

УДК 546.72 И 615.281.9

## СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ГИБРИДНЫХ СИСТЕМ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

О.И. Верная, А.С. Шумилкин, В.П. Шабатин, Т.И. Шабатина\*, М.Я. Мельников

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, кафедра химической кинетики; \*e-mail: tatyana-shabatina@yandex.ru)

Наночастицы железа и магнетита, имеющие высокий потенциал в медицине в силу своих магнитных свойств, а также антибактериальной и противовирусной активности, в ходе криохимического синтеза включены в гибридные наносистемы с антибактериальными препаратами диоксицином и гентамицина сульфатом. Состав, морфология и антибактериальная активность полученных систем были охарактеризованы методами РФА, ПЭМ, УФ-, ИК-спектроскопии, низкотемпературной адсорбции азота и диско-диффузионным методом.

**Ключевые слова:** наночастицы, железо, магнетит, диоксицин, гентамицина сульфат, антибактериальная активность.

В последние десятилетия наночастицы железа и магнетита благодаря магнитным свойствам находят широкое применение в медицине и биоинженерии. Их используют для идентификации и разделения клеток, белков, олигонуклеотидов и нуклеиновых кислот [1]. Наночастицы магнетита применяют в биоинженерии при конструировании тканей [1].

Магнитно-резонансная томография (МРТ), будучи одной из самых мощных неинвазивных форм визуализации, широко используется в клинической медицине. В состав контрастных агентов для МРТ входят соединения железа [1, 2]. Железо и его оксиды включают в лекарственные формы для лечения анемии, их используют в передовых методах лечения рака, таких как модуляция поляризации макрофагов, гипертермия с магнитной жидкостью. Железо и магнетит включают в активно развивающиеся сейчас системы направленной доставки лекарственных препаратов и антител в качестве векторов для магнитного нацеливания лекарственных веществ в орган-мишень [2].

Согласно публикациям последних лет, наночастицы железа и магнетита помимо магнитных свойств обладают еще антибактериальной [3, 4] и противовирусной активностью [1, 5], что открывает перспективы их включения в системы направленной доставки антибактериальных препаратов не только в качестве вектора, но и в качестве антимикробного агента. Ранее для наночастиц серебра [6, 7] и меди [8, 9], обладающих антибактериальной активностью, было показано, что включение их в наноразмерные лекарствен-

ные формы с антибактериальными препаратами приводит к синергетическому возрастанию антибактериальной активности таких гибридных систем по сравнению с индивидуальными компонентами.

Цель настоящей работы заключалась в получении гибридных наночастиц антибактериальных лекарственных препаратов диоксицидина и гентамицина сульфата с наночастицами железа и магнетита и определении их антибактериальной активности в сравнении с индивидуальными компонентами.

### Экспериментальная часть

Хлориды двух- и трехвалентного железа квалификации «х.ч.», 25%-й раствор аммиака квалификации «ч.д.а.», боргидрид натрия 99%-й чистоты фирмы «Aldrich», субстанции гентамицина сульфата (соответствующие фармакопейной статье ФС 42-2628-00) и диоксицидина (соответствующие фармакопейной статье 42-2308-97) использовали без предварительной очистки. Наночастицы железа и магнетита получали по методикам, описанным в [10, 11]. Для перемешивания растворов использовали орбитальный шейкер «BioSan ES-20» (Латвия) и ультразвуковую ванну «Сапфир» (Россия).

Высокодисперсные порошки антибактериальных препаратов и гибридные наноконкомпозиты диоксицидина и гентамицина сульфата с наночастицами железа (Fe/диоксицин, Fe/гентамицина сульфат) и магнетита (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/диоксицин, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/гентамицина сульфат) получали распылением водного раствора, содержащего антибактериаль-

ный препарат и наночастицы металла или оксида железа (1 мас.% диоксида или гентамицина сульфата, 0,010 мас.% Fe или 0,014 мас.%  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) через пневматическую форсунку в жидкий азот, затем криогранулы помещали в лиофильную сушку «VirTis Wizard 2.0» (США) на 24 ч (интервал температур на конденсаторе  $(-50) - (+55)$  °С; на продукте  $(-196) - (+400)$  °С, остаточное давление в камере  $(6-8) \cdot 10^{-2}$  Торр).

