

## АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИТОВ С НАНОРАЗМЕРНЫМИ ЧАСТИЦАМИ МЕДИ

Гарасько Е.В.<sup>1\*</sup>, доктор медицинских наук,  
Шиляев Р.Р.<sup>1</sup>, доктор медицинских наук,  
Алексеева О.В.<sup>2</sup>, кандидат химических наук,  
Чуловская С.А.<sup>2</sup>, кандидат химических наук,  
Багровская Н.А.<sup>2</sup>, кандидат химических наук,  
Парфенюк В.И.<sup>2</sup>, доктор химических наук

<sup>1</sup> Кафедра микробиологии и вирусологии ГОУ ВПО «Ивановская государственная медицинская академия Росздрава», 153012, Иваново, Ф. Энгельса, 8

<sup>2</sup> Институт химии растворов РАН, 153045, Иваново, Академическая, 1

**РЕЗЮМЕ** Методом механического диспергирования проведена модификация гидроксиэтилцеллюлозы наноразмерными медьсодержащими порошками, электроосажденными на катоде из водно-органических растворов электролитов. Обнаружено антимикробное действие полученных наноконструкций. Результаты проведенных исследований можно рассматривать как открывающие перспективу для создания материалов медицинского или иного назначения, обладающих антибактериальными свойствами.

**Ключевые слова:** нанотехнологии, металлические наночастицы, антимикробные свойства.

\* Ответственный за переписку (corresponding author): тел.: (4932) 32-73-90

В последние годы в связи с развитием нанотехнологий и супрамолекулярной химии особое внимание уделяется получению полимерных систем, содержащих наночастицы металлов [8, 11]. Такие частицы, обладая значительной реакционной способностью и повышенной склонностью к ионному и атомному обмену, при интеркаливании в полимерные матрицы придают новые свойства полученным наноконструкциям. Стабильность наночастиц в полимерных системах сохраняется в течение длительного времени.

Особый интерес в этом плане представляют наноразмерные порошки меди и ее соединений. На основе медьсодержащих наноконструкций могут быть получены высокоселективные катализаторы [13], а также материалы медицинского назначения: имплантанты, системы для доставки лекарств, антибактериальные покрытия для биомедицинских приборов и противомикробные упаковки [6, 7].

В качестве полимерной матрицы могут быть использованы природные и синтетические макромолекулярные носители. Природные полимеры имеют ес-

тественную систему пор, что позволяет применять их для интеркалирования наночастиц металлов без дополнительных обработок. Используя водорастворимые производные целлюлозы, иммобилизованные наночастицами металлов с бактерицидными свойствами, можно получить медицинские материалы широкого спектра действия [1, 2].

В ультрадисперсной форме частицы металлов приобретают уникальные свойства, из которых наиболее интересными являются их бактерицидность и способность выступать в качестве микроэлементов. Наночастицы металлов электронейтральны, что позволяет им равномерно распределяться в пленкообразователе, обеспечивая надежную защиту от микроорганизмов.

В исследованиях по проблеме нанобезопасности показана меньшая токсичность нанопорошков по сравнению с солями металлов. Так, по показателю ЛД-50 сульфат меди в 7,5 раз токсичнее наноразмерных частиц меди. Это позволяет использовать их в составе премиксов как источник микроэлементов [12].

Garasko E.V., Shilyaev R.R., Alekseeva O.V., Chulovskaya S.A., Bagrovskaya N.A., Parfeniuk V.I.

### ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF POLYMER COMPOSITES WITH COPPER NANOPARTICLES

**ABSTRACT** Hydroxyethylcellulose modification is carried out by mechanical dispersion method with copper powders, electrically fallen out at the cathode from hydro-organic electrolytes' solutions. Antimicrobial action of the obtained nanocomposites is revealed. The results of the accomplished examinations are to be considered as demonstrating perspectives for production materials of medical or other purpose with antibacterial properties.

**Key words:** nanotechnologies, metal nanoparticles, antimicrobial properties.

Нанокомпозитные материалы с иммобилизованными частицами металлов, обладая антимикробным действием, во многом лишены недостатков, связанных с проблемой резистентности микроорганизмов [2, 18]. Вместе с тем, нельзя не учитывать проблему возникновения парадоксальных эффектов при воздействии сверхмалых количеств вещества. Так, например, выявлена возможность аккумуляции ионов металлов и не только развития металлорезистентности, но и синтеза микроорганизмами наночастиц металлов [9]. Установлена стимуляция развития микроорганизмов порфиринами и их металлокомплексами: водорастворимые порфирины с объемными мезозаместителями в два раза увеличивали скорость роста культур *Staphylococcus albus* и *Escherichia coli* [3].

