

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN AND 4-CHLOROBENZALDEHYDE-BASED SCHIFF BASES AND ASSESSMENT OF THE ANTIMICROBIAL PERFORMANCE OF DERIVED HYDROGELS

D. Mukhamediya¹, D.N. Makhayeva^{1*}, D. Abduletip¹, G.K. Abilova²,
D.B. Kaldybekov¹, G.S. Irmukhametova¹

¹al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

² NJSC "K.Zhubanov Aktobe regional university", Aktobe, Kazakhstan

*Corresponding author e-mail: danelya.1993@gmail.com

Abstract. *Introduction.* Microbial resistance to antibiotics is a major global health challenge, as the growing number of multidrug-resistant pathogens limits treatment options and increases morbidity and mortality. This situation necessitates the development of eco-friendly and effective alternatives, including novel antibacterial agents. Schiff bases—organic compounds with an imine group ($>C=N-$)—are promising due to their simple synthesis, structural diversity, and broad biological activities, including antimicrobial effects. Of particular interest are Schiff bases derived from chitosan, a natural polymer known for its biocompatibility, non-toxicity, and high potential for chemical modification, which can improve its physicochemical and biological properties for applications in medicine and biotechnology. *This study aimed to synthesise Schiff bases based on chitosan and 4-chlorobenzaldehyde and to evaluate their structural and functional properties. The compounds were characterised by IR and NMR spectroscopy, and their properties were studied using thermal analysis, rheological measurements, and assessment of adhesive behaviour. Results and Discussion.* The formation of Schiff bases was confirmed by IR and NMR spectroscopy. Thermal analysis showed increased glass transition temperature and thermal stability of the samples. Hydrogels prepared from methylcellulose and modified chitosan exhibited thixotropic behaviour and significant antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans*. *Conclusion.* Modified chitosan demonstrated improved properties and strong antimicrobial activity, indicating its potential as a basis for creating new antimicrobial materials for use in medicine, cosmetology, and the food industry.

Keywords: Schiff bases; chitosan; 4-chlorobenzaldehyde; hydrogels; antibacterial activity; adhesive properties.

Mukhamediya Dayana

*Master of Technical Sciences, engineer;
E-mail: mukhamediya@daniellipharm.kz*

Makhayeva Danelya Nurlanovna

PhD, senior researcher; E-mail: danelya.1993@gmail.com

Abduletip Dilkhumar

PhD student; E-mail: abduletipovad@gmail.com

Citation: Mukhamediya D., Makhayeva D.N., Abduletip D., Abilova G.K., Kaldybekov D.B., Irmukhametova G.S. Development and characterization of chitosan and 4-chlorobenzaldehyde-based schiff based and assessment of the antimicrobial performance of derived hydrogelss. *Chem. J. Kaz.*, **2025**, 4(92), 128-137. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51580/2025-4.2710-1185.56>

<i>Abilova Guzel Kabiletovna</i>	<i>PhD, senior lecturer; E-mail: guzelab82@mail.ru</i>
<i>Kaldybekov Daulet Bolatovich</i>	<i>PhD, leading researcher; E-mail: daulechem@gmail.com</i>
<i>Irmukhametova Galiya Serikbayevna</i>	<i>Candidate of Chemical Sciences, Professor; E-mail: galiya.irm@gmail.com</i>

ПОЛУЧЕНИЕ ОСНОВАНИЯ ШИФФА НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И 4-ХЛОРБЕНЗАЛЬДЕГИДА И ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ГИДРОГЕЛЕЙ НА ЕГО ОСНОВЕ

Д. Мұхамедия¹, Д.Н. Махаева^{1}, Д.Абдулетип¹, Г.К.Абилова²,
Д.Б. Калдыбеков¹, Г.С. Ирмухаметова¹*

