DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557

НАУКА, НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И ИННОВАЦИИ КЫРГЫЗСТАНА, № 4, 2020

*Сырымбекова Э., Сатиев М., Кудайбергенова Д., Сулайманкулова С.К.*

# МЕТАЛЛ НАНОБӨЛҮКЧӨЛӨРҮНҮН БАКТЕРИЦИДДИК АКТИВДҮҮЛҮГҮ

*Сырымбекова Э., Сатиев М., Кудайбергенова Д., Сулайманкулова С.К.*

# БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ НАНОЧАСТИЦ

*E. Syrymbekova, M. Satiev, D. Kudaibergenova, S.K. Sulaimankulova*

# BACTERICIDAL ACTIVITY OF METAL NANOPARTICLES

*УДК: 57.083.332. 621*

*Бул изилдөө суюктукта пайда болгон импульстуу плазмада Sb, In жана Ag массивдерин чачуу жолу менен алынган сурьма, индий жана күмүш нанобөлүкчөлөрүнүн эритмелеринин бактерициддик активдүүлүгү боюнча изилдөөлөрдү көрсөтөт. Кыргыз Республикасынын Улуттук Илимдер Академиясынын Химия жана Фитотехнология Институтунун нанотехнология лабораториясында синтезделген нанобөлүкчөлөрдүн артыкчылыгы 2,5-5 нмден ашпаган өлчөмүндө болот, мунун эсебинен бөлүкчөлөрдүн конкреттүү бети коллоиддик нанобөлүкчөлөрдүн sol-gel технологиясы жана лазердик абляциянын жардамы менен синтезделген нанобөлүкчөлөрдүн салыштырмалуу конкреттүү бетинен бир нече эсе жогору. Кадимки коллоидалык күмүш нанобөлүкчөлөрүнүн өлчөмү 25 нм, ал эми нанотехнология лабораториясында алынган 5 нм ден ылдый, ошондуктан аларды колдонуу, алдын-ала алынган маалыматтар боюнча, түзүлүп жаткан препараттардагы негизги заттын концентрациясынын 30 эсе төмөндөшүнө мүмкүндүк берет, ошондой эле оң бактерициддик таасири менен. Күмүш нанобөлүкчөлөрдүн бактерициддик активдүүлүгүнүн эң күчтүү экендиги көрсөтүлгөн. Индий анобөлүкчөлөрүнүн бактерициддик активтилүгү күмүш нанобөлүкчөлөрүнө салыштырганда, кыйла начар. Diplococcus septicus үчүн сурьманын минималдуу ингибитордук концентрациясы 0,0014 масс.%, bifidumbacteria үчүн индийдин концентрациясы 0,002 масс.%, күмүштүкү-0.00001 масс.%.*

***Негизги сөздөр:*** *нанобөлүкчөлөр, наноэритме, индий, сурьма, күмүш, импульстук плазма, бактерициддик активдүүлүк.*

*В этом исследовании показаны исследования по бактерицидной активности растворов наночастиц сурьмы, индия и серебра, полученных диспергированием массивных Sb, In и Ag в импульсной плазме, создаваемой в жидкостях. Преимущество наночастиц, синтезированых в лаборатории нанотехнологии Института химии и фитотехнологий НАН КР - размеры, не превышающие 2,5 - 5 нм, благодаря чему - удельная поверхность частиц в разы превышающая удельную поверхность коллоидных наночастиц и наночастиц, синтезированных с использованием лазерной абляции, УФ-облучения, золь-гель технологии. Типичные коллоидные наночастицы серебра имеют размеры 25 нм, а отечественные (полученные в лаборатории нанотехнологии) - менее 5 нм, то их применение, по предварительным данным, позволяет в 30 раз снизить концентрацию в создаваемых препаратах основного вещества при том же положительном эффекте бактерицидности. Показано, что наночастицы серебра обладают мощнейшей бактерицидной активностью. Наночастицы индия показывают более слабую бактерицидную активность, но сравнимую с таковой для наночастиц сурьмы. Минимальная ингибирующая концентрация сурьмы для Diplococcussepticus – 0,0014 масс. %, индия для бифидумбактерий – 0,002 масс. %, серебра для бифдум бактерий -0,00001 масс. %.*

