

**МОРФОЛОГИЯ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА  
КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТИДА И КОМПЛЕКСА  
МАРГАНЦА(III) С ТЕТРАФЕНИЛПОРФИРИНОМ**

© 2020 г. Ю. В. Тертышная<sup>1\*</sup>, А. В. Лобанов<sup>2</sup>, А. В. Хватов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова  
Российской академии наук, Москва, Россия

\*E-mail: moraxella@bk.ru

Поступила в редакцию 21.10.2019;

после доработки 19.11.2019;

принята в печать 20.11.2019

Получены пленочные образцы композиционного материала на основе полилактида (ПЛА) и комплекса марганца(III) с тетрафенилпорфирином с содержанием 0.1–2 мас.%. Методом спектроскопии показано, что этот комплекс распределен в матрице ПЛА в виде микровключений. Определено, что введение металлокомплекса порфирина изменяет температуру стеклования и плавления полилактида на 1–2°C и увеличивает степень кристалличности на 4–5%. Установлено, что температура, соответствующая максимуму пика деструкции композитов, на 2–7°C ниже по сравнению с чистым ПЛА. Показан антибактериальный эффект полученных композитов в отношении бактерий *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* и *Escherichia coli*.

*Ключевые слова:* полилактид, металлокомплекс порфирина, степень кристалличности, антибактериальные свойства, композиты.

DOI: 10.31857/S0207401X20110138

**ВВЕДЕНИЕ**

Получение композитов на основе полимеров и биологически активных соединений является активно развивающейся областью супрамолекулярной химии и направлено на синтез частиц различных размеров, формы и химического состава с улучшенными или новыми свойствами по сравнению с мономолекулярными аналогами [1]. Комплексы марганца – это катализаторы автоокисления ряда биогенных восстановителей и их аналогов, например аскорбиновой кислоты, убихинона и цистеина. В этом процессе происходит промежуточное образование активных форм кислорода – супероксид анион-радикала, пероксидного и гидроксильного радикалов, пероксида водорода. Комплексы переходных металлов эффективно генерируют активные формы кислорода и свободные радикалы [2–5], цитостатическая и другая биологическая активность которых хорошо известна [6]. Такие радикальные и ион-радикальные частицы вызывают окислительные деструктивные реакции, в том числе расщепление нуклеиновых кислот.

Металлокомплексы порфиринов представляются перспективными еще и потому, что, с одной стороны, в них удается стабилизировать степень

окисления +3 для большинства катионов переходных металлов, а с другой – сами по себе порфириновые макроциклы в меньшей степени, по сравнению с фталоцианиновыми макроциклами, склонны к агрегации по причине их сравнительно меньшей гидрофобности. Авторы работы [7] исследовали возможность применения комплексов железа с тетрафенилпорфирином (FeC<sub>17</sub>ФП) и его полимерной формы в качестве противоопухолевых средств. Полимерная матрица представляла собой сополимер молочной и гликолевой кислот. Определено, что полимерные частицы, содержащие FeC<sub>17</sub>ФП, проявляют высокую цитотоксическую активность.

В работе [8] изучали структурные особенности нетканого волокна из поли-3-гидроксибутирата (ПГБ) и порфиринового комплекса цинка. Показано, что при введении комплекса цинка с тетрафенилпорфирином (ZnC<sub>17</sub>ФП) в количестве до 5 мас.% степень кристалличности ПГБ увеличивается.

В настоящей работе объектом исследования служили композиты биоразлагаемого полимера – полилактида (ПЛА) с различной концентрацией металлокомплекса порфиринового ряда – Mn(III)C<sub>17</sub>-тетрафенилпорфирина (MnC<sub>17</sub>ФП).