¹*Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

²*Актюбинский региональный университет им. К. Жубанова, Актобе, Казахстан*

Резюме. *Введение.* Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам представляет собой одну из наиболее серьезных глобальных проблем здравоохранения. Постоянный рост числа патогенов с множественной лекарственной устойчивостью существенно ограничивает терапевтические возможности, повышает заболеваемость и смертность. В связи с этим особой актуальность приобретает поиск экологичных и эффективных альтернативных подходов, включая разработку новых антибактериальных агентов. Одним из перспективных направлений являются основания Шиффа — органические соединения, содержащие иминную группу (>C=N-). Они привлекают внимание исследователей благодаря простоте синтеза, разнообразию структуры и широкому спектру биологических активностей, в том числе выраженным антимикробным свойствам. Особый интерес вызывают основания Шиффа на основе хитозана — природного полимера, обладающего биосовместимостью, биоактивностью, нетоксичностью и высокой способностью к химической модификации. Модификация хитозана позволяет улучшить его физико-химические и биологические характеристики, расширяя области применения в медицине, фармацевтике и биотехнологии. *Цель исследования* заключалась в синтезе оснований Шиффа на основе хитозана и 4-хлорбензальдегида, а также в изучении их структурных и функциональных свойств. *Методология работы* включала характеристику синтезированных соединений методами ИК- и ЯМР-спектроскопии, а также оценку физико-химических свойств посредством термического анализа, реологических исследований и изучения адгезионного поведения. *Результаты и обсуждение.* Были синтезированы основания Шиффа, образование которых подтверждено ИК- и ЯМР-спектроскопией. Термический анализ показал повышение температуры стеклования и термостабильности образцов. Гидрогели на основе метилцеллюлозы и модифицированного хитозана проявили тиксотропные свойства и антимикробную активность против *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*. *Заключение.* Результаты исследования демонстрируют перспективность модифицированного хитозана как основы для создания новых антимикробных материалов с потенциалом применения в медицине, косметологии и пищевой промышленности.

Ключевые слова: основания Шиффа; хитозан; 4-хлорбензальдегид; гидрогели; антибактериальная активность; адгезивные свойства.

<i>Мухамедия Диана</i>	<i>Магистр технических наук, инженер</i>
<i>Махаева Данэля Нурлановна</i>	<i>PhD, старший научный сотрудник</i>
<i>Абдулетип Дильхумар</i>	<i>PhD студент</i>
<i>Абилова Гузель Кабилетовна</i>	<i>PhD, старший преподаватель</i>
<i>Калдыбеков Даулет Болатович</i>	<i>PhD, ведущий научный сотрудник</i>
<i>Ирмухаметова Галия Серикбаевна</i>	<i>к.х.н., профессор</i>

1. Введение

Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам — серьёзная угроза здравоохранению, так как число штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) быстро растёт, что ограничивает лечение и повышает смертность [1]. Поэтому актуален поиск экологически безопасных антибактериальных агентов.

Основания Шиффа – органические соединения с иминной группой ($>C=N-$), применяемые как пигменты, катализаторы, стабилизаторы полимеров, хемосенсоры, а также в фармацевтике и биомедицине [2]. Их популярность связана с простым и дешёвым синтезом, в частности термическим методом.

Хитозан – продукт деацетилирования хитина, обладающий сорбционными и увлажняющими свойствами и нетоксичностью [3]. Благодаря реакционноспособным группам ($-OH$, $-NH_2$) он легко модифицируется, сохраняя биоразлагаемость и приобретая антимикробные, противоопухолевые и противовирусные свойства [4]. Производные Шиффа на основе хитозана проявляют активность против *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и грибов (*Candida albicans*), что делает их перспективными для пищевой, медицинской и косметической сфер [5].

Цель исследования — синтез оснований Шиффа на основе хитозана и 4-хлорбензальдегида, их характеристика и изучение антибактериальных, реологических и адгезивных свойств гидрогелей.

2. Экспериментальная часть

2.1 Материалы

В работе использовались 4-хлорбензальдегид, хитозан, метилцеллюлоза-40000 (вязкость 400 сР), молочная кислота (85%, Sigma Aldrich), гидроксид натрия (NaOH, Лабхимпром) и этиловый спирт (90%, «Талгар-Спирт»). Все реагенты применялись без дополнительной очистки.