Рентгенофазовый анализ (РФА) порошкообразных образцов проводили на дифрактометре «Rigaku D/MAX-2500» (Япония) на  $\text{CuK}\alpha$ -излучении ( $\lambda = 1,54056$  Å). ИК-спектры образцов снимали в интервале  $4000-400$   $\text{см}^{-1}$  на спектрометре «Bruker Tensor II» (Германия) с приставкой ATR platinum. Регистрацию ИК-спектров порошкообразных образцов осуществляли по методике диффузного отражения. УФ-спектры водных рас-

творов образцов (0,001 мас.%) снимали на спектрофотометре «Jasco V-770» («Jasco», Япония) в диапазоне длин волн 200–500 нм. Микрофотографии образцов частиц коллоидных растворов получали методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на электронном микроскопе «LEO 912 AB Omega» фирмы «Zeiss» (Германия). Удельную поверхность полученных высокодисперсных образцов определяли методом низкотемпературной адсорбции аргона на базе катарометра «Хром 5». Размер частиц оценивали по формуле  $d = 6/\rho S$ , где  $d$  – средний диаметр получаемых частиц,  $\rho$  – плотность лекарственного препарата,  $S$  – удельная поверхность гибридных частиц.

Определение антибактериальной активности образцов осуществляли диффузионным методом с использованием дисков фильтровальной бума-

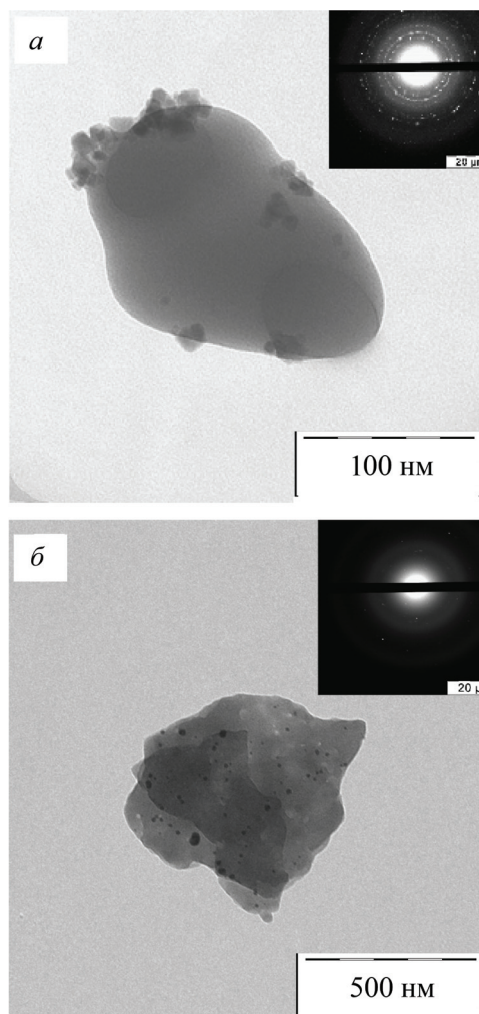


Рис. 1. Микрофотографии ПЭМ и электронные дифрактограммы систем  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ /диоксидин (а) и Fe/гентамицина сульфат (б)

