

УДК 544.47:544.344

*А.Р. Гайдай^а, П.В. Вакулюк^а, І.М. Фуртат^а, Т.В. Мурланова^а, Н.І. Куниця^а,
В.А. Тьортих^б, Р.Б. Козакевич^б, А.Г. Гребенюк^б, О.А. Голуб^а*

СТВОРЕННЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ НАНОКОМПЗИТИВ НА ОСНОВІ КРЕМНЕЗЕМНИХ МАТРИЦЬ, МОДИФІКОВАНИХ АНТИМІКРОБНИМИ ПРЕПАРАТАМИ

^а Національний університет «Києво-Могилянська академія»

^б Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України, м. Київ

Роботу присвячено створенню нанокмпозитів на основі кремнеземних матриць, модифікованих препаратом орнідазолом, та дослідженню їх фізико-хімічних і функціональних властивостей. Методами ЯМР на ядрах ¹³C і ¹H, ІЧ та УФ спектроскопії вивчено будову синтезованих нанокмпозитів (орнідасилів), наявність орнідазолу на поверхні кремнезему підтверджено методами елементного аналізу, рідинної хроматографії і мас-спектрометрії високої роздільної здатності. Досліджено кінетику десорбції активної сполуки, а також сорбційну здатність орнідасилів стосовно білків і патогенних мікроорганізмів. Методом РМЗ квантової хімії продемонстровано, що утворення адсорбційних комплексів на поверхні високодисперсного кремнезему відбувається завдяки утворенню водневих зв'язків між поверхневими силанольними групами та нітрогрупами орнідазолу, а надлишок води буде поступово вимивати молекули орнідазолу, адсорбовані на поверхні кремнезему. Експериментально підтверджено, що вивільнення орнідазолу у модельному розчині складало близько 77% діючої речовини вже через 20 хв виконання десорбції, і в подальшому концентрація орнідазолу в розчині підтримувалась на стабільному рівні за рахунок поступового вимивання препарату. Із застосуванням тест-культур грампозитивних та грамнегативних бактерій встановлено розширення антимікробного спектру дії орнідазолу у складі нанокмпозитів, порівняно з нативною діючою речовиною.

Ключові слова: пірогенний кремнезем, орнідазол, нанокмпозити, десорбція, квантовохімічне моделювання, антимікробна дія.

DOI: 10.32434/0321-4095-2019-124-3-6-16

Вступ

Нанокмпозитні матеріали належать до класу гібридних матеріалів сучасного покоління. Це здебільшого двофазні системи, сформовані з полімерної матриці та неорганічної дисперсної частини. За багатьма своїми властивостями нанокмпозити значно перевищують традиційні полімерні матеріали [1], оскільки поєднують у собі одночасно переваги неорганічного матеріалу (зокрема, ригідність, термостабільність) і органічного полімеру (наприклад, гнучкість, пластичність і технологічність). Більше того, їм здебільшого можна надавати особливих і покращених властивостей шляхом введення різних наповнювачів, що, у свою чергу, дозво-

ляє створювати нові системи, які можуть задовольняти постійно зростаючі потреби у новітніх матеріалах [1].

Необхідність створення нових гібридних біоактивних нанокмпозитних матеріалів насамперед зумовлена тим, що існуючі наразі традиційні підходи до лікування і застосування антибіотиків здебільшого не є оптимальними щодо функцій, які вони виконують [2]. Окрім того, пероральні і парентеральні шляхи введення препаратів, що використовуються сьогодні, характеризуються низкою недовіди. Зокрема, введений таким чином лікарський засіб, який володіє високою біологічною активністю, при надходженні у макроорганізм може впливати не лише

на осередки патології, але й на здорові органи і тканини, завдаючи тим самим непоправної шкоди усьому організму. Водночас лікарські форми, що традиційно використовуються для введення активних субстанцій, є малоефективними через низький ступінь проникнення через поверхню шкіри до патологічного осередку [2].

Синтез біонанокompatитів на основі нанокремнезему та біологічних сполук з різними властивостями відкриває нові аспекти їх застосування в різних галузях медицини. Одним із поширених способів одержання таких сполук є адсорбційне модифікування поверхні кремнезему різними лікарськими препаратами, зокрема антибіотиками. Таке модифікування дозволяє регулювати комплекс запрограмованих якостей одержуваних композитів [3].

Високодисперсний кремнезем характеризується широким адсорбційним спектром стосовно білків і мікроорганізмів будь-якого виду. Препарати кремнезему є інертними неорганічними матрицями, стійкими до хімічних і бактеріальних впливів. Завдяки наявності на поверхні силанольних груп можлива їх модифікація різними за хімічною будовою сполуками. Саме тому подальші перспективи використання кремнезему в медицині полягають у створенні нових комплексних препаратів з регульованою фармакокінетикою шляхом модифікації поверхні активними компонентами [3].

Серед сучасних засобів протимікробної дії все більшу увагу привертають, похідні імідазолу – нітроімідазоли у зв'язку з їх здатністю активно впливати на анаеробні мікроорганізми. Лікарські засоби групи нітроімідазолу (точніше 5-нітроімідазолу) це високоактивні синтетичні сполуки широкого спектра дії щодо різного роду патогенів, у тому числі й стійких штамів збудників інфекційних захворювань. Завдяки їх біосумісності, фармакокінетичним якостям та здатності досягати оптимального терапевтичного ефекту навіть при мінімальних концентраціях, ці сполуки можна характеризувати як дієві препарати довготривалого впливу для системної терапії інфекцій різного походження [4]. Отже, створення сучасних нанокompatитних матеріалів та їх використання як антимікробних агентів, дезінфектантів і сорбентів є актуальним для широкого спектру галузей.

Метою роботи є одержання нанокompatитів на основі кремнеземних матриць, модифікованих антимікробним препаратом орнідазол, дослідження їх будови, кінетики десорбції активної речовини, адсорбатів, вивчення сорбційної

здатності одержаних матеріалів стосовно альбумінів і патогенних мікроорганізмів.

Матеріали та методи дослідження

Нанокompatитні матеріали було одержано методом імпрегнування високодисперсного діоксиду силіцію розчином орнідазолу [5]. Як матрицю використовували пірогенний кремнезем А-300 виробництва Калуського дослідно-експериментального заводу МНТК «Хімія поверхні» з площею поверхні 290 м²/г (визначена за низькотемпературною адсорбцією азоту методом BET). Концентрація ізольованих силанольних груп, які є головними сорбційними центрами, становить приблизно 0,8 ммоль/г або 2,5 мкмоль/м² [6].

Як активну речовину використано орнідазол (1-(3-хлор-2-гідроксипропіл)-2-метил-5-нітроімідазол) (рис. 1) виробництва Aarti Drugs Limited, Індія.

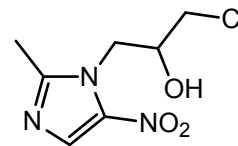


Рис. 1. Просторова будова молекули орнідазолу

Орнідазол належить до третього покоління нітроімідазолів і є синтетичним засобом, активним щодо анаеробних бактерій та протозоа. Його висока ефективність визначається швидким бактерицидним ефектом, низькою пригнічувальною концентрацією щодо окремих груп бактерій, переважно анаеробних, низьким рівнем токсичності та тривалим антимікробним ефектом [4].

