших клеток снижалась с 26 до 3% (см. колонки 3 и 4 в **табл. 2**).

Биоцидные свойства НИПЭК обеспечиваются их катионными группами и взаимно нейтрализованными гидрофобными блоками. Оба фактора обеспечивают связывание бактерий с покрытиями из НИПЭК, что вызывает перестройку в структуре бактериальной стенки и цитоплазматической мембранны и последующее разрушение и гибель клетки. НИПЭК с $Z = 0,2$ показал самую большую антибиотическую активность на коротком 15-минутном временном отрезке, что может указывать на оптимальное соотношение катионных и гидрофобных фрагментов в структуре данного НИПЭК. Эти предположения, основанные на ограниченных экспериментальных данных, требуют дальнейшего подтверждения.

Таким образом, полимерные покрытия, полученные нанесением и последующим высушиванием водных растворов поликатиона/НИПЭК, могут быть удалены с поверхности при обработке водой. 4-5 циклов смывания/сушки достаточно, чтобы удалить большую часть полимера. Остающиеся на поверхности тонкие полимерные слои толщиной менее 20 нм показывают высокую антибиотическую активность, которая позволяет им за 30 минут дезактивировать более 95% клеток, нанесенных на полимерное покрытие (см. колонку 4 в **табл. 2**).

3.5. Замечания по поводу механизма антимикробного действия поликатионных покрытий

Напомним стандартную процедуру оценки антимикробного действия полимерного покрытия. Водную рецептуру с катионным полимером или катионным ИПЭК наносят на модифицируемую поверхность (в нашем случае поверхность стекла) и высушивают до постоянного веса. Поверх высшенного покрытия наносят бактериальную культуру и выдерживают (инкубируют) в течение контролируемого времени. Выше были описаны эксперименты с 15- и 30-минутной инкубацией клеток *P.aeruginosa*. В дополнительных экспериментах были использованы три типа микроорганизма: грамотрицательные бактерии *P.aeruginosa*, грамположительные бактерии *S.aureus* и дрожжевые грибы *Y.lipolytica*; время инкубации клеток составило 1 час.

После инкубации бактериальные и дрожжевые клетки смывались с поверхности в ходе 2-3-минутной обработки стерильной водой. Таким образом удавалось смыть от 30 до 80% клеток. Этот факт вызывает удивление. Дело в том, что поверхность клеток несет суммарный отрицательный заряд, который должен обеспечивать их прочное связывание с положительной заряженной поверхностью катионного полимерного покрытия. Ранее было показано, что анионные коллоиды – полимерные и стеклянные микросфераe, липидные везикулы и проч. – демонстрируют чрезвычайно высокое сродство к катионным полимерам. В результате полимер-коллоидные комплексы сохраняют свою целостность (не диссоциируют на исходные компоненты) даже в концентрированных солевых растворах. Это связано с кооперативным характером взаимодействиями между противоположно заряженными звенями (группами) обоих компонентов. По аналогии с этим можно было ожидать и высокой стабильности электростатических комплексов между клетками и катионным покрытием; однако эксперимент показывает обратное.

Причина этого противоречия может быть в следующем. Выше мы показали, что катионные полимерные покрытия почти количественно удаляются со стеклянной поверхности в ходе нескольких двухминутных циклов обработки водой. В ходе смывания клеток с поверхности покрытия (одна из стадий стандартной процедуры оценки его антимикробного действия) вместе с уходящим полимером в раствор могут переходить и адсорбированные на покрытии клетки. Логично полагать, что уходящие клетки будут связаны в комплекс с поликатионом, и их поверхностный заряд будет отличаться от заряда клеток, изначально адсорбированных на полимерном покрытии. Такой механизм объясняет быструю десорбцию всех типов клеток с катионной поверхности.

Для проверки такой интерпретации антимикробного действия полимерных покрытий мы провели следующий эксперимент. На покрытие из ПДАДМАХ были адсорбированы полимерные микросфераe из сополимера бутадиена и метилстирола (7/3) с карбоксильными группами на поверхности, диаметр частиц составлял 350-400 нм. Карбоксильные группы придавали частицам отрицательный заряд, что позволяло рассматривать их как грубую модель клетки (клеточной поверхности). Спустя 10 минут микросфераe удаляли с поверхности дистиллированной водой и измеряли их ЭФП – параметр, напрямую связанный с поверхностным зарядом частиц (рис. 9). Результат сравнивали с зависимостью ЭФП от концентрации ПДАДМАХ, которую получали в отдельном эксперименте.

