

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 544.01, 615.032

**КРИОХИМИЧЕСКОЕ ФОРМИРОВАНИЕ ГИБРИДНЫХ НАНОФОРМ
НА ОСНОВЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО
ПРЕПАРАТА ДИОКСИДИНА И СЕРЕБРА МЕТОДОМ
НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ КОНДЕНСАЦИИ ПАРОВ ИЗ ГАЗОВОЙ ФАЗЫ**

**Андрей Владимирович Соловьев¹, Софья Андреевна Громова¹,
Яна Андреевна Громова¹, Андрей Владимирович Шабатин²,
Юрий Николаевич Морозов^{1,3}, Татьяна Игоревна Шабатина^{1,3}**

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
химический факультет

² Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН

³ МГТУ им. Н.Э. Баумана, факультет фундаментальных наук

Автор, ответственный за переписку: Андрей Владимирович Соловьев,
andrei.solovev@chemistry.msu.ru

Аннотация. Методом низкотемпературной соконденсации паров антибактериального компонента диоксидина (2,3-бис-(гидроксиметил)хиноксалина 1,4-ди-N-оксида) и серебра получены гибридные лекарственные наночастицы, средний размер наночастиц диоксидина составляет 50–300 нм, размер допирующей частицы серебра составляет (15±3) нм. Образцы охарактеризованы методами ИК-, УФ-, РФЭС-спектроскопии и РФА. Показано, что гибридные наночастицы включают преимущественно безводную триклинную кристаллическую Т-фазу диоксидина и кластеры серебра. Гибридные образцы стабилизированы донорно-акцепторными взаимодействиями поверхностных атомов наночастиц серебра (НЧС) с гидроксильными группами и донорными атомами азота хиноксалинового кольца молекул диоксидина.

Ключевые слова: криохимический синтез, гибридные лекарственные наночастицы, антибактериальный препарат диоксидин, наночастицы серебра

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2024-65-5-363-371

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Программы развития Московского университета (проект № 2023-Ш05-26). Мы благодарим Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН за возможность использовать оборудование Центра коллективного пользования и Министрство науки и высшего образования РФ за поддержку.

Для цитирования: Соловьев А.В., Громова С.А., Громова Я.А., Шабатин А.В., Морозов Ю.Н., Шабатина Т.И. Криохимическое формирование гибридных наночастиц на основе антибактериального лекарственного препарата диоксидина и серебра методом низкотемпературной конденсации паров из газовой фазы // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2024. Т. 65. № 5. С. 363–371.

SCIENTIFIC ARTICLE

CRYOCHEMICAL SYNTHESIS OF HYBRID NANOFORMS BASED ON SILVER AND THE ANTIBACTERIAL DRUG SUBSTANCE DIOXIDINE**Andrey V. Soloviev¹, Sofia A. Gromova¹, Yana A. Gromova¹,
Andrey V. Shabatin², Yurii N. Morosov^{1,3}, Tatyana I. Shabatina^{1,3}**¹ Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry² A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry RAS³ Bauman Moscow State Technical University, Faculty of Fundamental Sciences**Author responsible for correspondence:** Andrey V. Soloviev,
andrei.solovev@chemistry.msu.ru

Abstract. Hybrid nanoforms based on silver and antibacterial drug dioxidine (2,3-bis-(hydroxymethyl)quinoxaline 1,4-di-N-oxide) were prepared by the method of joint co-condensation of metal and ligand vapors on a liquid nitrogen cooled surface. The samples obtained by low temperature co-condensation were characterized by FTIR-, UV-Vis and XPS-spectroscopy, TEM, SEM and powder X-ray phase analysis (XPA). It was shown that cryomodified nanoforms preferably consist of anhydrous triclinic (T-phase) crystal phase of dioxidine, the dimensions of dioxidine particles ranges from 50 to 300 nm, the average size of included silver nanoparticles is (15±3) nm. Broadening of the diffraction patterns belonging to silver shows the transition of metallic silver to the nanoscale state. The FTIR results indicate for hybrid nanoforms stabilized by donor-acceptor interactions of surface silver atoms with hydroxyl groups and with donor N-atoms of quinoxaline cycles of dioxidine molecules.