Модифікування виконували з водних розчинів орнідазолу таким чином, щоб кінцевий вміст активного компонента в сухому нанокompatиті складав 1, 2, 4, 8, 12 мас.% (0,046–0,548 ммоль/г SiO₂), що є значно меншим за кількість здатних до адсорбції силанольних груп на поверхні кремнезему 0,8 ммоль/г SiO₂). Запатентована назва нанокompatиту, створеного за такою методикою – орнідасил [7].

Просторову будову та енергетику утворення гідратних та адсорбційних комплексів молекули орнідазолу на поверхні високодисперсного кремнезему вивчали квантово-хімічним методом Хартрі-Фока у напівемпіричному наближенні PM3, придатному для моделювання водневих зв'язків, за допомогою програмного комплексу GAMESS [8]. На спектрометрі Specord 200 (Analytik Jena, Німеччина) були досліджені

УФ-спектри поглинання розчинів орнідазолу та відмічено наявність смуги з максимумом при довжині хвилі 314 нм, характерної для чистого орнідазолу, відповідно до літературних даних [4]. Використовуючи цю довжину хвилі, у подальшому будували калібрувальну криву для розрахунку залежності оптичної густини від концентрації орнідазолу в розчині, а також будували ізотерму адсорбції та визначали кінетику десорбції лікарського препарату з поверхні нанокompозиту. Дослідження одержаних нанокompозитів і підтвердження наявності орнідазолу на поверхні кремнезему проводили методом ІЧ-спектроскопії з Фур'є-перетворенням на спектрометрі IFS-66 (Bruker, Німеччина) з використанням програмного забезпечення Orus 4.0. Для якісного визначення орнідазолу в нанокompозиті використовували методи ЯМР спектроскопії на ядрах ^{13}C і ^1H , мас-спектрометричне дослідження, метод хроматографії та кількісний елементний аналіз. Для дослідження ізотерм адсорбції готували розчини з різними концентраціями орнідазолу від 0,05 до 20 ммоль/л, меншими та більшими за кількість здатних до адсорбції силанольних груп (0,8 ммоль/1 г SiO_2) [6]. Щоб впевнитись, що максимальне насичення досягнуте і адсорбція з розчинів більше не відбувається наважку кремнезему занурювали в розчини та залишали для встановлення рівноваги на 24 год. Дослідження кінетики десорбції орнідазолу з поверхні нанокompозитів здійснювали в статичних умовах. Як середовище розчинення використовували дистильовану воду об'ємом 100 мл із температурою 37°C , наважка орнідасилу складала 0,1 г. Кількісне визначення орнідазолу в розчині проводили спектрофотометричним методом в ультрафіолетовій ділянці поглинання. Для проведення досліджень застосовували спектрофотометр Labinotech VV-1200 за довжини хвилі 314 нм.

Зважаючи на те, що в раневому ексудаті міститься значна кількість білків, вивчали сорбційну ефективність орнідасилу щодо альбумінів. Для кількісного визначення зміни концентрації білку в розчині будували калібрувальний графік залежності оптичної густини від концентрації білку. Адсорбцію білків на поверхні отриманого нанокompозиту (вміст орнідазолу 4%) визначали в статичних умовах за кімнатної температури і рН 5,5 та порівнювали її з адсорбцією на немодифікованій кремнеземній матриці. Як модельний розчин використовували розчин бичачого сироваткового альбуміну (БСА) концентрацією 500 мкг/мл [6]. Час експозиції становив

6, 12, 24 і 48 год. Вміст білку в надосадовій рідині визначали методом Лоурі за довжини хвилі 750 нм на спектрометрі Labinotech VV-1200. Концентрацію білку у розчині розраховували за калібрувальним графіком.

Антибактеріальну ефективність дії орнідасилу визначали методом Youdl, як описано у роботі [9], із застосуванням добових культур грам-позитивних (*Staphylococcus aureus* шт. ATCC 25923) та грам-негативних (*Pseudomonas aeruginosa* шт. ATCC 27853 і *Escherichia coli* шт. ATCC 25922) бактерій. Після цього визначали життєздатність клітин тест-культур (розраховуючи індекс виживаності) та встановлювали ефективність антибактеріального впливу нанокompозитів, зважаючи на те, що ефективними новостворені сполуки вважаються лише у тому випадку, якщо кількість клітин тест-культур зменшувалася більше, ніж на $-4,0\lg \text{ КУО/мл}$ [9].

Результати та обговорення

Застосований нами метод імпрегнування високодисперсного силіцій діоксиду орнідазолом є простим, і одна з його особливостей полягає у слабкому закріпленні модифікатора на матриці, що призводить до поступового вивільнення активного компонента з поверхні носія у рану. Обрані для імпрегнування концентрації орнідазолу можна вважати оптимальними на підставі того, що вміст активної речовини був цілком достатнім для виявлення антимікробної дії [10], а на поверхні нанокремнезему залишається ще достатньо вільних від адсорбованих молекул активних центрів для адсорбції отруйних ранових деструктивів поліпептидної природи [11].

На рис. 2 наведено схему формування адсорбційних комплексів молекул активної речовини з поверхнею носія за рахунок утворення водневих зв'язків між нітрогрупою орнідазолу та силанольними групами кремнезему, що відбувається в процесі одержання нанокompозиту. Цей механізм підтверджено результатами квантово-хімічних розрахунків [8]. Окрім того, не виключено також утворення слабких зв'язків між орнідазолом та поверхнею матриці за рахунок фізичної адсорбції за участі диполь-дипольних взаємодій та водневих зв'язків з іншими полярними групами орнідазолу.

Як критерій здатності води вимивати в розчин молекули орнідазолу з поверхні кремнезему можна розглянути відносні величини енергії міжмолекулярної взаємодії двох ізомерних модельних структур: вони складаються з молекули орнідазолу (рис. 3,б), кластерної моделі поверхні