Полилактид – широко известный термопластичный полиэфир, получаемый из возобновляемого растительного сырья [9, 10]. Он легко подвергается гидролизу, при этом не нуждается в присутствии ферментов, чтобы катализировать процесс [11–13], а также обладает уникальными свойствами: биосовместимостью и способностью к разрушению в окружающей среде без образования токсичных веществ [14, 15]. Полилактид применяется в упаковочной и косметической промышленности, также он прочно вышел на рынок биосовместимых медицинских изделий [16–19]. Однако в настоящее время композиционные материалы на основе ПЛА и металлокомплексов порфирина изучены недостаточно.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Получение образцов

L-Полилактид марки 4032D компании Nature Works (США) с молекулярной массой  $1.9 \cdot 10^5$  и плотностью  $1.24 \text{ г/см}^3$  был выбран для получения пленочных композиционных материалов на основе ПЛА и комплекса марганца(III) с тетрафенилпорфирином с содержанием 0.1–2 мас.%. Концентрация ПЛА в растворе хлороформа составляла 5 мас.%. Конечные растворы ПЛА и MnClTPP наливали в чашки Петри и оставляли при  $T = (22 \pm 2)^\circ\text{C}$  на 48 ч, затем помещали в сушильный шкаф при  $T = (35 \pm 2)^\circ\text{C}$  и выдерживали еще 3 ч.

### Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК)

Теплофизические характеристики исследуемых образцов определяли на приборе DSC 204 F1 (Netzsch, Германия). Скорость сканирования составляла 10 град/мин, навеску варьировали в пределах 5–6 мг, калибровку осуществляли по индию с температурой плавления  $T_{\text{пл}} = 156.6^\circ\text{C}$ . Точность измерения  $T_{\text{пл}}$  равна  $0.1^\circ\text{C}$ .

Величину степени кристалличности  $\alpha_{\text{кр}}$  рассчитывали по формуле

$$\alpha_{\text{кр}} (\%) = 100 \Delta H_{\text{пл}} / \Delta H_{\text{пл}}^*, \quad (1)$$

где  $\Delta H_{\text{пл}}^* = 93.1 \text{ Дж/г}$  – теплота плавления идеального кристалла ПЛА [20].

### Термогравиметрический анализ (ТГА)

Термогравиметрический анализ образцов на воздухе проводили на термоаналитических весах TG 209 F1 (Netzsch, Германия) при скорости нагрева 20 град/мин. Кривые деривативной термогравиметрии (ДГТ) получали путем определения первой производной от ТГ-кривых.

### Электронная спектроскопия

Электронные абсорбционные спектры полученных композитов различного состава регистрировали с помощью спектрофотометра DR/4000V (HACH-Lange, США) в диапазоне длин волн  $\lambda = 320\text{--}800 \text{ нм}$ . Для регистрации спектра был взят образец пленочного полимерного композита размером  $2 \times 2 \text{ см}^2$  и закреплен в кюветном отделении спектрофотометра в плоскости, перпендикулярной направлению светового потока.

### Бактериальный тест

Биоцидную (антибактериальную) активность определяли методом диффузии в агар, содержащий тест-культуру, по замеру диаметра зон задержки роста бактерий. В опытах с материалами с различным содержанием металлокомплекса использовали тест-культуры *Staphylococcus aureus* P209 (золотистый стафилококк), *Salmonella typhimurium* (сальмонеллу) и *Escherichia coli* 1257 (кишечную палочку). Тест-культуры микроорганизмов пересеивали на скошенный мясо-пептонный агар и инкубировали в течение 17–18 ч при  $37^\circ\text{C}$ . Затем в физиологическом растворе готовили суспензию каждого микроорганизма и устанавливали концентрацию микробных клеток (м.к) по стандарту мутности:  $10^4 \text{ м.к/мл}$ . В стерильные чашки Петри помещали образцы полимерного материала (контрольные и опытные) размером  $10 \times 10 \text{ мм}^2$ . По поверхности испытуемого материала распределяли 1 мл суспензии тест-культуры и выдерживали при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем в чашку наливали 9 мл стерильного физиологического раствора и выдерживали в течение 10–15 мин для элюирования тест-культуры с пленочных образцов. По истечении экспозиции материал из чашек в количестве 100 мкл высевали на поверхность мясо-пептонного агара, разлитого предварительно в чашки Петри. Посевы инкубировали в течение 14–48 ч при  $37^\circ\text{C}$ . В качестве контрольных служили образцы полимерного материала, не содержащего металлокомплекс порфирина. Параллельно проводили высеивание используемых в опыте суспензий тест-культур для контроля концентрации жизнеспособных микроорганизмов. Затем производили подсчет выросших на поверхности агара колоний жизнеспособных микроорганизмов. Анализ выполняли в шести параллельных опытах (уровень статистической значимости  $p < 0.05$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что термические методы анализа позволяют определить температуры фазовых переходов исследуемых полимеров, а также рассчитать их теплоту плавления и степень кристалличности, изучить процесс термического распада полиме-

