

БАКТЕРИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА ВОЛОКНИСТОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ПОЛИГИДРОКСИБУТИРАТА И МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ ПОРФИРИНОВ

А. В. Лобанов^{1,2}, А. А. Ольхов^{1,2,3}, А. А. Попов^{2,3}*

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия, *e-mail: avlobanov@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова», Москва, Россия

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия

Поступила в редакцию 02.10.2018 г.

Аннотация – Разработан нетканый волокнистый материал на основе поли-(3-гидроксibuтирата) и комплексов железа(III) и марганца(III) с тетрафенилпорфирином. Обнаружено влияние металлокомплексов на структуру полимерного волокна. Тестирование новых материалов на основе полимера с 1% металлокомплексов в отношении *S. aureus* p 209 (золотистый стафилококк), *S. typhimurium* (сальмонелла) и *E. coli* 1257 (кишечная палочка) продемонстрировало их бактерицидные свойства.

Ключевые слова: поли-(3-гидроксibuтират), волокнистые материалы, металлокомплексы порфиринов, бактерицидные свойства.

BACTERICIDAL PROPERTIES OF FIBROUS MATERIAL BASED ON POLYHYDROXYBUTYRATE AND METAL PORPHYRIN COMPLEXES

A. V. Lobanov^{1,2}, A. A. Ol'khov^{1,2,3}, and A. A. Popov^{2,3}*

¹Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia,
*e-mail: avlobanov@mail.ru

²Plekhanov Russian Economical University, Moscow, Russia

³Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Received October 02, 2018

Abstract – A nonwoven fibrous material based on poly(3-hydroxybutyrate) and complexes of iron (III) and manganese (III) with tetraphenylporphyrin was developed. The effect of metal complexes on the structure of the polymer fiber was revealed. The bioassay results of testing the new polymer-based compositions containing 1% of metal porphyrin complexes, in respect of *S. aureus* 209 P, *S. typhimurium* and *E. coli* 1257 demonstrated their bactericidal activity.

Keywords: poly(3-hydroxybutyrate), fibrous materials, metal complexes of porphyrins, bactericidal properties.

ВВЕДЕНИЕ

Получение супрамолекулярных комплексов, в том числе полимерных модификаций биологически активных соединений ряда порфиринов является активно развивающимся научным направлением [1-4]. Комплексы железа и марганца с порфиринами являются гомогенными катализаторами автоокисления ряда биогенных веществ. В этом процессе происходит промежуточное образование активных форм кислорода - супероксидного анион-радикала, пероксидного и гидроксильного радикалов, пероксида водорода, цитостатическая активность которых хорошо известна. Эти радикальные и ион-радикальные частицы вызывают окислительные деструктивные реакции в клетках, обуславливая бактерицидный эффект [5-7]. Наиболее перспективными носителями для функциональных низкомолекулярных веществ (частиц) являются полимерные волокна наноразмерного диапазона. Одним из передовых методов получения таких волокон является электростатическое формование или электроформование полимерного раствора (ЭФ). К основным преимуществам ЭФ относятся сравнительно низкая стоимость аппаратуры и простота инструментального оснащения, вариабельность условий получения волокон, а также многообразие различных типов волокон и изделий на их основе [8]. Использование ряда природных полимеров, например, полиоксибутирата или полимолочной кислоты, создает дополнительные преимущества при разработке волоконных и матричных систем для экологических задач и создания бактерицидных материалов. Они биосовместимы и одновременно проявляют свойства контролируемой биодеструкции без образования токсичных продуктов [9, 10].

В настоящей работе получен новый материал на основе волокон поли-(3-гидроксибутирата) (ПГБ) и комплексов железа(III) и марганца(III) с тетрафенилпорфирином (FeClTPP и MnClTPP), структурные формулы которых показаны на рисунке 1.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для получения волокон использовали природный биоразлагаемый полимер ПГБ серии 16F, полученный методом микробиологического синтеза компанией BIOMER® (Германия). Средневязкостная молекулярная масса ПГБ составляла $2,06 \cdot 10^5$, степень кристалличности ~59%.

Ультратонкие ПГБ волокна с добавлением 1, 3 и 5% (масс.) FeClTPP и MnClTPP (относительно содержания ПГБ в растворе) получали методом ЭФ раствора в хлороформе с помощью однокапиллярной установки ЭФВ-1 (Россия) при напряжении 11 кВ, расстоянии между электродами 15 см и концентрации полимера в формовочном растворе 7% при динамической вязкости раствора 0,9 Па·с и расходе формовочного раствора $(10-12) \cdot 10^{-5}$ г/с. Морфологию волокнистых материалов исследовали методом электронной микроскопии с использованием сканирующего электронного микроскопа Hitachi TM-1000 (Япония).