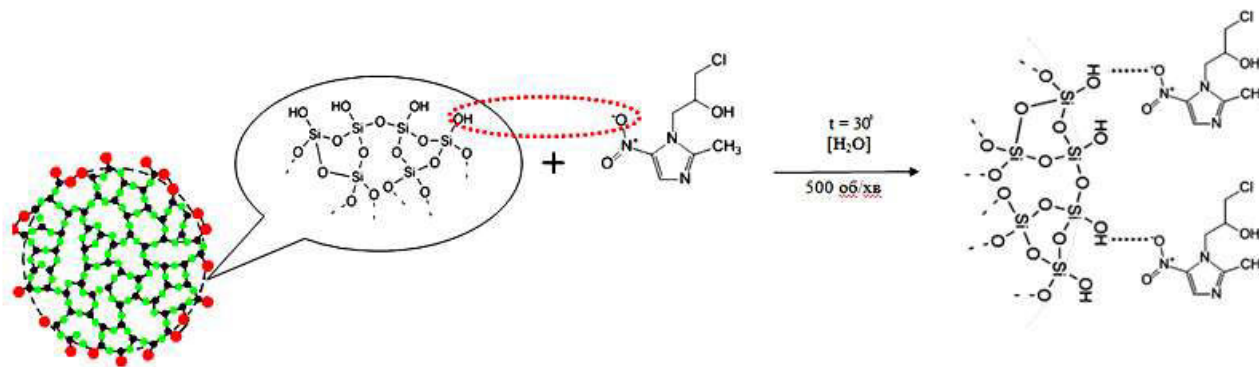


Рис. 2. Схема одержання наноконпозиту кремнезему з орнідазолом

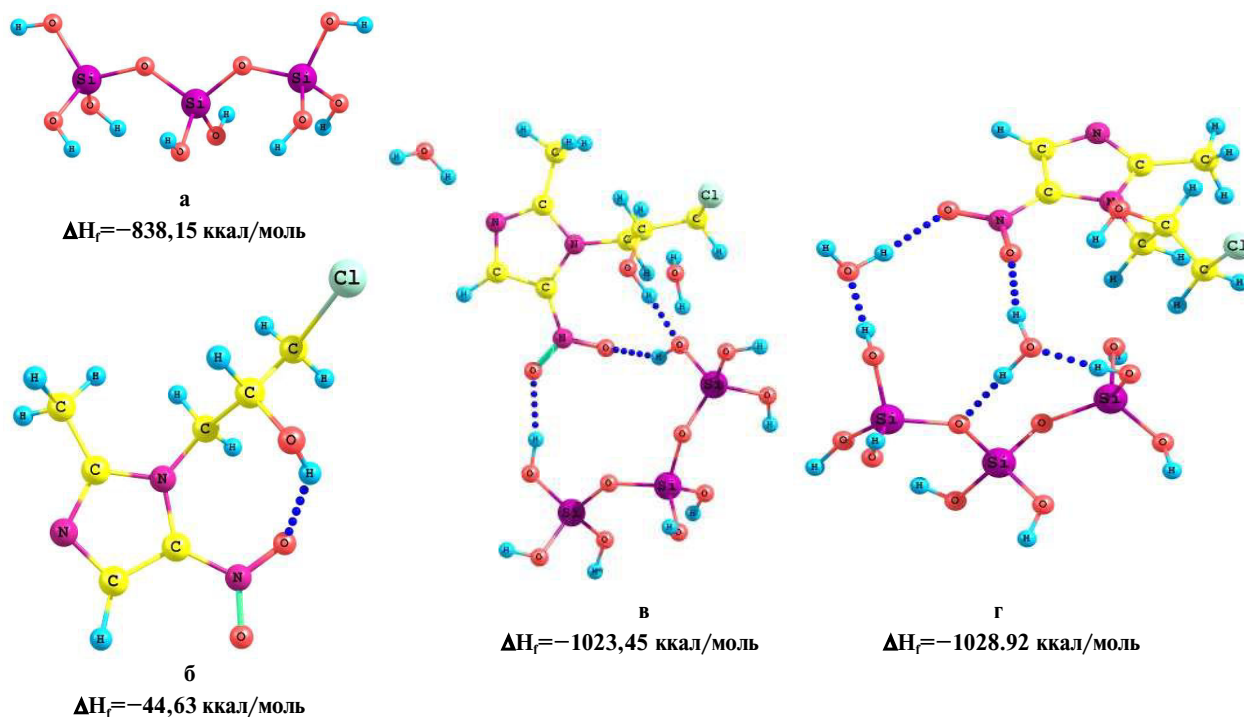


Рис. 3. Розраховані величини ентальпії утворення модельного кластера поверхні кремнезему (а), молекули орнідазолу з внутрішньомолекулярним водневим зв'язком (б), поверхневого адсорбційного комплексу (в) та модельної структури, що імітує перебування молекули орнідазолу у розчині поблизу поверхні носія (г)

кремнезему (рис. 3,а) та двох (мінімальна необхідна кількість) молекул води, одна з яких (рис. 3,в) відповідає безпосередньому контакту лікарської субстанції з поверхнею кремнезему, таким чином імітуючи її адсорбований стан, а інша (рис. 3,г) – відповідає взаємодії молекули орнідазолу з поверхнею через молекули води, які утворюють водневі зв'язки і з поверхнею, і з адсорбатом, таким чином імітуючи перебування молекул лікарської речовини у розчині поблизу поверхні кремнезему.

За результатами розрахунків, безпосередній контакт молекули орнідазолу з поверхнею крем-

незему є енергетично менш вигідним (енергія взаємодії складових відповідного комплексу, розрахована як різниця ентальпії утворення комплексу і сума ентальпій утворення молекул, що входять до його складу, з урахуванням ентальпії утворення молекули води ($\Delta H_f = -53,43$ ккал/моль) становить лише 140,67 ккал/моль), ніж такий, де молекули орнідазолу відділені від поверхні молекулами води (енергія взаємодії складає 146,14 ккал/моль) [8]. Окрім того, не виключене утворення слабких зв'язків між орнідазолом і поверхнею пірогенного кремнезему за рахунок фізичної адсорбції за участі диполь-дипольних

взаємодій і водневих зв'язків з іншими полярними групами орнідазолу. Із цих даних також випливає, що молекули води здатні руйнувати адсорбційний комплекс орнідазолу на поверхні кремнезему, вбудовуючись між гідроксильними групами поверхні та активними центрами молекули лікарського препарату. Утворений таким чином гідратований комплекс є більш міцним, ніж комплекс, в якому наявна безпосередня взаємодія адсорбованої молекули з поверхнею, а молекули води утворюють слабкі зв'язки з цією молекулою і розташовані далі від поверхні. Таким чином, сольватований орнідазол переноситься з поверхні кремнезему у розчин, де може здійснювати притаманну йому антимікробну дію. Це означає, що надлишок води має поступово вимивати молекули орнідазолу, адсорбовані на поверхні кремнезему [8].

На підставі проведених досліджень встановлено, що УФ-спектр поглинання водного розчину орнідазолу в діапазоні від 240 до 340 нм характеризується максимумом поглинання за довжини хвилі (314 ± 2) нм. Наявність такого максимуму у випробовуваному розчині свідчить про ідентичність препарату.

В ІЧ-спектрі орнідазолу (рис. 4) наявні смуги поглинання при 3314 та 3175 cm^{-1} , що відповідають валентним коливанням ОН-групи вільної та зв'язаної водневими зв'язками, смуги поглинання при 3090 cm^{-1} відповідають валентним асиметричним коливанням СН-груп. Та-

кож наявні смуги поглинання при 1570 cm^{-1} , що відповідають асиметричним коливанням NO_2 -груп, та 1360 і 1280 cm^{-1} , які відносяться до симетричних коливань NO_2 -груп. Смуги поглинання при 1190 cm^{-1} можна віднести до деформаційних симетричних коливань СН-групи, а 830 cm^{-1} – до коливань CN і NO_2 груп. Смуги поглинання при 750 cm^{-1} відповідають валентним коливанням С–Cl груп [6]. У спектрі пірогенного кремнезему А-300 наявні смуги поглинання при 1100 cm^{-1} , що відповідають валентним коливанням силосанових зв'язків (ν_{SiO}), ОН-групам відповідає широка смуга при 3700–3200 cm^{-1} (ν_{OH}) [12], смуга вільних силанолів при 3750 cm^{-1} не спостерігається, оскільки за рахунок водневих зв'язків з адсорбованою водою вона перекривається широкою смугою, згаданою раніше.

