



**Биосовместимые композиты  
на основе бактериальной целлюлозы  
*Glucanacetobacter xylinus*  
с наночастицами серебра.**

*Копица Г.П., Ездакова К., Смыслов Р.Ю.,  
Некрасова Т.Н., Золотова Ю.И., Назарова О.В.,  
Левит М.Л., Хрипунов А.К., Ткаченко А.А.*

ФГБУ «ПИАФ» НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Орлова роща  
Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург  
Санкт-петербургский государственный университет



## Области применения: в МЕДИЦИНЕ

### Бактериальная целлюлоза (БЦ)



### Свойства БЦ

- ✓ Высокая емкость удерживания воды
- ✓ Полимер с высокой жёсткостью
- ✓ Высокая прочность на растяжение
- ✓ Биосовместимость

### Продукты на основе БЦ:

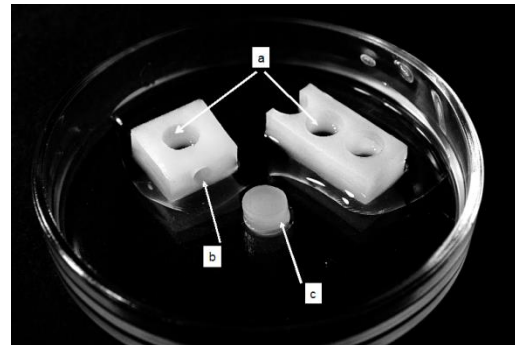
- i) универсальное раневое покрытие,
  - ii) искусственный хрящ и
  - iii) прекурсор костной ткани
- на основе нано-гель-пленки бактериальной целлюлозы и биосовместимого синтетического гидрогеля с включением лечебных нано-препаратов.

### Использование БЦ в виде матрицы

#### Нано-гель-плёнка



#### Композиционный гидрогель БЦ+ПАА



ПАА -- полиакриламид

#### Губка из лиоф. БЦ (в композите с коллагеном)



#### Композит БЦ +ГАП

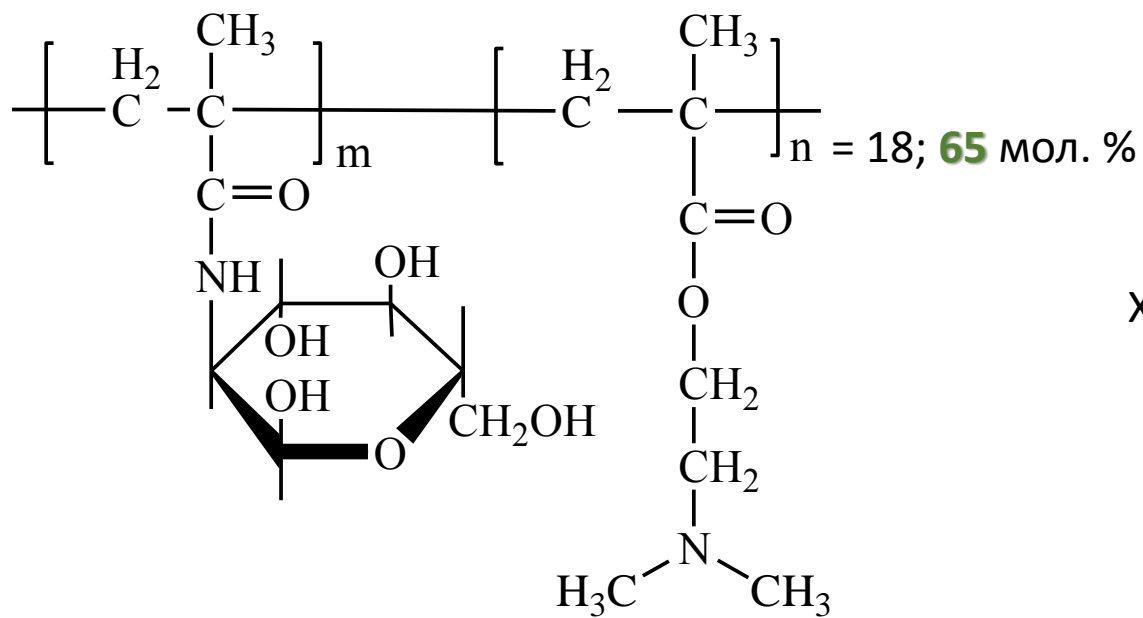


ГАП -- гидроксиапатит

**«изюминка»** - минерализованный материал с возможностью костной интеграции



Сополимер МАГ—ДМАЭМ стабилизирует наночастицы серебра (НЧС):



Характеристическая  
вязкость:  
[η]= 0,29 дл/г

МАГ—ДМАЭМ

2-деокси-2-метакрил-амидо-D-глюкоза —CO— 2,2-диметил-амино-этил-метакрилат



В чем преимущество использования П(МАГ-ДМАЭМ)?

## Синтез НЧС ведут

- в мягких условиях без «жестких» восстановителей;
- в водном растворе без органических растворителей;
- при естественном окислении;
- при комнатной температуре.

## Роль П(МАГ-ДМАЭМ), как стабилизатора НЧС

Полимер восстанавливает ионы серебра до нуль-валентного состояния.

Полимер **стабилизирует** размер образующихся НЧС.

Раствор НЧС, **стабилизированных** П(МАГ-ДМАЭМ), **стабилен** при длительном хранении.



## В чем преимущество использования системы П(МАГ-ДМАЭМ) -- НЧС?

### Для этой системы:

- Сам полимер биосовместим и мало токсичен из-за звеньев МАГ.
- Система обладает антимикробной активностью для широкого спектра больничных штаммов бактерий.
- По своим антисептическим характеристикам сравнима с Повиарголом – промышленным препаратом.
- У микроорганизмов не происходит «привыкания» к системе, как это происходит при использовании антибиотиков.



Для чего может использоваться система  
П(МАГ-ДМАЭМ) -- НЧС?

### В пищевой промышленности:

- Антисептическая компонента для создания оберток.
- Антисептическая компонента для создания упаковки.

### Кроме того:

- Антисептические покрытия для защиты объектов.
- В медицине для защиты поверхности имплантов для предотвращения гнойных инфекций.