ров и их композиций. Ниже приведены результаты исследований, полученные методом ДСК и ТГА.

В табл. 1 представлены теплофизические характеристики образцов, а на рис. 1 – их термограммы плавления, полученные методом ДСК. Можно видеть, что различное содержание ТФП в композициях изменяет  $T_{пл}$  и  $T_c$  ПЛА на 1–2 °С. Степень кристалличности при этом возрастает: так, наличие 1.5–2.0 мас. % МнСІТФП увеличивает степень кристалличности матрицы полилактида на 4–5% по сравнению с чистым ПЛА. Известно, что в небольших количествах низкомолекулярные добавки могут выступать в роли пластификатора, увеличивать сегментарную подвижность полимера и тем самым облегчать процесс кристаллизации, что может приводить к увеличению степени кристалличности полимерной матрицы [21]. Вероятно, в исследуемых композициях наблюдается подобный эффект, и значения степени кристалличности ПЛА повышаются. Можно также предположить наличие гетерогенного зародышеобразования, когда комплекс МнСІТФП выступает в роли агента нуклеации, но в этом случае, как правило, повышение степени кристалличности более значимо, а также требуется тщательное изучение процесса изотермической кристаллизации [22].

На рис. 2 и 3 приведены термограммы ТГА и ДТГ, соответственно, исходя из которых можно заключить, что присутствие МнСІТФП не влияет на закономерности термодеструкции матрицы ПЛА, а только смещает пик температурного максимума термического распада в область более низких температур. Так, при содержании комплекса МнСІТФП в количестве 0.5 мас. % и более, температура деструкции снижается на 5–7 °С.

Для изучения морфологических особенностей композитов ПЛА–МнСІТФП был использован метод спектрофотометрии. На рис. 4 представлены электронные спектры композитов, характеризующиеся поглощением в видимой области 470–480 нм, относящимся к полосе Соре порфирина. Уширенная форма данной полосы позволяет сделать вывод о существовании в композите областей локального концентрирования металлокомплекса. Этот вывод подтверждает отклонение от закона Бугера–Ламберта–Бера, т.е. от прямо пропорциональной зависимости между поглощением раствора и его концентрацией (см. вставку на рис. 4). В то же время образования молекулярных агрегатов, имеющих собственные полосы поглощения, не наблюдается, т.е. тетрафенилпорфирин распределен в матрице ПЛА в виде микровключений. Подобный эффект авторы работы [23] наблюдали при исследовании композитов полилактида с железосодержащим комплексом тетрафенилпорфирина. Данный факт существен с точки зрения практического использования пленочных композиционных материалов на основе порфиринов для

Таблица 1. Теплофизические характеристики композиций ПЛА–МнСІТФП различных составов

Содержание МнСІТФП, мас. %	$T_c$ , °С	$T_{пл}$ , °С	$\Delta H_{пл}$ , Дж/г	$\alpha_{кр}$ , %
0	60	167	38.2	41
0.1	58	165	39.1	42
0.5	60	165	39.1	42
1.0	60	167	41.9	45
1.5	61	168	42.8	46
2.0	60	166	41.9	45

Примечание:  $T_c$  и  $T_{пл}$  – температуры стеклования и плавления ПЛА.

биомедицины, поскольку каталитической активностью в образовании реакционноспособных радикальных форм кислорода обладают комплексы переходных металлов в мономолекулярной форме, тогда как агрегаты порфиринов малоактивны [24].