В модифікованому орнідазолом кремнеземі (рис. 4) спостерігається лише часткове зміщення смуги валентних коливань ОН-групи з 3460 до 3430 cm^{-1} та поява малоінтенсивних смуг поглинання біля 1570 cm^{-1} та 1370 cm^{-1} , які відповідають асиметричним та симетричним коливанням NO_2 -групи, відповідно. Тому можна стверджувати, що пройшла тільки фізична адсорбція, а зсув смуги коливань, який відповідає гідроксильним групам, свідчить про їх участь в утворенні водневих зв'язків з адсорбованими молекулами орнідазолу. Це підтверджує присутність орнідазолу в наноккомпозиті без суттєвої хімічної взаємодії компонентів наноккомпозиту між со-

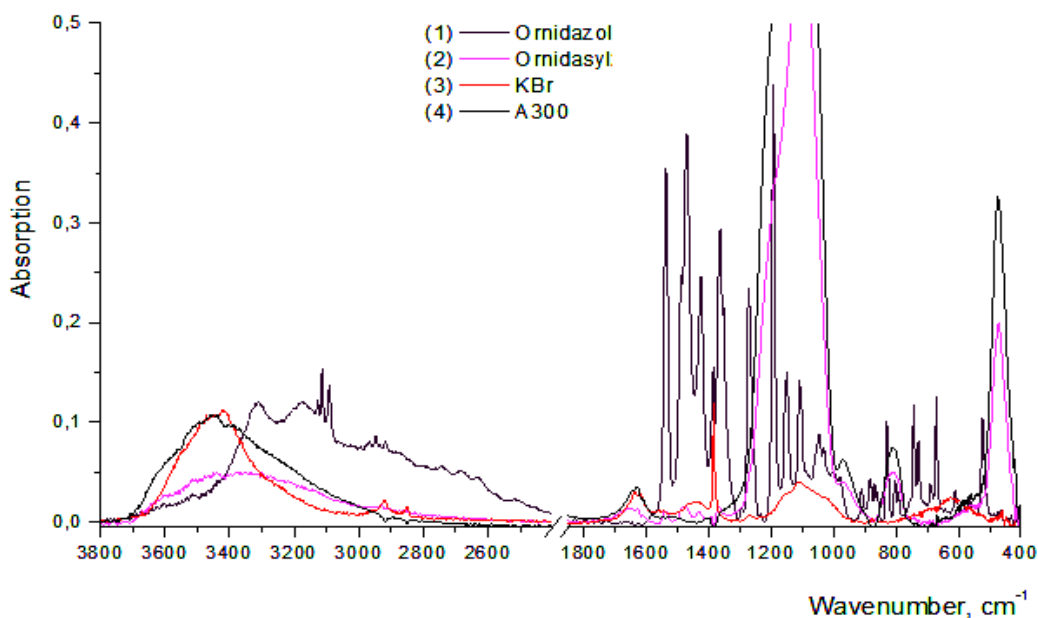


Рис. 4. ІЧ спектр поглинання орнідазолу (1), наноккомпозиту на основі пірогенного кремнезему та орнідазолу (2), KBr (3), вихідного кремнезему А-300 (4)

бою [12].

Характер розподілу сигналів, їх щеплення та інтенсивність в ^1H та ^{13}C ЯМР спектрах доводять хімічну будову використаного в дослідженні орнідазолу. Так, на рис. 5,а зображено ^1H ЯМР спектр орнідазолу, одержаний із розчину в DMSO-d_6 . Із нього видно, що аліфатичні прото-

ни хлорізопропанольного фрагменту проявляються у вигляді характерних мультиплетів в діапазоні 3,6–4,6 м.ч., а протони метильної групи та протон імідазольного кільця при $\sim 2,4$ і $\sim 8,0$ м.ч., відповідно. Дублет при $\sim 5,6$ м.ч. вказує на присутність OH групи. Усі наявні сигнали в ^{13}C ЯМР спектрі (в DMSO-d_6) також легко інтерпрету-