J Nanopart Res (2015) 17:275  
DOI 10.1007/s11051-015-3083-5

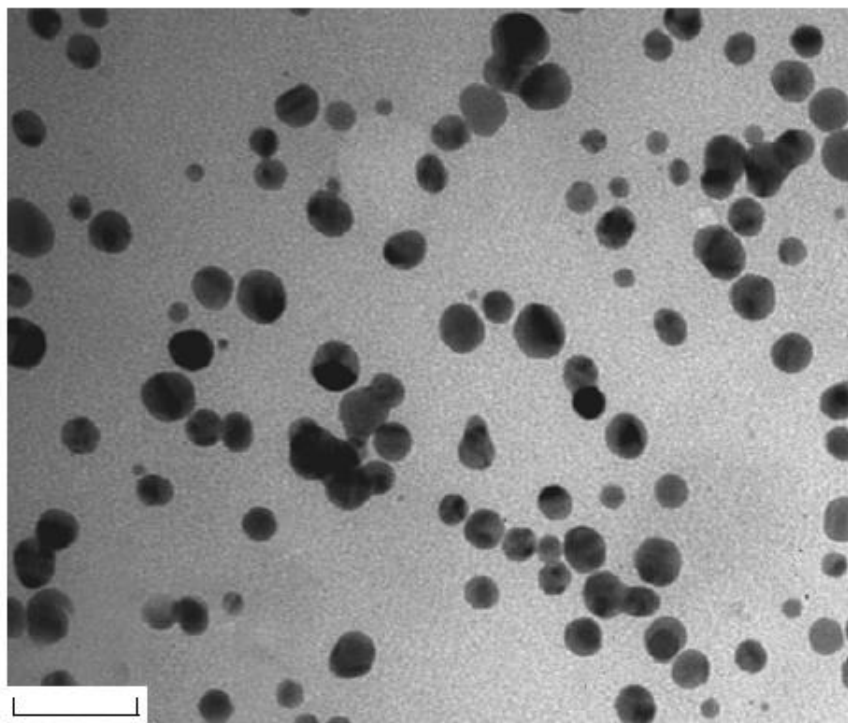


CrossMark

RESEARCH PAPER

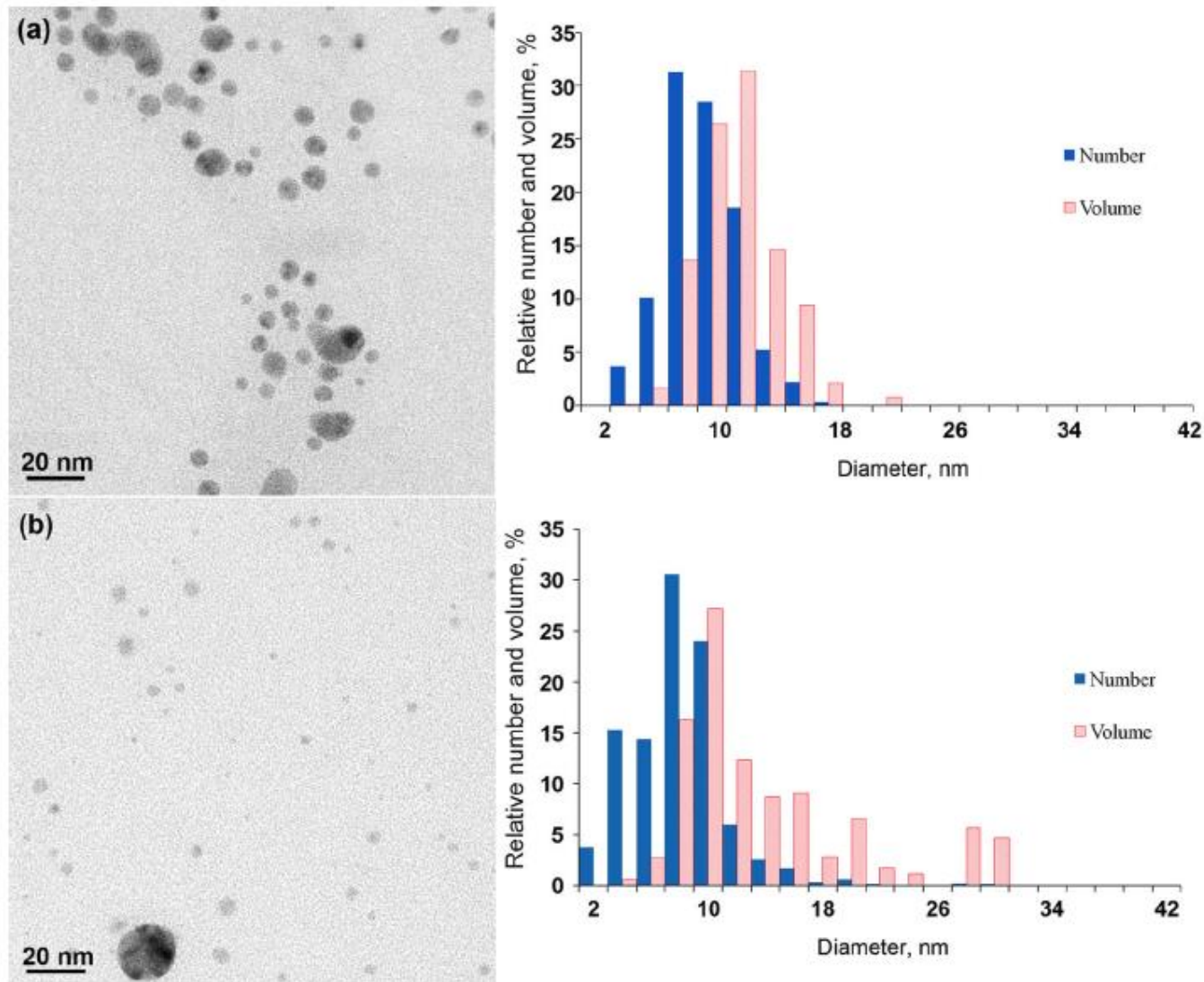
## Mechanism of formation of silver nanoparticles in MAG–DMAEMA copolymer aqueous solutions

Dmitry O. Shvedchenko · Tatiana N. Nekrasova · Olga V. Nazarova ·  
Philippe A. Buffat · Elena I. Suvorova



**Рис. 1.** Электронная микрофотография наночастиц  $Ag^0$ , полученных в присутствии сополимера МАГ–ДМАЭМ (18.2 мол. % звеньев ДМАЭМ). Масштаб 50 нм.