***Ключевые слова:*** *наночастицы, нанораствор, индий, сурьма, серебро, импульсная плазма, бактерицидная активность.*

*This study shows studies on the bactericidal activity of solutions of antimony, indium and silver nanoparticles obtained by dispersing massive Sb, In and Ag in pulsed plasma created in liquids. The advantage of nanoparticles synthesized in the laboratory of nanotechnology of the Institute of Chemistry and Phytotechnology of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic is the size not exceeding 2.5-5 nm, due to which the specific surface of the particles is several times higher than the specific surface of colloidal nanoparticles and nanoparticles synthesized using laser ablation, UV irradiation, sol-gel technology. Typical colloidal silver nanoparticles have a size of 25 nm, and domestic ones (obtained in a nanotechnology laboratory) are less than 5 nm, then their use, according to preliminary data, makes it possible to reduce the concentration of the main substance in the created preparations by 30 times with the same positive bactericidal effect. It has been shown that silver nanoparticles have the most powerful bactericidal activity.*

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557



*Indium nanoparticles show a weaker bactericidal activity, but comparable to that for antimony nanoparticles. The minimum inhibitory concentration of antimony for Diplococcussepticus is 0.0014 wt%, and for bifidumbacteria, indium is 0.002 wt%. %, silver for bifum bacteria -0.00001 mass. %.*

***Key words:*** *nanoparticles, nanosolution, indium, antimony, silver, pulsed plasma, bactericidal activity.*

**Введение.** Размеры наночастиц расположены в пределах от 100 до 1 нанометра. Следует отметить, что физическая и химическая активность частиц кардинально изменяется в диапазоне от 10 до 1 нм, т.к. действие поверхностных сил, проникает вглубь на пять-шесть атомных слоев вещества. При размерах от 10 до 1 нм эти силы действуют на все атомы частицы, что и объясняет кардинальное изменение ее свойств в сравнении с массивными телами (металлами) [1]. Под биологической активностью наночастиц ученые в первую очередь подразумевают антибактериальное, антивирусное действие.

Именно с размерным эффектом связана антивирусная активность наночастиц, например, серебра. Мигуэль Якаман, руководитель института нанотехнологий при Техасском университете с партнерами продемонстрировал действие наночастиц серебра на ингибирование вируса иммунодефицита человека [2]. Наночастицы серебра претерпевают зависящие от размера взаимодействия с ВИЧ-1 только в диапазоне 1–10 нм. Наночастицы серебра взаимодействуют с вирусом ВИЧ-1 посредством преимущественного связывания с серосодержащими выступами гликопротеина gp120 на поверхности ВИЧ-1, т.е. они весьма привлекательны для наночастиц Ag. Благодаря этому взаимодействию наночастицы серебра препятствуют связыванию вируса с клетками-хозяевами, что продемонстрировано in vitro. Вероятно, такое «сродство» к вирусам и бактериям свойственно и другим металлическим наночастицам в указанном диапазоне размеров.

Наночастицы (НЧ) меди при введении в организм стимулируют механизмы регуляции микроэлементного состава и активность антиоксидантных ферментов [3-6]. Показатели антимикробной активности еще одного оригинального нанокомпозита – висмутсодержащей субстанции, полученной на основе наночастиц Bi, оказались достоверно выше по сравнению с результатами изучения препарата Де-Нол. Антимикробные свойства оригинальной висмутсодержащей субстанции в отношении S. aureus были усилены путем ее комбинирования с экстрактами коры крушины и корневища аира [7].

