

УДК 544.032+544.778

КРИОХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОКОМПОЗИТОВ СЕРЕБРА С ДИОКСИДИНОМ

О.И. Верная*, В.П. Шабатин, А.М. Семенов, Т.И. Шабатина

(кафедра химической кинетики; *e-mail: olga_vernaya@mail.ru)

Проведен криохимический синтез наноконпозитов на основе антибактериального препарата диоксидина и наночастиц серебра. Методами УФ-спектроскопии, РФА, ПЭМ и низкотемпературной адсорбции аргона показано, что полученные гибридные системы представляют собой частицы диоксидина размером 50–300 нм, внутри которых заключены наночастицы серебра размером 2–40 нм. Полученные наноконпозиты оказались более активны к процессам подавления роста *E. coli* 52, *S. aureus* 144 и *M. suanum* 98 по сравнению с исходным диоксидином.

Ключевые слова: наночастицы серебра, диоксидин, криохимический синтез, гибридные материалы, наноконпозиты.

Применение антибиотиков произвело революцию в лечении больных с бактериальными инфекциями. Однако их широкое и не всегда обоснованное применение в медицине и ветеринарии привело к появлению и росту числа штаммов бактерий, ставших устойчивыми к антимикробным лекарственным средствам [1–2]. Последствиями возросшей резистентности микроорганизмов являются увеличение сроков госпитализации, большие затраты на лечение, растущий уровень заболеваемости и смертности. Из-за патогенных микроорганизмов, резистентных к антибиотикам, в Европе ежегодно умирает около 25 000 человек, в США зафиксировано 23 000 смертей в год.

В последние годы появилось большое число публикаций, в которых предлагается решать проблему устойчивости патогенных микроорганизмов к антибиотикам за счет одновременного использования вместе с этими лекарственными препаратами наночастиц металлов, к которым у резистентных штаммов бактерий не вырабатывается устойчивости [3–7]. В этих работах также выявлен синергетический эффект взаимного усиления антибактериальной активности антибиотиков и наночастиц металла. Поэтому представляет интерес создание гибридных препаратов на основе антибиотиков или антибактериальных лекарственных средств с наночастицами металлов, преимущественно наночастицами серебра. Антибактериальный препарат в данных системах может выступать не только как лекарственное средство, но и как стабилизатор наночастиц металла. Одним из таких веществ является диоксидин (2,3-бис-(гидроксиметил)хиноксалин-N,N'-

диоксид) – синтетический антибактериальный препарат из группы производных хиноксалина, который имеет широкий спектр действия, включая активность в отношении анаэробных возбудителей [8–9].

Криохимическая модификация – метод, позволяющий уменьшить размер и изменить структуру частиц лекарственных препаратов в целях повышения их эффективности [10]. Этот метод дает также возможность получать гибридные композиты лекарственных веществ с наночастицами металлов, в том числе серебра и меди.

Цель настоящей работы – криохимический синтез наноконпозитов на основе антибактериального препарата диоксидина и наночастиц серебра, а также определение их антибактериальной активности.

Экспериментальная химическая часть

Субстанцию диоксидина, соответствующую фармакопейной статье (ФС) 42-2308-97, и коллоидное серебро марки КНД-С-К (ТУ 9154-024-74107096-2008) использовали без дополнительной очистки. Для осуществления синтеза наноконпозитов диоксидина с серебром водный раствор диоксидина и коллоидного серебра замораживали и подвергали лиофильной сушке в течение 24 ч.

УФ-спектрометр «SPECORD M 40» («Carl Zeiss», Germany) использовали для получения спектров водных растворов композитов в интервале 200–500 нм. Рентгенофазовый анализ (РФА) образцов проводили на дифрактометре «Rigaku D/MAX-2500» («Rigaku», Япония) на CuK_α -излучении ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$).

Определение удельной поверхности ($S_{уд}$) нанокомпозитов проводили методом тепловой десорбции аргона на установке на базе хроматографа «Хром 5». Предварительно адсорбированные газы удаляли с поверхности образцов на вакуумной установке. Средний размер частиц (d) рассчитывали по формуле $d = 6/\rho S_{уд}$, где ρ – плотность диоксида.