Keywords: cryochemical synthesis, hybrid nanoforms, antibacterial medication dioxidine, silver nanoparticles

Financial support. The work was supported by the Program of the Development of MSU (grant N 2023-Sch-05-26). We are also thankful for the possibility to use the equipment of the Center for Collective use of the Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, and the Russian Ministry of Science and Higher Education for the support.

For citation: Soloviev A.V., Gromova S.A., Gromova Y.A., Shabatin A.V., Morozov Yu.N., Shabatina T.I. Cryochemical Synthesis of Hybrid Nanoforms Based on Silver and the Antibacterial Drug Substance Dioxidine // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. 2024. T. 65. № 5. S. 363–371.

В настоящее время развитие рынка лекарств все больше зависит от результатов междисциплинарных исследований, не ограничивающихся стандартными способами поиска новых лекарственных молекул. Для разработки эффективных лекарственных средств, отвечающих требованиям безопасности, в дополнение к классическим методам «drug discovery» следует обратить внимание на лекарственную форму [1, 2], которая характеризуется такими параметрами, как агрегатное состояние, кристалличность и размер частиц (для твердых фаз), наличие вспомогательных веществ и т.д. Подход, предусматривающий модификацию лекарственной формы, имеет ряд преимуществ: удается повысить биоактивность

и биодоступность препарата, перейти к более удобной форме введения, снизить побочные эффекты и т.д. [3–5]. В том случае, когда структура лекарственной молекулы остается постоянной при модификации, число необходимых доклинических и клинических испытаний существенно сокращается [5].

Из множества возможных путей модификации лекарственной формы стоит выделить методы, основанные на изменении физико-химических свойств вещества без изменения химической структуры. К таким методам относятся наномодификация (уменьшение размера частиц препарата) и получение метастабильных кристаллических форм [6–10]. Эти методы позволяют повысить биодоступность, что осо-

бенно важно для малорастворимых лекарственных форм [11]. Создание гибридных систем из нескольких действующих веществ позволяет повысить их биоактивность, в том числе за счет синергии [12–15].

Создание новых лекарственных форм с объединением приведенных выше подходов необходимо в таких сферах, как онкология и борьба с микробами, поскольку все больше штаммов вырабатывает резистентность к существующим антибиотикам. В настоящее время активно исследуется метод создания композитных препаратов с наночастицами серебра как один из перспективных путей к расширению пула эффективных антибиотиков [16–18]. Показанное в ряде случаев повышение антибактериальной активности гибридных систем можно объяснить синергическим действием антибиотика и серебра, одновременно действующих на клетку бактерии по разным механизмам.

В настоящей работе были получены и исследованы гибридные наносистемы на основе наночастиц серебра (НЧС) и антибактериального препарата диоксидина, химическая структурная формула которого приведена на рис. 1. Ранее такие гибридные системы получали крио-сублимационной сушкой замороженных водных растворов, содержащих диоксидин и наночастицы серебра [19–22]. Преимущество метода низкотемпературной конденсации паров из газовой фазы заключается в возможности получать системы с малым и контролируемым размером частиц, обладающих высокой хими-

ческой активностью, а также в высокой чистоте лекарственных и гибридных образцов, получаемых в высоком вакууме без использования растворителя [23–25].

Экспериментальная часть

Формирование гибридных наносистем Ag_n – диоксидин. Формирование наноконпозигов на основе серебра с диоксидином проводили методом совместной конденсации паров лиганда диоксидина и металлического серебра на подложку, охлаждаемую до температуры жидкого азота (77–80 К). Субстанцию диоксидина, соответствующую фармакопейной статье (ФС) 42-2308-97, и пластинку серебра (99,9%) использовали без дополнительной очистки. Были проведены четыре криохимических синтеза, когда диоксидин испаряли при температуре 110 °С, серебро – при температуре 1050 (S1) и 1100 °С (S2) в течение 20–30 мин.

Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ). Микрофотографии образцов получали методом просвечивающей электронной микроскопии на электронном микроскопе «JSM 6380 LA Jeol» (Япония) при увеличении 10^5 – 10^6 .

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ). СЭМ-микрофотографии образцов регистрировали методом сканирующей электронной микроскопии с помощью электронного микроскопа «FEI QUANTA 650 FEG2» («Thermo Fisher Scientific», Хиллсборо, Орегон, США) Центра коллективного пользования Института физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН. Съёмка осуществлялась при 5–10 кВ в вакууме (10^{-4} Торр) с детектором вторичных электронов.

Рентгенофазовый анализ. Рентгенофазовый анализ образцов проводили на дифрактометре «Rigaku D/MAX-2500» (Япония) при $\text{CuK}\alpha$ -излучении ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$) в области углов 2θ от 0 до 50.

Усредненный размер НЧС был рассчитан по уширению дифракционного пика с использованием формулы Шеррера:

$$d = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta},$$

где d – средний размер микрокристаллитов, λ – длина волны рентгеновского излучения, K – безразмерный коэффициент формы частиц, равный 0,94 для сферических частиц, β – ширина рефлекса на полувысоте, θ – брэгговский угол.

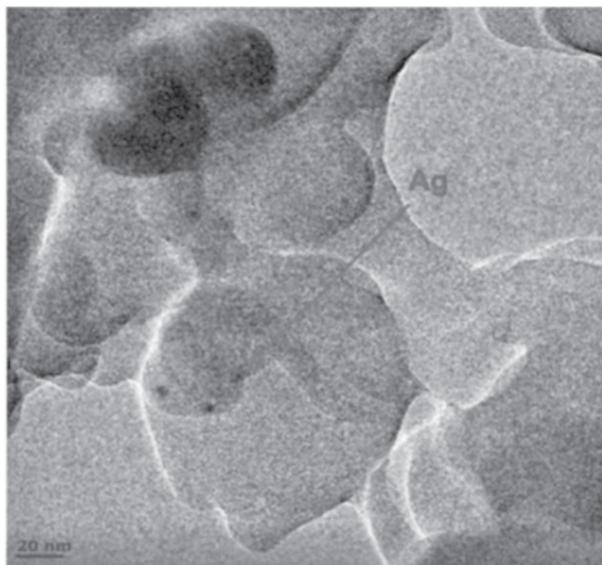


Рис. 1. Микрофотография ПЭМ гибридной наносистемы Ag_n – диоксидин

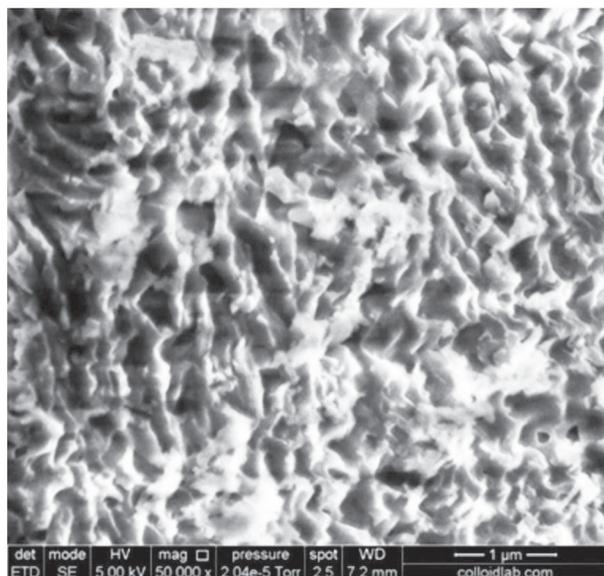


Рис. 2. Микрофотография СЭМ гибридной наносистемы Ag_n – диоксидин

Квантово-химические расчеты. Методом функционала плотности (DFT) были рассчитаны структуры малых кластеров серебра (Ag_n , $n = 2, 3, 13$) и их комплексы с диоксидином. Расчеты проводили совместно с канд. хим. наук А.Ю. Ермиловым (НИЛ квантовой химии и молекулярного моделирования кафедры физической химии химического факультета МГУ).

