

Получение и перспективы применения металлосодержащих биокорректоров в составе пленочных покрытий для поддержания здоровья человека

Людмила П. Лазурина, ¹	kafbht@yandex.ru
Яна В. Тихонова, ¹	Yana.Tikhonova@yandex.ru
Диана А. Алиева, ¹	DA.Alieva@yandex.ru
Людмила В. Антипова ²	meatech@yandex.ru

¹ кафедра биологической и химической технологии, Курский гос. мед. Университет, ул. Ямская, 18, г. Курск, 305033, Россия

² кафедра технологии продуктов животного происхождения, Воронеж. гос. ун-т. инж. техн., пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394066, Россия

Реферат. Актуальной проблемой координационной химии остается в настоящее время изучение смешанолигандного комплексобразования. Лиганды различной природы, входящие во внутреннюю среду комплекса, оказывают взаимное влияние, изменяя химические свойства комплексов (кислотно-основные, окислительно-восстановительные, скорость замещения лигандов во внутренней среде) и их биологическую активность. Согласно литературным данным, вопросы взаимного влияния лигандов, которое ведет к изменению реакционной способности комплексов, широко изучаются с привлечением лигандов различной природы. В последнее время резко возрос интерес к нанообъектам различной природы. Это связано с тем, что многие физические, химические и биологические свойства наночастиц значительно отличаются от аналогичных характеристик крупных (макроскопических) объектов. Цель исследования заключалась в изучении условий образования (соотношения компонентов, кислотности) в растворах смешанолигандных металлосодержащих биоконплексов меди. Проведенные исследования показали, что условия проведения синтеза оказывают значимое влияние на получение наночастиц цинка, меди и кобальта. Исследование морфологии и размеров полученных наночастиц проводили на растровом электронном микроскопе Quanta 650 FEG в режиме высокого вакуума (давление в камере от $8 \cdot 10^{-3}$ до $3 \cdot 10^{-3}$ Па). Полученные наночастицы изучаемых металлов представляют собой кангломераты частиц сложной структуры и различной формы размерами до 200 нм, а также кристаллы сферической формы размерами 40–90 нм. Показано, что комплексобразование металла с лекарственными средствами (лигандами) приводит к повышению их антимикробной активности и расширению спектра действия по сравнению с исходными лигандами. изучаемые биоконплексы являются безвредными биологически активными веществами, которые могут быть рекомендованы для дальнейшего изучения.

Ключевые слова: микроэлементы, медь, хелаты, биокорректоры, витамины

Preparation and application prospects metal containing biocorrectors as part of film coverings to maintain human health

Lyudmila P. Lazurina, ¹	kafbht@yandex.ru
Yana V. Tikhonova, ¹	Yana.Tikhonova@yandex.ru
Diana A. Alieva, ¹	DA.Alieva@yandex.ru
Lyudmila V. Antipova ²	meatech@yandex.ru

¹ biological and chemical technology department, Kursk State Medical University, Kursk, Yamskaya Str., 18, 305033, Russia

² technology of animal products department, Voronezh state university of engineering technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394066, Russia

Summary. The study of mixed-ligand complex formation is important problem of coordination chemistry currently. The ligands of different nature within the domestic environment of the complex, have a mutual influence, changing the chemical properties of complexes (acid-base, oxidation-reduction, the rate of ligand substitution in the internal environment) and their biological activity. According to the literature, the issues of mutual influence of ligands, which leads to a change in the reactivity of the complexes have been widely studied with the assistance of ligands of different nature. In recent years sharply increased interest in nanoobjects of different nature. This is due to the fact that many of the physical, chemical and biological properties of the nanoparticles significantly different characteristics from those of larger (macroscopic) objects. The aim of the study was to examine the conditions of formation (ratio of components, acidity) in solutions of mixed-metal biocomplexes copper. The studies have shown that the conditions of synthesis have significant impact on obtaining nanoparticles of zinc, copper and cobalt. The study of morphology and size of the resulting nanoparticles were performed on a scanning electron microscope Quanta FEG 650 in high vacuum (pressure in the chamber $8 \cdot 10^{-3}$ to $3 \cdot 10^{-3}$ Pa) mode. The resulting nanoparticles are studied metal particles kanglomeration complex structure of various shapes and sizes up to 200 nm, and the crystals are spherical shape sizes of 40–90 nm. It is shown that metal complexation with drugs (ligands) leads to improvement of antimicrobial activity spectrum and expansion relative to the parent ligands, the studied biocomplexes are harmless biologically active substances, which can be recommended for further study.

