

## АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ И ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ МНОГОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК, ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ ЙОДОМ

© 2022 г. В. В. Белова<sup>1,\*</sup>, О. В. Захарова<sup>1,2,3</sup>, Р. А. Столяров<sup>4</sup>, А. А. Гусев<sup>1,2,3</sup>, И. А. Васюкова<sup>1</sup>,  
П. А. Баранчиков<sup>1</sup>, А. Е. Меметова<sup>4</sup>, Н. А. Чапаксов<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, Тамбов, Россия

<sup>2</sup>Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва, Россия

<sup>3</sup>Национальный исследовательский технологический университет “МИСиС”, Москва, Россия

<sup>4</sup>Тамбовский государственный технический университет, Тамбов, Россия

\*E-mail: vuz.lera@yandex.ru

Поступила в редакцию 05.08.2021 г.

После доработки 10.09.2021 г.

Принята к публикации 14.09.2021 г.

Исследовано влияние многостенных углеродных нанотрубок (МУНТ), функционализированных йодом (15, 10 и 5 мас. %), на бактерии *Escherichia coli* и опухолевые клетки аденокарциномы молочной железы MCF-7. Получено значительное увеличение противомикробной активности МУНТ при их модификации 15 и 10 мас. % йода – при концентрациях 0.1 и 0.01 г/л выживаемость бактерий составила менее 2%, в то время как для МУНТ без йода показатель составил 7 и 30% соответственно. Модификация МУНТ 5 мас. % йода также усилила антибактериальные свойства нанотрубок, но менее существенно. На клетки MCF-7 также наибольшее цитотоксическое действие оказали МУНТ, функционализированные 15 и 10 мас. % йода, однако в отличие от бактерий разница показателей выживаемости между композитами и по сравнению с чистыми МУНТ была не более 3%. Сравнение влияния йода в составе МУНТ и чистого йода показало, что для бактерий большей токсичностью обладали функционализированные МУНТ в концентрациях выше 0.001 г/л, тогда как для клеток растворы чистого йода обладали большей цитотоксичностью.

DOI: 10.56304/S1992722322020030

### ВВЕДЕНИЕ

Углеродные нанотрубки (УНТ) – класс промышленно производимых аллотропных модификаций углерода, представляющих собой наномасштабные нитевидные конструкции из свернутых одного, двух или нескольких листов графена с внутренним каналом. По прогнозам рынок УНТ вырастет с 876 до 1714 млн дол. США при среднегодовом темпе роста 14.4% в период с 2021 по 2026 г. [1]. Благодаря уникальным физико-химическим свойствам сферы применения УНТ крайне разнообразны и включают в себя авиакосмическую и оборонную промышленность, медицину и сельское хозяйство, создание электроники и новых композитных материалов и т.д. Однако за счет действия ван-дер-ваальсовых сил в исходном состоянии УНТ являются плохо диспергируемыми в водных и органических растворителях, что приводит к высокой степени агрегации и ухудшению их свойств. Для решения этой проблемы, а также для придания новых характеристик материалам

нередко прибегают к функционализации поверхности [2].

Вместе со значительным улучшением свойств и расширением области применения при функционализации поверхности УНТ, как правило, меняются и их токсические свойства [2]. Например, нефункционализированные многостенные УНТ (МУНТ) и МУНТ, функционализированные полиэтиленгликолем (МУНТ–ПЭГ), не оказывали токсического действия на мезенхимальные стволовые клетки человека hMSCs [3] в отличие от карбоксилированных МУНТ (МУНТ–COOH), при действии которых достоверно снижалась выживаемость клеток [3, 4]. В экспериментах на клетках НЕК 293 обнаружен более сильный цитотоксический эффект при одинаковых условиях экспозиции у нефункционализированных МУНТ по сравнению с МУНТ–COOH и МУНТ–NH<sub>2</sub>, при этом в экспериментах *in vivo* на рыбах *Danio rerio* токсического эффекта не было обнаружено ни в одной группе [5]. При сравнении влияния типа функционализации однослойных УНТ

(ОУНТ) на дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* было показано, что ОУНТ–СООН и гидроксиглицированные ОУНТ (ОУНТ–ОН) приводили к развитию окислительного стресса и повреждению белков, оказывая при этом генотоксическое действие. В [6] также отмечается, что ОУНТ–СООН были более токсичны, чем ОУНТ–ОН. Исследование показало, что ОУНТ–СООН проявляют более высокую генотоксичность на фибробласты китайского хомячка V79, клетки A549 человека [7], а также эндотелиальные клетки человека HUVEC [8], чем нефункционализированные ОУНТ.