ИК-спектроскопия. ИК-спектры полученных твердых образцов регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре «Tensor II» («Brucker», Германия) в интервале частот колебаний

$400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$ при комнатной температуре с использованием сменного модуля нарушенного полного внутреннего отражения Eco-ATR с кристаллом ZnSe.

Результаты и их обсуждение

Методом криохимического синтеза, основанного на совместной конденсации паров лекарственного вещества диоксидина и серебра на подложку криохимического реактора, охлаждаемую жидким азотом, была получена гибридная наносистема Ag_n – диоксидин.

Анализ ПЭМ микрофотографий (рис. 1) показывает, что полученные образцы представляют собой частицы криомодифицированного диоксидина размером от 50 до 350 нм, внутри которых и на их поверхности локализованы НЧС с средним размером (15 ± 3) нм.

Данные ПЭМ подтверждают сведения о размере наночастиц диоксидина, полученные методом тепловой десорбции аргона. На микрофотографии СЭМ (рис. 2) визуализируются сростки отдельных наночастиц диоксидина размером 50–300 нм,

Методом РФА были получены рентгенограммы гибридной наносистемы Ag_n – диоксидин (рис. 3). Расчет межплоскостных расстояний в области больших углов при $2\theta = 38$ град. и $2\theta = 45$ град. показал, что они могут быть отнесены к рефлексам кластеров серебра, полностью совпадают с межплоскостными расстояниями ГЦК решетки и идентифицированы как