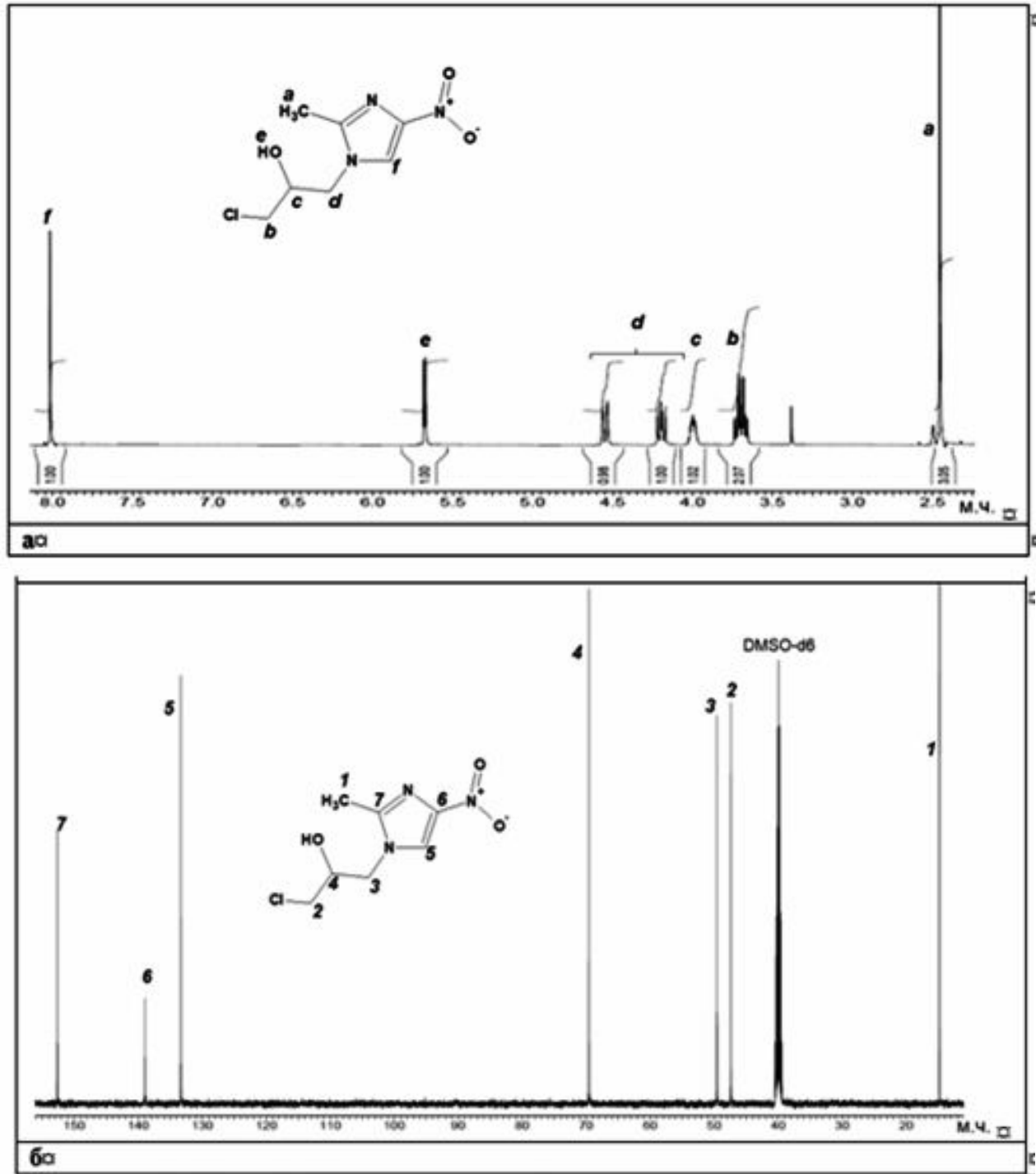


Рис. 5. ^1H (а) та ^{13}C (б) ЯМР спектри орнідазолу

ються і вказують на наявність як хлорізопропанольного фрагменту, так і 2-метил-4-нітроімідазольного залишку, що складають молекулу орнідазолу (рис. 5,6).

Індивідуальність та чистоту використаного орнідазолу доводили методом високоефективної рідинної хроматографії – мас-спектрометрії високої роздільної здатності (рис. 6). На хроматограмі присутній лише один чіткий пік, що відповідає орнідазолу (рис. 6,а), а із мас-спектра (рис. 6,б) видно, що найбільш інтенсивний пік молекулярного іона з m/z 220 відповідає значенню m/z для протонованого орнідазолу ($M_r \sim 219$). Також в мас-спектрі орнідазолу присутній фрагментарний іон з m/z 128, який відповідає 2-метил-4-нітро-1H-імідазольному фрагменту. Цей фрагмент утворюється внаслідок розриву C–N зв'язку імідазольного кільця, що є типовим для молекули орнідазолу за умов зняття мас-спектрів.

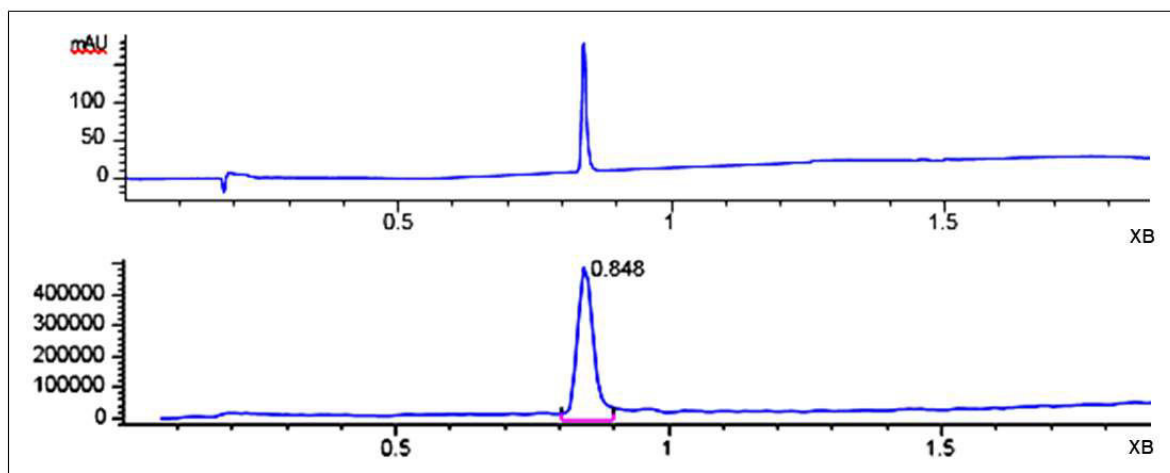
Результати елементного аналізу підтверджують наявність на поверхні одержаних нанокompatитів орнідазолу, $w(N)=0,38\%$, $w(C)=$

$=0,76\%$, $w(Cl)=0,32\%$.

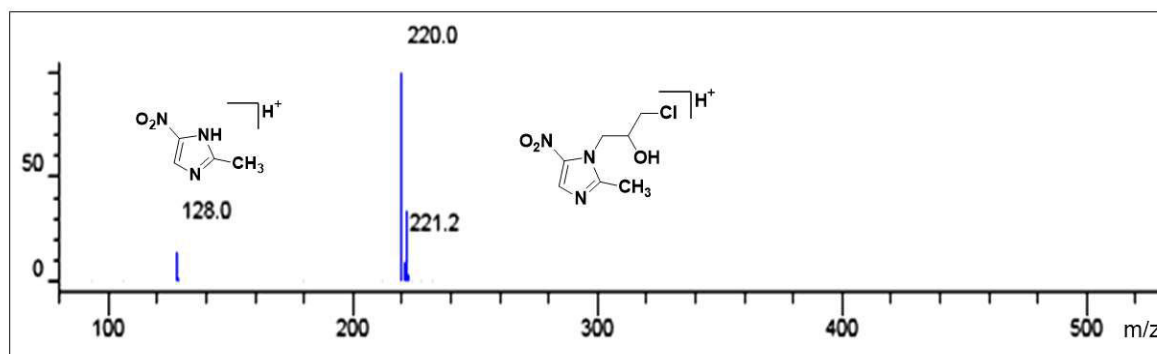
Для визначення експлуатаційних характеристик одержаних нанокompatитів і прогнозування їх подальшої поведінки як препаратів медичного призначення вивчали процеси адсорбції та десорбції орнідазолу на поверхні пірогенного кремнезему. Для кількісного визначення зміни концентрації орнідазолу в розчині під час цих процесів застосовували калібрувальну криву залежності оптичної густини від концентрації орнідазолу. Рівняння градувального графіка: $y=0,0799x+0,1091$, межі лінійності $1,01 \cdot 10^{-5}$ – $1,03 \cdot 10^{-4}$ ммоль/л, коефіцієнт кореляції $R^2=0,9996$.

Дослідження адсорбційних властивостей кремнезему проводили у статичному режимі за періодичного ручного перемішування та температури $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Адсорбцію здійснювали з водних розчинів орнідазолу. Час контакту адсорбенту ($m=1$ г) та розчину адсорбату ($V=100$ мл) становив 24 год, що достатньо для досягнення рівноваги.

