

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ ОЛИГОСАХАРИДОМ КЛАТРАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЛУПИНИНА И ЕГО АЦЕТИЛЬНОГО ПРОИЗВОДНОГО

Фазылов С.Д., Институт органического синтеза и углехимии Республики Казахстан, Караганда, Казахстан

Нурмаганбетов Ж.С., Институт органического синтеза и углехимии Республики Казахстан, Караганда, Казахстан

Нуркенов О.А., Институт органического синтеза и углехимии Республики Казахстан, Караганда, Казахстан

Мендибаева А.Ж., Институт органического синтеза и углехимии Республики Казахстан, Караганда, Казахстан

Сейдахметова Р.Б., Карагандинский медицинский университет, Караганда, Казахстан

Свидерский А.К., Жезказганский университет им. О.А.Байконурова, Жезказган, Казахстан

Сыздыков А., Институт органического синтеза и углехимии Республики Казахстан, Караганда, Казахстан

Мулдахметов З.М., Институт органического синтеза и углехимии Республики Казахстан, Караганда, Казахстан

Развитие нанотехнологий позволило получать наноматериалы, обладающие уникальными свойствами в биомедицинских областях благодаря своим интересным биологическим свойствам. Наноконструктивные материалы, содержащие наночастицы серебра, обладают бактерицидными и противогрибковыми свойствами и используются в медицине в качестве эффективных антибактериальных и противовирусных средств. Серебросодержащие лечебные препараты широко применялись в медицине задолго до появления эры антибиотиков. Применение ляписа (примерно с XVII века, "адский камень") было основано на его антисептическом и прижигающем действии. В настоящее время препараты серебра продолжает использоваться в медицине для снижения инфекций при лечении ожогов, предотвращения колонизации бактерий на катетерах и уничтожения микроорганизмов на текстильных тканях, а также для дезинфекции при обработке воды. В данной работе нами представлены результаты исследования функционализированных наночастицами серебра (Ag) композиций 2-гидрокси- β -циклодекстрина (2g β -CD), а также ее наполнение биоактивными компонентами – молекулами лупинина (Lup) и его ацетилпроизводного (Lac), обладающих также бактерицидными свойствами.

Лупинин (Lup) - простой представитель большой группы хинолизидиновых алкалоидов, содержащихся в растениях родов *Lupinus* и *Anabasis* [1,2]. По своему фармакологическому действию лупинин и его производные обладают бактерицидным, седативным действием и противовоспалительными, антивирусными свойствами [3]. Возможности модификации структуры молекулы лупинина позволяют синтезировать новые соединения и изучать их биологические свойства. Сложные эфиры лупинина являются наиболее изученными из его известных производных. Например, ряд виниловых эфиров лупинина проявили антибактериальные и местноанестезирующее действия и антихолинэстеразную активность [3]. По этой причине получение такой композиции представлял интерес для изучения эффекта синергизма в проявлении ими антибактериальных и других свойств. Биологические свойства Ag, их размеры, распределение и стабильность, в значительной степени зависят как от природы стабилизирующей полимерной матрицы, так и от условий, используемых для формирования наночастиц в композите. В качестве стабилизирующей полимерной матрицы для Ag могут использоваться различные природные (например, целлюлоза, олигосахариды, желатин, крахмал и др.) и синтетические (например, поливинилпирролидон, поливиниловый спирт) полимеры [4]. Экологически и биологически опасные восстановители, такие как борогидрид натрия и формальдегид и др., могут также использоваться в качестве восстановителей. В последние годы циклодекстрины (CD), являющиеся олигосахаридами натурального крахмала, широко используются в фармакологии и других технологиях с точки зрения повышения растворимости, химической стабильности различных биоактивных субстратов и увеличения их срока годности [5]. Таким образом, все вышесказанное стимулировало изучение возможности получения и свойств наноконструктивов, состоящих из капсулированных молекул лупинина (Lup) и лупинилацетата (Lac) в 2-гидрокси- β -циклодекстриновой (2g β -CD) матрице с наноразмерными частицами серебра. Синтез лупинина ацетата и его инкапсулированную композицию с 2g β -CD и наносеребром получили в две стадии по следующей схеме (рис. 1 и 2):