Keywords: micronutrients, copper, chelates, biocorrectors, vitamins

Для цитирования

Лазурина Л. П., Тихонова Я. В., Алиева Д. А., Антипова Л. В. Получение и перспективы применения металлосодержащих биокорректоров в составе пленочных покрытий для поддержания здоровья человека // Вестник ВГУИТ. 2016. № 2. С. 189–192. doi:10.20914/2310-1202-2016-2-189-192

For citation

Lazurina L. P., Tikhonova Y. V., Alieva D. A., Antipova L. V. Preparation and application prospects metal containing biocorrectors as part of film coverings to maintain human health. *Vestnik VSUET* [Proceedings of VSUET]. 2016. no. 2 pp. 189–192. (in Russ.). doi:10.20914/2310-1202-2016-2-189-192

Введение

Государственная политика в области здорового питания до 2020 года направлена на сохранение и укрепление здоровья населения, профилактику заболеваний за счёт развития производства пищевых продуктов и биологически активных добавок; разработки и внедрение в пищевую промышленность инновационных технологий, включая био- и нанотехнологии.

Наиболее распространённая причина патологических процессов в человеческом организме – избыточное накопление в организме кислородных свободных радикалов. Их вредное воздействие приводит к повреждению стенок сосудов. Мембран, окислению липидов. Такое состояние называют оксидантным стрессом [1].

Вредное воздействие свободных радикалов можно уменьшить систематическим употреблением пищевых продуктов и напитков, лекарственных растительных препаратов, биологически активных добавок, обладающих высокой антиоксидантной активностью. Наиболее известными природными антиоксидантами считались витамины Е, С и каротиноиды. Однако они не обладают достаточной активностью для эффективного применения с целью коррекции антиоксидантного статуса человека. [2].

Наряду с витаминами, огромную роль в нормальном течении биохимических процессов играют микроэлементы. В связи с тем, что неорганические формы микроэлементов менее эффективно усваиваются организмом и являются более токсичными веществами, важным является производство их органических форм, так как благодаря прочной связи хелаты не взаимодействуют с витаминами, не вызывают антогонизма в отношении других микроэлементов.

Актуальной проблемой координационной химии остаётся в настоящее время изучение смешанолигандного комплексобразования, т. е. проблема влияния лиганд. Лиганды различной природы, входящие во внутреннюю среду комплекса, оказывают взаимное влияние, изменяя химические свойства комплексов (кислотно-основные, окислительно-восстановительные, скорость замещения лигандов) и их биологическую активность. Согласно литературным данным, вопросы взаимного влияния лигандов, которое ведёт к изменению реакционной способности комплексов, широко изучаются с привлечением лигандов различной природы.

Цель исследования – изучение условий образования (соотношения компонентов, кислотности) в растворах смешанолигандных металлсодержащих биок комплексов меди.

1.1 Материалы и методы

Комплексообразование металлов в растворах изучалось методами спектро- и фотометрии, рН-потенциометрии и другими физико-химическими методами. Для установления состава комплексов использованы спектро- и фотометрические методы: изомольных серий (основан на определении оптической плотности D растворов с переменным значением CM/CL ($0-1$) при $CM+CL = \text{const}$ и $pH = \text{const}$); метод насыщения (определении D растворов с переменными значениями CL или CM при постоянстве концентраций CM или CL соответственно; $pH = \text{const}$). Измерения оптической плотности окрашенных комплексов проведены на приборе КФК-2-УХЛ 4,2 с толщиной кюветы $l = (10 \pm 0,1)$. С учётом кислотно-основных свойств выбранных лиганд, подобраны условия синтеза (pH , соотношение реагентов), получены и проанализированы их соли и установлено, что выделенные соли являются кристаллогидратами.

Были изучены реакции комплексообразования с целью разработки способов получения хелатных соединений микроэлементов.

Для получения комплексных соединений с целью в лабораторных условиях были приготовлены растворы лиганда 1 и лиганда 2 в водной и спиртовой среде и медьсодержащая соль в водной среде. При постоянном перемешивании, при температуре 60°C растворы соли и лиганда 1 медленно добавлялись к раствору лиганда 2. После выдерживания раствора при перемешивании в течение 25–30 минут образуется осадок. Последовательно выполняются стадии фильтрации, промывки и сушки.

Подтверждением образования смешанолигандных комплексов являлось увеличение и смещение в коротковолновую область максимумов полос поглощения по сравнению лигандами.

Показано, что стабильность смешанолигандных комплексов выше по сравнению с однородными комплексами, это, возможно, объясняется статистическим эффектом и взаимным влиянием лигандов.