Биологические исследования материалов проводили по следующей методике. В качестве тест-культур были использованы *S. aureus* p 209

(золотистый стафилококк), *S. typhimurium* (сальмонелла), *E. coli* 1257(кишечная палочка). Контролем служили образцы необработанного волокнистого материала. Культуры тест-микроорганизмов пересекали на мясо-пептонный агар и инкубировали в течение 17-18 ч при 37°C. Затем готовили в физиологическом растворе суспензию каждого микроорганизма и устанавливали концентрацию микробных клеток по стандарту мутности 10^4 м.к./мл. В стерильные чашки Петри помещали образцы волокнистого материала (контрольные и опытные) размером 10×10 см². По поверхности ткани распределяли 1 мл суспензии тест-культуры и выдерживали при комнатной температуре в течение 30 мин. После этого в чашку наливали 9 мл стерильного физиологического раствора и выдерживали в течение 10-15 мин для элюирования тест-культуры с волокнистого материала. По истечении экспозиции материал из чашек в количестве 100 мкл высевали на поверхность мясо-пептонного агара, разлитого предварительно в чашки Петри. Посевы инкубировали в течение 14-48 ч при 37°C. Параллельно производили посев используемых в опыте суспензий тест-культур для контроля концентрации жизнеспособных микроорганизмов. Затем производили подсчет выросших на поверхности агара колоний жизнеспособных микроорганизмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В зависимости от характеристик формовочного раствора и технологических параметров электроформования можно получать волокна с различным диаметром, плотностью и различной геометрической формой [8, 10]. На рисунке 2 показаны микрофотографии исходного нетканого волокнистого материала на основе ПГБ и с добавлением 1% FeClТФП и MnClТФП. Как видно из этих микрофотографий, для исходного ПГБ наблюдается значительное число веретеноподобных утолщений, наиболее частой причиной возникновения которых является нарушение стационарного режима истечения полимерного раствора (биения, пульсации и т.п.) из-за недостаточной электропроводности формовочного раствора, либо его неоптимальной вязкости [8].

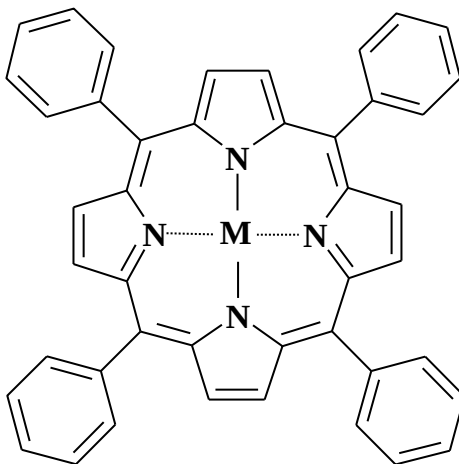


Рис. 1. Комплекс тетрафенилпорфирина с железом(III) ($M = FeCl$) и марганцем(III) ($M = MnCl$).

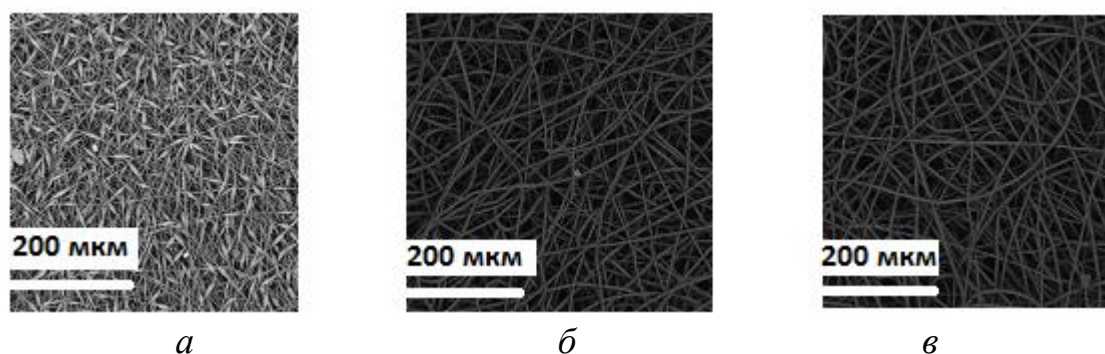


Рис. 2. Микрофотография волокнистого материала на основе ПГБ (а), ПГБ с 1% FeClТФП, и ПГБ с 1% MnClТФП (б).