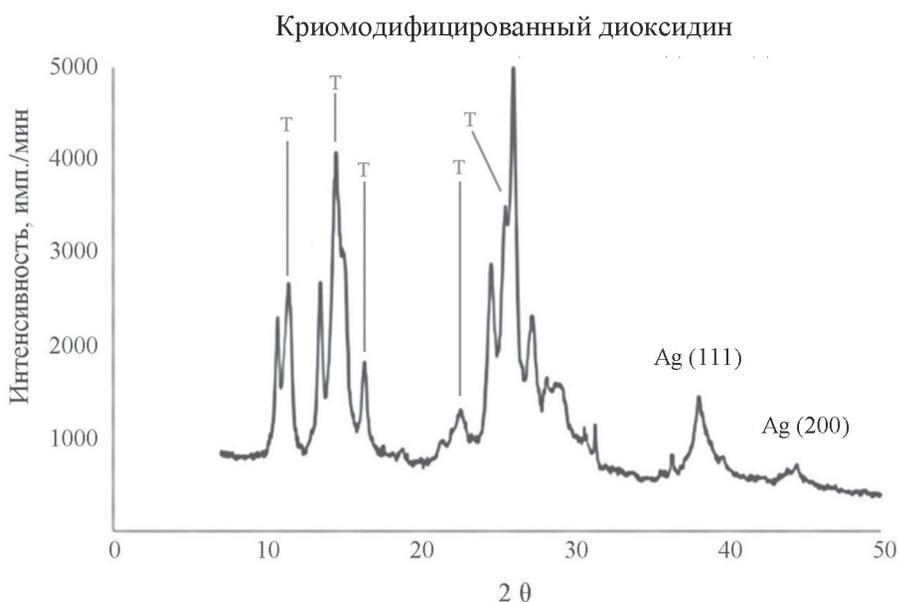


Рис. 3. Рентгенограмма гибридной наносистемы Ag_n – диоксидин

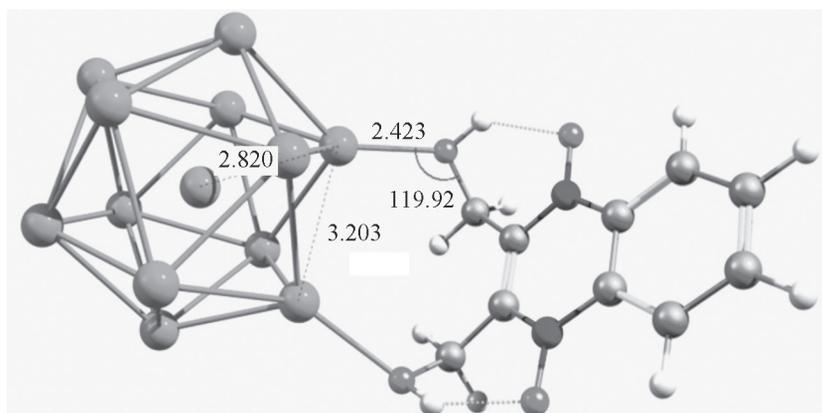


Рис. 4. Структура координационного комплекса Ag_{13} – диоксидин

кристаллографические плоскости серебра с индексами Миллера (111) и (200). Уширение этих рефлексов подтверждает образование в системе наноразмерных кластеров серебра. По формуле

Шеррера был оценен средний размер наночастиц серебра, он составил (15 ± 3) нм.

В области углов от 10 до 32 град. находятся рефлексы криомодифицированного диоксидина

Таблица 1

Структурные параметры и энергии стабилизации донорно-акцепторных комплексов диоксидина с кластерами серебра (Ag , Ag_2 , Ag_3 , Ag_{13})

| Комплекс | Тип координации | Длина связи, Å | Валентный угол (град.) | Энергия стабилизации ккал/моль |
|-----------------------|--|---|------------------------|--------------------------------|
| Ag – диоксидин | металл координирован к неподеленной электронной паре кислорода из OH-группы | расстояние $Ag-O$ достигает 2,6 Å, что больше типичной длины связи $Ag-O$ (приблизительно 2 Å) | $C-O-Ag$ (~117) | 4,7 |
| Ag_2 – диоксидин | концевой атом кластера координируется лишь к одному атому кислорода из OH-группы | расстояние $Ag-O$ достигает 2,401 Å, расстояние $Ag-Ag$ достигает 2,593 Å (чуть меньше, чем в свободном димере) | $C-O-Ag$ (~119) | 10,6 |
| Ag_3 – диоксидин | кластер координируется сразу к двум атомам кислорода OH-групп | длина связи $Ag-O$ составляет 2,268 Å, расстояния $Ag-Ag$ составляют 2,704 и 2,769 Å | $C-O-Ag$ (~111,36) | 15,7 |
| Ag_{13} – диоксидин | Икосаэдр искажен мало, координируется сразу к двум атомам кислорода OH-групп | длина связи $Ag-O$ составляет 2,423 Å, а расстояние $Ag-Ag$ достигает 3,2 Å | $C-O-Ag$ (~119,92) | 18,8 |

(рис. 3). Согласно проведенным ранее кристаллографическим исследованиям [26], обнаруженные рефлексы могут быть отнесены к образованию безводной триклинной модификации диоксида.

Методом DFT были оптимизированы и рассчитаны структуры кластеров серебра Ag_n ($n = 2, 3, 13$) в системе и их комплексы с диоксидом. Самым устойчивым является кластер Ag_{13} , о чем свидетельствует наибольшая энергия связи Ag–Ag. На основании расчетных данных можно сделать вывод, что самым устойчивым является комплекс с икосаэдрическим кластером серебра

(рис. 4, табл. 1). Тенденции в строении комплексов сильно отличаются от тех, что наблюдаются в системах, где атом металла замещает атом водорода в спиртовой группе диоксида.