2.2 Получение модифицированного хитозана

Хитозан (1,0 г) ($C=2\%$) (ХТ) растворяли в 50 мл 2%-ного раствора молочной кислоты при перемешивании в течение 6 ч при комнатной температуре. К полученному раствору по каплям добавляли 10 мл этанола, содержащего рассчитанное количество 4-хлорбензальдегида (ХБА). Реакцию проводили при различных мольных соотношениях хитозана и альдегида — 1.6:1, 1:1, 1:2 и 1:3 (ХТ-ХБА) — при температуре 50 °С в течение 6 ч. рН реакционной среды находился в пределах 2,2–2,3. Осадок продукта выделяли добавлением 5%-ного раствора NaOH, после чего фильтровали и многократно промывали водой и этанолом до полного удаления непрореагировавшего альдегида. Полученный продукт высушивали в лиофильной сушке до получения белого порошка основания Шиффа на основе хитозана и 4-хлорбензальдегида.

2.3 Получение гидрогелей на основе основания Шиффа

Модифицированный хитозан ХТ-ХБА (0,2 г, соотношение 1:2 моль/моль) растворяли в 10 мл 2%-ного раствора молочной кислоты. Отдельно готовили 7,5%-ный водный раствор метилцеллюлозы. Для формирования гидрогеля растворы смешивали в соотношении 1:3 (масс. % соответственно). Полученную массу нейтрализовали до рН 5,0 путём капельного добавления 0,5 М раствора NaOH.

2.4 Физико-химические методы анализа

ИК-спектроскопия. Для физико-химической характеристики синтезированных оснований Шиффа использовался спектрометр a Vertex 70 V spectrometer. Пробы хитозана и ХТ-ХБА, полученные при мольных соотношениях 1.6:1, 1:1 и 1:3, подвергали лиофильной сушке до постоянной массы, после чего ИК-спектры регистрировали для сухих образцов.

ЯМР-спектроскопия. ЯМР-спектры соединений на основе хитозана и основания Шиффа ХТ-ХБА регистрировались на спектрометре JNM-ECA с рабочей частотой 500 МГц (Boston, MA, USA); образцы готовили в 0,5% растворе дейтерированной воды (D₂O).

Термогравиметрический анализ (ТГА). Анализ проводили на приборе SKZ1053 TGA с использованием навесок массой около 8 мг. Измерения выполняли при нагреве со скоростью 10 °С/мин в интервале температур 25–600 °С в атмосфере азота.

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК). Анализ проводили на приборе SKZ1052B DSC с использованием навесок массой около 8 мг. Измерения выполняли при нагреве со скоростью 10 °С/мин в интервале температур 25–600 °С в атмосфере воздуха.

Реологические характеристики гидрогелей оценивались с помощью ротационного вискозиметра Lamy Rheology RM 200 (Lamy Rheology Instruments (Франция)).

Антимикробную активность образцов против *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans* исследовали диско-диффузионным методом в «Научном центре противомикробных препаратов» (г. Алматы). Диаметры зон ингибирования определяли в мм, результаты представляли как среднее ± стандартное отклонение (n=3).

Адгезивные свойства гидрогелей ХТ-ХБА, раствора хитозана и NaFl (0,01 мг/мл) оценивали на поверхности свиного уха. Моделирование мытья рук проводили с подачей дистиллированной воды (190 мл/ч), а потоотделения — 0,09% раствора NaCl (25 мл/ч) [6]. Флуоресценцию регистрировали камерой iPhone 13 Pro при УФ-освещении и анализировали в ImageJ®, корректируя данные по фону для объективной оценки.

3. Результаты и их обсуждение

Синтез оснований Шиффа на основе хитозана и 4-хлорбенальдегида

Производные хитозана широко применяются в биомедицине и фармацевтике благодаря своим уникальным свойствам. Однако его прямое использование ограничено низкой стабильностью [7]. Эту проблему решают путем модификации хитозана с образованием оснований Шиффа.