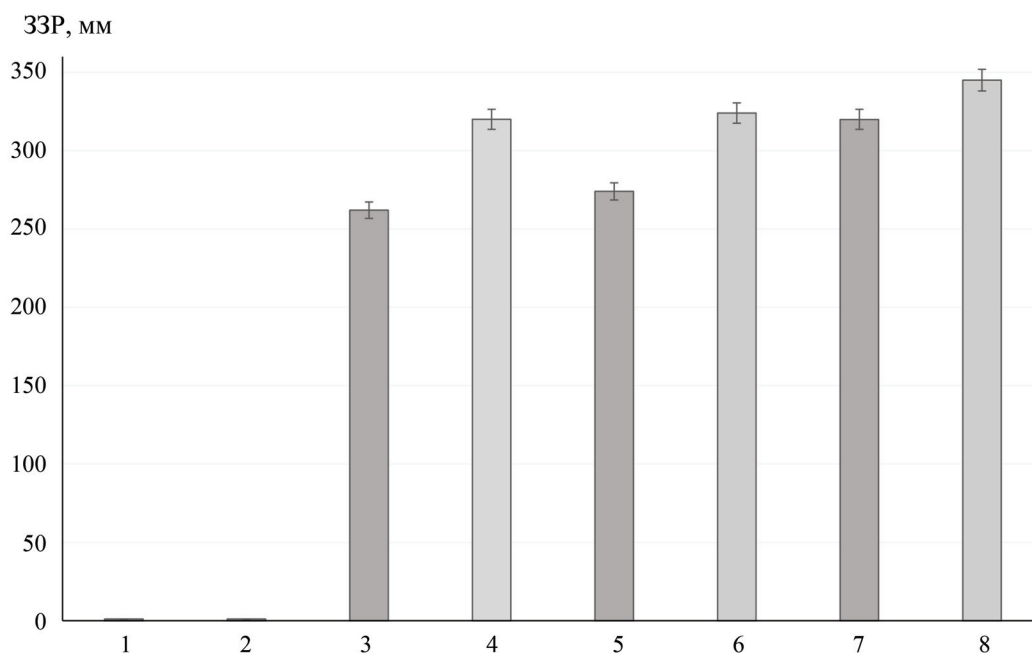


Рис. 2. Зоны ЗЗР (мм) *E. coli* вокруг дисков фильтровальной бумаги, пропитанных растворами систем железа и магнетита (0,3 мас.%) с диоксидином и гентамицина сульфатом и индивидуальными компонентами систем (0,3 мас.% антибактериального препарата, 0,003 мас.% железа, 0,004 мас.% магнетита): 1 – Fe, 2 – Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 3 – диоксидин, 4 – гентамицина сульфат, 5 – Fe/диоксидин, 6 – Fe/гентамицина сульфат, 7 – Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/диоксидин, 8 – Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/гентамицина сульфат

ги диаметром 0,5 см, пропитанных растворами образцов. В качестве тест-культур использовали бактерии *E. coli* 52, полученные из коллекции культур кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Эксперименты проводили в чашках Петри с 20 мл агаризованной питательной среды, подсушенной в течение суток (толщина слоя среды 4 мм). Измерение зон задержки роста (ЗЗР) тест-культур роста проводили через 20 ч инкубации.

### Результаты и их обсуждение

В целях установления химического состава полученных наноконструкций был проведен анализ с помощью методов РФА, ИК- и УФ-спектроскопии. В УФ-спектре растворов композитов Fe/диоксидин и Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/диоксидин присутствует интенсивная полоса поглощения при 250 нм (дублет 241 и 259 нм), относящаяся к переходу  $\pi \rightarrow \pi^*$  электронов атомов углерода ароматической системы, и полоса низкой интенсивности при 375 нм, относящаяся к переходу  $n \rightarrow \pi^*$   $n$ -электронов атома азота. В УФ-спектрах водных растворов систем Fe/гентамицина сульфат и Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/гентамицина сульфат отсутствуют полосы поглощения, но гентамицина сульфат из этих композитов взаимодействует с салициловым аль-

дегидом, при этом образуются салицилиденные производные, поглощающие в видимой области (полоса с максимумом при 403 нм).

Гибридные композиты гентамицина сульфата с железом и магнетитом были рентгеноаморфны, а на рентгеновских дифрактограммах композитов, содержащих диоксидин, присутствовали пики, соответствующие криохимической высокодисперсной  $\beta$ -форме диоксида [12–14]. На рентгенограммах не были видны сигналы, относящиеся к межплоскостным расстояниям наночастиц железа и магнетита ввиду их низкого (менее 1%) содержания в образцах.