Антибактериальную активность полученных образцов ПЛА–МнСІТФП исследовали с помощью тест-культур различных микроорганизмов. Кишечная палочка – представитель нормальной микрофлоры кишечника человека, но некоторые ее штаммы способны в определенных условиях вызывать заболевания желудочно-кишечного тракта. Стафилококки распространены в почве, воздухе и являются представителями нормальной

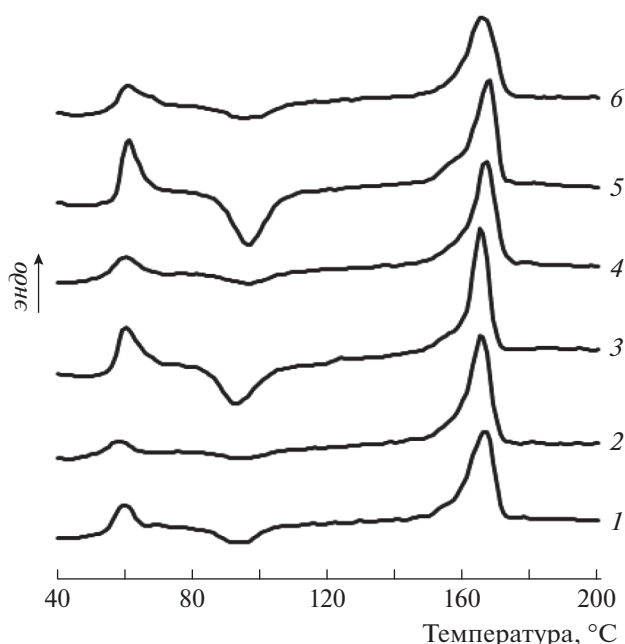
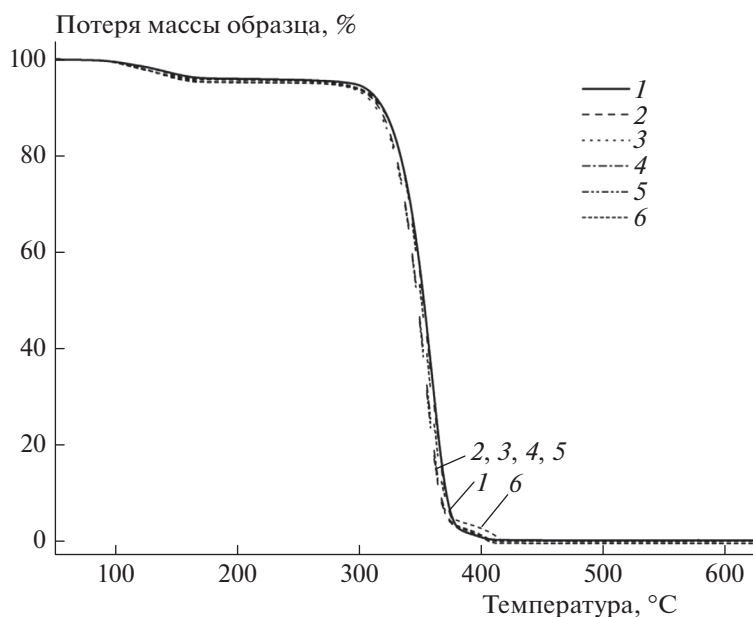


Рис. 1. Термограммы плавления образцов ПЛА (1) и ПЛА–МнСІТФП с содержанием МнСІТФП 0.1 (2), 0.5 (3), 1.0 (4), 1.5 (5) и 2.0 мас. % (6).



**Рис. 2.** Зависимость потери массы от температуры для образцов ПЛА (1) и ПЛА–МnCITФП с содержанием МnCITФП 0.1 (2), 0.5 (3), 1.0 (4), 1.5 (5) и 2.0 мас.% (6).

микрофлоры человека. Патогенные и условно-патогенные стафилококки обычно колонизируют носовые ходы и брюшную полость. При повреждениях кожи и слизистых оболочек стафилококки проникают в глубь организма и способны поражать практически любые ткани и органы. Бактерия *Salmonella typhimurium* способна вызвать острое инфекционное заболевание.