Как следует из данных **рисунка 9**, ЭФП исходных микросфер (в отсутствие поликатиона) равна $-6,97 \pm 0,33$ (мкм/с)/(В/см). Связывание ПДАДМАХ привело к

нейтрализации заряда микросфер и смене знака заряда на положительный в избытке поликатиона. Красная точка на графике соответствует ЭФП частиц, которые были смыты с ПДАДМАХ покрытия в ходе антимикробного эксперимента (ЭФП_C). Положительное значение ЭФП_C = 4,45±0,26 (мкм/с)/(В/см) однозначно указывает на то, что смытые частицы были покрыты катионным полимером, который поступил в раствор при растворении покрытия.

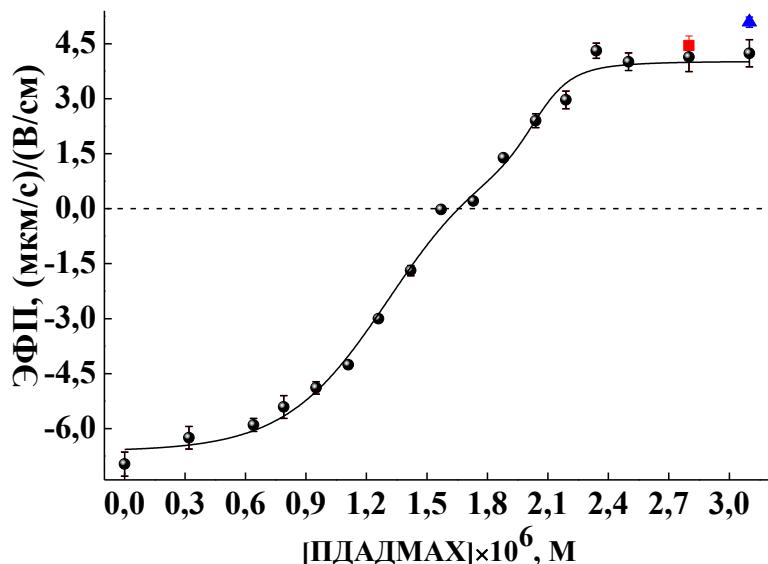


Рисунок 9. Зависимость ЭФП полимерных микросфер от концентрации ПДАДМАХ. Концентрация микросфер $1,42 \times 10^{12}$ л⁻¹; 10⁻³ М ТРИС буферный раствор 5×10⁻³ М NaCl с pH 7; 25 °C.

Аналогичный эксперимент был проведен с «модельными» клетками, которые были получены обработкой нативных клеток фиксирующими растворами¹. Такая обработка приводила к формированию пор в клеточной мемbrane и вытеканию содержимого клетки во внешний раствор. Фактически модельные клетки представляли собой фиксированные клетки, которые сохранили форму и большую часть внешнего белково-липидного бислоя. Заряд этого слоя был отрицательным, как и у цитоплазматической мембранны нативных клеток, и потому фиксированные клетки эффективно адсорбировали катионный полимер. Связывание ПДАДМАХ с клетками развивалось по уже знакомой схеме: вначале поликатион нейтрализовал заряд клеточной поверхности, в избытке поликатиона поверхность приобрела положительный заряд (рис. 10).

Клетки были нанесены на покрытие из ПДАДМАХ, спустя 10 минут клетки удаляли с поверхности дистиллированной водой и измеряли их ЭФП. Красная точка на графике соответствовала ЭФП смытых клеток (ЭФП_C). Сравнение двух значений ЭФП: для исходных модельных клеток -2,92±0,14 (мкм/с)/(В/см) и для смытых клеток

¹ Автор выражает благодарность за обработку клеток фиксирующими растворами с.н.с., к.б.н. Марковой А.А. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук.

$3,56 \pm 0,27$ (мкм/с)/(В/см), говорило о том, что на поверхности смытых клеток был адсорбирован ПДАДМАХ.