Литературный поиск, проделанный автором [8] показал, что микроэлементы вступают во взаимодействие с субклеточными системами, начиная с мембран и заканчивая микросомами. Соединения индия были выбраны Мокрушиной М.А. как малоизученные с химической и, особенно, фармакологической точки зрения. По химическим свойствам, по мнению данного исследователя, соединения индия могут проявлять высокую фармакологическую и биологическую активность. Соединения индия стимулируют рост волос, влияют на водный и углеводный обмен, обладают иммуносупрессорной, антиканцерогенной активностью и гипотензивным действием. По литературным сведениям, известно, что иммуносупрессорное действие индия может быть использовано при лечении воспалительных заболеваний суставов: артритов, артрозов. Имеющиеся в литературе сведения показывают, что соединения индия представляют интерес для фармакологов как перспективные объекты для дальнейших исследований. В медицинской практике официально не используются лекарственные препараты, содержащие индий (кроме радиофармацевтических средств). Это объясняется прежде всего отсутствием хорошо разработанных и доступных методов получения соединений индия, пригодных для фармацевтических целей, методики анализа и стандартизации. [8]. Вероятно, бактерицидные и гипотензивные свойства наночастиц индия еще более интересны, как основа для медицинских препаратов, благодаря размерному эффекту наноструктур. До настоящего времени нам не удалось найти исследования, посвященные бактерицидной активности наночастиц индия.

**Исследования сотрудников лаборатории нанотехнологии.** В лаборатории нанотехнологии Института химии и фитотехнологии Национальной Академии наук Кыргызской Республики с 1980 года накоплен опыт получения металлических наночастиц с использованием энергии импульсной плазмы, создаваемой в жидкостях [9-13].

Совместно с центром реконструкционно-восстановительной хирургии при министерстве здравохранения Кыргызской Республики сотрудниками лаборатории нанотехнологии проводятся испытания бактерицидной активности наноструктур серебра и золота при лечении гнойных, полостных ран и диабетической стопы [14-16]. Преимущество серебряных наночастиц, синтезированых в лаборатории нанотехнологии Института химии и фитотехнологий НАН КР - размеры, не превышающие 2,5-5 нм, благодаря чему - удельная поверхность частиц в разы превышающая удельную поверхность коллоидных наночастиц и наночастиц, синтезированных с использованием

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557



лазерной абляции, УФ-облучения, золь-гель технологии. Поскольку типичные коллоидные наночастицы серебра имеют размеры 25 нм, а отечественные (полученные в лаборатории нанотехнологии) - менее 5 нм, то их применение, по предварительным данным, позволило в 30 раз снизить концентрацию в создаваемых препаратах основного вещества при том же положительном эффекте бактерицидности [14]. Проведено экспериментальное обоснование возможности применения нанопрепаратов с наночастицами серебра и золота для ускорения регенераторного процесса при применении лимфотропных технологий в хирургии ран [15]. В следущем исследовании [16] показана эффективность применения инновационной антибактериальной композиции перекиси водорода с наносеребром в комплексе с лимфостимуляцией хитозаном при лечении флегмон стопы в целях сохранения конечности. Работа основана на анализе результатов лечения 46 больных с гнойно-некротическими флегмонами стопы, находившихся на лечении в Научном центре реконструктивно-восстановительной хирургии МЗ КР и Чуйской областной объединенной больнице. Все больные, разделенные на 2 группы (контрольная (n=22) – традиционное лечение; основная (n=24) – дополнительное применение бактерицидно-лимфотропного коктейля), были сопоставимы по характеру поражения мягких тканей, полу и возрасту. Очищение ран от раневого детрита в основной группе наступало через 5 суток, тогда как при традиционном лечении – только через 9 дней. Появление грануляций в основной группе происходило в 1,8 раза быстрее, нормализация лейкоцитарного индекса интоксикации – в 2,5 раза раньше. Динамика уровня молекул средней массы свидетельствовала о том, что лимфостимуляция ускоряет процесс детоксикации интерстиция региона пораженной конечности в 3 раза. Применение предложенного модифицированного способа при лечении флегмон стопы с использованием бактерицидно-лимфостимулирующих технологий ускоряет регенерацию региона и создает условия для сохранения конечности.

Для использования наноструктур из ИПЖ в медицине, фармации было необходимо в первую очередь изучить их бактерицидные свойства. Ранее была изучена чувствительность нанораствора висмута в отношении Diplococcussepticus и Бифидобактерий. Ингибирующая способность нанораствора висмута в отношении этих возбудителей – $10^{-3}$ масс. % Bi [17].

В настоящей статье мы представляем результаты взаимодействия нанорастворов индия, сурьмы и серебра с Diplococcussepticus и бифидумбактериями.

Наночастицы индия, сурьмы и серебра были синтезированы диспергированием указанных массивных металлов в ИПЖ в дистиллированной воде [9-13], затем переведены в раствор по методике, изложенной в описании патента КР [18].