Помимо описанных типов функционализации УНТ регулярно появляются новые. Сравнительно недавно были синтезированы МУНТ, функционализированные йодом (I-МУНТ), характеризующиеся значительным увеличением показателей электропроводности и заметными изменениями микроструктуры и состава [9, 10]. Однако токсикологические исследования МУНТ с подобной функционализацией отсутствуют.

Поэтому целью исследования стала оценка биобезопасности I-МУНТ в отношении микроорганизмов на примере *Escherichia coli* и клеток млекопитающих на примере клеточной линии аденокарциномы молочной железы MCF-7.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали МУНТ, полученные методом CVD (ООО “НаноТехЦентр”, Тамбов, Россия), функционализированные йодом (I<sub>2</sub> ЧДА, ГОСТ 4159-79 (ООО “Компонент реактив”). Для функционализации йодом навески МУНТ, содержащие 5, 10 и 15 мас. % йода, помещали в герметичную стеклянную тару, устанавливали в термошкаф и выдерживали 2 ч при температуре 120°C.

Исследование исходного образца МУНТ проводили методами сканирующей (СЭМ) и просвечивающей (ПЭМ) электронной микроскопии. Модифицированные образцы МУНТ исследовали с использованием рентгеноструктурного анализа на дифрактометре ARL Equinox 1000 (Thermo Fisher Scientific, США) с длиной волны излучения 1.5406 Å, время съемки – 600 с. Спектры комбинационного рассеяния света (КРС) были получены на приборе DXR Raman Microscope (Thermo Fisher Scientific, США) с длиной волны возбуждающего лазера 532 нм.

В качестве тест-объектов использовали биосенсор “Эколюм” – лиофилизированная культура люминесцентного штамма *E. coli* (ЗАО “НВО ИммуноТех”, Россия) [5, 7], клеточную линию MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7) – клетки аденокарциномы молочной железы человека.

*Суспензии наночастиц.* Суспензии I-МУНТ готовили на основе стерильной дистиллированной

воды (pH = 7.1 ± 0.2). Навески нанопорошков (10 мг) взвешивали при помощи аналитических весов ViBRA HT (Shinko Denshi, Japan (точность ±0.0001 г)), переносили в лабораторный стакан, при помощи дозатора вносили небольшое количество воды и перемешивали стеклянной палочкой до полного смачивания наночастиц. После перемешивания доводили количество воды до 100 мл и обрабатывали суспензии в ультразвуковой ванне Ultrasonic Cleaner CD-4800 (Codyson, Китай) в течение 10 мин (70 Вт, 44 Гц, объем – 1.4 л). После обработки в дисперсию вносили Твин 20 (1%) (VWR Life Science AMRESCO, США) и вновь обрабатывали ультразвуком 15 мин. Исходная концентрация МУНТ во всех растворах составляла 0.1 г/л, из нее путем разбавления дистиллированной водой готовили суспензии концентрации 0.01, 0.001 и 0.0001 г/л.

*Растворы сравнения.* Для сравнения вызываемых эффектов использовали дисперсии МУНТ без йода в тех же концентрациях и приготовленных согласно методике, описанной выше. Для сравнительной оценки влияния йода в составе растворов функционализированных МУНТ на бактерии и клетки использовали водные суспензии йода в концентрациях, содержащихся в суспензиях МУНТ: 0.00005, 0.0001, 0.00015, 0.0005, 0.001, 0.0015, 0.005, 0.01, 0.015 г/л.

*Положительный контроль.* В качестве положительного контроля брали растворы натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты (*sodium dichloroisocyanurate* C<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>3</sub>, SDC) (ООО НПФ “Практика”, Россия), которые также готовили на основе дистиллированной воды. Данный препарат применяется в качестве дезинфицирующего средства, обладающего антимикробным действием в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий, вирусов и грибов рода Кандида и дерматофитов.

*Методы исследования.* Для оценки антибактериального действия растворов МУНТ использовали широко распространенную биолюминесцентную методику [11–13].

Метод основан на определении изменения интенсивности биолюминесценции генно-инженерного штамма *E. coli* при воздействии наночастиц, присутствующих в анализируемой пробе, по сравнению с контролем. Критерием токсического действия является изменение интенсивности биолюминесценции тест-объекта в исследуемой пробе по сравнению с контрольной, не содержащей токсических веществ. Уменьшение интенсивности биолюминесценции пропорционально токсическому эффекту.