В данной работе основания Шиффа на основе хитозана (ХТ) и 4-хлорбенальдегида (ХБА) синтезировали термическим способом. Использовались различные мольные соотношения компонентов: 1,6:1, 1:1, 1:2 и 1:3 (ХТ-ХБА). Взаимодействие между полимером и альдегидом осуществляется за счёт функциональных групп: аминогрупп хитозана и карбонильных групп ХБА. На ИК-спектрах ХТ и ХТ-ХБА в соотношениях 1,6:1, 1:1 и 1:3 моль/моль, представленных на рисунке 1 (а), обнаружены характерные различия, отражающие успешную модификацию. На спектрах ХТ-ХБА появляется и нарастает полоса $\sim 1640\text{--}1690\text{ см}^{-1}$, что свидетельствует об формировании имино-групп ($>\text{C}=\text{N}-$) в результате образования основания Шиффа.

Анализ ^1H -ЯМР-спектров (рис.1 (б)) модифицированного хитозана с хлорбенальдегидом (ХТ-ХБА) показывает наличие схожих структурных фрагментов и подтверждает образование оснований Шиффа. В обоих случаях в спектрах наблюдаются сигналы в области 9,45 ppm для соотношений 1,6:1 и 1:2, и 9,50 ppm для 1:3, характерные для α -протона в иминной группе ($>\text{C}=\text{N}-$), что подтверждает успешное взаимодействие аминогрупп хитозана с альдегидом. Кроме того, наличие множественных сигналов в ароматической области спектра подтверждает включение ароматических колец: у ХТ-ХБА – в диапазоне 7,21–7,57 ppm.

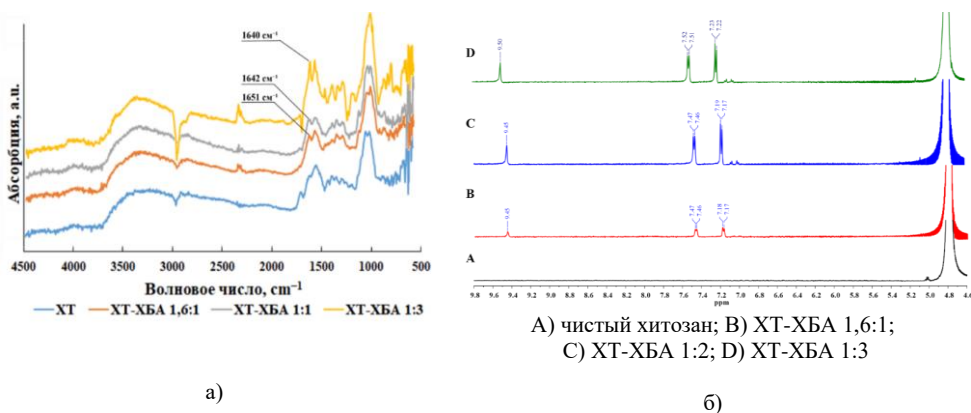


Рисунок 1 – ИК- (А) и ЯМР-спектры (Б) хитозана и его производных ХТ-ХБА при различных мольных соотношениях ХТ:ХБА.

На рисунке 2 (а) представлены результаты ТГА-анализа хитозана и его производных на основе основания Шиффа. При 300°C потеря массы не

модифицированного хитозана составила около 50 %, а потеря массы ХТ-ХБА 56.71 %. При 500 °С потеря массы не модифицированного хитозана составила около 6.72 %, а для производных хитозана ХТ-ХБА - 27.16 %. Таким образом, производные хитозана показали более высокую термическую стабильность, чем не модифицированный хитозан.