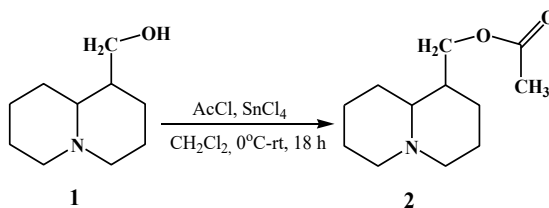


Рис. 1 - Синтез лупинина ацетата

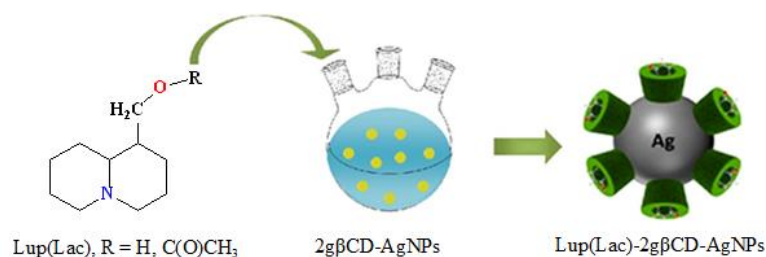


Рис. 2 - Схематическое представление синтеза Lup(Lac) -2β-CD-Ag

Синтез лупинацетата (Lac) осуществлялся взаимодействием лупинина (Lup) с хлористым ацетиллом в присутствии SnCl_4 (выход 81%, рис. 1). Получение супрамолекулярного комплекса лупинина и его ацетата позволит разработать их новую водорастворимую биоактивную форму. Синтез инкапсулированных композиций Lup(Lac)-2β-CD-Ag с наносеребром получили в две стадии по следующей схеме: на первом этапе синтезировали 2β-CD-Ag методом восстановления *in situ* в соответствии с описанным способом [6] с небольшими изменениями (рис. 2). Описанный здесь способ на первом этапе включал восстановление комплекса $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ до металлического Ag^0 водным раствором 2-гидроксипропил-β-CD (2β-CD). Реакции проводились в течение 2 часов при $85 \pm 0,5^\circ\text{C}$ до получения светло-желтого раствора. Олигосахарид в этой композиции играет роль стабилизатора при получении наночастиц серебра. При дальнейшем проведении реакций цвет раствора изменился на интенсивно желто-коричневый, что указывал на образование наночастиц Ag. Это может быть связано с возбуждением поверхностных плазмонных колебаний Ag, что соответствует литературным данным [7]. Увеличение продолжительности реакции и pH раствора приводит к появлению темно-коричневого, а затем серого цвета раствора. На следующем этапе полученный раствор олигосахаридной композиции наночастиц серебра использовали далее для капсуляции молекул Lup и Lac. Комплексы Lup(Lac)-2β-CD-Ag получали путем медленного добавления рассчитанных количеств раствора Lup(Lac) (0,01 М) к водному раствору 2β-CD-Ag. Каждый эксперимент повторяли три раза.

Образование 2β-CD-Lup(Lac)-Ag в изучаемых средах определяли с помощью УФ видимой спектроскопии, что было показано на полосах поверхностного плазмонного резонанса (рисунок 3а-б). Спектры поглощения 2β-CD-Ag в УФ диапазоне при 418,12 нм указывает на то, что полученные наночастицы имеют пик поглощения характерный для сферических наночастиц (рисунок 3а) [7]. Эти наблюдения показывают, что с увеличением времени реакции размер частиц и агрегация нанокристаллов серебра постепенно увеличиваются. Все дальнейшие измерения проводились при комнатной температуре ($20 \pm 0,05^\circ\text{C}$). Из полученного окрашенного зольа были выделены наноконпозиты (рис. 3б). Полученные наноконпозиты представляли собой желто-коричневые порошки, растворимые в воде. Анализ элементных данных показал, что содержание серебра в наноконпозитах составляет 3,5-4,0%. Синтезированные наночастицы также были охарактеризованы методом рентгеновской дифракции (рис. 3в). Пики на рентгенограмме подтвердили, что Ag имели гранцентрированную кубическую форму, а пики загрязненных кристаллических фаз обнаружить не удалось.