Кінетичні криві адсорбції орнідазолу на кремнеземі у всьому інтервалі досліджених кон-



а



б

Рис. 6. Хроматограма (а) та мас-спектр (б) орнідазолу

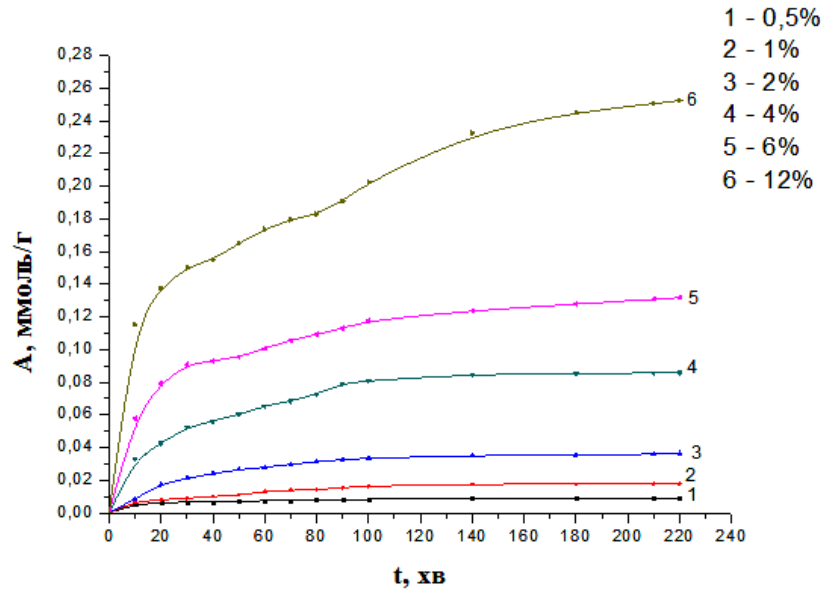


Рис. 7. Кінетика адсорбції орнідазолу кремнеземом з розчинів різної концентрації

центрацій наведені на рис. 7.

На рис. 8 зображена ізотерма адсорбції пірогенним кремнеземом А-300 орнідазолу із його розчинів в дистильованій воді. На початковому відрізку ізотерма ввігнута відносно осі концентрацій, це свідчить про слабкий зв'язок активної речовини з поверхнею адсорбенту, при цьому наявна конкуренція з розчинником за активні центри поверхні. Далі величина адсорбції орнідазолу зростає, що може бути обумовлено зокрема, зміною орієнтування молекул в адсорбованому шарі. Це може свідчити про те, що взаємодія між адсорбованими молекулами переважає сили взаємодії між розчиненою речовиною та адсорбентом і загальна адсорбція описується ізотермою S-типу. Отримані експериментальні дані підтверджуються квантово-хімічним моделюванням експерименту [7].

З метою прогнозування поведінки одержаних нанокompatитів як препаратів медичного

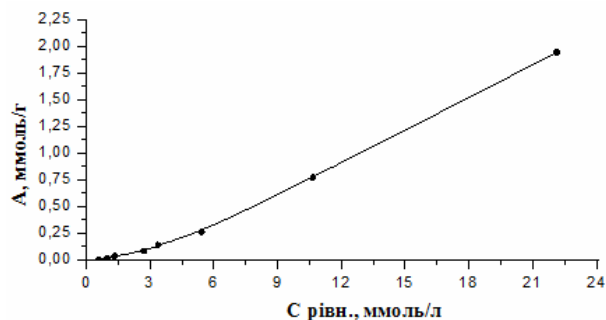


Рис. 8. Ізотерма адсорбції орнідазолу із дистильованої води (маса кремнезему 1 г, об'єм розчину 100 мл, температура 20°C) пірогенним кремнеземом А-300

призначення вивчали кінетику десорбції орнідазолу з поверхні орнідасилу. Для кількісного визначення зміни концентрації орнідазолу в розчині під час цих процесів застосовували калібрувальну криву залежності оптичної густини від концентрації орнідазолу. Рівняння градувального графіка: $y=42,171x+0,0058$, межі лінійності $2,5 \cdot 10^{-3}$ – $3,7 \cdot 10^{-2}$, коефіцієнт кореляції 0,9999. Відповідно до калібрувальної кривої, надалі розраховували концентрацію орнідазолу у процесі його десорбції в дистильовану воду через певні проміжки часу (рис. 9).

Аналіз профілів вивільнення орнідазолу (рис. 9 та 10) засвідчив близький характер кінетичних кривих десорбції для всіх досліджених

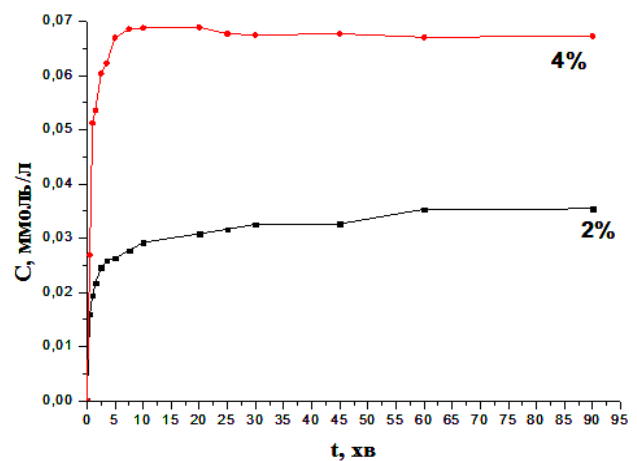


Рис. 9. Кінетика десорбції (C, ммоль/л) орнідазолу з поверхні орнідасилів з різною концентрацією активної речовини

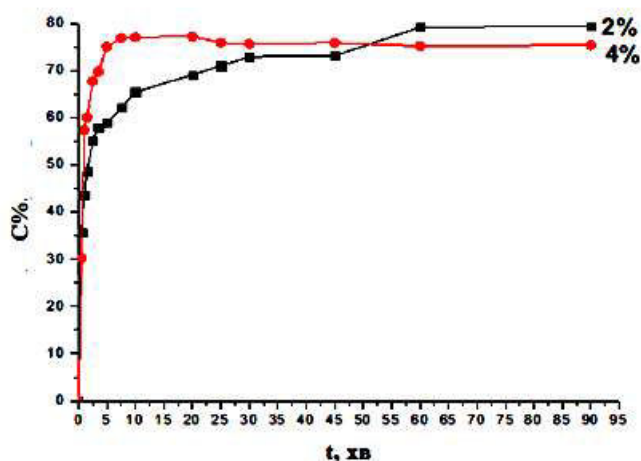


Рис. 10. Залежність ступеня десорбції (С, %) орнідазолу з поверхні орнідасилів з різною концентрацією активної речовини від часу контакту фаз

нанокомпозитів. Отримані в результаті десорбції концентрації орнідазолу в розчині є цілком достатніми для пригнічення життєдіяльності бактерій при рановому процесі навіть для нанокомпозитів з вмістом діючої речовини 2 та 4% [10]. При цьому для зразка орнідасилу 2% вивільнення орнідазолу складало близько 65% діючої речовини вже через 20 хв проведення тесту розчинення, а для зразка орнідасилу 4% – близько 77%. За умови подальшого проведення десорбції протягом 48 год було показано, що значення концентрації орнідазолу в розчині підтримувалось на стабільному рівні за рахунок поступового вимивання препарату.

Поступова десорбція препарату з поверхні нанокомпозиту в рану забезпечує підтримання

Дослідження сорбційної здатності нанокомпозитів стосовно білка залежно від часу контакту фаз

Час контакту фаз, год	Кількість білка сорбованого з модельного розчину БСА, мг/г сорбенту	
	А-300	Орнідасил
6	146	132
12	153	148
24	178	160
48	189	162

необхідних концентрацій препарату, зумовлює тривалий бактерицидний ефект, а наявність вільних адсорбційних активних центрів на поверхні кремнезему дозволить очищувати та підсушувати рану в процесі лікування шляхом адсорбції ранових деструктів [8].