Целью наших исследований было определение антибактериальной активности нанорастворов висмута, индия и серебра в отношении Diplococcussepticus и бифидумбактерий.

Определение антибактериальной активности проводили серийным разведением в жидкой питательной среде согласно методическим указанием «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» МУК 4.2.1890-04.

Взвеси бактерий готовили из суточной культуры, выращенной при 37°С на мясопептонном агаре в чашках, затем клеточную массу снимали с поверхности агара, помещали в стерильную пробирку, постепенно добавляя 0,85% физиологического раствора до густоты рабочих взвесей 5 ЕД по стандарту мутности Мак-Фарланда. Количество вносимой рабочей взвеси в каждую пробирку ряда составляло 0,1 мл.

В качестве тест-культуры были использованы микроорганизмы, выделенные из слюны больного теленка и айрана – Diplococcussepticus и бифидумбактерии.

В начале готовили ряд серийных разведений нанораствора, а затем вносили по 1 мл каждого разведения в пробирку. При титровании в жидких средах в ряд пробирок наливали питательную среду в определенном объёме (1мл). В первую пробирку вносили определенное количество нанораствора, затем определенный объём смеси из первой пробирки перенесли во вторую, перемешивали, то же количество смеси из второй в третью и т.д. Из последней пробирки, содержащий нанораствор, такой же объём смеси вылили, чтобы во всех пробирках объём жидкости был одинаков.

Титрование выполняли методом последовательных двухкратных разведений, начиная максимальной концентрации 100 мкг/ мл.

Две пробирки, не содержащие нанораствора, являлись контрольными. После этого во все пробирки, содержащие серийные разведенные нанорастворы, и в одну контрольную пробирку вносили одинаковое количество взвеси тест-культуры. Вторая контрольная пробирка содержала лишь питательную среду. Штатив с пробирками ставили в термостат при температуре 37°С на 24 часа.

Минимальной бактериостатической концентрацией исследуемого препарата считали разведение в

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557



последней пробирке, где визуально отсутствовал рост микроорганизма.

Для определения бактериостатического действие нанорастворов на микроорганизмбрали в стерильные чашки Петри диаметром 10 см наливают по 20 мл расплавленного питательного агара. Для получения равномерного бактериального газона на поверхность агара в чашку наливают 1 мл двухмиллиардной взвеси испытуемой культуры. Жидкость равномерно распределяют по поверхности чашки. Избыток жидкости отсасывают пастеровской пипеткой и подсушивают агар в термостате или на рабочем столе при закрытой чашке.

На поверхность засеянного агара на расстоянии 2 см от края чашки и на равном расстоянии один от другого капали пипеткой 0,1 мл нанораствора. На дне чашки подписывают название раствора. Чашки выдерживают при комнатной температуре в течение 1 час, после чего помещают в термостат на 16-18 час. Для учета результатов определяют диаметр зоны задержки роста микроба вокруг дисков, пользуясь миллиметровой линейкой (рис. 1).

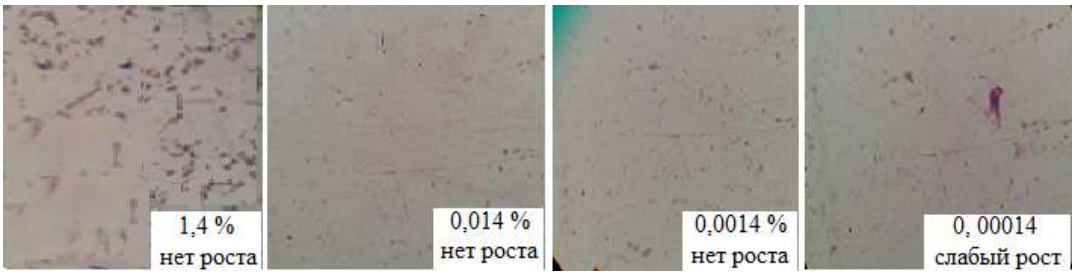
**Рис. 1.** Агар-агар с наночастицами.