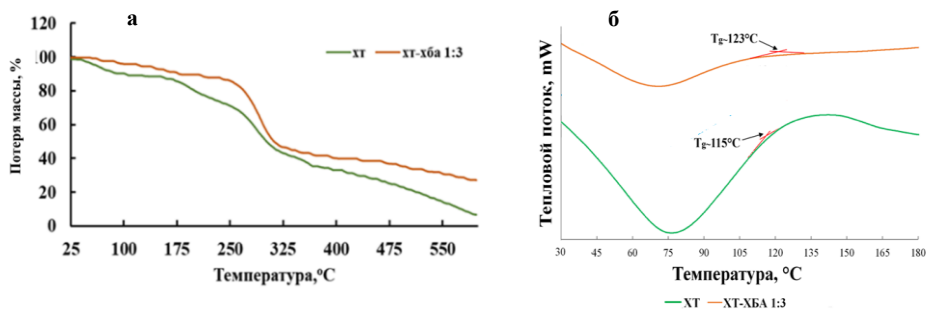
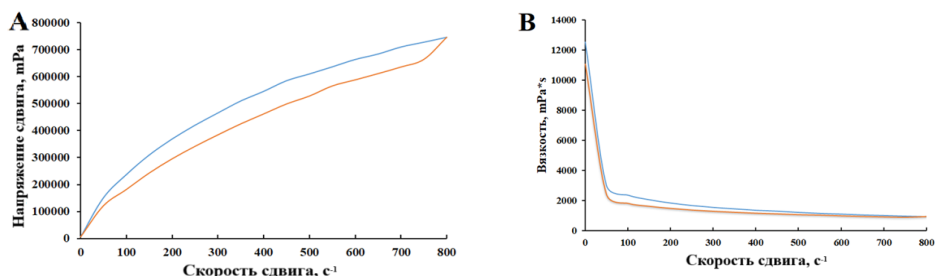


Рисунок 2 – Результаты ТГА (А) и ДСК (Б) анализа хитозана и ХТ-ХБА.

ДСК-анализ показал (рис. 2 (б)), что модификация хитозана 4-хлорбензальдегидом с образованием оснований Шиффа повышает его температуру стеклования (T_g) с ~ 115 °С до ~ 123 °С. Этот эффект связан с формированием жёстких иминных связей ($>C=N-$) и введением ароматических фрагментов, которые ограничивают подвижность полимерных цепей.

Результаты анализа структурно-механических свойств гидрогелей показали, что при увеличении скорости сдвига возрастает предельное напряжение сдвига и снижается эффективная вязкость (рис. 3). Построенные кривые течения выявили гистерезис, подтверждающий тиксотропные свойства образцов. Гидрогели ХТ-ХБА демонстрируют быстрое восстановление структуры, что обеспечивает их лёгкое нанесение и удобство использования.



А) кривая течения гидрогеля; В) кривая вязкости гидрогеля

Рисунок 3 - Результаты реологического анализа гидрогеля ХТ-ХБА [1:3].

Хитозан проявляет антимикробную активность против широкого спектра грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также грибов, благодаря своей катионной природе [8]. 4-хлорбензальдегид усиливает это действие за счёт взаимодействия альдегидной группы с белками микроорганизмов и повышения проницаемости мембран [9-10]. Основания Шиффа на основе хитозана и 4-хлорбензальдегида показали более высокую активность по сравнению с чистым хитозаном, образуя зоны ингибирования 6,3 мм (*E. coli*), 7,7 мм (*S. aureus*) и 8,0 мм (*C. albicans*) (рис.4). Это подтверждает их потенциал как эффективных антибактериальных средств.

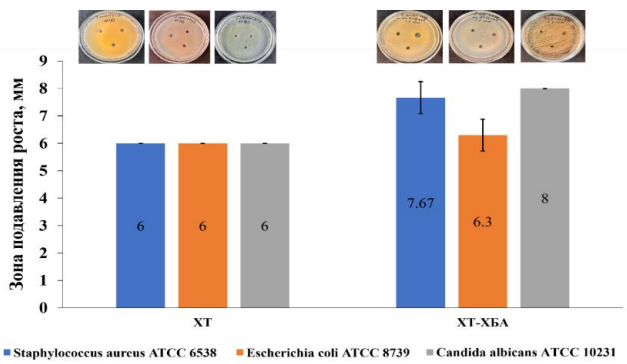


Рисунок 4 - Результаты анализа антимикробных свойств гидрогеля на основе хитозана и ХТ-ХБА, 1:3 моль/моль.