Результати дослідження сорбційної здатності нанокомпозиту (вміст орнідазолу на поверхні 4%) стосовно БСА свідчать про те, що максимальна кількість, яку був здатний сорбувати 1 г орнідасилу, становила 162 мг за часу експозиції упродовж 48 год, температури 18°C і рН 4,6 (таблиця).

Аналіз профілів адсорбції БСА вихідним та модифікованим кремнеземами засвідчує їх здатність поглинати до 80 % білка із модельного розчину вже через 24 год (рис. 11).

Зважаючи на те, що у подальшому створений нанокомпозит планується застосовувати як матрицю антимікробних засобів з метою пролонгування дії останніх, антибактеріальну ефективність впливу орнідасилу визначали щодо грам-позитивних і грам-негативних бактерій. Дослідження антибактеріальної активності ор-

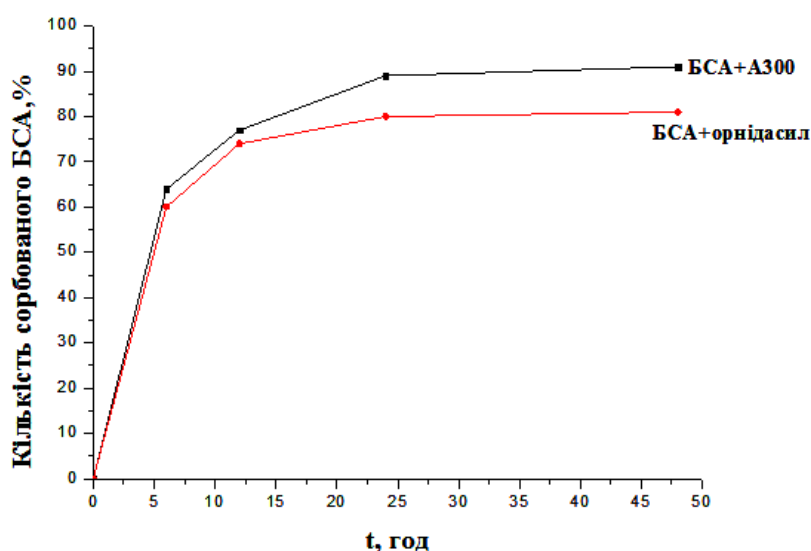


Рис. 11. Кінетика сорбції білка (%) з модельного розчину БСА вихідним та модифікованим орнідазолом кремнеземами

нідасилу (з кінцевою концентрацією активної сполуки 1%) засвідчило, що він був активним щодо грам-позитивних бактерій *Staphylococcus aureus*, позаяк вже за двогодинного контакту з орнідазолом загинуло 99,0% клітин стафілококів, та менш ефективним щодо клітин грам-негативних бактерій. Зокрема, за аналогічних умов загинуло <90% клітин штамів *Pseudomonas aeruginosa* і *Escherichia coli*. За подовження контакту бактеріальних клітин з орнідазолом до 24 год відбувалась стовідсоткова загибель клітин обох грамнегативних тест-культур бактерій, натомість підвищення антибактеріального ефекту стосовно *Staphylococcus aureus* не спостерігалось.

Таким чином, одержані нами результати свідчать про можливість успішного використання отриманих наноконкомпозитів на основі пірогенного кремнезему як препаратів пролонгованої дії для доставки орнідазолу чи інших компонентів з метою створення нових систем спрямованого і контрольованого вивільнення активної речовини.

Висновки

Методом РМЗ квантової хімії продемонстровано, що утворення адсорбційних комплексів на поверхні високодисперсного кремнезему відбувається переважно шляхом утворення водневих зв'язків між поверхневими силанольними групами та нітрогрупами орнідазолу, а надлишок води може поступово вимивати молекули орнідазолу, адсорбовані на поверхні кремнезему. Експериментально підтверджено, що вивільнення орнідазолу в модельному розчині складало близько 77% діючої речовини вже через 20 хв проведення десорбції, і в подальшому концентрація орнідазолу в розчині підтримувалась на стабільному рівні за рахунок поступового вивільнення препарату протягом 24 год.

Досліджено адсорбційну здатність створених наноконкомпозитів щодо білків та підтверджено їх здатність ефективно видаляти понад 80% БСА з модельного розчину.

Одержані результати засвідчують, що створені наноконкомпозити на основі кремнеземних матриць, модифікованих антимікробним препаратом орнідазолом, перспективні для застосування як лікувальні засоби пролонгованої дії для доставки орнідазолу в рану з метою профілактики інфекційних процесів.

Подяки

Робота підтримана грантом МОН України № 0117U004235.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Conductive polymer nanocomposites: a critical review of modern advanced devices* / Zhan C., Yu G., Lu Y., Wang L., Wujcik E., Wei S. // *J. Mater. Chem. C.* – 2017. – Vol.5. – P.1569-1585.
2. *Applications of nanotechnology for regenerative medicine; healing tissues at the nanoscale* / Yang Y., Chawla A., Zhang J., Esa A., Jang H.L., Khademhosseini A. // *Principles of Regenerative Medicine.* – 2019. – Chapter 29. – P.485-504.
3. *Engineered nanomaterials for infection control and healing acute and chronic wounds* / Parani M., Lokhande G., Singh A., Gaharwar A.K. // *ACS Appl. Mater. Interfaces.* – 2016. – Vol.8. – P.10049-10069.
4. *Cohen J., Powderly W.G., Opal S.M.* Chapter 147: nitroimidazoles, metronidazole, ornidazole and tinidazole; and fidaxomicin // *Infectious diseases.* – Elsevier, 2017.
5. *Патент* України 115228. Спосіб одержання комплексного антимікробного сорбційного препарату орнідазил для профілактики аеробної і анаеробної інфекції та лікування гнійних ран, трофічних виразок, опіків // Біляєва О.О., Голуб О.А., Кароль І.В., Нешта В.В., Крижевський Є.Є., Бродська А.П. Опубліковано 10.04.2017, Бюл.№ 7/2017
6. *Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния* / под.ред.акад. НАН України А.А.Чуйко. – К.:Наукова думка, 2003. – 416 с.
7. *Патент* 112523 (UA). Комплексний антимікробний сорбційний препарат орнідазил для профілактики аеробної і анаеробної інфекції та лікування гнійних ран, трофічних виразок, опіків // Біляєва О.О., Голуб О.А., Кароль І.В., Нешта В.В., Крижевський Є.Є., Бродська А.П. Опубліковано 26.12.2016, бюл. № 24/2016.
8. *Гребенюк А.Г., Голуб О.А.* Квантовохімічне моделювання сольватації та адсорбції орнідазолу на поверхні кремнезему // *Наукові записки НаУКМА. Природничі науки.* – 2017. – Т.197 – С.58-61.
9. *Дезінфікуюча дія перекису водню та лізоформіну на грамнегативні бактерії, які контамінують виробництва харчової промисловості* / Фуртат І.М., Нів'євська Т.В., Горбатько Л.О., Михальський Л.О. // *Магістеріум. Природничі науки (Національний університет “Кієво-Могилянська академія”).* – К.: Видавничий дім “КМ Academia”, 2004. – Вип. 16. – С.29-35.
10. *Орнідазол у лікуванні хірургічної неклостридіальної анаеробної інфекції* / Герич І.Д., Вашук В. В., Хомченко Т.В., Морозович О.М. // *Здоров'я України. (Хірургія. Ортопедія. Травматологія).* – 2013. – № 2. – С.32-33.
11. *Jones J.R.* Observing cell response to biomaterials // *Mater. Today.* – 2006. – Vol.9. – P.34-43.
12. *Vaghani S.S., Patel M.M., Satish C.S.* Synthesis and characterization of pH-sensitive hydrogel composed of carboxymethyl chitosan for colon targeted delivery of ornidazole // *Carbohydr. Res.* – 2012. – Vol.347. – P.76-82.

