

*СОВРЕМЕННЫЕ НАУЧНЫЕ И
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОРГАНИЧЕСКОЙ
И БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ*

*MODERN SCIENTIFIC AND
TECHNOLOGICAL ASPECTS OF ORGANIC
AND BIOORGANIC CHEMISTRY*

УДК 547.458.87

*Г. П. АЛЕКСАНДРОВА¹, Л. А. ГРИЩЕНКО¹, Т. В. ФАДЕЕВА²,
В. И. ДУБРОВИНА³, Б. Г. СУХОВ¹, Б. А. ТРОФИМОВ¹*

**ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА
НОВЫХ АНТИМИКРОБНЫХ СУБСТАНЦИЙ –
СЕРЕБРОСОДЕРЖАЩИХ НАНОБИОКОМПОЗИТОВ**

¹Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия.
E-mail: alexa@irioch.irk.ru

²Центр реконструктивной и восстановительной хирургии РАН, Иркутск, Россия,

³Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Россия

Аннотация. Получен ряд водорастворимых металлосодержащих нанобиоком-
позитов, включающих наночастицы серебра, стабилизированные природным поли-
сахаридом арабиногалактаном. Структура и свойства нанобиокомпозитов изучены с
использованием современных физико-химических методов. Токсикологические
исследования показали, что полученный серебросодержащий нанобиокомпозит
является нетоксичным. На примере ряда высокоагрессивных резистентных штам-
мов госпитальной инфекции показано, что субстанция является перспективным
универсальным антимикробным препаратом. Установлено, что нанокompозиты яв-
ляются высокоэффективными иммуномодуляторами при сочетанной иммунизации
против такой особо опасной инфекции, как чума. Разработаны научные основы и
технология производства многофункциональных серебросодержащих нанобиоком-
позитов с антимикробными свойствами. Нанокompозиты имеют широкие перспек-
тивы для продвижения на рынок в качестве БАД, альтернативного антисептика и
антибиотика, а также нелинейно-оптического материала.

Ключевые слова: нанобиокомпозиты, арабиногалактан, серебро, антимикроб-
ные свойства, технология.

На сегодняшний день серебро является незаменимым фармацевтическим агентом, применяемым практически во всех областях медицины, фармацевтики, косметологии. Эффективность действия высокодисперсного серебра в сочетании с уникальной способностью не вызывать резистентности у большинства известных представителей патогенной и непатогенной микро-

флоры ставит его в один ряд с самыми современными антибиотиками последнего поколения. Наиболее эффективным считается высокодисперсное серебро, позволяющее достичь снижения терапевтических доз наряду с сохранением высокого уровня антимикробного воздействия. Поддержание долговременной агрегативной устойчивости высокодисперсного серебра возможно за счет применения стабилизаторов, предотвращающих агрегационные процессы. Использование природных полисахаридов в качестве стабилизаторов наночастиц серебра позволяет получать на их основе серебросодержащие биосовместимые наноструктурированные материалы, обладающие антимикробной активностью широкого спектра действия.

Схема получения серебросодержащих нанобиокомпозитов основана на разработанной в лаборатории стратегии и методологии формирования наноразмерных частиц благородных металлов в галактозосодержащих матрицах, путем восстановления прекурсоров металлов в водных растворах в присутствии полисахаридов в качестве наностабилизирующих матриц [1]. Подобные процессы используются для направленного синтеза многофункциональных нанобиокомпозитов с управляемым комплексом биологически активных свойств.

Целью настоящей работы является создание многофункциональных серебросодержащих нанобиокомпозитов на основе арабиногалактана, характеристика их физико-химических и биологически активных свойств, и разработка научных основ технологии производства субстанции.

Нами получен ряд водорастворимых металлосодержащих нанобиокомпозитов, включающих в свой состав наночастицы серебра, стабилизированные природным полисахаридом арабиногалактаном [1, 2]. Были разработаны и оптимизированы параметры синтеза нанобиокомпозитов серебра, сохраняющих физико-химические свойства биогенной матрицы. Экспериментально установлена двойственность функции арабиногалактана, выступающего одновременно в качестве восстановителя и стабилизатора образующихся высокодисперсных частиц серебра.

Идентификация серебра в нуль-валентном состоянии и определение размеров образовавшихся металлических наночастиц выполнены на основании данных рентгенофазового анализа [1]. Межплоскостные расстояния и распределение интенсивностей дифракционных линий образцов хорошо согласуются с дифракционной картиной стандарта серебра. Средние размеры кристаллитов металлической фазы составили 3.8–8.5 нм. Существование нуль-валентных частиц серебра подтверждено также и электронными спектрами полученных наночастиц в водных растворах, которые имеют интенсивный максимум поглощения при длине волны 402–415 нм, обусловленный коллективным возбуждением электронов проводимости серебра (плазмонный резонанс).