Микрофотографии полученных образцов получали методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на электронном микроскопе «JSM 6380 LA» при увеличении $\times 1000 \dots \times 20000$.

Определение антибактериальной активности исходного диоксида и полученных нанокомпозитов осуществляли диско-диффузионным методом [11] с использованием прессованных таблеток исходного диоксида и криомодифицированного образца. В качестве тест-культур использовали бактерии (беспоровые грамотрицательные и грамположительные), полученные из коллекции культур кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (*E. coli* 52, *S. aureus* 144 и *M. syaneum* 98). Эксперименты проводили в чашках Петри (20 мл агаризованной питательной среды, подсушенной в течение суток, толщина слоя среды 4 мм). Измерение зон подавления роста (ЗПР) тест-культур проводили через 16, 24 и 48 ч инкубации, данные представлены в таблице.

Результаты и их обсуждение

В целях установления химического состава полученные композиты были охарактеризованы ме-

тодами РФА и УФ-спектроскопии. В УФ-спектрах водного раствора образца (0,1 мас.%) присутствуют пики с максимумами при 241, 259 и 376 нм, относящиеся к диоксиду [12]. Кроме того, в области 405 нм имеет место поглощение, вызванное поверхностным плазмонным резонансом наночастиц серебра.

Набор межплоскостных расстояний (d , Å) и соответствующих им значений интенсивности, рассчитанных на основании рентгеновской дифрактограммы полученных композитов (рис. 1), соответствуют набору межплоскостных расстояний и значения интенсивностей нанокристаллитов диоксида [13–14].

d , Å	8,742	8,038	6,936	3,362	3,313
I , %	82,6	75,8	56,3	100,0	70,0

В полученной дифрактограмме не видны пики, относящиеся к серебру, что связано, вероятно, с низким его содержанием в образцах (0,3–1,0%) и уширением полос, вызванным малым размером его частиц.

Для получения информации о размере частиц и морфологии полученного гибридного материала была использована ПЭМ. Полученные микрофотографии, одна из которых приведена на рис. 2, свидетельствуют о том, что композиты представляют собой органические частицы размером 50–300 нм, внутри которых заключены наночастицы серебра размером 2–40 нм.

Данные об удельной поверхности полученных нанокомпозитов подтверждают данные ПЭМ.

Диаметры зон подавления роста *S. aureus* 144, *M. syaneum* 98 и *E. coli* 52 вокруг таблеток исходного диоксида и нанокомпозитов диоксида с серебром (0,3% Ag) через 16–48 ч инкубации

Используемые штаммы бактерий	Время инкубации, ч	Диаметр зон задержки роста вокруг таблеток исходного диоксида, мм	Диаметр ЗПР вокруг таблеток нанокомпозитов диоксида с серебром, мм
<i>E. coli</i> 52	16	34,0±1,0	37,7±0,6
<i>S. aureus</i> 144		33,0±1,0	36,3±0,6
<i>M. syaneum</i> 98		26,3±0,6	37,0±1,0
<i>E. coli</i> 52	24	32,7±1,2	36,7±0,6
<i>S. aureus</i> 144		30,3±0,6	37,0±1,0
<i>M. syaneum</i> 98		26,0±0,6	36,3±0,6
<i>E. coli</i> 52	48	33,3±0,6	36,7±0,6
<i>S. aureus</i> 144		19,7±1,2	24,0±1,0
<i>M. syaneum</i> 98		25,3±1,2	36,3±0,6