Отсутствие задержки роста микробов указывает на резистентность исследуемого микроба к данному-раствору. Зоны, диаметр которых не превышает 15 мм, свидетельствуют о слабой чувствительности, зоны от 15 до 25 мм встречаются у чувствительных микробов. Высокочувствительные микробы характеризуются зонами с диаметром более 25 мм.

*Таблица 1*

**Результаты взаимодействия нанораствора сурьмы с Diplococcussepticus**.

| № п/п | Концентрация нанораствора сурьмы масс. % | Рост Diplococcussepticus |
|---|---|---|
| 1. | 1, 4 | нет |
| 2. | 0, 14 | нет |
| 4. | 0, 014 | нет |
| 5. | 0, 0014 | нет |
| 6. | 0, 00014 | слабый рост |
| 7. | 0,000014 | есть рост |




Наночастицы сурьмы показали достаточно сильную бактерицидную активность по отношению к Diplococcussepticus. При содержании $1{,}4 \cdot 10^{-4}$ масс. % по металлическому индию только начинается рост и размножение Diplococcussepticus.

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557



*Таблица 2*

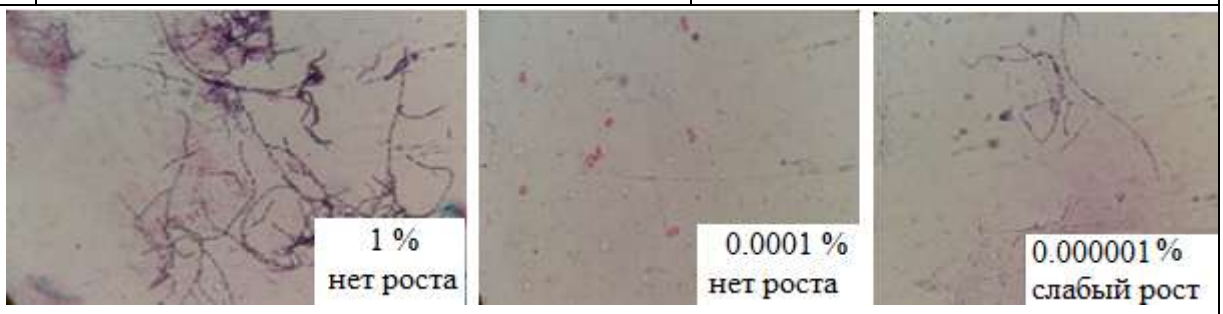
**Результаты взаимодействия нанораствора индия с бифидумбактериями**

| № п/п | Концентрация нанораствора индия масс. % | Рост бифидумбактерии |
|---|---|---|
| 1. | 2 | нет |
| 2. | 0,2 | нет |
| 4. | 0, 02 | нет |
| 5. | 0, 002 | нет |
| 6. | 0, 0002 | слабый рост |
| 7. | 0,00002 | интенсивный рост |

*Таблица 3*

**Результаты взаимодействия нанораствора серебра с бифидумбактериями**

| № п/п | Концентрация нанораствора серебра масс. % | Рост бифидумбактерии |
|---|---|---|
| 1. | 1 | нет |
| 2. | 0,1 | нет |
| 4. | 0, 01 | нет |
| 5. | 0, 001 | нет |
| 6. | 0, 0001 | нет |
| 7. | 0,00001 | Слабый рост |




Следующие два эксперимента были проведены с использованием нанорастворов индия и серебра и бифидумбактерий. Видно, что наночастицы серебра обладают мощнейшей бактерицидной активностью. Наночастицы индия показывают более слабую бактерицидную активность, но сравнимую с таковой для наночастиц сурьмы.

Минимальная ингибирующая концентрация сурьмы для Diplococcussepticus - 0,0014 масс.%, индия для бифидумбактерий – 0,002 масс. %, серебра для бифидумбактерий - 0,00001 масс. %.