Методом трансмиссионной электронной микроскопии для исследуемых нанобиокомпозитов определена форма и размеры металлосодержащего ядра. Полученные наночастицы представлены в виде однородных образований со

средними размерами 6.2–10.5 нм, форма которых имеет регулярный характер и близка к сферической. Распределение частиц по размерам оказалось очень узким [3].

Водный раствор полисахаридов является средой, активно влияющей на размеры формирующихся в результате химической конденсации частиц новой фазы и придающей ей гидрофильные свойства [2]. В подобных системах полисахарид действует как защитная оболочка и соответственно значительно увеличивает общий размер получаемых композитов, средняя величина которых составляет более 120 нм [4]. Молекулярная масса арабиногалактана, стабилизирующего наноразмерные частицы серебра, определенная методом ВЭЖХ, варьируется в интервале 39–58 кДа [5].

Совмещение особенностей наноразмерного состояния серебра с уникальным комплексом мембранотропных, иммуномодуляторных свойств арабиногалактана [2] в рамках одной системы имеет перспективы для многообразных приложений в биологии и медицине - в качестве антимикробных агентов и средств для лечения различных заболеваний. Применение в качестве биосовместимой полимерной оболочки макромолекул арабиногалактана - природного растительного полисахарида с основной галактановой цепью, содержащей моносахаридные остатки галактозы, позволит обеспечить проникновение нанобиокомпозитов через клеточные мембраны организма и направленный транспорт к органам ретикулоэндотелиальной системы. Исследование спектральных свойств полученных производных арабиногалактана свидетельствует, что найденные условия синтеза практически позволяют сохранить матрицу арабиногалактана, а, следовательно, и ее биологическую активность. Арабиногалактановая матрица увеличит биосовместимость наночастиц серебра и служит средством транспортной доставки фармакофорной группировки к органам человека и животных.

Использованная в синтезе полисахаридная матрица арабиногалактана, по данным проведенных ранее исследований, не токсична. Токсикологические исследования показали, что полученный серебросодержащий нанобиокомпозит также является нетоксичным. Установленная средняя смертельная доза (острая токсичность) препарата LD₅₀ составила 11600±4500 мг/кг, следовательно, в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 нанобиокомпозит можно отнести по величине к IV классу малоопасных веществ (относительно безвредных).

На примере высокоагрессивных резистентных штаммов госпитальной инфекции *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* показано, что субстанция является перспективным универсальным антимикробным препаратом. Минимальная бактерицидная концентрация в отношении *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* составляет 1 мкг/мл, для *Candida albicans* - 10 мкг/мл, *Bacillus subtilis* - 50 мкг/мл, и в отношении грамположительных кокков *Staphylococcus aureus* - 100 мкг/мл [3].

Установлено, что нанокompозиты являются высокоэффективными иммуномодуляторами, в частности, при сочетанной иммунизации против такой

особо опасной инфекции, как чума. Исследована возможность применения арктоарабиногалактана для повышения протективных свойств живой чумной вакцины и экстренной профилактики чумы. Показано, что при иммунизации живой чумной вакциной в сочетании с арктоарабиногалактаном продолжительность жизни белых мышей возросла в 2,6 раза, составив 8.8 ± 0.1 дня против 3.4 ± 0.1 у животных контрольной группы ($p \leq 0.05$). Примерно такой же 9.2 ± 0.1 дня была продолжительность жизни и животных первой группы, иммунизированных живой чумной вакциной [6]. Определено, что при бактериологическом анализе обсемененность органов чумным микробом установлена у животных, иммунизированных только ЖЧВ, и у контрольных животных. Следовательно, арктоарабиногалактан способен повышать в известной степени протективную активность живой чумной вакцины при экспериментальной чумной инфекции [6].

Наноструктурированные биокомпозиты серебра могут найти широкое применение в медицине и ветеринарии в качестве высокоэффективных универсальных антимикробных средств. Новые препараты на основе наночастиц серебра, помещенных в мембранотранспортную биополимерную матрицу арабиногалактана, будут иметь целый ряд принципиальных преимуществ перед существующими антисептиками, антибиотиками и противовирусными препаратами. Это универсальный антимикробный препарат широчайшего спектра действия, обладающий выраженной активностью сразу всех вышеперечисленных групп, вследствие чего в принципе устраняется проблема дисбактериоза, присущая использованию антибиотиков, для устранения которой в последнем случае приходится применять одновременно целый ряд далеко небезопасных антибиотиков. При одинаковой антимикробной эффективности токсичность серебросодержащего нанобиокомпозита в десятки – тысячи раз ниже любого из используемых антисептиков, антибиотиков и противовирусных препаратов, что является огромнейшим преимуществом нанобиокомпозита серебра перед перечисленными группами препаратов. Подобные материалы могут широко применяться в медико-биологической науке в качестве растворимых биodeградируемых антимикробных лекарственных средств. Практически значимыми для использования в фармацевтической практике могут быть композиты, содержащие 4 – 12 % наноразмерного металла.