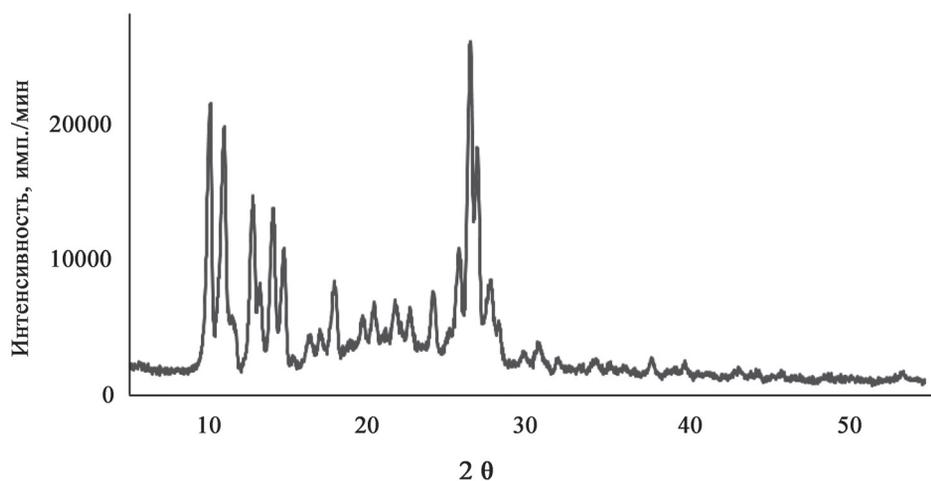


Рис.1. Рентгеновская дифрактограмма нанокompозитов серебра с диоксидином, полученных методом криохимического синтеза

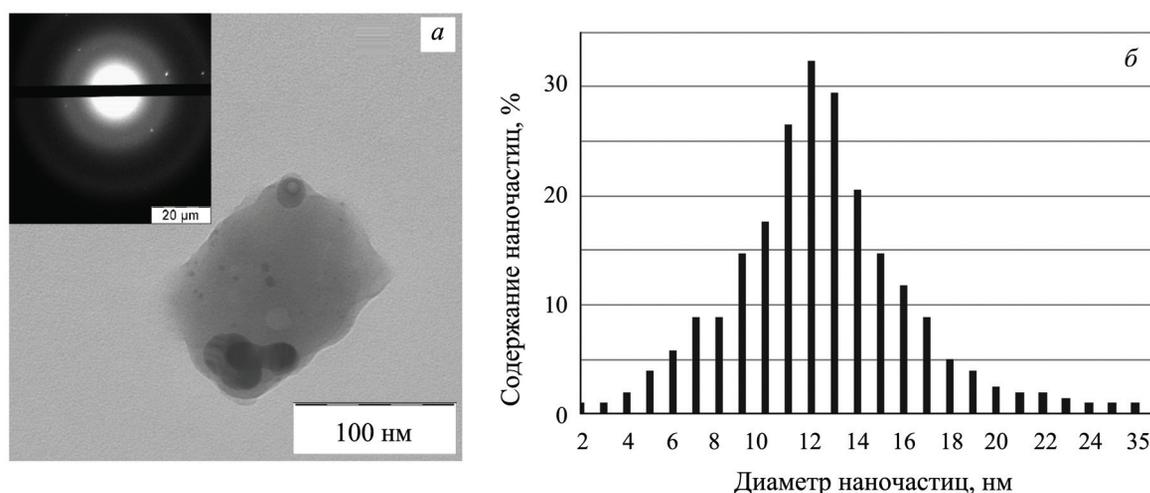


Рис. 2. Микрофотография и электронная дифрактограмма нанокompозитов серебра с диоксидином, полученных методом криохимического синтеза (а); распределение по размерам наночастиц серебра, входящих в состав полученных композитов (б)

Удельная поверхность полученного гибридного материала и рассчитанный на ее основании средний размер его частиц составляют соответственно $31 \text{ м}^2/\text{г}$ и 130 нм .

Нанокompозиты на основе диоксида и серебра проявили активность по отношению к *E. coli* 52, *S. aureus* 144 и *M. syaneum* 98. Размер зон подавления роста вокруг таблеток полученных композитов превышал размер зон задержки роста вокруг таблеток исходного диоксида на 2–11 мм. Наибольшее различие в антибактериальной активности исходного диоксида и полученного гибридного материала наблюдалось по отношению к *M. syaneum* 98. Продолжительность времени инкубации *E. coli* 52 и *M. syaneum* 98 с исходным

диоксидином и полученными композитами не оказывала сильного влияния на размер ЗПР. В случае *S. aureus* 144 как для исходного диоксида, так и для нанокompозитов диоксида с серебром увеличение времени инкубации приводит к сокращению диаметра ЗПР.