ИК-спектры порошков композитов Fe/диоксидин и Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/диоксидин также соответствовали ИК-спектру криомодифицированного диоксида. В спектре полученных образцов полоса колебания хиноксалинового кольца находится при 1510 см<sup>-1</sup>, полосы колебаний C–N бензольного кольца проявляются при 975, 113, 1160 см<sup>-1</sup>, а полоса колебаний C–O–N проявляется при 1288 см<sup>-1</sup>. В случае исходного фармакопейного диоксида полоса колебания хиноксалинового кольца находится при 1506 см<sup>-1</sup>, а полосы колебаний C–N ароматического кольца проявляются пиком при 971 см<sup>-1</sup>, и двумя дублетами при 1117 и 1113, 1152 и 1160 см<sup>-1</sup>, полоса колебаний C–O–N также дублетная при 1280 и 1288 см<sup>-1</sup>.

ИК-спектры композитов на основе гентамицина сульфата соответствовали фармакопейной статье антибактериального препарата. В них присутствовали полосы групп  $\text{NH}_2^+$  и  $\text{NH}_3^+$  при 1520, 1625 и 3280  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{HSO}_4^-$  и C–O при 1059  $\text{cm}^{-1}$  и  $\text{SO}_2$  при 607  $\text{cm}^{-1}$ .

Морфология образцов была установлена по микрофотографиям ПЭМ (рис. 1), согласно которым полученные системы, как и полученные ранее системы наночастиц меди и серебра с антибактериальными препаратами [6–9], представляют собой органические частицы размером от 30 до 500 нм, внутри и на поверхности которых находятся наночастицы железа и магнетита. Размер неорганических частиц определяется используемыми предшественниками и составляет 1–20 нм (средний размер 4 нм) для железа и 2–30 нм (со средним размером 12 нм) для магнетита. Размер частиц композитов на микрофотографиях ПЭМ подтверждается средним размером частиц, оцененным на основании величин их удельной поверхности, которые для полученных систем составляют 118–143 нм (удельная поверхность для полученных систем меняется от 28 до 34  $\text{m}^2/\text{г}$ ).

Для антибактериальной активности полученных систем (рис. 2) и их индивидуальных компонентов в отношении *E. coli* наблюдается снижение активности в ряду  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ /антибактериальный препарат >  $\text{Fe}$ /антибактериальный препарат > антибактериальный препарат

>  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  и  $\text{Fe}$ . Наблюдаемая закономерность в случае диоксида железа проявляется более явно, чем в случае гентамицина сульфата. Антибактериальная активность неорганических наночастиц в концентрациях, соответствующих их концентрациям в гибридных наночастицах композитов, была нулевой. Если разница в антибактериальной активности железосодержащих композитов и антибактериальных препаратов проходит по верхней границе доверительного интервала активности последних, то более высокая антибактериальная активность систем на основе магнетита находится заметно выше доверительных интервалов активности антибактериальных препаратов и железосодержащих систем. Более высокая активность систем на основе магнетита, вероятно, связана с тем, что именно ионы железа ответственны за «дополнительный» антибактериальный эффект полученных систем. С поверхности наночастиц железа выделяется меньше ионов, чем и обусловлена более низкая антибактериальная активность систем на его основе.

Авторы благодарят вед. научного сотрудника кафедры микробиологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова докт. биол. наук А.М. Семенова за помощь в определении активности получаемых антибактериальных систем.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 16-13-10365).