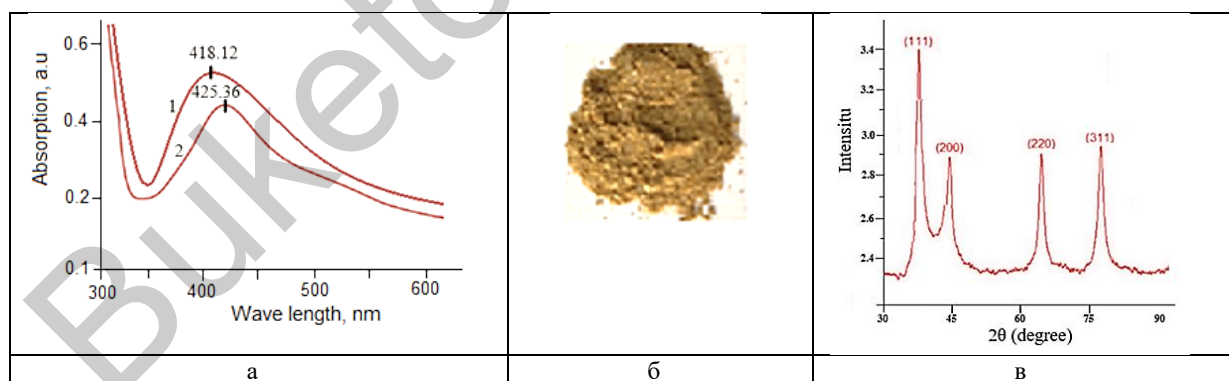


Рис. 3 - УФ спектр Lup(Lac)-2β-CD-Ag (а), сухой порошок Lup-2β-CD-Ag (б), данные XRD-спектров наноконпозиты с серебром (в)

Предыдущие исследования показали, что сферические Ag вносят вклад в полосы поглощения около 400 нм в УФ-видимом спектре [6]. В результате настоящего исследования нами были обнаружены характеристические полосы SPR Ag в районе 418,12 для лупинина и 425,36 нм – для Lac, что убедительно свидетельствует о том, что Ag имеют сферическую форму, что было подтверждено также результатами ПЭМ этого исследования. Были проведены ПЭМ изучения для наблюдения за морфологией, размером и дисперсностью полученных Lup-2β-CD-Ag. Анализ ПЭМ-изображения (рисунок 4) показал, что Lup-2β-CD-Ag имеют в основном субсферическую форму. Гистограмма показала узкое распределение частиц по размерам (в растворе с pH 9,25), поскольку размер частиц концентрировался в диапазоне от 8 до 15 нм, со средним размером частиц $8,5 \pm 1,17$ нм.

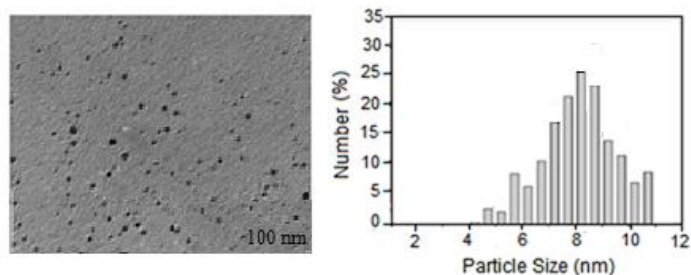


Рис. 4 - Изображения ПЭМ и распределение размеров наночастиц Ag. Средние размеры частиц составляют $8,5 \pm 1,14$ нм, 60 мин, pH = 9,25

На гистограммах отчетливо видно увеличение размеров частиц с увеличением времени. Наблюдаемая закономерность указывает на медленный рост наночастиц Ag в матрице раствора 2 β -CD. Анализ временной эволюции распределения частиц по размерам также предполагает явную селективность реакции по размеру, и предпочтительные размеры частиц, по-видимому, составляют около 6-11 нм. Интенсивность пиков и их четкость указывают на то, что Lup-2 β -CD-Ag имеют высококристаллическую природу. Было также обнаружено, что интенсивности 111, 200, 220 и 311 отражений, обусловленных фазой Ag, увеличиваются вместе с увеличением Ag в изучаемых средах. На рентгенограммах не было обнаружено других пиков, присутствующих в качестве примесей. Таким образом, эти результаты дают четкие доказательства присутствия Ag в композиции Lup-2 β -CD-Ag.