Надійшла до редакції 16.09.2018

PREPARATION AND PROPERTIES OF NANOCOMPOSITES BASED ON SILICA MATRIX MODIFIED WITH ANTIMICROBIAL PREPARATIONS

A.R. Gaidai ^a, P.V. Vakuliuk ^a, I.M. Furtat ^a, T.V. Murlanova ^a, N.I. Kunytsya ^a, V.A. Tertykh ^b, R.B. Kozakevych ^b, A.H. Grebeniuk ^b, A.A. Golub ^{a,*}

^a National University of Kyiv-Mohyla Academy, Kyiv, Ukraine

^b Chuiko Institute of Surface Chemistry of the NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

* e-mail: agolub@ukma.edu.ua

This work deals with the preparation of nanocomposites based on pyrogenic silicon matrix modified with ornidazole. The physical, chemical and functional properties of the synthesized nanocomposites were characterized. ¹³C and ¹H nuclear magnetic resonance and UV spectroscopies were used to study the composition of the prepared nanocomposites (i.e. ornidasils). The presence of ornidazole on the silica surface was proved using elemental analysis, liquid chromatography and high resolution mass spectrometry. Sorption kinetics of active substance and sorption capabilities of ornidasils towards pathogens and proteins was investigated. The PM3 method of quantum chemistry showed that the formation of adsorption complexes on the highly dispersed silica surface occurs due to the hydrogen bonds between the surface groups of silanol and the nitro groups of ornidazole; the water excess will gradually wash away the molecules of ornidazole adsorbed on the surface of silica. The release of ornidazole in the model solution was about 77% of the active compound after 20 min of desorption and further concentration of ornidazole in the solution was maintained at a stable level due to the gradual release of the drug which was experimentally confirmed. The expansion of antimicrobial effect of ornidazole in the nanocomposites for the gram-positive and gram-negative test cultures was established as compared with the initial active compound.

Keywords: pyrogenic silica; ornidazole; quantum-chemical modeling; desorption; nanocomposites; antimicrobial compounds; antimicrobial effect.

REFERENCES

- Zhan C., Yu G., Lu Y., Wang L., Wujcik E., Wei S. Conductive polymer nanocomposites: a critical review of modern advanced devices. *Journal of Materials Chemistry C*, 2017, vol. 5, pp. 1569-1585.
- Yang Y., Chawla A., Zhang J., Esa A., Jang H.L., Khademhosseini A. Chapter 29 - Applications of nanotechnology for regenerative medicine; healing tissues at the nanoscale. *Principles of Regenerative Medicine*, 2019, pp. 485-504. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00029-1>.
- Parani M., Lokhande G., Singh A., Gaharwar A.K. Engineered nanomaterials for infection control and healing acute and chronic wounds. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, vol. 8, pp. 10049-10069.
- Chapter 147: nitroimidazoles, metronidazole, ornidazole and tinidazole; and fidaxomicin. In: *Infectious Diseases*, Cohen J., Powderly W.G., Opal S.M. (eds.), Elsevier, 2017. Available at: <https://doi.org/10.1016/C2013-1-00044-3>
- Biliayeva O.O., Golub O.A., Karol I.V., Neshta V.V., Kryzhevskiy Y.Y., Brodska A.P., *Sposib oderzhannya kompleksnogo antymikrobnogo sorbtsiinogo preparatu ornidasyl dlya profilaktyky aerobnoyi i anaerobnoyi infektsiyi ta likuvannya hniynykh ran, trofichnykh vyrazok, opikiv* [A method for preparing a complex antimicrobial sorption preparation ornidasyl for the prevention of aerobic and anaerobic infection and treatment of purulent wounds, trophic ulcers, and burns]. Patent UA, no. 115228, 2017. (in Ukrainian).
- Chuyko A.A., *Meditinskaya khimiya i klinicheskoe primenenie dioksida kremniya* [Medical chemistry and clinical use of silicon dioxide]. Naukova Dumka, Kyiv, 2003. 416 p. (in Russian).
- Biliayeva O.O., Golub O.A., Karol I.V., Neshta V.V., Kryzhevskiy Y.Y., Brodska A.P., *Kompleksnyi antymikrobnyi sorbtsiynyi preparat ornidasyl dlya profilaktyky aerobnoyi i anaerobnoyi infektsiyi ta likuvannya hniynykh ran, trofichnykh vyrazok, opikiv* [A complex antimicrobial sorption preparation ornidasyl for the prevention of aerobic and anaerobic infection and treatment of purulent wounds, trophic ulcers, and burns]. Patent UA, no. 112523, 2016. (in Ukrainian).
- Hrebeniuk A.H., Golub A.A. Kvantovokhimichne modelyuvannya solvatatsii ta adsorbtsii ornidazolu na poverkhni kremnezemu [Quantum-chemical simulation of solvation and adsorption of ornidazole on the surface of silica] *Naukovi Zapysky NaUKMA. Pryrodnychi Nauky*, 2017, vol. 197, pp. 58-61. (in Ukrainian).
- Furtat I.M., Nivyevska T.V., Horbatko L.O., Mykhalsky L.O. Dezynfikuyucha diya perekysu vodnyu ta lizoforminu na gramnegatyvni bakterii, yaki kontaminuyut vyrobnytstva kharchovoi promyslovosti [Antimicrobial effect of hydrogen peroxide and lysoformin on gram-negative bacteria contaminating food production] *Mahisterium. Pryrodnychi Nauky (Natsionalnyi Universytet «Kyievo-Mohylianska Akademiya»)*, 2004, vol. 16, pp. 29-35. (in Ukrainian).
- Herych I.D., Vashchuk V.V., Khomchenko T.V., Morozovych O.M. Ornidazol u likuvanni khirurgichnoi neklostyrdialnoi anaerobnoi infektsii [Ornidazole in the treatment of surgical non-cluster anaerobic infection]. *Zdorovia Ukrainy. (Khirurhiya. Ortopediya. Travmatolohiya)*, 2013, no. 2, pp. 32-33. (in Ukrainian).
- Jones J.R. Observing cell response to biomaterials. *Materials Today*, 2006, vol. 9, pp. 34-43.
- Vaghani S.S., Patel M.M., Satish C.S. Synthesis and characterization of pH-sensitive hydrogel composed of carboxymethyl chitosan for colon targeted delivery of ornidazole. *Carbohydrate Research*, 2012, vol. 347, pp. 76-82.