Адгезивные свойства гидрогелей оценивали на модели свиной кожи с использованием флуоресцентной визуализации и анализа в ImageJ®. Результаты (рис. 5–6) показали, что ХТ и особенно ХТ-ХБА обладают значительно более высокой удерживающей способностью по сравнению с контрольным образцом NaFl. При воздействии воды ХТ сохранял 30–35% удерживания при объеме смывной жидкости 20–25 мл, тогда как ХТ-ХБА удерживал до 60% при 15 мл и около 40% при 20 мл, что подтверждает улучшение адгезии после модификации.

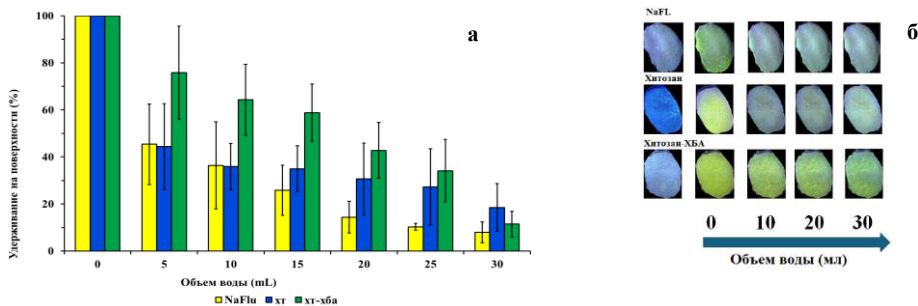


Рисунок 5 – Удержание хитозана и ХТ-ХБА после промывания водой (а) и флуоресцентные изображения, демонстрирующие их адгезию к свиному уху (б).

При промывании раствором NaCl гель на основе ХТ-ХБА сохранял наибольшее удерживание – около 55–60% при объеме смывной жидкости 10 мл и ~30% при 30 мл, в то время как ХТ удерживал 35–40% и 15–20%, соответственно. Контрольный образец с NaFlu быстро смывался, показывая значение ниже 10% уже при 20 мл. Флуоресцентные изображения подтверждают более высокую устойчивость модифицированного хитозана к смыванию по сравнению с чистым ХТ и контролем.

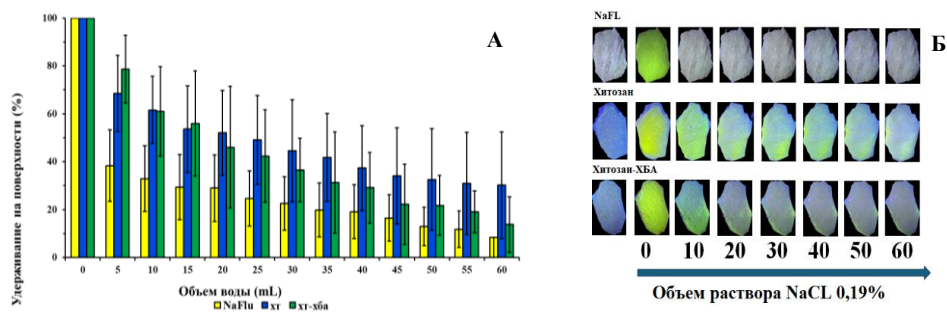


Рисунок 6 – Удержание хитозана и ХТ-ХБА после промывания раствором NaCl и флуоресцентные изображения их адгезии к свиному уху.

4. Заключение

В ходе работы были синтезированы и охарактеризованы ароматические основания Шиффа на основе хитозана (ХТ-ХБА). Модификация хитозана 4-хлорбензальдегидом привела к образованию прочных иминных связей, что подтверждено ИК-спектроскопией (характеристический пик при 1651 см^{-1}) и протонной ЯМР-спектроскопией, на котором зафиксированы сигналы, характерные для иминных протонов ($>C=N-$) и ароматических колец. Термический анализ показал повышение температуры стеклования и стабильности модифицированных образцов по сравнению с чистым хитозаном. Полученные гели проявили тиксотропные свойства и антимикробную активность против *E. coli*, *S. aureus* и *C. albicans*. Эксперименты на модели свиной кожи с флуоресцентной визуализацией показали, что чистый хитозан удерживается на кожной поверхности лучше, чем гель ХТ-ХБА, вероятно, за счёт более высокой вязкости. Эти результаты подтверждают перспективность ХТ-ХБА для применения в медицине и фармацевтике.