ИК-спектры исходного диоксида и гибридной наносистемы Ag_n – диоксидин представлены на рис. 5, а сдвиги характеристических частот колебаний отдельных функциональных групп молекулы диоксида – в табл. 2.

Характеристические частоты колебаний всех функциональных групп отнесены на основании данных электронной библиотеки NIST. В спектре исходного образца диоксида (моногидрат

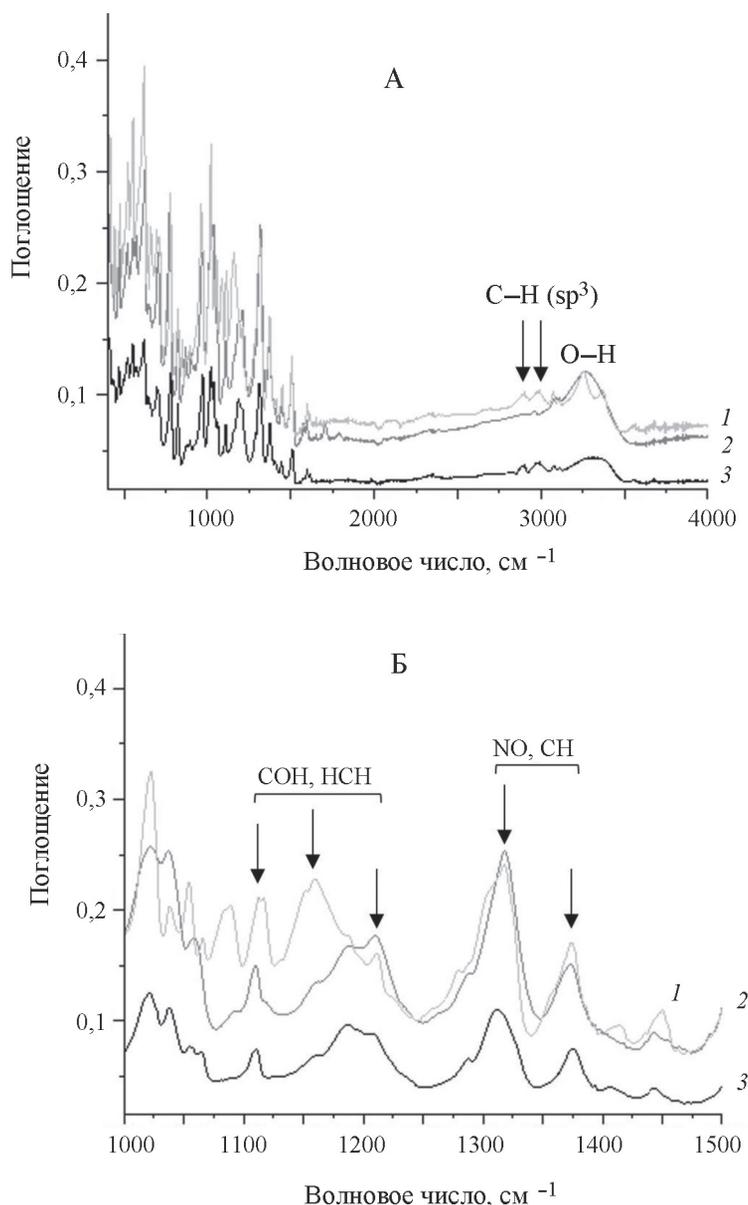


Рис. 5. А – ИК-спектры исходного диоксида и гибридной наносистемы Диоксидин – Ag_n ; Б – фрагмент ИК-спектра образцов диоксида (1 – фармацевтический диоксидин, 2 – наноформы диоксида (Т форма), 3 – гибридные наноконпозиты диоксида с серебром)