Целью настоящей работы является исследование антибактериальной активности и физико-химических свойств медьсодержащих нанокомпозитов на основе гидроксипропилцеллюлозы (ГОЭЦ).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Наноразмерные медьсодержащие порошки получали методом электрохимического катодного восстановления из водно-изопропанольных растворов электролитов [14, 15, 16, 17]. Процесс электролиза проводили в электрохимической ячейке с оксиднорутениево-титановыми анодами и стальным цилиндрическим катодным стержнем. Стекланную часть электролизера перед каждым экспериментом промывали дистиллированной водой, затем раствором электролита. Подготовку поверхности катода производили с помощью мелкозернистой абразивной бумаги, обезжиривания и тщательной промывки. Для приготовления электролитов использовали реактивы квалификации «ХЧ». Синтезированный осадок многократно промывали дистиллированной водой до постоянного значения электропроводности в маточном остатке и высушивали до порошкообразного состояния. Формирование рыхлых губчатых осадков на катоде для всех составов электролитов проходило на предельной плотности тока в потенциостатическом режиме.

Интеркалирование наночастиц меди в полимерную матрицу ГОЭЦ проводилось механическим диспергированием, основанным на смешении частиц дисперсной фазы с дисперсионной средой полимера.

Перемешиванием на магнитной мешалке со скоростью 180 об/мин готовили 3% водный раствор ГОЭЦ. Содержание наноразмерного медьсодержащего порошка составило 0,035% от массы полимера. Пленку отливали на стеклянной подложке и высушивали до полного испарения растворителя. Модифицированная пленка (толщиной около 70 мкм) была прозрачной с красноватым оттенком.

Размер наночастиц в порошках и в полимерных композитах определяли по микрофотографиям, полученным на просвечивающем электронном микроскопе ЭМВ-100 Л в режиме высокого разрешения.

Рентгенофазовый анализ исходной и модифицированной пленок проводили на приборе ДРОН-3М и компьютерной записью дифрактограммы. Качественный состав определяли путем сопоставления межплоскостных расстояний дифрактограмм со справочными данными [10].

Антибактериальное действие исходных и модифицированных пленок изучали на грамположительных прокариотах (фирмикутных бактериях) рода *Staphylococcus* [4, 5]. В качестве тест-микроба использовали типовой вид рода *Staphylococcus* – *Staphylococcus aureus* – ассоциированный с кожными покровами и слизистыми оболочками и способный вызывать оппортунистические инфекции.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Размерность наночастиц в порошках и в полимерных композитах определяли по микрофотографиям (рис. 1). Из микроснимков видно, что частицы имеют округлую форму и не агрегированы.

На основе подсчета частиц построены гистограммы распределения медьсодержащих частиц по размерам (рис. 2).

Основную часть (около 85%) от общей массы частиц порошка составляют частицы с размерами от 20 до 100 нм. Меньшая часть (12%) приходится на более крупные образования, размером 200–500 нм. Агрегаты с размерами более 500 нм (около 3%) образованы в результате слипания мелких частиц.

Нанокомпозит также в основном состоит из частиц с размерами 20–100 нм. Имеется небольшое количество крупных ассоциатов размером порядка 500–1000 нм (не более 5%). Характер распределения наночастиц в порошке и в полимерной матрице имеет небольшие различия (рис. 1, 2). Возможно, наблюдаемое увеличение содержания частиц с размерами 40–60 нм в полимерной матрице по сравнению с исходным порошком и уменьшение количества частиц с размерами 80–100 нм обусловлено интенсивным перемешиванием порошка при получении композита.

Общий вид рентгенограмм исходной пленки ГОЭЦ (образец 1) и пленки ГОЭЦ, модифицированной медьсодержащим наноразмерным порошком (образец 2), представлены на рис. 3.