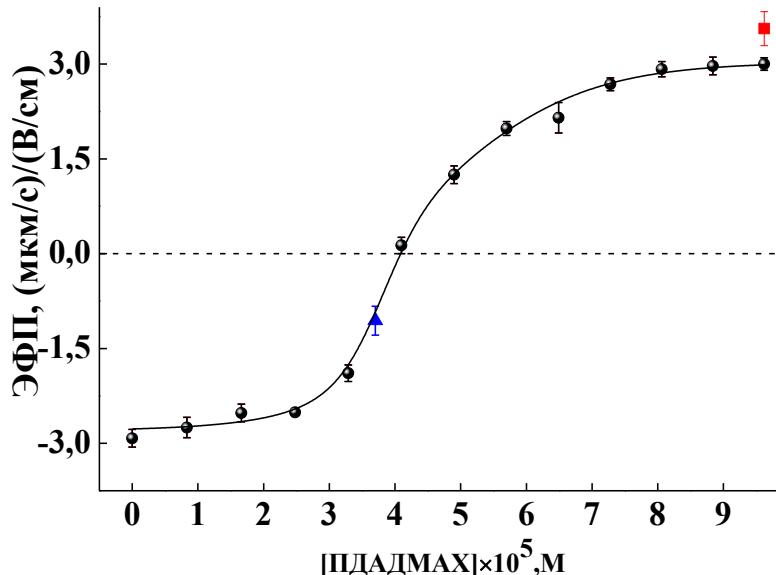


Рисунок 10. Зависимость ЭФП модельных клеток от концентрации ПДАДМАХ. Концентрация клеток $7,2 \times 10^8$ л⁻¹; 10^{-3} М ТРИС буферный раствор 5×10^{-3} М NaCl с pH 7; 25 °C.

После этого покрытия были получены заново и отмыты с использованием шести последовательных циклов смывания/сушки. В результате на поверхности стекла остался «монослой» полимера толщиной не более 20 нм (см. выше). Это слой удерживался на поверхности стекла за счет формирования множественных ионных контактов положительных зарядов ПДАДМАХ и отрицательных зарядов на поверхности стекла. На полученные полимерные «монослои» были адсорбированы микросфера и модельные клетки, которые спустя 10 минут удаляли с поверхности дистиллированной водой. ЭФП смытых микросфер и клеток представлены синими точками на **рисунке 9** и **рисунке 10**, соответственно. В случае микросфер значение ЭФП было равно $5,09 \pm 0,14$ (мкм/с)/(В/см), в случае клеток $-1,06 \pm 0,23$ (мкм/с)/(В/см). Полученные значения ЭФП заметно отличались от ЭФП исходных микросфер и клеток, что говорило о переходе ПДАДМАХ на микросферы и клетки после их связывания с 6-кратно отмытыми покрытиями. Количество перешедшего поликатиона было больше для микросфер, чем для клеток.

Описанные выше результаты экспериментов с нативными, модельными клетками и латексными частицами подтверждают справедливость предложенной интерпретации антимикробного действия многослойных полимерных покрытий, которые формируются в ходе стандартной процедуры нанесения и последующего высушивания водного раствора катионного полимера.

Смытые с покрытия клетки переходят в раствор в виде комплекса с катионным полимером. В таком виде их переносят на агар и выращивают для подсчета КОЕ. Таким образом, экспериментаторы наблюдают за развитием не нативных клеток, а клеток, модифицированных полимером. Судя по данным **рисунка 9**, количество связанного с клетками полимера может быть значительным, что может сказаться на

жизнеспособности клеток и должно быть принято во внимание при постановке антимикробных экспериментов и интерпретации полученных результатов.

Катионное покрытие сохраняет способность убивать клетки даже после того, как поверхность была многократно промыта водой и на поверхности остался только «монослой» катионного полимера (табл. 2). Этот монослой способен связывать клетки из внешнего раствора, что приводит к эффективной дезактивации клеток. Проведенный нами эксперимент показал, что клетки, адсорбированные на катионный монослой, смываются с него в виде комплекса с катионным полимером. В этом случае мы видим пример конкурентной реакции с участием адсорбированного поликатиона, когда он перераспределяется между поверхностью стеклянной пластиинки и поверхностью клетки.