Структурные особенности комплексов включения Lup(Lac) и его комплексы включения с β -CD ранее также характеризовались данными ЯМР- ^1H , ^{13}C -спектроскопии, а также при анализе двумерных спектров COSY (^1H - ^1H) и HMQC (^1H - ^{13}C) [9]. Анализ данных спектров показал, что наибольшая разница в значениях химических сдвигов протонов у комплекса включения лупинин- β -циклодекстрин наблюдается у атомов H-3 (0.11 м.д.) и H-5 (0.14 м.д.). Образование наноконпозиции 2 β -CD-Ag, Lup(Lac)-2 β -CD и Lup(Lac)-2 β -CD-Ag исследовано также с помощью ЯМР ^1H , ^{13}C и COSY, HMQC, HMBC спектроскопии. Следует отметить, что на характер спектра комплекса оказывает влияние экранирующий эффект взаимодействия Ag с 2 β -CD. Спектры клатратных комплексов Lup(Lac)-2 β -CD (2:1) позволили определить небольшие сдвиги характерных полос поглощения функциональных групп 2 β -CD, это указывает на отсутствие ковалентных взаимодействий между Lup и внутренними функциональными группами 2 β -CD.

Далее нами были изучены биологические свойства производных лупинина. В результате антимикробного исследования установлено, что испытуемые образцы проявляют антимикробную активность в отношении грамположительных тест-штаммов *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, и грамотрицательной палочки *Escherichia coli*, для которых их минимальная ингибирующая концентрация составляет в пределах 12,5 и 50 мкг/мл. При этом, из всех представленных образцов соединение Lup-2 β -CD показал выраженную антибактериальную активность в отношении грамположительного тест-штамма *Bacillus subtilis* ATCC 6633, минимально ингибирующая концентрация его составила 6,3 мкг/мл. Также соединение Lup-2 β -CD проявило умеренно-выраженное антибактериальное действие в отношении грамположительного тест-штамма *Staphylococcus aureus* и умеренное антигрибковое действие в отношении дрожжевого грибка *Candida albicans* (МИК=25мкг/мл). Образец Lac показал умеренно-выраженную антибактериальную активность в отношении грамположительных тест-штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 и *Bacillus subtilis* ATCC 6633, их МИК составила 12,5 и 25 мкг/мл, соответственно. Соединения Lup-2 β -CD-Ag и лупинин проявили умеренную антибактериальную активность лишь в отношении грамположительных тест-штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 653 МИК=25 мкг/мл, в отношении остальных тест-штаммов данные вещества проявили слабую антибактериальную активность МИК=50 мкг/мл.

Таблица 1 – Антимикробная активность образцов

Шифр образца	<i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC 6538	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
Lup-2 β -CD-AgNPs	25	50	-	50	-
Lup-2 β -CD	12,5	6,3	50	-	25
Lac	12,5	25	-	-	50
Lup	25	50	50	-	-
Control (ceftriaxone)	6,3	12,5	6,3	6,3	-
(Inappropriate)	-	-	-	-	12,5

Синтезированные новые соединения были подвергнуты тестированию на летальность от *Artemia salina* (Leach). Цитотоксическую активность, основанную на проценте гибели личинок, оценивали после 24-часового воздействия препаратов. Цитотоксичность соединений оценивали в тесте на выживание личинок ракообразных *Artemia salina* (Leach) в условиях культивирования *in vitro* [10]. Установлено, что образцы - Lup, Lac, Lup-2 β -CD,

Lup-2gβCD-AgNPs проявляют цитотоксическую активность в отношении личинок морских рачков *Artemia salina* (Leach). При этом, цитотоксическая активность образцов Lup-2gβCD-AgNPs – более выраженная (LD₅₀ - 54,3 мкг/мл), чем у остальных представленных образцов (препарат сравнения – дактиномицин (50 мг, USP 1162400)).