Конфликта интересов нет.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Егунова О.Р., Константинова Т.А., Штыков С.Н. // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2014. Т. 14. № 4. С. 27.
2. Dadfar S.M., Roemhild K., Drude N.I., Stillfried S., Knüchel R., Kiessling F., Lammers T. // Adv. Drug Deliv. Rev. 2019. Vol. 138. P. 302.
3. Groiss S., Selvaraj R., Varadavenkatesan T., Vinayagam R. // J. Molec. Struc. 2017. Vol. 1128. P. 572.
4. Ramteke C., Ketan Sarangi B., Chakrabarti T., Mudliar S., Saipute D. // Current Nanoscience. 2010. Vol. 6. N 6. P. 587.
5. Kumar R., Nayak M., Sahoo G.C., Pandey K., Sarkar M.C., Ansari Y., Topno R.K., Madhukar M., Das P. // J. Infection Chemotherapy. 2019. Vol. 25. N 5. P. 325.
6. Верная О.И., Шабатин В.П., Семенов А.М., Шабатина Т.И. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2016. Т. 57. № 6. P. 388.
7. Шабатина Т.И., Верная О.И., Нуждина А.В., Звукова Н.Д., Семенов А.М., Шабатин В.П., Лозинский В.И., Мельников М.Я. // Российские нанотехнологии. 2018. Т. 13. № 3–4. С. 76.
8. Шабатина Т.И., Верная О.И., Карлова Д.Л., Нуждина А.В., Шабатин В.П., Семенов А.М., Лозинский В.И., Мельников М.Я. // Российские нанотехнологии. 2018. Т. 13. № 9–10. С. 92.
9. Верная О.И., Хватов Д.И., Нуждина А.В., Федоров В.В., Шабатин В.П., Семенов А.М., Шабатина Т.И. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2017. Т. 58. № 5. С. 271.
10. Верная О.И., Шабатин В.П., Шабатина Т.И. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2018. Т. 59. № 5. С. 384.
11. Пейсикова А.В., Верная О.И., Шабатин В.П., Шабатина Т.И. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2019. Т. 60. № 6. С. 430.
12. Верная О.И., Шабатин В.П., Семенов А.М., Шабатина Т.И. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2016. Т. 57. № 5. С. 315.
13. Верная О.И., Шабатин В.П., Шабатина Т.И., Хватов Д.И., Семенов А.М., Юдина Т.П., Данилов В.С. // Журн. физ. химии. 2017. Т. 91. № 2. С. 230.
14. Shabatina T.I., Vernaya O.I., Shabatina V.P., Evseeva J.V., Melnikov M.Ya, Fitch A.N., Chernyshev V.V. // Crystals. 2018. Vol. 8. N 7. P. 298.

Поступила в редакцию 10.06.2019  
Получена после доработки 12.06.2019  
Принята к публикации 14.06.2019

## SYNTHESIS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF HYBRID SYSTEMS OF MAGNETIC NANOPARTICLES WITH ANTIBACTERIAL DRUGS

O.I. Vernaya, A.S. Shumilkin, V.P. Shabatin, T.I. Shabatina\*, M.Ya. Melnikov

*(Moscow State University. M.V. Lomonosov, Faculty of Chemistry, Department of Chemical Kinetics; \*e-mail: tatyashabatina@yandex.ru)*

**Iron and magnetite nanoparticles, which have a high potential in medicine due to their magnetic properties, antibacterial and antiviral activity, were included in hybrid systems with antibacterial drugs dioxidine and gentamicine sulfate by means of cryochemical synthesis. The composition, morphology and antimicrobial activity of the obtained systems were characterized by X-ray diffraction, TEM, UV, IR spectroscopy, disk diffusion method.**

**Key words:** nanoparticles, iron, magnetite, dioxidine, gentamicine sulfate, antibacterial activity.

**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); *Шумилкин Алексей Сергеевич* – студент химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (alexard99@gmail.com), *Шабатин Владимир Петрович* – ст. науч. сотр. кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (vovapsh@rambler.ru); *Шабатина Татьяна Игоревна* – зав. лабораторией химии низких температур, вед. науч. сотр. кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук, доцент (tatyashabatina@yandex.ru); *Мельников Михаил Яковлевич* – зав. кафедрой химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. хим. наук, профессор (melnikov46@mail.ru).