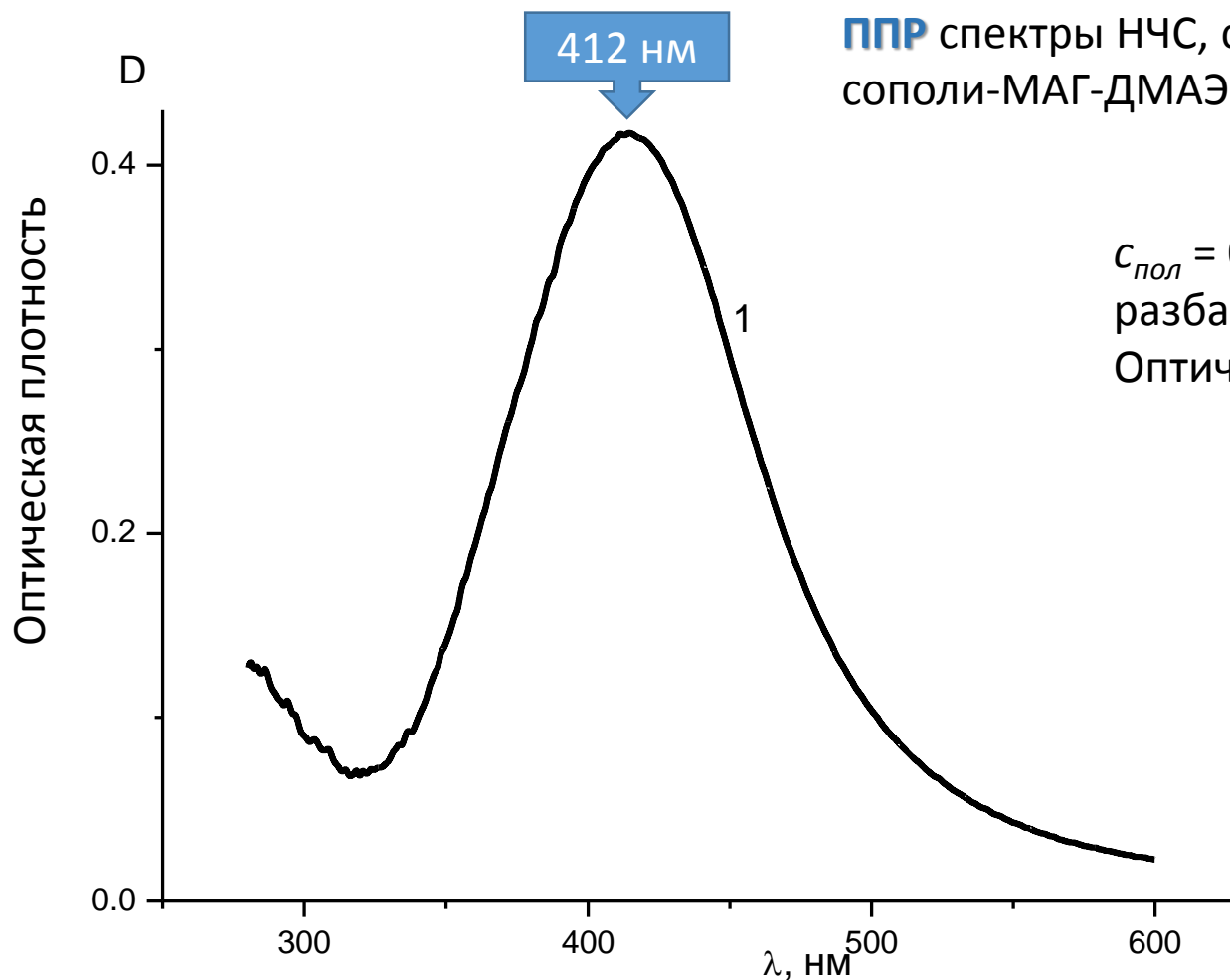




◀ Fig. 2 TEM micrographs of AgNP synthesized in the MAG–DMAEMA copolymer solution with different DMAEMA molar ratio  $\alpha$  and the corresponding particle/volume diameter distributions. (a)  $\alpha = 75.0\%$ , (b)  $\alpha = 70.7\%$ , (c)  $\alpha = 47.0\%$ , (d)  $\alpha = 18.0\%$



## Поверхностноплазмонный резонанс



**ППР** спектры НЧС, стабилизированных сополи-МАГ-DMAЭМ (65 мол.%), в воде

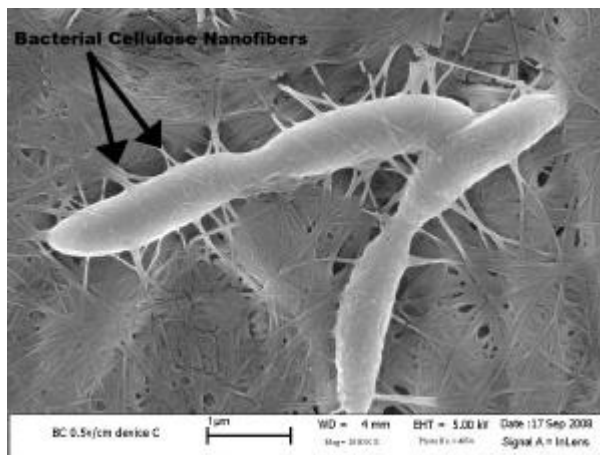
$c_{пол} = 0.1$  мг/мл (0.01 г/дл),  
разбавленный раствор.  
Оптический путь 1 см.



## Нано-гель-пленка бактериальной целлюлозы (НГП БЦ)



Синтез *G. xylinus* заканчивает на уровне субмикрочибрилл – **нанометры**.