Таким образом, в системе «клетка+поликатионное покрытие» развивается несколько процессов (рис. 11): растворение поликатиона и его связывание с клетками (А), адсорбция клетки на поверхность полимерного покрытия (Б) и миграция поликатиона с подложки (в нашем случае стеклянной) на поверхность клетки (В). Вместе эти процессы обеспечивают высокую эффективность биоцидного действия покрытий с участием катионного полимера.

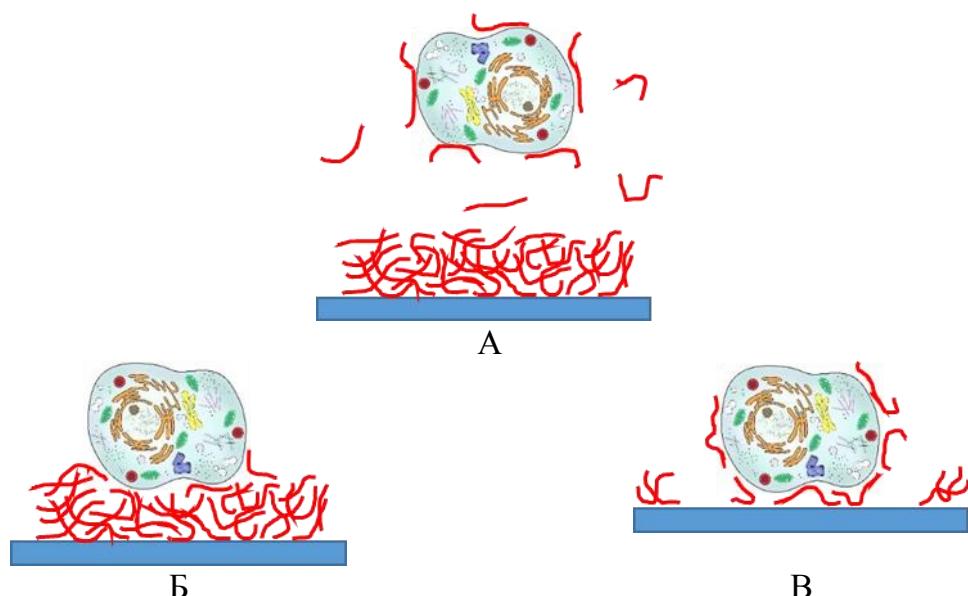


Рисунок 11. Взаимодействие клетки с полимерным покрытием (схематическое представление). Растворение поликатиона и его связывание с клетками (А), адсорбция клетки на поверхность полимерного покрытия (Б), миграция поликатиона с подложки на поверхность клетки (В).

Выводы

1. Впервые установлено влияние молекулярной массы полианиона в составе НИПЭК на характер его взаимодействия с анионными липосомами в растворе. Добавление НИПЭК с участием «короткого» ПАНа (СП = 85) инициирует конкурентную реакцию, в ходе которой ПДАДМАХ количественно переходит из НИПЭК на липосомальную мембрану, а ПАНа высвобождается в раствор. НИПЭК с участием «длинного» ПАНа (СП = 2660) при связывании с липосомами не диссоциирует на исходные составляющие.
2. Сформированы полимерные покрытия на поверхности стекла путем нанесения водных растворов ПДАДМАХ и НИПЭК и последующего их высушивания. Установлено, что после обработки исходных покрытий водой на стеклянной поверхности остается полимерный «монослои» толщиной от 5 до 18 нм. Впервые показано, что остающиеся на поверхности после обработки водой полимерные «монослои» демонстрируют высокую антимикробную активность, которая позволяет им за 30 минут дезактивировать более 95% клеток, нанесенных на полимерное покрытие.
3. Предложен механизм антимикробного действия полимерного покрытия с участием катионного полимера, который включает несколько одновременно развивающихся процессов. Первый – частичное растворение поликатиона из исходно сформированного покрытия и его связывание на поверхности адсорбирующихся клеток, второй – связывание клеток с поверхностью полимерного покрытия и третий, который характерен для предельно отмытого полимерного «монослоя», – миграция поликатиона со стеклянной подложки на поверхность клетки. Вместе эти процессы обеспечивают высокую эффективность биоцидного действия покрытий с участием катионного полимера.
4. Показано, что связывание катионного полилизина с анионными липосомами, в мембрану которых встроен липид-переключатель, ускоряет высвобождение водорастворимой соли из внутреннего объема липосом в окружающий раствор при понижении внешнего рН. Это приводит к большему предельному количеству перешедшего во внешний раствор содержимого липосом, а именно 50% против 30% для свободных (не связанных с полилизином) липосом. Этот результат моделирует дезактивацию адсорбированным поликатионом функционального элемента биологической мембранны.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