Разработан пакет технической документации для организации производства нанобиокомпозитов: определены нормативные требования к исходному сырью и целевому продукту, созданы технические условия и лабораторный регламент на получение нанобиокомпозитов. Нарботана стандартизованная опытная партия нанобиокомпозита и проведены испытания биологической активности и оптических свойств. В ходе изучения оптических свойств нового серебросодержащего нанобиокомпозита зафиксирован плазменный резонанс гиперполяризуемых наночастиц металлического серебра, что свидетельствует о перспективности использования этого материала в качестве новых нелинейно-оптических сред, в том числе, водорастворимых.

Таким образом, разработаны теоретические основы и технология для организации производства многофункциональных серебросодержащих гибридных нанобиокompозитов на основе природного полисахарида арабиногалактана. Показано, что серебросодержащие биосовместимые наноструктурированные материалы обладают антимикробной и иммуномодуляторной активностью широкого спектра действия, а также могут применяться для создания нелинейно-оптических материалов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-43-04127 р_сибирь_а).

Литература

[1] Сухов Б.Г., Александрова Г.П., Грищенко Л.А., Феоктистова Л.П., Сапожников А.Н., Пройдакова О.А., Тьков А.В., Медведева С.А., Трофимов Б.А. Нанобиокompозиты благородных металлов на основе арабиногалактана: получение и строение // Журн. структ. химии. – 2007. – № 5. – С. 979-984.

[2] Дубровина В.И., Медведева С.А., Витязева С.А., Колесникова О.Б., Александрова Г.П., Гуцол Л.О., Грищенко Л.А., Четверикова Т.Д. Структура и иммуномодулирующее действие арабиногалактана лиственницы сибирской и его металлопроизводных. – Иркутск: Аспринт, 2007. – 145 с.

[3] Александрова Г.П., Грищенко Л.А., Фадеева Т.В., Сухов Б.Г., Трофимов Б.А. Особенности формирования нанобиокompозитов серебра и золота с антимикробной активностью // Нанотехника. – 2010. – Т. 23, № 3. – С. 34-41.

[4] Gasilova E., Khripunov A., Toropova A., Bushin S., Grishchenko L., Aleksandrova G. Light scattering from aqueous solutions of colloid metal nanoparticles stabilized by natural polysaccharide arabinogalactan // J. Phys. Chem. (B). – 2010. – Vol. 114, N 12. – P. 4204- 4212.

[5] Александрова Г.П., Боймирзаев А.С., Лесничая М.В., Сухов Б.Г., Трофимов Б.А. Металлополимерные нанобиокompозиты с галактозосодержащими стабилизирующими матрицами: размерный эффект в изменении молекулярно-массовых характеристик // Журн. общ. химии. – 2015. – Т. 85, вып. 2. – С. 317-326.

[6] Дубровина В.И., Иванова Т.А., Витязева С.А., Александрова Г.П., Грищенко Л.А., Войткова В.В. Применение нанобиокompозитов для повышения резистентности организма при экспериментальной чумной инфекции // В кн.: Современные технологии в реализации глобальной стратегии борьбы с инфекционными болезнями на территории государств-участников СНГ. Мат. IX межгосуд. научно-практ. конф. участников СНГ. – 2008. – С. 70-71.

Summary

*G. P. Aleksandrova, L. A. Grishchenko, T. V. Fadeeva,
V. I. Dubrovina, B. G. Sukhov, B. A. Trofimov*

TECHNOLOGY FOR NEW MULTYFUNCTIONAL ANTIMICROBIAL SILVER CONTAINING NANOBIOCOMPOSITES PRODUCTION

The theoretical basis and the technology for multifunctional silver containing nanobiocomposites production on the basis of natural polysaccharide arabinogalactan have been developed. Nanocomposites have broad prospects for advancement on the market as dietary supplements, alternative antiseptics and antibiotics, as well as the nonlinear optical material.

Key words: nanobiocomposite, arabinogalactan, silver, antimicrobial properties, technology.