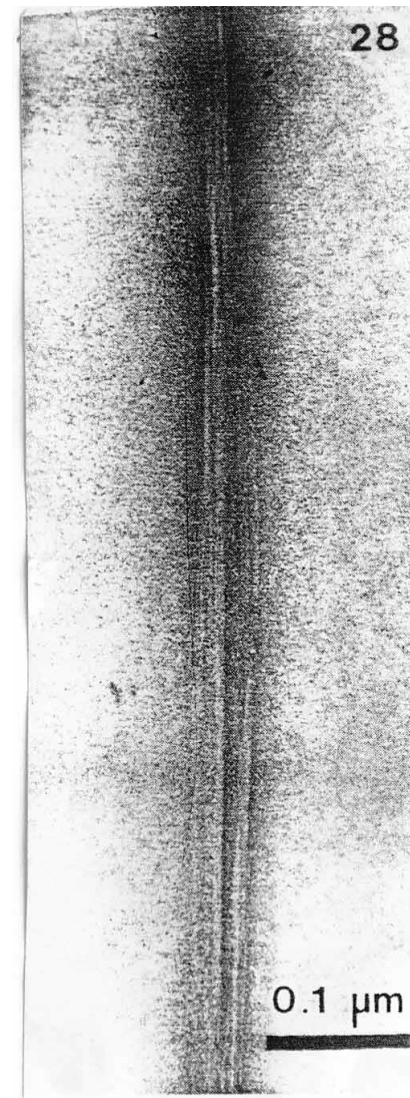


Уксуснокислая бактерии *Gluconacetobacter xylinus*  
(у нас штамм № 1629 CALU, СПбГУ)

Удерживает воду 1 г БЦ :100 г H<sub>2</sub>O –  
как **гидрогель**

Сорбирует низко- и высокомолекулярные  
соединения различной природы

Используется как скаффолд  
(жесткий молекулярный каркас)  
при создании нанокомпозитов  
различного назначения



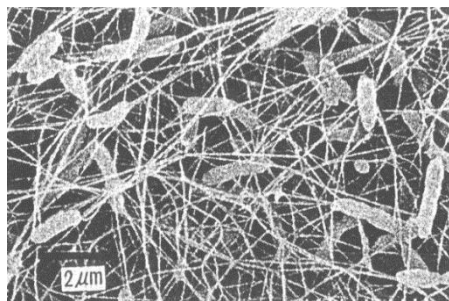
«Строительный блок»  
скаффолда





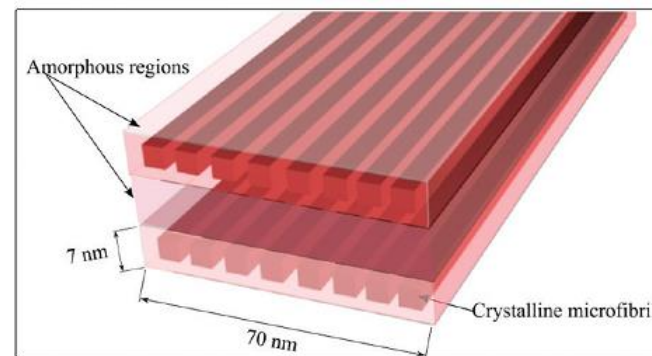


# Получение бактериальной целлюлозы



*Dieter Klemm et al. Bacterial synthesized cellulose — artificial blood vessels for microsurgery, Progress in Polymer Science V. 26, Is. 9, 2001*

Культивирование  
при  $T = 30 \pm 0,5^\circ\text{C}$  в  
течение 6—7 суток



Биосинтез гель-пленок целлюлозы *Glucosacetobacter xylinus* (штамм №1629 CALU )  
(А.А.Ткаченко, лаб. биосинтеза, каф. Микробиологии, СПбГУ)



Очищение целлюлозы от остатков питательной среды и бактерий  
(А.К. Хрипунов, лаб. физической химии полимеров ИВС)



Модельные

представления

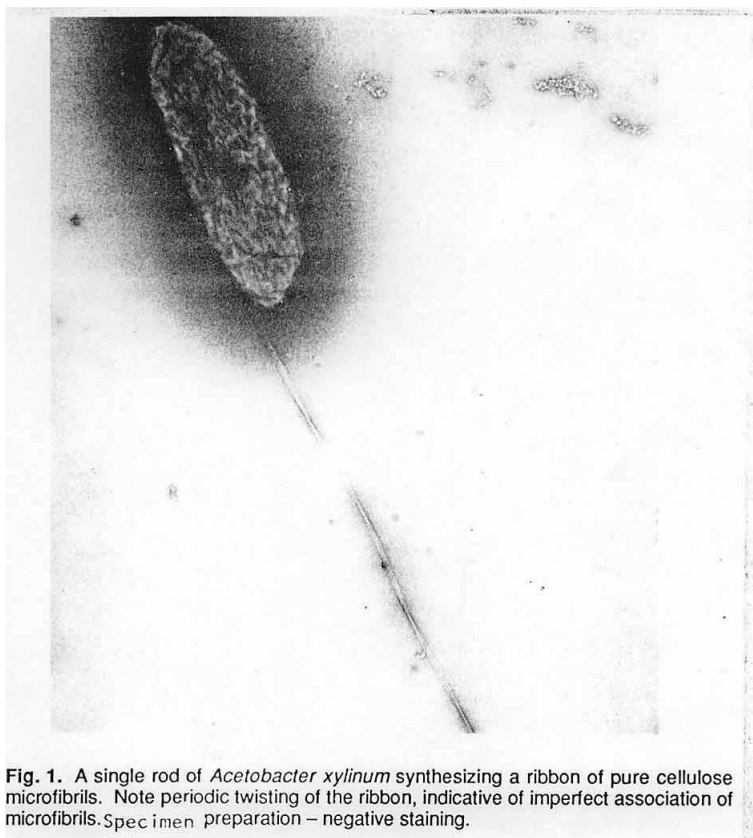
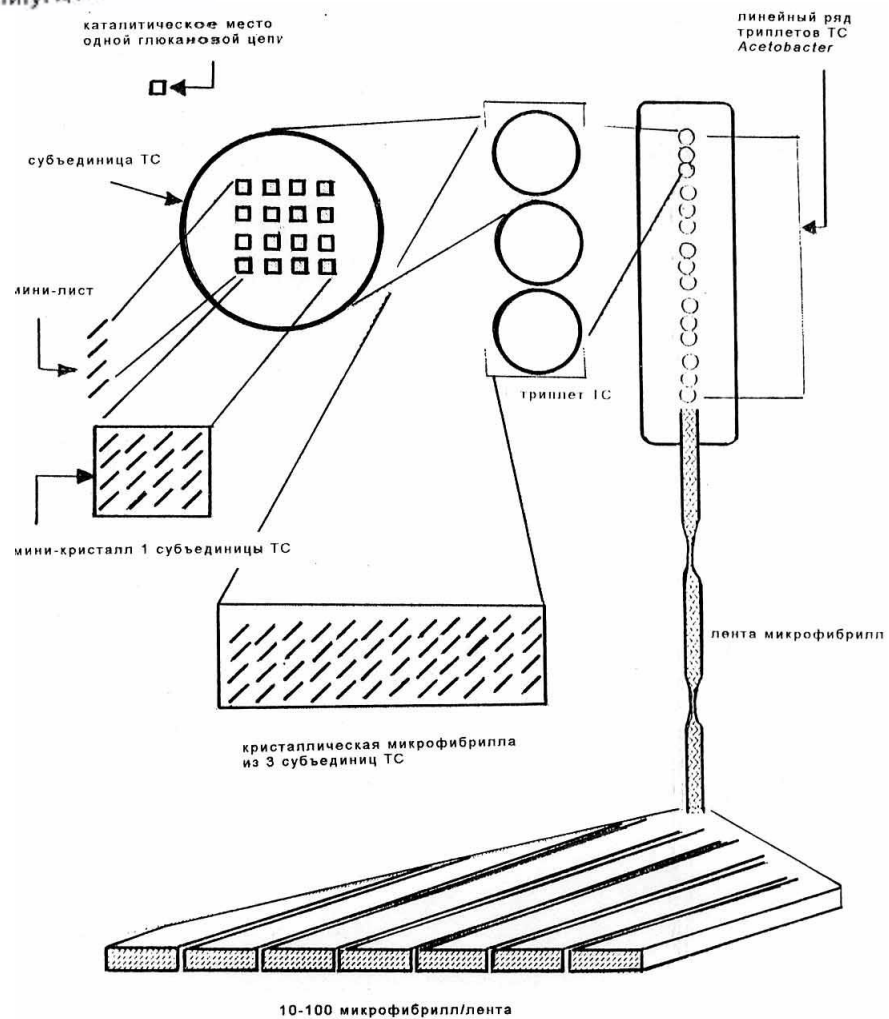