**Литература:**

1. Российская газета - Сибирь № 0(4534) https://rg.ru/ 2007 /12/04/reg-sibir/nano.html
2. Jose Luis Elechiguerra, Justin L. Burt, Jose R. Morones, Alejandra Camacho Bragado, Xiaoxia Gao, Humberto H. Lara and Miguel Jose Yacaman. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. // Journal of Nanobiotechnology, 2005. - 3:6 doi:10.1186/1477-3155-3-6.
3. Копач О.В., Кузовкова А.А., Азизбекян С.Г., Решетников В.Н. Использование наночастиц микроэлементов в биотехнологии лекарственных растений: воздействие наночастиц меди на клеточные культуры Silybum Marianum L. // Труды БГУ. 2013. Т. 8. № 2. С. 20.
4. Рахметова А.А., Алексеева Т.П., Богословская О.А. и др. Ранозаживляющие свойства наночастиц меди в зависимости от их физико-химических характеристик. // Российские нанотехнологии. 2010.- Т.5. - № 3-4. - С. 102.
5. Богословская О.А., Рахметова А.А., Овсянникова М.Н. и др. Особенность антимикробного действия наночастиц меди разной дисперсности и фазового состава // Российские нанотехнологии. - 2014.- Т. 9.- №1-2. - С. 93.

DOI:10.26104/NNTIK.2019.45.557




6. Рахметова А.А., Богословская О.А., Ольховская И.П. и др. Совместное действие наночастиц органической и неорганической природы на примере наночастиц хитозана и меди в составе мази на процесс ранозаживления и бактериальные клетки // Российские нанотехнологии. - 2015. - Т. 10. - №1-2. - С. 119.
7. Бурова Л. Г., Юхин Ю.М., Герлинская Л.А., Евстропов А.Н. Исследование антибактериальных свойств висмутсодержащих субстанций на основе наночастиц. // Журнал Медицина и образование в Сибири. 14.00.00 медицинские науки (14.03.00 Медико-биологические науки), 2015. - №3.
8. Мокрушина М.А. Получение и изучение комплексных соединений индия (III) с аминокислотами и возможности их использования в фармации. /Автореферат канд. дисс. - Пятигорск, 2008. – 24 с.
9. Кудайбергенова Д.С. Наноструктурирование редкого и рассеянного индия. // «Молодой учёный». 2016. - №19 (123). - С.36.
10. Kudaibergenova D.S., Sulaimankulova S.K. Indium Nanoparticles by pulsed plasma. // Молодой ученый, 2016. - №10 (114). - С. 378-381.
11. Маткасымова А.А., Маметова А.С., Сатиев М.О., Сулайманкулова С.К. Наночастицы сурьмы мз импульсной плазмы в ДМСО и ДМФА. // Известия НАН КР, 2011. - №4. - С. 162-165.
12. Сатиев М.О. Sb/Sb2O3 композитные наночастицы, синтезированные в многоатомных спиртах. // Известия вузов, №5, 2014. - С. 82-85.
13. Сырымбекова Э.И. Влияние углеводородов на формирование наноструктурных частиц висмута. // Известия КГТУ им. И.Раззакова, 2014. - №32-1. - С. 223-228.
14. Габитов В.Х., Омурбек уулу У., Сулайманкулова С.К. Способ ускорения регенерации хирургических ран комплексом перекиси водорода с наносеребром и хитозаном. // Евразийский Союз Ученых (ЕСУ), 2019. - №7(64) - С.32-34.
15. Габитов В.Х., Акрамов Э.Х., Сулайманкулова С.К., Сатаев Ч.Б. Возможности применения наночастиц серебра и золота для ускорения регенераторного процесса с использованием лимфотропных технологий в хирургии ран. // Медико-физиологические проблемы экологии человека: Материалы VII Всероссийской конференции с международным участием (19-22 сентября 2018 г.). - Ульяновск: УлГУ, 2018. - С. 72-74.
16. Акрамов Э.Х., Бейсембаев А.А., Габитов В.Х., Сулайманкулова С.К., Омурбек уулу У., Халмурзин А.А. Модифицированный способ лечения гнойно-некротических флегмон стопы. // Ульяновский медико-биологический журнал. № 2, 2020. - С. 80-89.
17. Сырымбекова Е.И., Сатиев М.О., Сулайманкулова С.К., Темирова Ж.Н., Маметова А.С. Чувствительность нанораствора висмута в отношении Diplococcussepticus и Бифидобактерий. // Modern Science, 2017. - №10. - С. 22-25.
18. Сулайманкулова С.К., Маметова А.С., Гаффарова Х.И., Юлдашев И.М. Способ получения нанорастворов. / Патент КР, 2017. - №1502. - 7 с.