Изучение наночастиц металлов играет большую роль в развитии современных нанотехнологий, что связано с широким спектром возможностей их практического применения, в которых используются свойства как наночастиц, так и модифицированные ими материалы. Сегодня открываются широкие перспективы для применения наночастиц металлов в других областях техники, а также в биологии и медицине.

В последнее время резко возрос интерес к нанобъектам различной природы. Это связано с тем, что многие физические, химические и биологические свойства наночастиц значительно отличаются от аналогичных характеристик крупных (макроскопических) объектов.

Один из этапов работы заключался в изучении условий химического синтеза наночастиц цинка, меди и кобальта.

Проведённые исследования показали, что условия проведения синтеза оказывают значимое влияние на получение наночастиц цинка, меди и кобальта. Исследование морфологии и размеров полученных наночастиц проводили на растровом электронном микроскопе Quanta 650 FEG в режиме высокого вакуума (давление в камере от $8 \cdot 10^{-3}$ до $3 \cdot 10^{-3}$ Па).

Установлено, что полученные наночастицы изучаемых металлов представляют собой кангломераты частиц сложной структуры и различной формы размерами от 1 до 200 мкм, а также сферической формы диаметром 40–90 нм.

Изучено влияние синтезированных биоконплексов на противомикробную активность ряда стандартных микроорганизмов.

Антибактериальную активность лиганд, их комплексных соединений с биометаллами и плёнок, приготовленных на их основе, в отношении факультативно анаэробных микроорганизмов определяли *in vitro* методом диффузии в агар [3]. В соответствии с рекомендациями ВОЗ и Государственной фармакопеей [4], для оценки активности новых биоконплексов в качестве тест-культур использовали штаммы аэробных бактерий и грибов из коллекции ГИСК имени Л.А. Тарасевича (Москва): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* 209-P, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* NCTC 2625.

Для определения минимальной подавляющей концентрации биоконплексов использовался метод серийных разведений в отношении тех же тест-культур микроорганизмов. Двукратные разведения препаратов в жидкой питательной среде проводили от 10,0 до 0,31 мг/мл. Тест-культуры вносили в объёме 0,1 мл взвеси с концентрацией 1 млрд м. т./мл.

Для индукции оценки выраженности иммунного ответа животных иммунизировали эритроцитами барана (ЭБ). ЭБ хранили при 4 °С, перед употреблением их трёхкратно отмывали

изотоническим раствором хлорида натрия и центрифугировали. Антиген вводили внутриворшинно в дозе 108 степени клеток на 1 кг массы тела. О выраженности гуморального иммунного ответа (ГИО) судили по количеству антителообразующих клеток (АОК) в селезёнке. Число АОК ЭБ устанавливали методом прямого локального гемолиза в агаре по К. Мальберг и Э. Зигль [5].

Изучена подострая токсичность, раздражающее и алергизирующее действие на кожу экспериментальных животных по методике Е. А. Иевлевой; влияние на некоторые обменные процессы в коже (уровень нуклеиновых кислот определяли по М. Н. Баранову, содержание суммарных липидов по Хуэрго, общих и растворимых белков по Д. Бейли).

Проведённые нами сравнительные исследования показали, что комплексообразование металла с лекарственными средствами (лигандами) приводит к повышению их антимикробной активности и расширению спектра действия по сравнению с исходными лигандами [6].

Установлено, что биоконплексы в отношении всех изученных тест-микробов проявляли более высокую по сравнению с лигандами антимикробную активность, так как зона задержки роста в отношении исследованных микроорганизмов значимо увеличивалось (в 2–3 раза).

Результаты эксперимента показали, что введение биоконплексов активизировало иммуномодулирующее действие лиганд на формирование гуморального иммунного ответа на эритроциты барана, о чём свидетельствовало увеличение количества антителообразующих клеток в 1,5–2 раза.

Изучение раздражающего, алергизирующего, противовоспалительного влияния новых биоконплексов на кожу экспериментальных животных; регенеративное воздействие на метаболизм нуклеиновых кислот, липидов и белков позволило сделать вывод, что они не обладали раздражающим и алергизирующим действием на кожу морских свинок в 0,1 и 0,5%-х концентрациях, не оказывали отрицательного воздействия на морфологическую структуру кожи и печени. Биоконплексы не проявляли общетоксического действия на экспериментальных животных – аппетит, привес, реактивность, подвижность, состояние кожи и шерсти не отличалось от контроля.