Fig. 1. A single rod of *Acetobacter xylinum* synthesizing a ribbon of pure cellulose microfibrils. Note periodic twisting of the ribbon, indicative of imperfect association of microfibrils. Specimen preparation – negative staining.

Микрофото из работы R. Malcolm Brown, Jr.

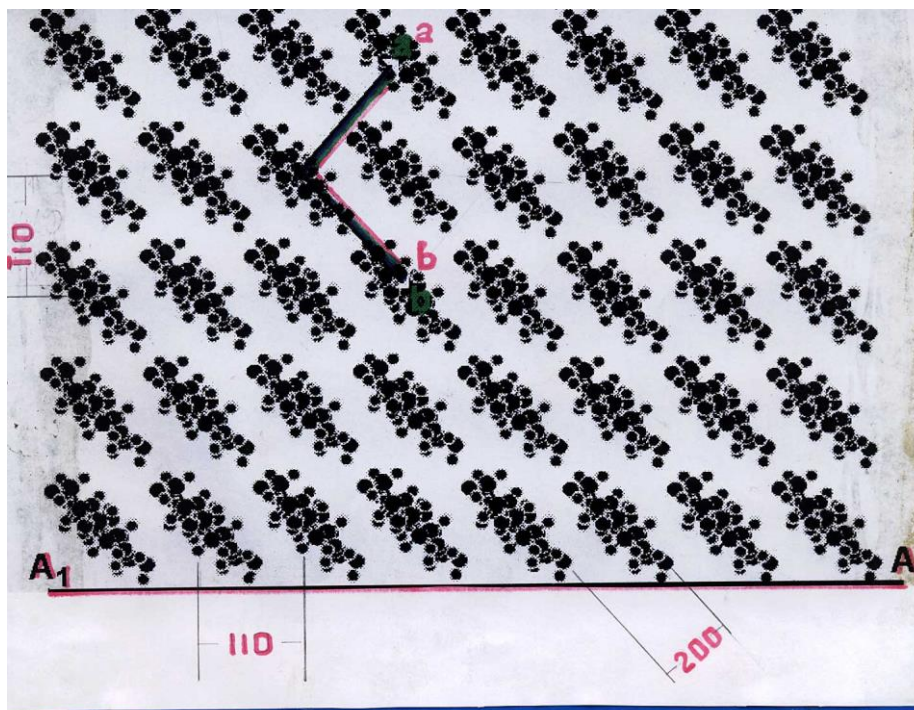


Модель по R. Malcolm Brown, Jr.



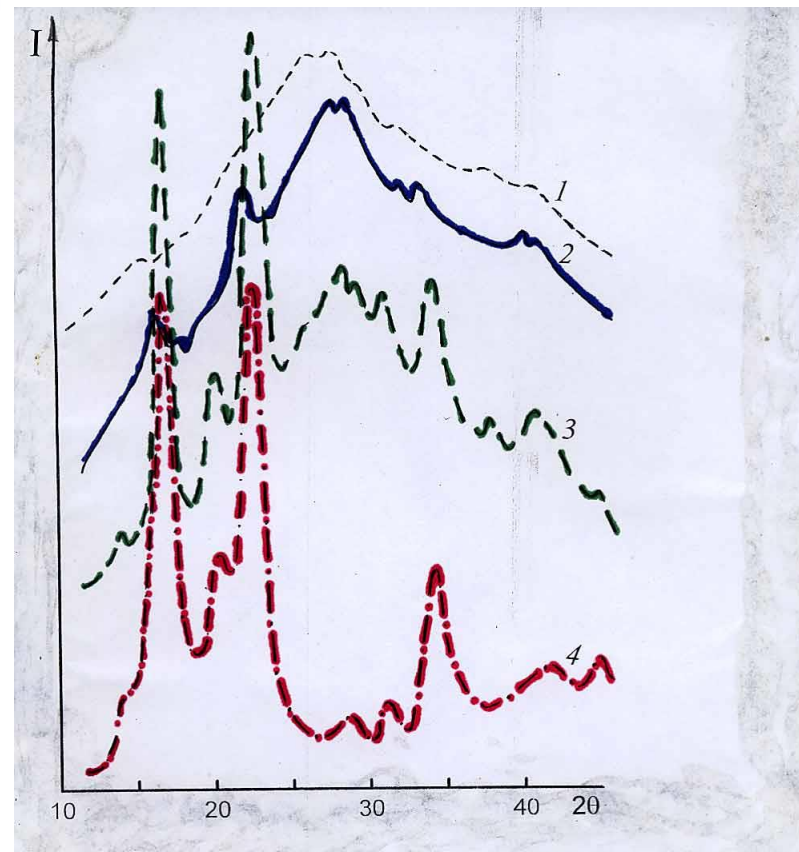


## Кристаллическая микрофибрилла



Model of packing cellulose chains as a projection on the  $ab$  plain for monoclinic cell.  
 $A_1A_2$ - orientation of band microfibrils on the macrofilm plane.  
The arrow indicates the direction of mini-sheets during biosynthesis.