В области углов  $2\theta \approx 20$  град на рентгенограммах наблюдаются интенсивные рефлексы, соответствующие исходному и модифицированному образцам ГОЭЦ. Кроме того, присутствие рефлексов

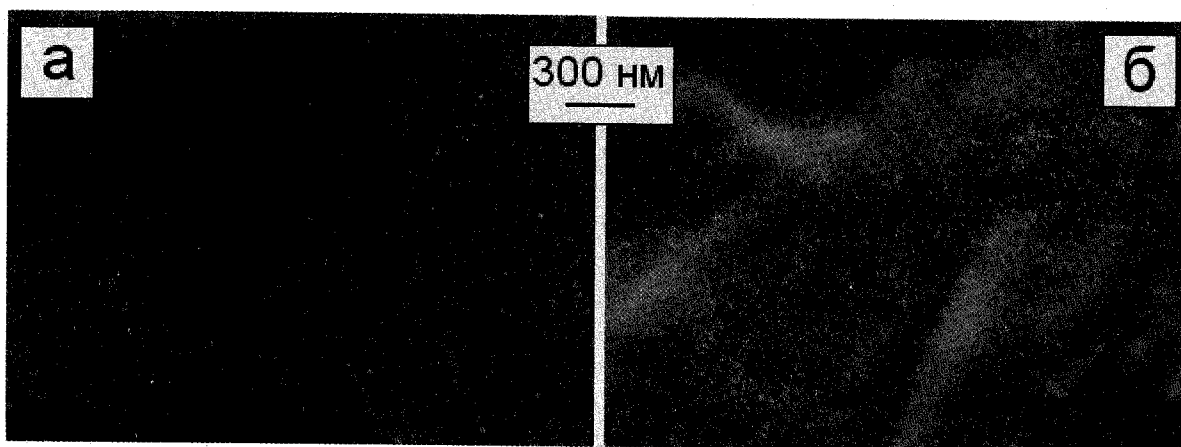


Рис. 1. Микроэлектронные фотографии: а – медьсодержащий порошок; б – модифицированная пленка ГОЭЦ

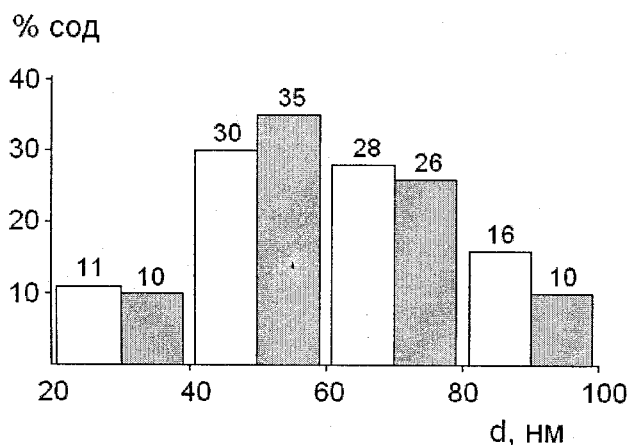


Рис. 2. Распределение по размерам наноразмерных медьсодержащих частиц в порошке и в полимерном нанокompозите

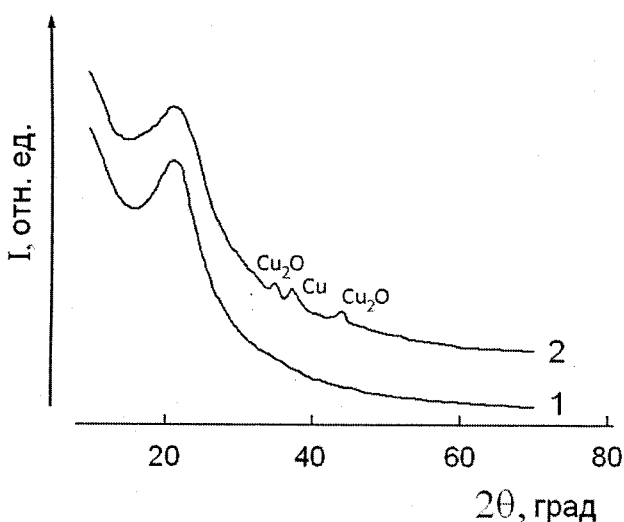


Рис. 3. Рентгенограммы образцов 1 и 2

меди ( $2\theta \approx 37$  град) и закиси меди ( $2\theta \approx 35$  и  $44$  град) на кривой 2 свидетельствует о внедрении наноразмерных медьсодержащих частиц в структуру полимера.

Результаты исследования биоактивности образцов 1 и 2 показали, что исходная пленка ГОЭЦ и полимерный нанокompозит ведут себя по-разному.

Как представлено на рисунке 4, контрольный образец (к) и образец 1 не проявляют антимикробной активности в отношении тест-культуры стафилококка. Образец 2 имеет выраженную биоактивность.