**Научные статьи, опубликованные в журналах Web of Science, Scopus, RSCI и
рекомендованные для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности**

1.4.7. Высокомолекулярные соединения (химические науки):

1. Сыбачин А.В., **Локова А.Ю.**, Спиридонов В.В., Новоскольцева О.А., Штыкова Э.В., Самошин В.В., Мигулин В.А., Ярославов А.А. / Влияние катионного полилизина на высвобождение инкапсулированного вещества из pH-чувствительных анионных липосом // Высокомолекулярные соединения, Серия А. – 2019. – Т. 61, № 3. – С. 244-253. EDN ZBGSQH. Импакт-фактор **0,51 (РИНЦ)**, объём 1,05 п.л.
Перевод: Sybachin A.V., **Lokova A.Yu.**, Spiridonov V.V., Novoskol'tseva O.A., Shtykova E.V., Samoshin V.V., Migulin V.A., Yaroslavov A.A. / The effect of cationic polylysine on the release of an encapsulated substance from pH-sensitive anionic liposomes // Polymer Science, Series A. – 2019. – V. 61, № 3. – P. 308-316. EDN LMOMBQ. Импакт-фактор **0,24 (SJR)**, объём 0,95 п.л.
2. **Lokova A.Yu.**, Zaborova O.V. / Modification of fliposomes with a polycation can enhance the control of pH-induced release // International Journal of Nanomedicine. – 2019. – V. 2019, № 14. – P. 1039-1049. EDN FMWIWB. Импакт-фактор **1,31 (SJR)**, объём 1,16 п.л.
3. Panova I.G., **Lokova A.Yu.**, Bagrov D.V., Loiko N.G., Nikolaev Y.A., Yaroslavov A.A. / Do cationic polymer coatings retain their biocidal activity after washing with water? // Mendeleev Communications. – 2023. – V. 33, № 4. – P. 562-564. EDN GSKQIA. Импакт-фактор **0,31 (SJR)**, объём 0,35 п.л.
4. **Lokova A.Yu.**, Rosova A.Yu., Panova I.G., Loiko N.G., Nikolaev Y.A., Yaroslavov A.A. / Molecular weight of polyanion affects the biological activity of interpolycomplexes // Mendeleev Communications. – 2024. – V. 34, № 1. – P. 97-99. EDN AOKPWL. Импакт-фактор **0,31 (SJR)**, объём 0,35 п.л.
5. Panova I.G., **Lokova A.Yu.**, Pankratov T.A., Nikolaev Y.A., Yaroslavov A.A. / On the quantification of biocidal activity of protective coatings // Mendeleev Communications. – 2024. – V. 34, № 2. – P. 185-187. EDN USTWOO. Импакт-фактор **0,31 (SJR)**, объём 0,35 п.л.

Список используемых сокращений

АСМ – атомно-силовая микроскопия
ДОФХ – диолеоилфосфатидилхолин
ИПЭК – интерполиэлектролитный комплекс
МИК – минимальная ингибирующая концентрация
КОЕ – колониеобразующая единица
НИПЭК – нестехиометричный интерполиэлектролитный комплекс
НМБ – низкомолекулярный биоцид
ПАК – полиакриловая кислота
ПАНа – полиакрилат натрия
ПДАДМАХ – полидиаллилдиметиламмоний хлорид
ПОФС¹⁻ – пальмитоилолеоилфосфатидилсерин
СП – степень полимеризации
ТРИС – трис(гидроксиметил)аминометан
ЭФП – электрофоретическая подвижность
ЭФП_с – электрофоретическая подвижность смытых клеток