Т а б л и ц а 2

Характеристические частоты колебаний исходного диоксилина и гибридной системы Ag_n – диоксидин

| Характеристические колебания | Диоксидин исходный | Диоксидин (Т-форма) | Ag_n – диоксидин |
|------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| hinox | 1 506 | 1 505 | 1 510 |
| hinox | 1 450 | 1 443 | 1 444 |
| NO–CH | 1 374 | 1 373 | 1 376 |
| NO–CH | 1 318 | 1 318 | 1 312 |
| COH–HCH | 1 280 | 1 289 | 1 288 |
| COH–HCH | 1 212 | 1 210 | 1 208 |
| COH–HCH | – | 1 189 | 1 187 |
| COH–HCH | 1 159 | 1 162 | 1 164 |
| COH–HCH | 1 113 | 1 110 | 1 110 |
| C–O | 1 055 | 1 057 | 1 056 |
| C–O | 1 038 | 1 037 | 1 038 |
| C–O | 1 023 | 1 022 | 1 021 |
| COH–HCH | 971 | 971 | 972 |
| hinox | 823 | 824 | 824 |
| CH | 779 | 775 | 779 |

1:1) в области от 3550 до 3251 см^{-1} идентифицируются полосы, соответствующие колебаниям межмолекулярных и внутримолекулярных водородных связей –ОН-групп. В спектре гибридной наносистемы Ag_n – диоксидин наблюдается уширение и уменьшение интенсивности исходных полос характеристических колебаний гидроксильных групп диоксилина, что может быть связано как с увеличением вклада безводной триклинной кристаллографической модификации диоксилина, так и с координационным взаимодействием гидроксильных групп с поверхностными центрами кластеров серебра.

Наблюдаются сдвиги частот характеристических колебаний некоторых других функциональных групп: для хиноксалинового кольца в исходном образце диоксилина – 1443 см^{-1} , в полученном криохимически образце гибридной наносистемы Ag_n – диоксидин сдвиги составляют 1450 см^{-1} , для СН-групп в исходном образце диоксилина – 1159 см^{-1} , в полученном образце гибридной наносистемы – 1170 см^{-1} . Взаимодействие кластеров серебра с донорными группами диоксилина приводит к смещению характеристических частот колебаний хинокса-

линового кольца в область больших частот, что говорит о возможном образовании донорно-акцепторных взаимодействий между атомами N-гетероцикла молекулы диоксилина и поверхностными атомами кластеров серебра.