Результаты микробиологических исследований биоактивности исследуемых материалов на плотной питательной среде согласуются с результатами оценки биоактивности в жидкой питательной среде с последующим высевом (табл., рис. 5, 6).

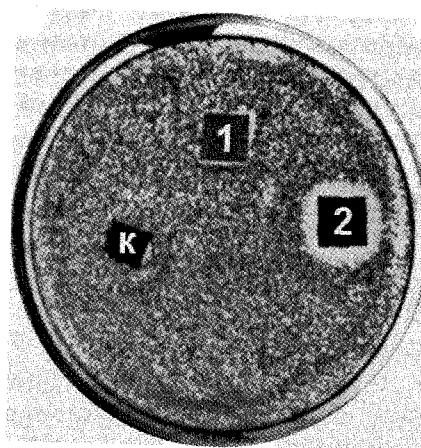


Рис. 4. Снимки образцов 1 и 2 и контрольного образца (к) после воздействия на бактериальный газон со штаммами *Staphylococcus* на плотной питательной среде

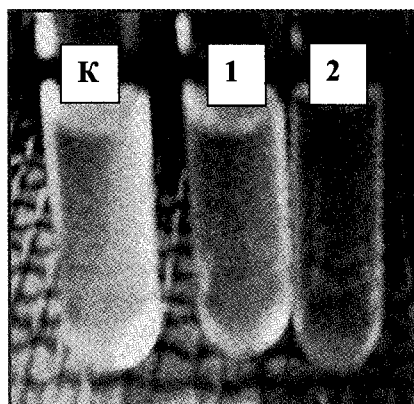


Рис. 5. Воздействие образцов (1, 2) и контрольного образца на штаммы *Staphylococcus* в жидкой питательной среде

Влияние исходной пленки ГОЭЦ, а также пленки ГОЭЦ, модифицированной медьсодержащим наноразмерным порошком, и контрольного образца на выживаемость *Staphylococcus aureus* в жидкой питательной среде представлены в таблице.

Таблица. Изменение коэффициента пропускания жидкой питательной среды при испытании исследуемых образцов

Показатели	Образцы		
	1	2	к*
Коэффициент пропускания, %	75	96	72
КОЕ/мл	1000>	0	1000>

Примечание: к\* – высев из контрольной пробирки, содержащей посевную дозу 1000 и более микробных клеток в 1 мл (без исследуемого образца)

Как видно из представленных данных, полимерный металлокомпозит (образец 2) в жидкой питательной среде проявил высокую биоактивность и вызвал подавление роста тест-культуры. Коэффициент пропускания в пробирках с данным образцом был максимальным, а отсутствие роста при высеве из жидкой питательной среды подтверждает биоактивность модифицированной медь-

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева О.В., Багровская Н.А., Гарасько Е.В., Быкова В.В., Усольцева Н.В. Биоактивные системы на основе модифицированного триацетата целлюлозы // Жидкие кристаллы и их практическое использование. – 2008. – Вып. 1. – С. 32–37.
2. Алексеева О.В., Чуловская С.А., Багровская Н.А., Гарасько Е.В., Парфенюк В.И. Физико-химические и антимикробные свойства пленочных нанокомпозитов на

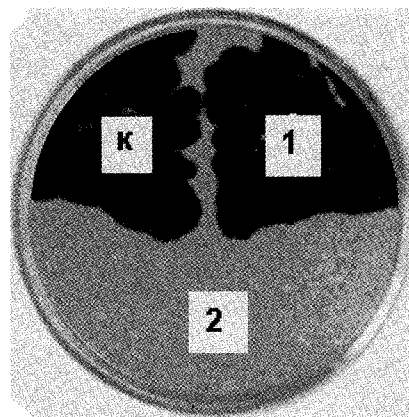


Рис. 6. Демонстрация воздействия образцов (1, 2) и контрольного образца (к) на штаммы *Staphylococcus* после высева из жидкой питательной среды

содержащим наноразмерным порошком пленки ГОЭЦ (рис. 5, 6).

Таким образом, в проведенном исследовании показано, что использование полимерных металлосодержащих нанокомпозитов обеспечивает полную гибель тест-микробов. Одним из возможных механизмов воздействия металлов является их аккумуляция в клетках и специфическое взаимодействие с внутриклеточными белками и полисахаридами клеточной стенки [18].