Как видно из рисунка 2а, для единичного волокна наблюдается последовательность цилиндрических волокон с диаметром (1-3 мкм) и веретеноподобных элементов, имеющих максимальный диаметр ~10 мкм и протяженность 20-30 мкм. При добавлении в формовочный раствор 1% FeClТФП и MnClТФП средний диаметр цилиндрических элементов таких волокон незначительно увеличивается на 2-4 мкм, но веретеноподобные структуры практически полностью исчезают. Наблюдаются лишь единичные локальные утолщения на волокне. Подобный эффект связан, вероятнее всего, с увеличением электропроводности формовочного раствора ПГБ в присутствии молекул металлокомплексов порфирина. Дальнейшее увеличение концентрации FeClТФП и MnClТФП в формовочном растворе приводит к полному исчезновению утолщений на волокнах. Таким образом, металлокомплексы тетрафенилпорфирина одновременно со своими биоцидными свойствами являются и технологической добавкой, увеличивающей электропроводность формовочного раствора ПГБ в хлороформе.

Оценка эффективности антибактериального действия нетканых волокнистых материалов на основе металлокомплексов (1%) и ПГБ проводилась на клетках золотистого стафилококка, кишечной палочки и сальмонеллы. Эти микроорганизмы отобраны не случайно. Стафилококк распространен повсюду и часто входит в состав нормальной микрофлоры человека, обычно колонизирует носовые ходы, брюшную полость и подмышечные участки. При повреждениях кожи и слизистых оболочек стафилококки проникают в глубь организма и способны поражать практически любые ткани и органы. Кишечная палочка – представитель нормальной микрофлоры кишечника человека, однако некоторые ее варианты способны в определенных условиях вызывать многочисленные заболевания. Дрожжеподобные грибы вида *S. typhimurium* – одноклеточные микроорганизмы овальной или круглой формы широко распространены в окружающей среде. Некоторые из них обитают на кожных покровах и слизистых оболочках

человека, формируя вместе с бактериями нормальные биоценозы. Однако при определенных неблагоприятных условиях они могут вызвать у человека клинически выраженные заболевания.

Результаты биологических испытаний образцов волокнистых материалов ПГБ с FeClTФП и MnClTФП приведены в таблице. Из данных, приведенных в таблице, видно, что в эксперименте на волокнистом материале, импрегнированном металлокомплексами, количество жизнеспособных микробных клеток после экспозиции 30 мин снизилось для золотистого стафилококка вдвое, кишечной палочки – не менее, чем в 90 раз, для сальмонеллы – в 6 раз.

Мы полагаем, что антибактериальные свойства металлокомплексов в волокнистой матрице ПГБ связаны в первую очередь с их воздействием на клеточные стенки микроорганизмов, путем изменения заряда бактериальной клетки. Как следствие, металлокомплексы способны подавлять функцию адгезии и колонизации болезнетворных микроорганизмов. По-видимому, комплексы FeClTФП и MnClTФП в составе микрофибриллярных матриц ПГБ способны нарушать ионный баланс живой клетки.

Таблица. Влияние металлокомплексов порфирина на жизнеспособность культур микроорганизмов на волокнистом материале ПГБ

Наименование тест-культуры	Количество жизнеспособных микроорганизмов (КОЕ/мл)		
	исходная тест- культура	опытный образец	контрольный образец
железо(III)порфирин			
<i>S. aureus</i> p 209	$2,0 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^3$
<i>E. coli</i> 1257	$1,6 \cdot 10^4$	менее $1 \cdot 10^2$	$9,0 \cdot 10^3$
<i>S. typhimurium</i>	$2,2 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^3$	$6,0 \cdot 10^3$
марганец(III)порфирин			
<i>S. aureus</i> p 209	$2,0 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^3$	$4,2 \cdot 10^3$
<i>E. coli</i> 1257	$1,8 \cdot 10^4$	менее $1 \cdot 10^2$	$9,0 \cdot 10^3$
<i>S. typhimurium</i>	$2,2 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^3$	$6,5 \cdot 10^3$

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования импрегнированных железо(III)-порфирином нетканых материалов в санитарно-гигиенических целях и при лечении различных ран и ожогов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в работе получен новый материал на основе волокон поли-(3-гидроксипропириата) и комплексов железа(III) и марганца(III) с тетрафенилпорфирином. Биологические испытания нетканых материалов на основе ПГБ с 1% FeClTФП и MnClTФП показали, что волокна активны в отношении бактериальных тест-культур. Это подтверждает целесообразность создания на основе полимеров и металлокомплексов порфиринов средств

дезинфекции в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФАНО России (тема 0082–2018–0006, регистрационный номер № АААА-А18-118020890097-1)

ACKNOWLEDGEMENT

This work was performed in accordance with Government Task No. 0082-2018-0006, “Nanochemistry”, Government Registration No. АААА-А18-118020890097-1.