Токсическое действие исследуемой пробы наноматериала на бактерии определяли по ингибированию их биолюминесценции за 30-минутный период экспозиции. Количественная оценка па-

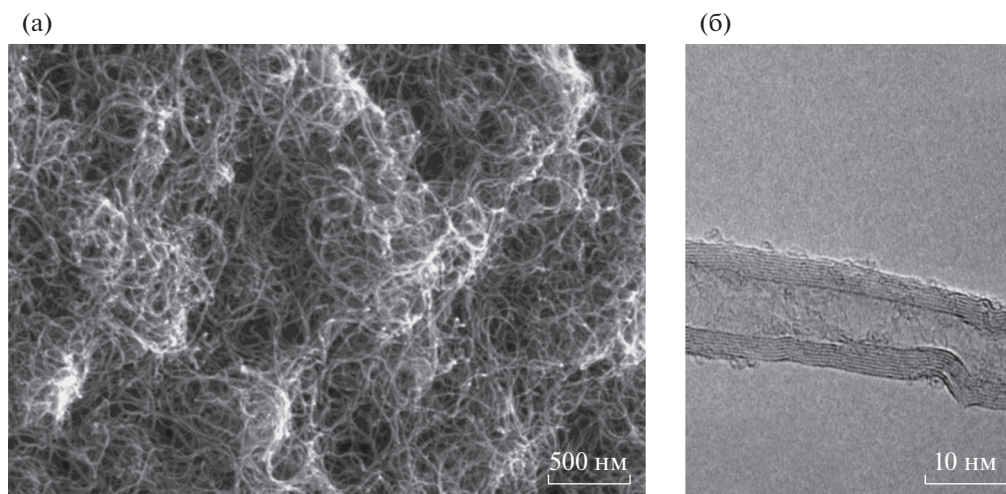


Рис. 1. Структура МУНТ: а – СЭМ-изображение; б – ПЭМ-изображение.

раметра тест-реакции выражается в виде индекса токсичности:  $T = 100 (I_o - I) / I_o$ , где  $I$  и  $I_o$  – интенсивность свечения контроля и опыта соответственно.

Цитотоксическое действие МУНТ оценивали с использованием МТТ-колориметрического теста, основанного на способности бесцветной соли тетразолия (3-[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенилтетразолия бромид, МТТ) восстанавливаться до окрашенного формазана в присутствии митохондриальных ферментов живых клеток [14, 15].

Клетки MCF-7 культивировали в среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) (Thermo Fisher Scientific, Великобритания) с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки (Sigma, Великобритания) при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>.

В ходе проведения исследования в лунки 24-луночного планшета помещали по 1.5 мл суспензии клеток ( $1 \times 10^5$ ) и 0.5 мл растворов наночастиц (йода, SDC) и инкубировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 5% CO<sub>2</sub> и температуре 37°C в течение суток. После инкубации к содержимому всех лунок добавляли 5%-ный раствор МТТ в физиологическом растворе (по 100 мкл на лунку) и инкубировали планшеты при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Через 4 ч среду с МТТ осторожно удаляли пипеткой, не захватывая осевшие клетки. В каждую добавляли по 500 мкл диметилсульфида. Планшеты инкубировали в течение 30 мин на орбитальном шейкере при комнатной температуре при 350 об./мин. После чего содержимое лунок переносили в центрифужные пробирки, центрифугировали 5 мин при 300 г. Полученный супернатант распределяли в триплеты лунок 96-луночного планшета по 100 мкл. Оптическую плотность оценивали на спектрофотометре Multiskan Sky (Thermo Scientific, США) при длине волны 540 нм. Жизнеспособ-

ность (выживаемость) клеток рассчитывали по формуле

$$\frac{ОП_{обр}}{ОП_{к}} \times 100\%,$$

где ОП<sub>обр</sub>, ОП<sub>к</sub> – оптическая плотность образца (пробы) и контроля соответственно.

*Статистическая обработка.* Все расчеты проводили с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2010 (пакет “Описательная статистика”). На графиках и гистограммах показаны средние арифметические значения и стандартные отклонения. В ходе обработки данных использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с расчетом достоверности различий с помощью F-критерия Фишера при 5%-ном уровне значимости. На гистограммах знаком “\*” отмечали достоверности различия между растворами I-МУНТ и МУНТ в тех же концентрациях, знак “\*\*\*” соответствует достоверности различия между образцами I-МУНТ с разным содержанием йода.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

*Результаты исследования МУНТ.* Методами электронной микроскопии установлено, что используемый в исследовании наноматериал представляет собой МУНТ диаметром от 10 до 30 нм и длиной больше 2 мкм (рис. 1).