Результаты бактериологического исследования приведены в табл. 2. Согласно проведенному эксперименту антибактериальный эффект силь-

нее проявляется в композициях с содержанием МnCITФП 1.5 и 2.0 мас.%. Следует отметить, что антибактериальный эффект МnCITФП также был обнаружен в работе [25] при введении металлокомплекса порфирина в матрицу нетканого волокнистого материала поли-3-гидроксibuтирата, что подтверждает целесообразность создания биомедицинских материалов на основе биоразлагаемых полимеров и металлокомплексов порфиринов, активных в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов.

**Таблица 2.** Жизнеспособность культур микроорганизмов на полимерном материале ПЛА–МnCITФП

Наименование тест-культуры	Количество жизнеспособных микроорганизмов, КОЕ/мл		
	исходная тест-культура	опытный образец	контрольный образец
Содержание МnCITФП равно 0.5 мас.%			
<i>S. aureus</i> p 209	$2.1 \cdot 10^4$	$1.8 \cdot 10^3$	$7.4 \cdot 10^3$
<i>E. coli</i> 1257	$1.8 \cdot 10^4$	$<1 \cdot 10^2$	$9.1 \cdot 10^3$
<i>S. typhimurium</i>	$2.2 \cdot 10^4$	$1.3 \cdot 10^3$	$6.2 \cdot 10^3$
1.5 мас.%			
<i>S. aureus</i> p 209	$2.0 \cdot 10^4$	$1.6 \cdot 10^3$	$7.1 \cdot 10^3$
<i>E. coli</i> 1257	$1.8 \cdot 10^4$	$<1 \cdot 10^2$	$8.8 \cdot 10^3$
<i>S. typhimurium</i>	$2.0 \cdot 10^4$	$1.0 \cdot 10^3$	$6.4 \cdot 10^3$
2.0 мас.%			
<i>S. aureus</i> p 209	$2.0 \cdot 10^4$	$1.3 \cdot 10^3$	$7.2 \cdot 10^3$
<i>E. coli</i> 1257	$1.8 \cdot 10^4$	$<1 \cdot 10^2$	$8.3 \cdot 10^3$
<i>S. typhimurium</i>	$2.2 \cdot 10^4$	$1.0 \cdot 10^3$	$6.1 \cdot 10^3$

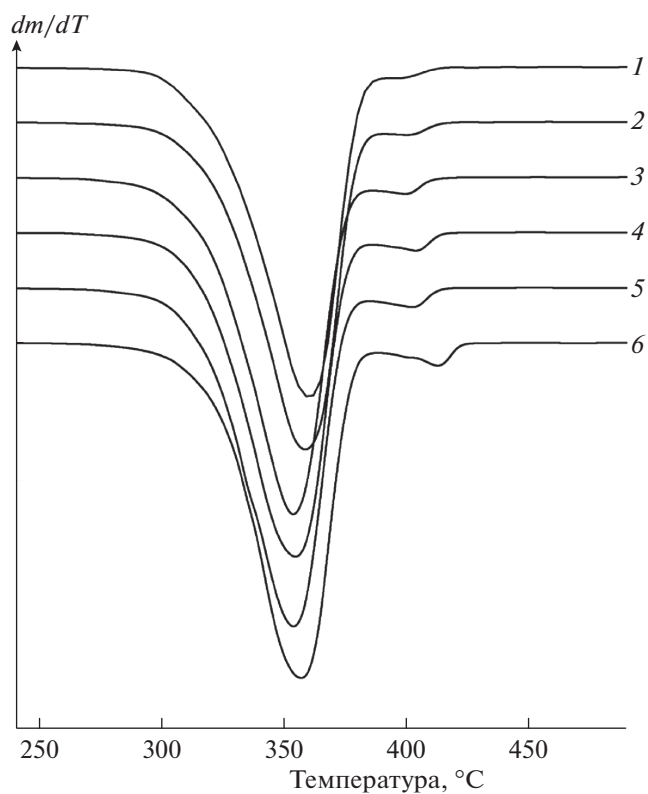


Рис. 3. Кривые ДТГ для образцов ПЛА (1) и ПЛА–MnClTPП с содержанием MnClTPП 0.1 (2), 0.5 (3), 1.0 (4), 1.5 (5) и 2.0 мас. % (6).