Финансирование. Работа выполнена в рамках проекта ГФ МНВО РК на 2023-2025 гг. грант AP19679560, ПЦФ МНВО РК на 2024-2026 гг. грант № BR24993113.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов между авторами, требующего раскрытия в данной статье.

4-ХЛОРБЕНЗАЛЬДЕГИДПЕН МОДИФИКАЦИЯЛАНҒАН ХИТОЗАНДЫ ӨЗІРЛЕУ ЖӘНЕ ОДАН АЛЫНҒАН ГИДРОГЕЛЬДЕРДІҢ АНТИМИКРОБТЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН БАҒАЛАУ

Д. Мұхамедия¹, Д.Н. Махаева^{1*}, Д. Абдулети¹, Г.К. Абилова²,
Д.Б. Калдыбеков¹, Г.С. Ирмухаметова¹

¹ *эл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан*

² *Қ. Жұбанов атындағы Ақтөбе өңірлік университеті, Ақтөбе, Қазақстан*

Түйіндеме. *Кіріспе.* Микроорганизмдердің антибиотиктерге төзімділігі қазіргі уақытта жаһандық денсаулық сақтау саласындағы ең өзекті мәселелердің бірі болып табылады. Көптеген дәріге төзімді (ҚДТ) патогендердің санының тұрақты өсуі терапевтік мүмкіндіктерді айтарлықтай шектеп, аурушандық пен өлім-жітім деңгейінің жоғарылауына әкеледі. Осыған байланысты экологиялық таза әрі тиімді баламалы тәсілдерді, соның ішінде жаңа антибактериалды агенттерді іздеу ерекше маңызға ие. Перспективті бағыттардың бірі — Шифф негіздері, құрамында имин тобы (>C=N-) бар органикалық қосылыстар. Бұл қосылыстар синтезінің қарапайымдылығы, құрылымдық әртүрлілігі және кең ауқымды биологиялық белсенділігі, соның ішінде айқын антимикробтық қасиеттері арқасында ғалымдардың назарын аударуда. Хитозан негізіндегі Шифф негіздері ерекше қызығушылық тудырады, себебі хитозан — табиғи полимер, ол биосәйкестілігімен, биоактивтілігімен, уытсыздығымен және химиялық модификацияға жоғары бейімділігімен ерекшеленеді. Хитозанды модификациялау оның физика-химиялық және биологиялық қасиеттерін жақсартып, медицинада, фармацевтикада және биотехнологияда қолдану аясын кеңейтеді. *Зерттеудің мақсаты* хитозан мен 4-хлорбензальдегид негізінде ароматты Шифф негіздерін синтездеу және олардың құрылымдық әрі функционалдық қасиеттерін зерттеу болып табылады. *Жұмыс әдістемесі.* Синтезделген қосылыстарды сипаттау үшін ИҚ және ЯМР спектроскопия әдістері қолданылды, физика-химиялық қасиеттері термиялық талдау, реологиялық зерттеулер және адгезиялық қасиеттерін бағалау арқылы анықталды. *Нәтижелер және талқылау.* Шифф негіздерінің түзілуі ИҚ және ЯМР спектроскопиясы арқылы расталды. Термиялық талдау сынамалардың әйнектену температурасы мен термотұрақтылығының артқанын көрсетті. Метилцеллюлоза және модификацияланған хитозан негізіндегі гидрогельдер тиксотропиялық қасиеттерге ие болып, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* және *Candida albicans*-қа қарсы айқын антимикробтық белсенділік көрсетті. *Қорытынды.* Зерттеу нәтижелері модификацияланған хитозанның жаңа антимикробтық материалдарды жасау үшін негіз бола алатын перспективті биополимер екенін дәлелдеді, оның медицинада, косметологияда және тамақ өнеркәсібінде қолдану әлеуеті жоғары.