Таким образом, в представленной работе впервые было осуществлено формирование гибридной наносистемы Ag_n – диоксидин, методом совместной соконденсации паров лекарственного вещества диоксилина и металлического серебра на подложку криохимического реактора, охлаждаемую жидким азотом. Размер органических частиц диоксилина лежит в диапазоне 50–350 нм, средний размер наночастиц серебра (НЧС) составил (15±3) нм. Методом ИК-спектроскопии для гибридной наносистемы на основе диоксилина, допированной наночастицами серебра, показано наличие координационных донорно-акцепторных взаимодействий между поверхностными центрами нанокластеров серебра и гидроксильными группами молекулы диоксилина, а также атомами азота хиноксалинового кольца, стабилизирующими полученные наночастицы гибридной наносистемы Ag_n – диоксидин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Rolain J.M., Abat C., Jimeno M.T., Fournier P.E., Raoult D. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2016. Vol. 22, P. 408.
- Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A., et al. // *Lancet. Infect. Dis.* 2018. Vol. 18. P. 318.
- Синтез и функциональные свойства гибридных наночастиц биактивных и лекарственных веществ / Под ред. М.Я. Мельников, Л.И. Трахтенберг. М., 2019. 384 с.
- Van Norman G.A. // *JACC Basic Transl. Sci.* 2016. Vol. 1. P. 170.
- Kaur J., Aggarwal G., Singh G., Rana A.C. // *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2012. Vol. 4. P. 47.
- Eisenstein E.L., Collins R., Cracknell B.S., et al. // *Clin. Trials.* 2008. N 5. P. 75.
- Farjadian F., Ghasemi A., Gohari O., Roointan A., Karimi M., Hamblin M.R. // *Nanomed.* 2019. Vol. 14. P. 93.
- Madheswaran T., Kandasamy M., Bose R.J., Karuppagounder V. // *Drug. Discov. Tod.* 2019. Vol. 24. P. 1405.
- Raza K., Kumar P., Ratan S., Malik R., Arora S. // *Pharm. & Pharm. Sci.* 2014. Vol. 1 (2). P. 10.
- Guranda D.T., Gil'deeva G.N. Preparation of drug polymorphs (a review). // *Pharm. Chem. J.* 2010. Vol. 44 (5). P. 254.
- Kumar A., Chauhan J., Dubey K. D., Sen S., Munshi P. Tuning Potency of Bioactive Molecules via Polymorphic Modifications: A Case Study. // *Mol. Pharm.* 2022. Vol. 19. P. 1008.
- Li L., Yin X.H., Diao K.S. // *ACS Omega.* 2020. Vol. 5. P. 26245.
- Richardson L.A. // *PLoS Biol.* 2017. Vol. 15 (8): e2003775, P. 2.
- Vernaya O.I., Shabatin V.P., Nuzhdina A.V. // *Russ. Chem. Bull.* 2017. Vol. 66. P. 2152.
- Li P., et al. // *Nanotechnology* 2005. N. 16. P. 1912.
- Smekalova, M., et al. // *Vet. J.*, 2016, N 209. P. 174.
- Kim T., Zhang Q., Zhang L., Jokerst J.V. // *ACS Nano.* 2018. N 12. P. 5615.
- Ranpariya B., Salunke G., et al. // *Frontiers in Microbiology.* 2021. N 11. P. 1.
- Datta P., Gupta V. // *Indian J. Med. Res.* 2019. N 149. P. 97.
- Шабатина Т.И., Верная О.И., Нуждина А.В., Шабатин В.П., Семенов А.М., Мельников М.Я. // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия.* 2019. Т. 93. № 3. С. 1569.
- Верная О.И., Шабатин В.П., Семенов А.М. и др. // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия.* 2016. Т. 57. № 5. С. 315.
- Верная О.И., Шабатин В.П., Хватов Д.И. и др. // *Журн. физ. химии.* 2017. Т. 91. № 2. С. 230.
- Shabatina T.I., Vernaya O.I., Shabatin V.P. // *Crystals.* 2018. Vol. 8. № 7. P. 298
- Сергеев Г.Б. *Нанохимия.* М., 2007. 332 с.
- Сергеев Г.Б. // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия.* 1999. Т. 40. № 5. С. 312.
- Shabatina T.I., Vernaya O.I., Shabatin V.P. // *Crystals.* 2018. Vol. 8. P. 29.

Информация об авторах

Андрей Владимирович Соловьев – аспирант кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (andrei.solovev@chemistry.msu.ru);

Софья Андреевна Громова – студентка химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (sofya.gromova.2004@mail.ru);

Яна Андреевна Громова – науч. сотр. кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук. (chemyaninka@mail.ru);

Андрей Владимирович Шабатин – науч. сотр. Института физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской академии наук, канд. физ.-матем. наук (5dr.on5@mail.ru);

Юрий Николаевич Морозов – ст. науч. сотр. кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, доцент кафедры химии факультета фундаментальных наук МГТУ им. Н.Э. Баумана, канд. хим. наук. (yunmor@mail.ru);

Татьяна Игоревна Шабатина – зав. лабораторией химии низких температур, вед. науч. сотр. химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, профессор кафедры химии факультета фундаментальных наук МГТУ им. Н.Э. Баумана, доктор хим. наук (tatyashabatina@yandex.ru).

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

Статья поступила в редакцию 16.08.2023;
одобрена после рецензирования 16.08.2023;
принята к публикации 16.08.2023.