## Проявление степени высушивания: от НГП до высушенной БЦ



Дифракционные кривые ЦАХ, полученные на рентгеновской установке ДРОН-2 ( $\text{CuK}\alpha$ ), в процессе сушки геле-пленки: 1 - исходная геле-пленка с соотношением сухой полимер:вода =1:100; 2 - образец ЦАХ, отжатый до 50% содержания воды; 3 - образец после сушки при 20°C в течение 3 ч; 4 - после сушки в вакууме при 40°C.





## Ранее получены антисептические композиты: **БЦ – наночастицы Ag(0) с ПВП**

ISSN 1063-7745, *Crystallography Reports*, 2009, Vol. 54, No. 2, pp. 169–173. © Pleiades Publishing, Inc., 2009.  
Original Russian Text © V.V. Volkov, V.V. Klechkovskaya, E.V. Shtykova, K.A. Dembo, N.A. Arkharova, G.I. Ivakin, R.Yu. Smyslov, 2009, published in *Kristallografiya*, 2009, Vol. 54, No. 2, pp. 197–201.

### DIFFRACTION AND SCATTERING OF IONIZING RADIATIONS

## Determination of the Size and Phase Composition of Silver Nanoparticles in a Gel Film of Bacterial Cellulose by Small-Angle X-Ray Scattering, Electron Diffraction, and Electron Microscopy

V. V. Volkov<sup>a</sup>, V. V. Klechkovskaya<sup>a</sup>, E. V. Shtykova<sup>a</sup>, K. A. Dembo<sup>a</sup>, N. A. Arkharova<sup>a</sup>,  
G. I. Ivakin<sup>a</sup>, and R. Yu. Smyslov<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Shubnikov Institute of Crystallography, Russian Academy of Sciences, Leninskiĭ pr. 59, Moscow, 119333 Russia

<sup>b</sup> Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, Bol'shoi pr. 31, St. Petersburg, 119004 Russia

e-mail: klechvv@ns.crys.ras.ru

Received September 24, 2008

**Abstract**—The nanoscale structural features in a composite (gel film of *Acetobacter Xylinum* cellulose with adsorbed silver nanoparticles, stabilized by N-polyvinylpyrrolidone) have been investigated by small-angle X-ray scattering. The size distributions of inhomogeneities in the porous structure of the cellulose matrix and the size distributions of silver nanoparticles in the composite have been determined. It is shown that the sizes of synthesized nanoparticles correlate with the sizes of inhomogeneities in the gel film. Particles of larger size (with radii up to 100 nm) have also been found. Electron microscopy of thin cross sections of a dried composite layer showed that large particles are located on the cellulose layer surface. Electron diffraction revealed a crystal structure of silver nanoparticles in the composite.