Таблица 2 – Цитотоксическая активность образцов

Шифр образца	Концентрация мкг/мл	Число выживших личинок			LD ₅₀ , мкг/мл	Активность
		1 параллель	2 параллель	3 параллель		
Lup	1	9	8	8	74,6	+
	10	6	5	5		
	100	5	4	5		
Lup-2gβ-CD-AgNPs	1	7	7	7	54,3	+
	10	5	4	4		
	100	3	3	3		
Lac	1	8	8	8	68,5	+
	10	6	7	6		
	100	5	4	4		
Lup-2gβ-CD	1	8	7	8	62,6	+
	10	7	6	6		
	100	5	5	4		
Comparison drug: dactinomycin (<i>actinomycin D</i>)	1	6	7	7	47,8	-
	10	4	3	4		
	100	2	2	3		

В результате исследования установлено, что образец ацетат лупинина в дозе 25 мг/кг проявляют выраженную анальгетическую активность на модели химического раздражения брюшины, проявляя достоверное уменьшение количества укусных корчей у крыс на 57,5%, соответственно в сравнении с контролем. Анальгетическая активность данного соединения ацетат лупинин на 4,5% выше, чем обезболивающая активность препарата сравнения - диклофенака натрия. Образец Lup-2gβ-CD-Ag показал умеренно-выраженную анальгетическую активность в тесте «уксусные корчи», проявляя достоверное уменьшение болевой реакции висцеральных ноцицепторов на раздражающее действие уксусной кислоты на 42,4% в сравнении с контролем. Цитотоксическая активность соединения лупинин-2-гидроксипропил-β-циклодекстрина с наносеребром более выраженная, чем у остальных веществ. Образец Lup и Lup-2ГП-β-CD в дозах 25 мг/кг выявили слабую анальгетическую активность в тесте «уксусные корчи», снижая количество укусных корчей на 29,4% и 18,6%, соответственно в сравнении с контролем.

Таблица 3 – Анальгетическая активность образцов

Наименование образца	Доза, мг/кг	Количество сокращений	Сокращение количества укусных корчей (%)
Контроль	-	102,6± 11,2	100
Диклофенак натрия	8	48,2± 9,6	53,0
Lup-2gβ-CD-Ag	25	59,1± 10,4	42,4
Lup-2gβ-CD	25	72,4±10,8	29,4
Lac	25	43,6 ±9,4*	57,5
Lup	25	83,5 ± 10,1*	18,6

Таким образом, нами получены функционализированные 2-гидроксипропил-β-олигосахаридом наночастицы серебра и получены их композиции с лупинином и его ацетильным производным. Алкалоид лупинин и его ацетильное производное привлекли внимание благодаря своим бактерицидными свойствами, которые вдохновляют на разработку биокомпозиции с синергетическими эффектами в присутствии наночастиц биометаллов. Полученные экспериментальные данные позволили прогнозировать стабильность комплексов 2-гидроксипропил-β-циклодекстрина с наночастицами серебра при длительном хранении, а также найти оптимальные условия их композиций с биоактивными компонентами. Модифицированную композицию лупинина (Lup-2gβCD-Ag) и его ацетата с наносеребром (Lac-2gβCD-Ag) можно считать многообещающей платформой для улучшения стабильности и расширения его антибактериального биопотенциала.

Список использованной литературы

1. Michael J.P. Indolizidine and quinolizidine alkaloids // Nat. Prod. Rep. – 2007. - №24. - 191-222. <https://doi.org/10.1039/b104969k>
2. Tasso B., Mattioli L.B., Tonelli M., Boido V., Chiarini A., Sparatore F., Budriesi R. Further quinolizidine derivatives as antiarrhythmic agents-3 // *Molecules*. – 2023. - №28. - 6916. <https://doi.org/10.3390/molecules28196916>