Таким образом, в ходе настоящей работы были получены нанокompозиты диоксида с серебром, представляющие собой органические частицы размером 50–300 нм, внутри которых заключены наночастицы серебра размером 2–30 нм. По отношению к *E. coli* 52, *S. aureus* 144 и *M. syaneum* 98 полученные композиты показали более высокую антибактериальную активность, чем исходный диоксидин.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 16-13-10365).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Teuber M. // Curr. Opin. Microbiol. 2001. Vol. 4. N 5. P. 493.
2. Alanis A.J. // Arch. Med. Research. 2005. Vol. 36. N 6. P. 697.
3. Geoprincy G., Saravanan P., Gandhi N.N., Renganathan S. // Digest J. of Nanomat. and Biostructures. 2011. Vol. 6. N 4. P. 1557.
4. Haider Naqvi S. Z., Kiran U., Ali M.I., Jamal A., Ha-meed Ab., Ahmed S. // Int. J. of Nanomedicine 2013. Vol. 8. P. 3187.
5. Gurunathan S. // J. of Ind. and Eng. Chemistry. 2015. Vol. 29. P. 217.
6. Shahverdi A.R., Fakhimi A., Shahverdi H.R., Minaian S. // Nanotechnol. Biol. and Medicine 2007. Vol. 3. P. 168.
7. Fayaz A.M., Balaji K., Girilal M., Yadav R., Ka-laichelvan P.T., Venketesan R. // Nanotechnol. Biol. and Medicine 2010. Vol. 6. P. 103.
8. Падейская Е.Н. // Инфекции и антимикробная терапия. 2001. N 5. P. 150
9. Глушков Р.Г., Дронова Л.Н., Елина А.С. // Хим.-фарм. журн. 1990. Vol. 24. N 1. P. 33.
10. Сергеев Б.М., Михалев С.П., Морозов Ю.Н. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2010. Vol. 51. P. 440.
11. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания / Под. ред. Г.Г. Онищенко. М., 2004.
12. ФС 42-2308-97.
13. Верная О.И., Шабатин В.П., Семенов А.М., Шабатина Т.И. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2016. Vol. 57. P. 315.
14. Шабатин В.П., Верная О.И., Семенов А.М., Шабатина Т.И. Патент RU № 2014114406 от 11 апреля 2014.

Поступила в редакцию 25.05.16

CRYOCHEMICAL SYNTHESIS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF HYBRID COMPOSITION BASED ON Ag NANOPARTICLES AND DIOXIDINE

O.I. Vernaya*, V.P. Shabatin, A.M. Semenov, T.I. Shabatina

(Division of Chemical Kinetics; *e-mail: olga_vernaya@mail.ru)

Hybrid nanocomposites based on dioxidine antimicrobial substance, modified by silver were produced by means of cryochemical synthesis. TEM, UV-absorption spectroscopy, X-ray diffraction, surface analysis based on low temperature argon adsorption showed the formation of hybrid nanosystems consisting of drug substances particles with the size of 50–300 nm including inside small Ag nanoparticles with the size of 2–40 nm. Obtained hybrid nanosystems showed higher antibacterial activity against *E. coli* 52, *S. aureus* 144 and *M. cyaneum* 98 than original drug.

Key words: silver nanoparticles, dioxidine, cryochemical synthesis, hybrid materials, nanocomposites.

Сведения об авторах: Верная Ольга Ивановна – науч. сотр. кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (olga_vernaya@mail.ru); Шабатин Владимир Петрович – ст. науч. сотр. кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (vovapsh@rambler.ru); Семенов Александр Михайлович – вед. науч. сотр. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. биол. наук (amsemenov@list.ru); Шабатина Татьяна Игоревна – зав. лабораторией химии низких температур, вед. науч. сотр. кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, доцент, докт. хим. наук (tatyanashabatina@yandex.ru).