PACS numbers: 79.60.Ht

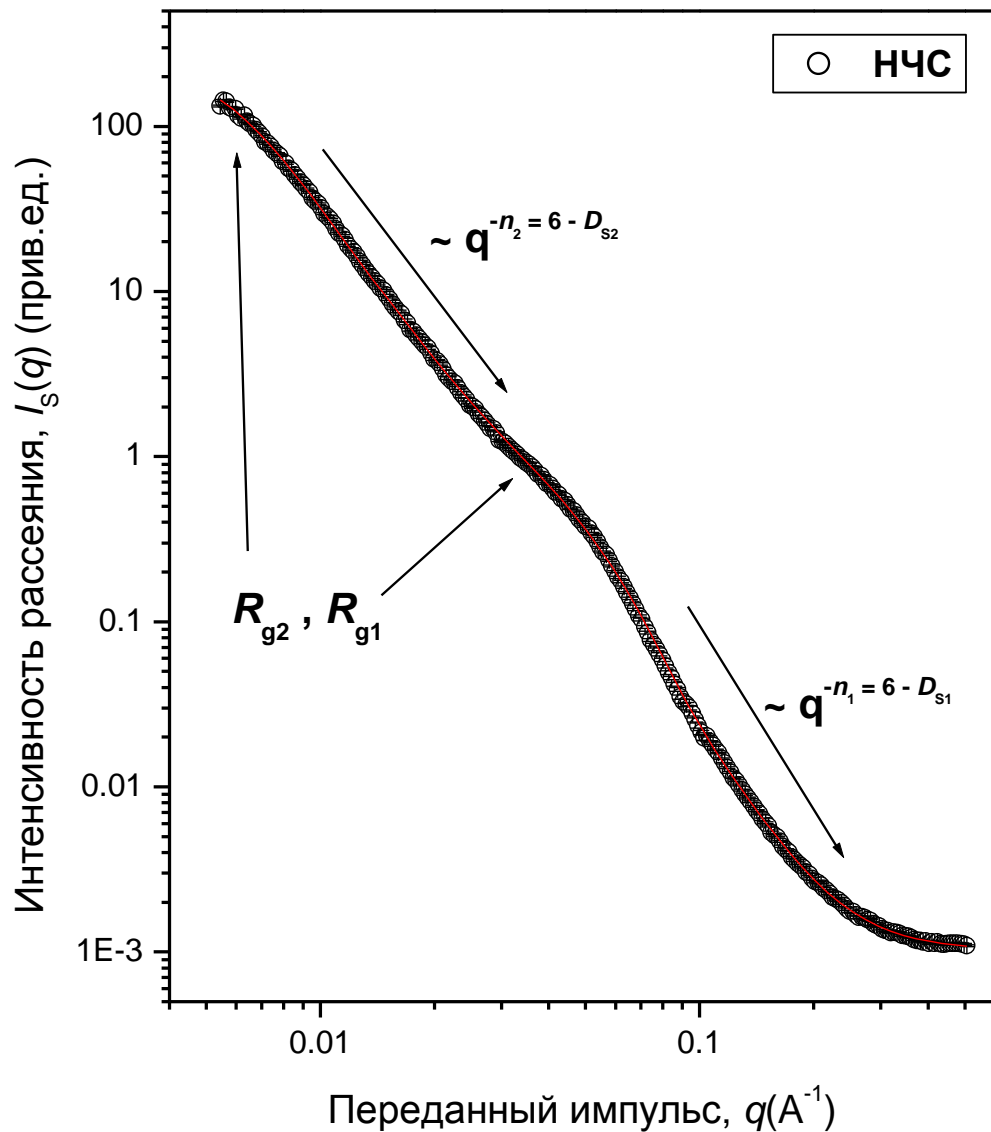
DOI: 10.1134/S1063774509020011



## Способ приготовления композита на основе БЦ, содержащего П(МАГ-ДМАЭМ) – НЧС (25 масс.%)

№	Этапы приготовления композиционного материала			
	Исходный вид	Добавка р-р {сополимер+НЧС} в воде	Набухание в воде	Окончательная сушка на воздухе
1	л/высушенная НГП БЦ	нет	нет	нет
2	л/высушенная НГП БЦ	да	да	да
3	л/высушенная НГП БЦ	нет	да	да
4	л/высушенная предв. дезинтегр. НГП БЦ	нет	да	да
5	л/высушенная предв. дезинтегр. НГП БЦ	да	да	да
6	л/высушенная НГП БЦ (в БГУ)	да	да	да
7	л/выс. раствор П(МАГ—ДМАЭМ) -- НЧС	неприложимо	нет	нет

НГП БЦ – нано-гель-пленка бактериальной целлюлозы. Полимер – это П(МАГ—ДМАЭМ, *ca.* 65 мол.%)