На основании проведённых исследований изучаемые биоконплексы являются безвредными биологически активными веществами, которые могут быть рекомендованы для дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Яшин А.Я., Черноусова Н.И. Определение содержания природных антиоксидантов в пищевых продуктах и БАДах // Пищевая промышленность. 2007. № 5. С. 28–30.
- 2 Куцов С.В., Ткачев А.Г. Определение содержания природных антиоксидантов в зерне злаковых культур // Вестник ВГТА 2010. № 3. С. 67–70.
- 3 Государственная фармакопея СССР. XI изд. М.: Медицина. 1990. 397 с.
- 4 Государственная фармакопея СССР. X изд. М.: Медицина. 1968. 1076 с.
- 5 Мальберг К., Зигль Э. Метод локального гемолиза // Иммунологические методы. 1987. С. 57–72.
- 6 Лазурина Л.П., Калущий П.В., Басарева О.И. Изучение биологической активности некоторых комплексных соединений металлов // Врач-аспирант-2010. № 3. С. 129–137.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Людмила П. Лазурина д. б. н., профессор, зав. Кафедрой, кафедра биологической и химической технологии, Курский гос. мед. Университет, ул. Ямская, 18, г. Курск, 305033, Россия, kafbht@yandex.ru

Яна В. Тихонова аспирант, кафедра биологической и химической технологии, Курский гос. мед. Университет, ул. Ямская, 18, г. Курск, 305033, Россия, Yana.Tikhonova@yandex.ru

Диана А. Алиева аспирант, кафедра биологической и химической технологии, Курский гос. мед. Университет, ул. Ямская, 18, г. Курск, 305033, Россия, DA.Alieva@yandex.ru

Людмила В. Антипова д. т. н., профессор, кафедра технологии продуктов животного происхождения, Воронеж. гос. ун-т. инж. техн., пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394066, Россия, meatech@yandex.ru

КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

Людмила П. Лазурина предложила методику проведения эксперимента и организовал производственные испытания

Яна В. Тихонова обзор литературных источников по исследуемой проблеме, провел эксперимент, выполнил расчеты

Диана А. Алиева написала рукопись, корректировала её до подачи в редакцию и несет ответственность за плагиат

Людмила В. Антипова консультация в ходе исследования

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 04.03.2016

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 01.04.2016

REFERENCES

- 1 Yashin A.Ya., Chernousova N.I. Determination of the content of natural antioxidants in food and BAA. *Pishchevaya promyshlennost'* [Food Industry] 2007, no. 5, pp. 28-30. (in Russian)
- 2 Kutsov S.V., Tkachev A.G. -The definition of the content of natural antioxidants in grain cereals. *Vestnik VGTA* [Proceedings of VSTA] 2010, no. 3, pp. 67-70. (in Russian)
- 3 Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR [The State Pharmacopoeia of the USSR. XI ed] Moscow, Meditsina, 1990, 397 p. (in Russian)
- 4 Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR [State Pharmacopoeia of the USSR. X ed.] Moscow, Meditsina, 1990, 1076 p. (in Russian)
- 5 Malberg K., Siegel E. Metod local hemolysis. *Immunologicheskie metody* [Immunological methods] 1987, pp 57-72. (in Russian)
- 6 Lazurina L.P., Kalutskii P.V., Basareva O.I. The study of the biological activity of some metal complexes. *Vrach-aspirant* [Doctor-graduate student] 2010, no. 3, pp. 129-137. (in Russian)

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Lyudmila P. Lazurina d. b sc., professor, head of department, biological and chemical technology department, Kursk State Medical University, Kursk, Yamskaya Str., 18, 305033, Russia, kafbht@yandex.ru

Yana V. Tikhonova graduate student, biological and chemical technology department, Kursk State Medical University, Kursk, Yamskaya Str., 18, 305033, Russia, Yana.Tikhonova@yandex.ru

Diana A. Alieva graduate student, biological and chemical technology department, Kursk State Medical University, Kursk, Yamskaya Str., 18, 305033, Russia, DA.Alieva@yandex.ru

Lyudmila V. Antipova d. t sc., professor, technology of animal products department, Voronezh state university of engineering technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394066, Russia, meatech@yandex.ru

CONTRIBUTION

Lyudmila P. Lazurina proposed a scheme of the experiment and organized production trials

Yana V. Tikhonova review of the literature on an investigated problem, conducted an experiment, performed computations

Diana A. Alieva wrote the manuscript, correct it before filing in editing and is responsible for plagiarism

Lyudmila V. Antipova consultation during the study

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 3.4.2016

ACCEPTED 4.1.2016