По данным рентгеновской дифракции заметна общая идентичность кривых с различием в базовой интенсивности (рис. 2).

Однако при ближайшем рассмотрении наблюдаются определенные расхождения в данных. Так, после использования йода в 15%-ной концентрации значительно увеличивается межслое-

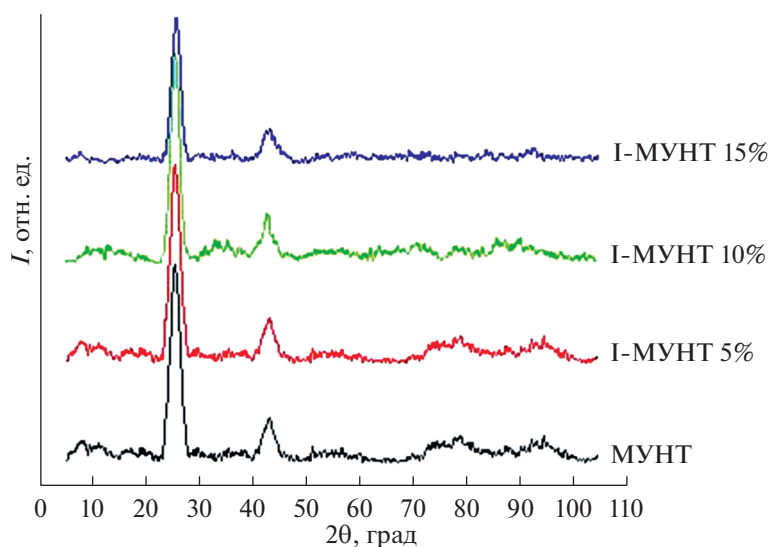


Рис. 2. Дифрактограммы I-МУНТ.

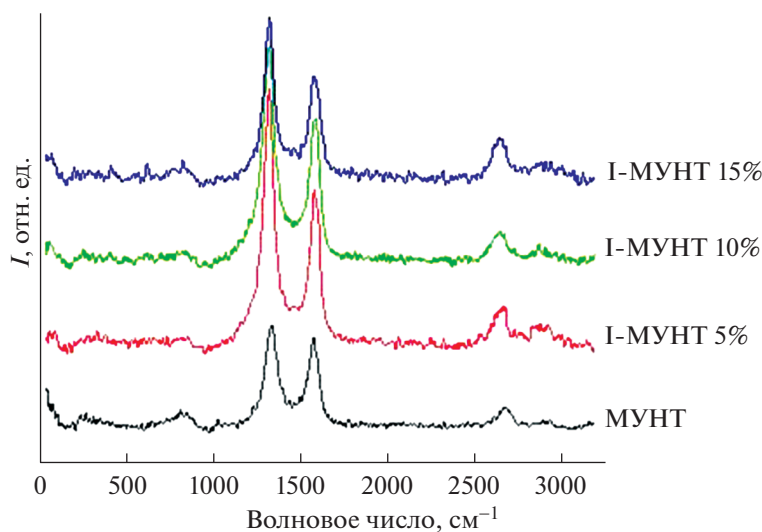


Рис. 3. Спектры комбинационного рассеяния света I-МУНТ.

вое расстояние между графеновыми слоями (примерно на 1 Å) в отличие от исходного образца и образцов, обработанных йодом в меньших концентрациях. Возможно, это связано с реакцией атомов йода с функциональными группами на поверхности внешнего слоя нанотрубок либо с группами, присоединенными к внутренним слоям, через дефекты внешнего слоя. Также вероятно увеличение межслоевого расстояния из-за разрушения внутренних слоев и попадания аморфного углерода в межслоевое расстояние. Проникновение атомов йода в межслоевое расстояние исключается из-за большого радиуса атома (атомный радиус йода – 140 пм или 1.40 Å). Также деструктивное действие йода высокой концен-

трации подтверждается сдвигом пика (002) в сторону большего угла  $2\theta$ , отражающего меньшую структурированность и большую концентрацию углеродных несистемных включений, попадающих в межслоевое пространство.