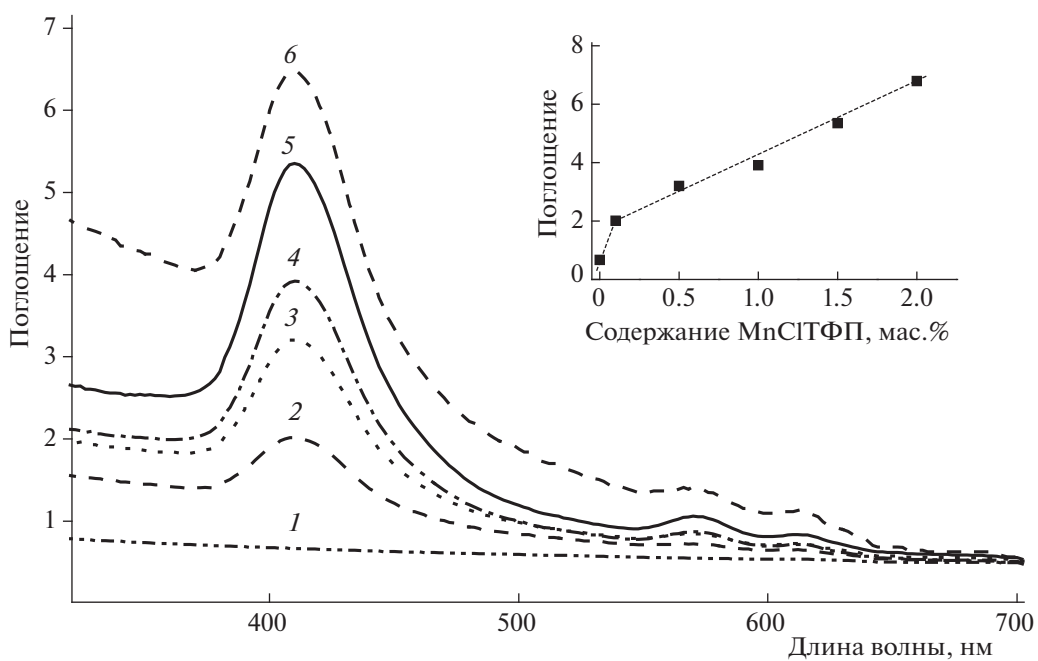


Рис. 4. Электронные спектры поглощения образцов ПЛА (1) и ПЛА–MnClTPП с содержанием MnClTPП 0.1 (2), 0.5 (3), 1.0 (4), 1.5 (5) и 2.0 мас. % (6). На вставке – зависимость поглощения от содержания MnClTPП в образцах ПЛА.

## ВЫВОДЫ

1. В работе показано, что присутствие в композициях MnClTPP в количестве 1.5–2.0 мас.% приводит к увеличению степени кристалличности ПЛА на 4–5%.

2. Определено, что температура максимума пика деструкции композитов ПЛА–MnClTPP на 2–7 °С ниже по сравнению с чистым ПЛА.

3. Методом спектrophотометрии показано, что MnClTPP распределен в матрице ПЛА в виде фазовых включений.

4. Тест на биоцидную активность подтвердил антибактериальные свойства полученных композитов, антибактериальный эффект у которых усиливается с увеличением содержания тетрафенилпорфирина. Эти данные указывают на прикладную значимость полученных результатов.

Работа выполнена с использованием приборов Центра коллективного пользования (ЦКП ИБХФ РАН) “Новые материалы и технологии”.