## ВЫВОДЫ

1. Методом электрохимического катодного восстановления из водно-изопропанольных растворов электролитов получены наноразмерные медьсодержащие порошки.
2. Проведена иммобилизация медьсодержащих частиц в полимерную матрицу ГОЭЦ и изучено распределение частиц по размерам в медьсодержащем порошке и в полимерной матрице.
3. Показано, что полученные нанокомпозиты проявляют высокую антимикробную активность по отношению к стафилококку.
4. Результаты исследований можно рассматривать как путь для создания новых материалов медицинского назначения, обладающих антибактериальными свойствами.

основе гидрокицеллюлозы // Жидкие кристаллы и их практическое использование. – 2007. – Вып. 4. – С. 84–90.

3. Баландцева Е.В., Екимова М.С. Стимуляция развития микроорганизмов порфиринами и их металлокомплексами // Материалы Пятого съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова / под ред. Р.Г. Василовой. – М.: ИАЦ, 2008. – С. 264–265.

4. Вольф Л.А., Меос А.И. Волокна специального назначения. – М.: Химия, 1971. – 223 с.
5. Гарасько Е.В. Антимикробные свойства специальной ткани // Журн. микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии. – 1973. – № 8. – С. 54–56.
6. Гарасько Е.В., Тесакова М.В., Чуловская С.А., Парфенюк В.И. Применение наноразмерных медьсодержащих порошков в качестве эффективных биоцидных препаратов // Изв. вузов. Химия и хим. технология. – 2008. – Т. 51. – С. 116–119.
7. Гарасько Е.В., Шилияев Р.Р., Чуловская С.А., Парфенюк В.И. Применение наноразмерных частиц серебра в медицине // Вестн. Ивановской медицинской академии. – 2008. – № 3–4. – С. 30–34.
8. Котельникова Н.Е., Лысенко Е.Л., Серимаа Р. и др. Исследование матрицы целлюлозы в качестве нанореактора для получения наночастиц никеля и его оксидов с применением восстановителя дигидрохлорида гидразина // Журн. прикладной химии. – 2006. – Т. 79. – С. 1924–1928.
9. Литвинова Н.Г. Аккумуляция ионов металлов в клетках микроорганизмов // Нанобиотехнологии: проблемы и перспективы: сб. тез. Всероссийской школы-семинара для студентов, аспирантов и молодых ученых. – Белгород: Политера, 2008. – С. 88–90.
10. Миркин Л.И. Справочник по рентгеноструктурному анализу поликристаллов. – М.: Физматиздат, 1961. – 863 с.
11. Помогайло А.Д., Розенберг А.С., Уфлянд И.Е. Наночастицы металлов в полимерах. – М.: Химия, 2000. – 672 с.
12. Райкова А.П., Паничкин Л.А., Райкова Н.Н. Нанопорошки металлов для экологически безопасного сельского хозяйства // Международный форум по нанотехнологиям: сб. тез. докл. – М.: Роснанотех, 2008. – Т. 1. – С. 511–512.
13. Тесакова М.В., Парфенюк В.И., Ильин А.А. Физико-химические и каталитические свойства ультрадисперсных (наноразмерных) медьсодержащих порошков, полученных электрохимическим методом // Изв. вузов. Химия и хим. технология. – 2008. – Т. 10. – С. 22–26.
14. Чуловская С.А., Балмасов А.В., Лилин С.А., Парфенюк В.И. Электрохимическое получение ультрадисперсных медьсодержащих частиц из водно-органических растворов электролитов // Защита металлов. – 2006. – Т. 42. – С. 430–433.
15. Чуловская С.А., Лилин С.А., Парфенюк В.И., Гиричев Г.В. Физико-химические свойства ультрадисперсных медьсодержащих порошков, полученных методом катодного восстановления // Журн. физ. химии. – 2006. – Т. 80. – С. 332–335.
16. Чуловская С.А., Парфенюк В.И. Влияние изопропилового спирта на процесс катодного осаждения ультрадисперсных медьсодержащих порошков из растворов электролитов // Журн. прикладной химии. – 2007. – Т. 80. – С. 952–955.
17. Чуловская С.А., Парфенюк В.И. Влияние состава электролитного раствора на процесс электрохимического синтеза наноразмерных медьсодержащих порошков // Электронная обработка материалов. – 2008. – Т. 249. – С. 58–63.
18. Mandal D., Bolander M.E., Sarkar G., Mukhopadhyay D., Mukherjee P. The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2006. – Vol. 69. – P. 485–492.

Поступила 27.05.2009 г.