Список литературы:

1. Бессчетнова И.А., Чудинов А.В., Калюжный Д.Н., Щелкина А.К., Борисова О.Ф., Токалов С.В., Кузнецова В.Е., Лобанов А.В., Румянцев В.Д., Барский В.Е., Мирзабеков А.Д. // Биофизика. 2002. Т. 47. № 2. С. 259.
2. Лобанов А.В., Холуйская С.Н., Комиссаров Г.Г. // ДАН. 2004. Т. 399. № 1. С. 71.
3. Сультимова Н.Б., Левин П.П., Лобанов А.В., Музафаров А.М. // Химия высоких энергий. 2013. Т. 47. № 3. С. 186.
4. Лобанов А.В., Громова Г.А., Горбунова Ю.Г., Цивадзе А.Ю. // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2014. Т. 50. № 5. С. 465.
5. Лобанов А.В., Рубцова Н.А., Веденеева Ю.А., Комиссаров Г.Г. // ДАН. 2008. Т. 421. № 6. С. 773.
6. Lobanov A.V., Golubeva E.N., Mel'nikov M.Ya. // Mendeleev Communications. 2010. V. 20. No. 6. P. 343.
7. Лобанов А.В., Голубева Е.Н., Зубанова Е. М., Мельников М.Я. // Химия высоких энергий. 2009. Т. 43. № 5. С. 438.
8. Филатов Ю.Н. Электроформование волокнистых материалов (ЭФВ-процесс). М.: Нефть и газ, 1997. 298 с.
9. Unverdorben M., Spielberger A., Schywalsky M., Labahn D., Hartwig S., Schneider M., Looz D., Behrend D., Schmitz K., Degenhardt R., Schaldach M., Vallbracht C. // Cardiovasc. Intervent. Radiol. 2002. V. 25. No. 2. P. 127.
10. Карпова С.Г., Ольхов А.А., Иорданский А.Л., Ломакин С.М., Шилкина Н.С., Попов А.А., Гумаргалиева К.З., Берлин А.А. // Высокомолекулярные соединения. Сер. А. 2016. Т. 58. № 1. С. 61.

References:

1. Besschetnova I.A., Chudinov A.V., Kaluzhny D.N. et al. // Biofizika [Biophysics]. 2002. V. 47. No 2. P. 259 [in Russian].
2. Lobanov A.V., Kholuiskaya S.N., Komissarov G.G. // Doklady Physical Chemistry. 2004. V. 399. No 1-3. P. 266.
3. Sul'timova N.B., Levin P.P., Lobanov A.V. et al. // High Energy Chemistry. 2013. V. 47. No 3. P. 98.
4. Lobanov A.V., Gromova G.A., Gorbunova Y.G. et al. // Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces. 2014. V. 50. No 5. P. 570.
5. Lobanov A.V., Rubtsova N.A., Vedeneeva Yu.A. et al. // Doklady Chemistry. 2008. V. 421. No. 2. P. 190.
6. Lobanov A.V., Golubeva E.N., Mel'nikov M.Ya. // Mendeleev Communications. 2010. V. 20. No. 6. P. 343.
7. Lobanov A.V., Golubeva E.N., Zubanova E.M. et al. // High Energy Chemistry. 2009. V. 43. No 5. P. 384.

8. *Filatov Yu.N.* Electroforming of fibrous materials (EPI-process). М.: Нефть и газ, 1997. 298 p. [in Russian].
9. *Unverdorben M., Spielberger A., Schywalsky M., Labahn D., Hartwig S., Schneider M., Lootz D., Behrend D., Schmitz K., Degenhardt R., Schaldach M., Vallbracht C.* // Cardiovasc. Intervent. Radiol. 2002. V. 25. No. 2. P. 127.
10. *Karpova S.G., Ol'khov A.A., Iordanskii A.L. et al.* // Polymer Science - Series A. 2016. V. 58. No 1. P. 76.