Работа выполнена согласно госзаданию № 1201253305 по теме 44.3 “Полимерное материаловедение: кинетика и механизмы химических и физических процессов в полимерах, композитах и биологических системах”.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Губарев Ю.А., Лебедева Н.Ш., Голубев С.Н. и др. // Макрогетероциклы. 2013. Т. 6. № 1. С. 106; <https://doi.org/10.6060/mhc120986g>
2. Vatinic-Haberle I., Rajic Z., Tovmasyan A. et al. // Free Radical Biol. Med. 2011. V. 51. № 5. 1035.
3. Лобанов А.В., Голубева Е.Н., Зубанова Е.М., Мельников М.Я. // Химия высоких энергий. 2009. Т. 43. № 5. С. 438.
4. Голубева Е.Н., Лобанов А.В., Кокорин А.И. // Хим. физика. 2009. Т. 28. № 4. С. 9.
5. Лобанов А.В., Громова Г.А., Горбунова Ю.Г., Цивадзе А.Ю. // Физикохимия поверхности и защита материалов. 2014. Т. 50. № 5. С. 465; <https://doi.org/10.7868/S0044185614050106>
6. Aust S.D., Morehouse L.A., Thomas C.E. // Free Radicals in Biol. Med. 1985. V. 1. P. 3.
7. Faustova M.R., Nikolskaya E.D., Zhunina O.A. et al. // Rus. Chem. Bulletin. 2018. V. 67. № 2. P. 359.
8. Карнова С.Г., Ольхов А.А., Тюбаева П.М. et al. // Хим. физика. 2019. Т. 38. № 3. С. 37; <https://doi.org/10.1134/S0207401X19030038>
9. Nampootheri K.M., Nair N.R., John R.P. // Bioresour. Technol. 2010. V. 101. P. 8493.
10. Steinbuechel A. // Biomaterials / Ed. Byron D.B. Basingstoke: Macmillan, 1996. P. 221.
11. Тертышная Ю.В., Карнова С.Г., Попов А.А. // Хим. физика. 2017. Т. 36. № 6. С. 84; <https://doi.org/10.7868/S0207401X17060140>
12. Luo Y.-B., Wang X.-L., Wang Y.-Z. // Polym. Degrad. Stab. 2012. V. 97. P. 721; <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2012.02.011>
13. Тертышная Ю.В., Попов А.А. // Все материалы. Энциклопедический справочник. 2019. № 9. С. 42–48; <https://doi.org/10.31044/1994-6260-2019-0-9-42-47>
14. Vink E.T.H., Rábago K.R., Glassner D.A., Gruber P.R. // Polym. Degrad. Stab. 2003. V. 80. P. 403.
15. Bogaert J.C., Coszac P.P. // Macromol. Sympos. 2000. V. 154. P. 287.
16. Ortiz R., Moreno-Flores S., Quintana I. et al. // Mater. Sci. Eng. 2014. V. 37. P. 241.
17. Caffee H.H., Hardt N.S., La Torre G. // Plast. Reconstr. Surg. 1995. V. 95. № 7. P. 1145.
18. Pankaj S.K., Bueno-Ferrer C., Misra N.N., Miloszyj-jevic V. et al. // Trend Food Sci. Technol. 2014. V. 35. P. 5.
19. Coskun S., Korkusuz F., Hasirci V. // J. Biomat. Sci. Polymer. 2005. V. 16. P. 1485.
20. Lim L.-T., Auras R., Rubino M. // Progress Poly. Sci. 2008. V. 33. P. 820.
21. Кулезнев В.Н., Шершнев В.А. Химия и физика полимеров. СПб.: Изд-во “Лань”, 2014.
22. Wunderlich B. Macromolecular physics. V. 2. Crystal nucleation, growth, annealing. N.Y.: Acad.press. 1976.
23. Тертышная Ю.В., Хватов А.В., Лобанов А.В. // Хим. физика. 2017. Т. 36. № 9. С. 53; <https://doi.org/10.7868/S0207401X1709014X>
24. Dolotova O., Yuzhakova O., Solovyova L. et al. // J. Porphyrins Phthalocyanines. 2013. V. 17. P. 881.
25. Лобанов А.В., Ольхов А.А., Попов А.А. // Хим. безопасность. 2018. Т. 2. № 2. С. 78; <https://doi.org/10.25514/CHS.2018.2.14104>