3. Takao K., Munakata R., Tadano K. Recent advances in natural product synthesis by using intramolecular Diels-Alder reactions // Chemical Reviews. – 2005. - №105. - 4779-4807. <https://doi.org/10.1021/cr040632u>
4. Luo C.C., Zhang Y.H., Zeng X.W., Zeng Y.W., Wang Y.G. The role of poly(ethylene glycol) in the formation of silver nanoparticles // J. Colloid Interf Sci. – 2005. - №288. - 444-448. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.03.005>
5. Bahavarnia F., Hasanzadeh M., Bahavarnia P., Shadjou N. Advancements in application of chitosan and cyclodextrins in biomedicine and pharmaceuticals: reserpt progress and future trends. // RVS Adv. - 2024. - №14. - 13384. <https://doi.org/10.1039/D4RA01370K>
6. Shameli K., Ahmad M.B., Zargar M., Yunus W.M., Ibrahim N.A., Shabanzadeh P., Moghaddam M.G. Synthesis and characterization of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites by chemical reduction method and their antibacterial activity // Int. J. Nanomedicine. - 2011. - №6. – 271-284. <https://doi.org/10.2147/IJN.S16043>
7. Jaremkо Mariusz. Cyclodextrins: Structural, Chemical, and Physical Properties, and Applications // Polysaccharides. -2022. -3(1). –1-31. <https://doi.org/10.103390/polyccharides3010001>
8. Šesták J., Kratochvíl J. Rational approach to thermodynamic processes and constitutive equations in isothermal and non-isothermal kinetics // J. Therm. Anal. - 1973. - №5. - 193. <https://doi.org/10.1007/BF01950368>
9. Mironov A.N. Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Drugs. – Moscow: GRIF-K, 2012. - 206.
10. Meyer B.N., Ferrigni N.R., Putnam J.E., Jacobsen L.B., Nichols D.E., McLaughlin J.L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents // Planta Medica. - 1982. - №45. - 31.

УДК 536.421:669.018:541.1

ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИ-ДИАГРАММНЫЙ АНАЛИЗ СИСТЕМЫ Cr-Fe-Al-Si ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ ПЛАВЛЕНИЯ 1723К

Хисматулин Д.О., АРУ имени К.Жубанова, Актобе, Казахстан
Шабанов Е.Ж., АРУ имени К.Жубанова, Актобе, Казахстан

Аннотация

В статье приведены результаты расчета термодинамических параметров соединений, образующихся между компонентами системы при температуре плавления 1723К. На основе расчетов проведен полный термодинамически-диаграммный анализ системы Cr-Fe-Al-Si с учетом конгруэнтных и инконгруэнтных соединений. В результате, которого установлено, что данная система состоит из 24 элементарных тетраэдров. Сумма относительных объемов элементарных тетраэдров практически равна единице (0,9978), что подтверждает верность проведенной тетраэдрации.

В данной работе рассматривается возможность построения диаграммы фазового строения для системы Cr-Fe-Al-Si, моделирующей составы сплавов на основе хрома и термодинамически-диаграммного анализа.

Для расчета температуры плавления комплексного сплава, содержащего Al-15%, Si-40%, Cr-25%, Fe-20%, можно воспользоваться эмпирическими методами или моделями, такими, как правило смеси или CALPHAD (Calculation of Phase Diagrams), если детальная информация о фазовых взаимодействиях доступна. Тем не менее, для сложных систем с более чем тремя компонентами прогнозирование температуры плавления становится крайне сложным без экспериментальных данных.

Температура плавления сплава (T_m) может быть приближенно рассчитана как взвешенное среднее температур плавления его компонентов с учетом их молярных долей. Такой метод называется правило смеси [1]. Однако этот метод не учитывает эвтектические реакции и другие взаимодействия между компонентами, которые могут значительно снижать температуру плавления.

Температуры плавления компонентов:

- Al: 660.3 °C
- Si: 1414 °C
- Cr: 1907 °C
- Fe: 1538 °C

Для расчета молярных долей компонентов:

1. Найдем молярные массы каждого элемента:

- Al: 26.98 г/моль
- Si: 28.09 г/моль
- Cr: 52.00 г/моль
- Fe: 55.85 г/моль

2. Рассчитаем молярные доли компонентов:

- Молярная доля Al: 1526.98
- Молярная доля Si: 4028.09
- Молярная доля Cr: 2552.00
- Молярная доля Fe: 2055.85

3. Найдем суммарную молярную долю:

Молярная доля Al=1526.98≈0.555

Молярная доля Si=4028.09≈1.424