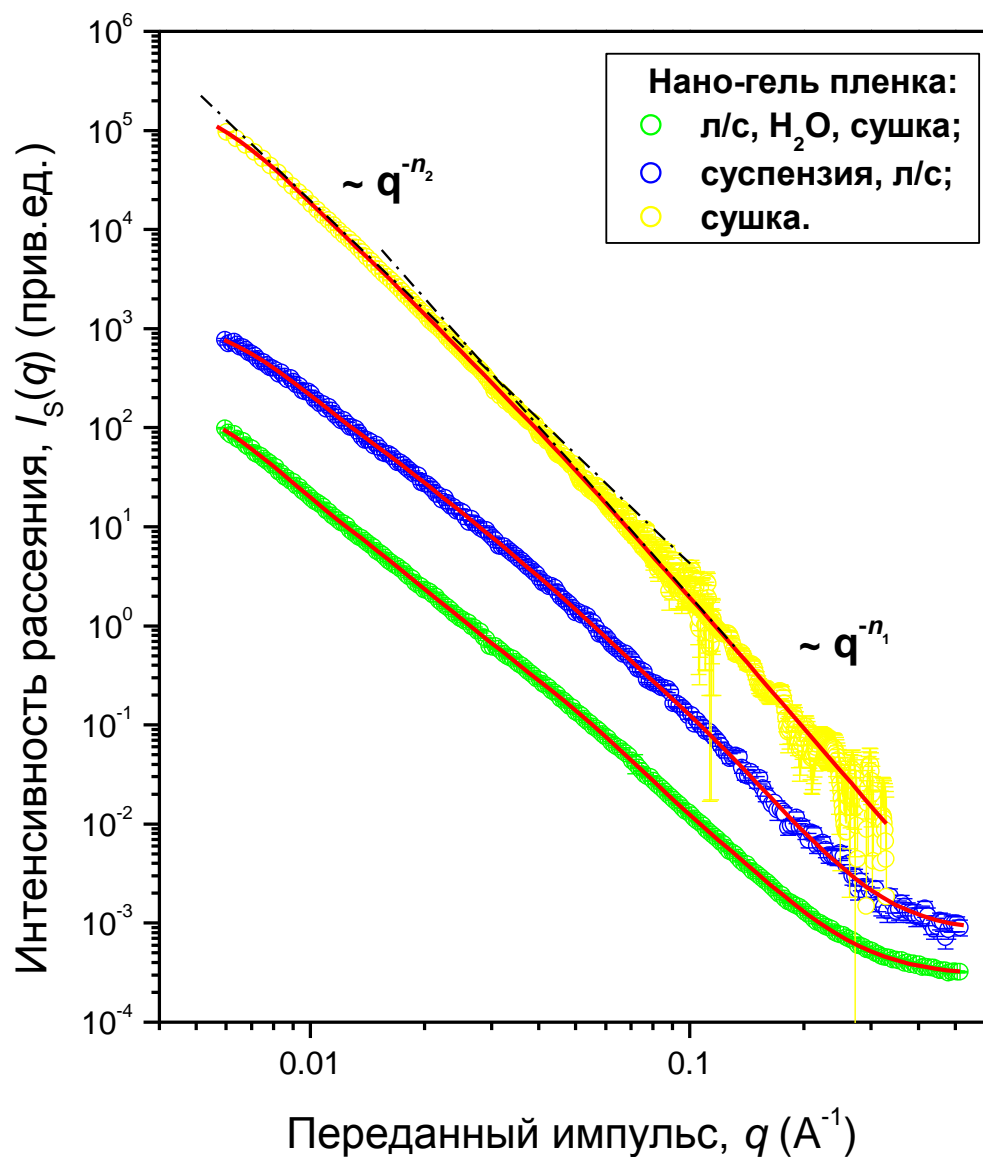
**НЧС в виде порошка:**

**1 структурный уровень:**

$$R_{g1} = 42 \pm 3 \text{ \AA} ; D_{S1} = 6 - n_{S1} = 2.30 \pm 0.02$$

**2 структурный уровень:**

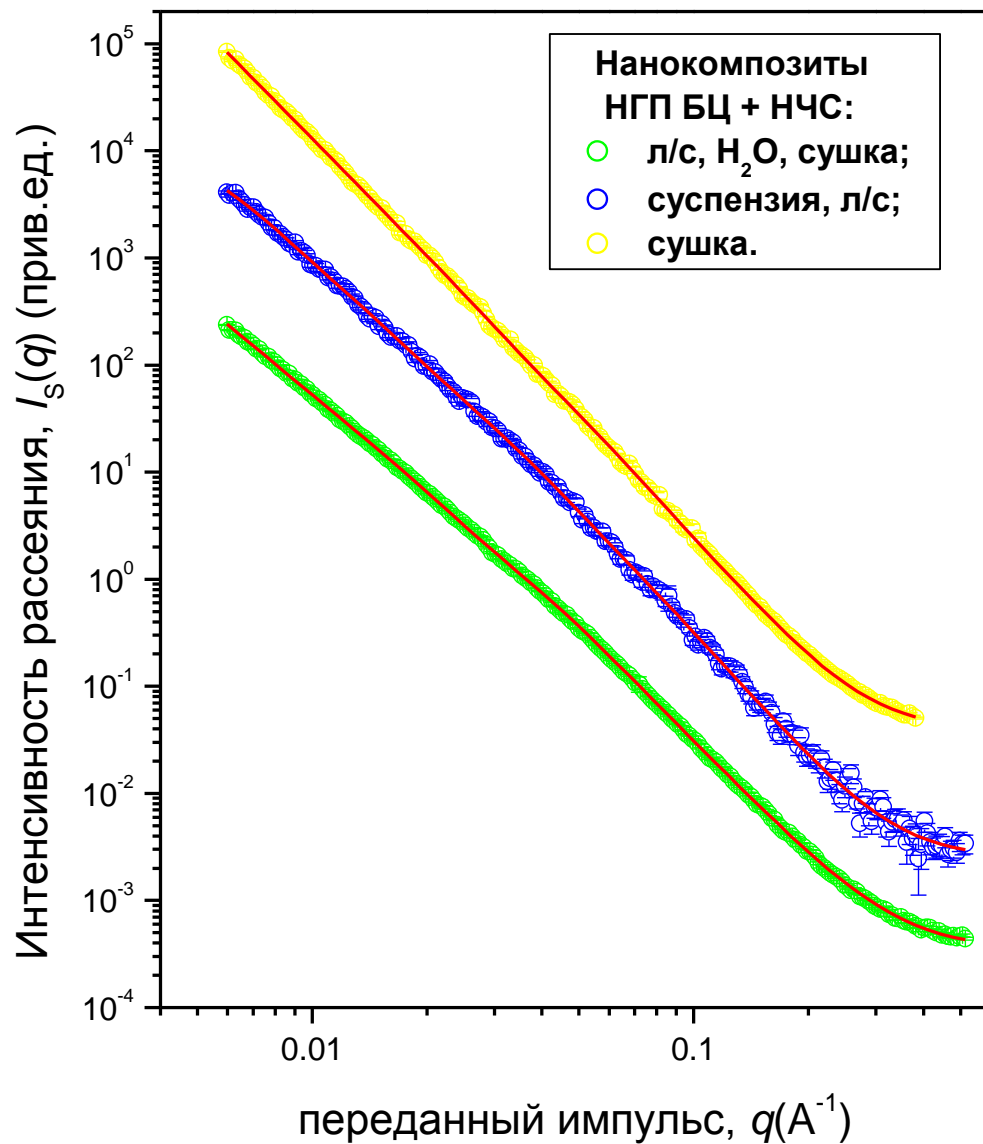
$$R_{g2} = 307 \pm 25 \text{ \AA} ; D_{S2} = 6 - n_{S2} = 2.69 \pm 0.02$$



### Нано-гель-пленка бактериальной целлюлозы

	Л/с, вода, сушка на воздухе	Суспензия, л/с	Сушка на воздухе
<b>1 структурный уровень</b>			
$R_{g1}$ (Å)	$39 \pm 2$	$42 \pm 3$	$49 \pm 3$
$D_{S1} = 6 - n_{S1};$ $n_{S1} = 4 + 2\beta$	$2.30 \pm 0.02$	$4.25 \pm 0.01$	$4.43 \pm 0.04$
<b>2 структурный уровень</b>			
$R_{g2}$ (Å)	□ 500	$297 \pm 25$	$349 \pm 28$
$D_{S2} = 6 - n_{S2};$ $D_{M2} = n_{S2}$	$2.94 \pm 0.02$	$2.91 \pm 0.03$	$2.42 \pm 0.02$

**НГП БЦ:**  $R_{g1} = 42 \pm 3$  Å ;  $D_{S1} = 2.37 \pm 0.03$ ;  $D_{S2} = 2.93 \pm 0.01$



## Нано-гель-пленка БЦ + НЧС

	Л/с, вода, сушка на воздухе	Суспензия, л/с	Сушка на воздухе
<b>1 структурный уровень</b>			
$R_{g1} (\text{Å})$	$52 \pm 4$	$59 \pm 7$	$63 \pm 5$
$D_{S1} = 6 - n_{S1}$	$2.40 \pm 0.02$	$2.07 \pm 0.04$	$2.10 \pm 0.01$
<b>2 структурный уровень</b>			
$R_{g2} (\text{Å})$	□ 500	$372 \pm 24$	□ 500
$D_{S2} = 6 - n_{S2}$	$2.97 \pm 0.01$	$2.73 \pm 0.07$	$2.60 \pm 0.02$



## Заключение

- ❑ В данной работе синтезированы нанокompозиты на основе полимерной матрицы (нано-гель пленка БЦ), приготовленной различными способами, и наночастиц серебра (НЧС). Мезоструктура, в том числе фрактальные свойства, нано-гель пленок БЦ и композитов на ее основе была исследована методом МУРР;
- ❑ Установлено, что исходные нано-гель пленки БЦ и композиты на их основе с добавлением НЧС представляют собой системы с 2-х уровневой иерархической организацией структуры;
- ❑ Выявлено существенное влияние как способа приготовления, так и добавления НЧС на структуру исходных нано-гель пленок БЦ;
- ❑ Показана воспроизводимость структуры нано-гель пленки БЦ, полученной с последовательным использованием лиофильной сушки, набухания в воде и сушки на воздухе.





**Спасибо за внимание!**