Түйінді сөздер: Шифф негіздері; хитозан; 4-хлорбензальдегид; гидрогельдер; бактерияға қарсы белсенділік; адгезивтік қасиеттер; көптекті дәріге төзімділік.

<i>Мухамедия Диана</i>	<i>Техникалық ғылымдар магистрі, инженер</i>
<i>Махаева Данэля Нурлановна</i>	<i>PhD, аға ғылыми қызметкер</i>
<i>Абдулети Дильхумар</i>	<i>докторант</i>
<i>Абилова Гузель Кабилетовна</i>	<i>PhD, аға оқытушы</i>
<i>Калдыбеков Даулет Болатович</i>	<i>PhD, жетекші ғылыми қызметкер</i>
<i>Ирмухаметова Галия Серикбаевна</i>	<i>х.э.к., профессор</i>

References

1. Bharadwaj, A., Rastogi, A., Pandey, S., Gupta, S., & Sohal, J. S. Multidrug-resistant bacteria: Their mechanism of action and prophylaxis. *BioMed Research International*, **2022**, Article 5419874. DOI:10.1155/2022/5419874
2. Wang, X., Zhang, Y., Zhang, T., et al. A novel triphenylamine-based bis-Schiff bases fluorophores with AIE-activity as the hydrazine fluorescence turn-off probes and cell imaging in live cells. *Talanta*, **2020**, 217, 121029. DOI:10.1016/j.talanta.2020.121029
3. Kumar, M. N. V. R., Muzzarelli, R. A. A., Muzzarelli, C., Sashiwa, H., & Domb, A. J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chemical Reviews*, **2004**, 104(12), 6017–6084. DOI:10.1021/cr030441b
4. Ahmed, T. A., & Aljaeid, B. M. Preparation, characterization, and potential application of chitosan, chitosan derivatives, and chitosan metal nanoparticles in pharmaceutical drug delivery. *Drug Design, Development and Therapy*, **2016**, 10, 483–507. DOI:10.2147/DDDT.S99651
5. Rafique, A., Khan, S. A., Ullah, R., & Bhatti, H. N. Chitosan functionalized poly(vinyl alcohol) for prospects biomedical and industrial applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2016**, 87, 141–154. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2016.02.066
6. Baker, L. B. Physiology of sweat gland function: The roles of sweating and sweat composition in human health. *Temperature*, **2019**, 6(3), 211–259. <https://doi.org/10.1080/23328940.2019.1632145>
7. Szymańska, E., & Winnicka, K. Stability of chitosan—a challenge for pharmaceutical and biomedical applications. *Marine Drugs*, **2015**, 13(4), 1819–1846. DOI:10.3390/md13041819
8. Dhlamini, K. S., Kumar, R., Moutloali, R. M., & Mhlongo, G. H. Reimagining chitosan-based antimicrobial biomaterials to mitigate antibiotic resistance and alleviate antibiotic overuse: A review. *Macromolecular Materials and Engineering*, **2024**, 309(9), 2400018. DOI:10.1002/mame.202400018
9. Mohamed, M. A., Benjamin, I., Okon, G. A., Ahmad, I., Khan, S. A., Patel, H., Agwamba, E. C., & Louis, H. Insights into in-vitro studies and molecular modelling of the antimicrobial efficiency of 4-chlorobenzaldehyde and 4-methoxybenzaldehyde derivatives. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, **2024**, 42(1), 6042–6064. DOI:10.1080/07391102.2023.2258589
10. Fontana, R., Marconi, P. C. R., Caputo, A., & Gavalyan, V. B. Novel chitosan-based Schiff base compounds: Chemical characterization and antimicrobial activity. *Molecules*, **2022**, 27(9), 2740. DOI:10.3390/molecules27092740