По данным спектроскопии КРС видно, что при обработке йодом значительно повышается степень дефектности материала, на 35% (рис. 3).

Данный показатель практически не зависит от концентрации йода при обработке, что говорит, с одной стороны, об отсутствии привязки между МУНТ и йодом, а с другой, само наличие в атмосфере паров йода провоцирует разрушение графеновых слоев по активным центрам и образование новых активных центров. Это подтверждает-

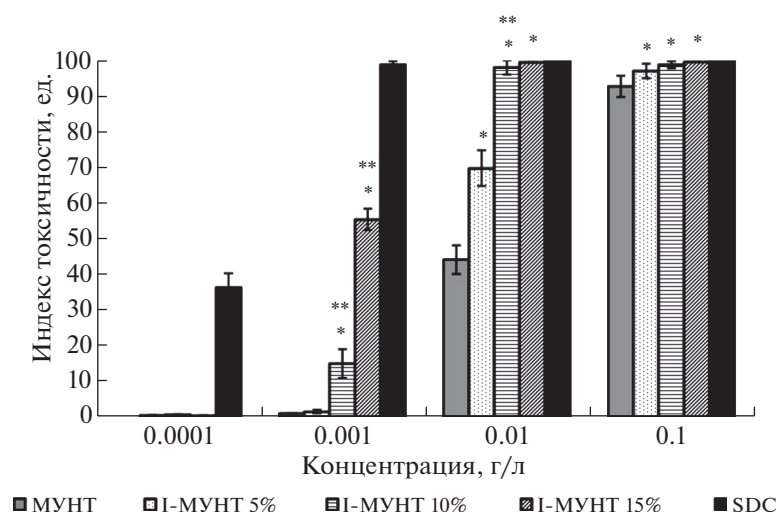


Рис. 4. Токсичность I-МУНТ по отношению к *E. coli*.

ся небольшими изменениями пика 2D до и после обработки йодом различной концентрации. Пик становится больше и смещается в сторону меньшей длины волны, что может свидетельствовать о структурных изменениях вследствие разрушения графеновых слоев. Заметны небольшие несистематические изменения основных пиков. При обработке йодом 10%-ной концентрации пик *D'* становится неразличим в плече пика *G*. Использование йода малых и средних концентраций приводит к изменениям малого пика в плече пика *D* ( $\sim 1200 \text{ см}^{-1}$ ), отражающего наличие кислородсодержащих групп =O. Это может быть обусловлено особенностями реакции между отдельными функциональными группами на поверхности графеновых слоев и йода.

**Антибактериальное действие МУНТ.** Исследование антибактериальных свойств I-МУНТ показало концентрационнозависимое и йодозависимое увеличение индекса токсичности растворов МУНТ (рис. 4).

По скорости увеличения токсичности с ростом концентрации растворы располагаются в следующем порядке (по убыванию): SDC – I-МУНТ 15% – I-МУНТ 10% – I-МУНТ 5% – МУНТ, т.е. функционализация йодом увеличивает антибактериальные свойства МУНТ. При максимальной концентрации наночастиц в растворах выживаемость микроорганизмов была менее 1% в группах I-МУНТ 15% и I-МУНТ 10%, что сопоставимо с действием эталонного токсиканта – SDC. Уменьшение количества йода до 5% немного снижало биоцидный эффект. МУНТ в чистом виде при 0.1 г/л в растворе вызывали гибель 93% микроорганизмов. При 0.01 г/л наночастиц в суспензиях антибактериальное действие I-МУНТ 15% и I-МУНТ 10% сохранялось, однако для

I-МУНТ 5% индекс токсичности снизился до 63 ед., что соответствует 37%-ной выживаемости бактерий. Для МУНТ без йода показатель токсичности был еще ниже – 44 ед. Дальнейшее разбавление растворов повлекло снижение токсичности I-МУНТ 15% почти в 2 раза – выживаемость *E. coli* составила 45%, в случае с I-МУНТ 10% выжило 85% бактерий, а растворы I-МУНТ 5% и МУНТ не оказали токсического эффекта. При концентрации нанотрубок 0.0001 г/л в растворе не выявлено подавления люминесценции микроорганизмов не зависимо от содержания йода.

На рис. 5 приведены данные по антибактериальной активности растворов йода и растворов I-МУНТ, содержащих то же количество йода. Сравнительный анализ влияния йода в составе МУНТ с чистым йодом показал схожее противомикробное действие йода и I-МУНТ 10–15% в концентрации 0.1 г/л, содержащих аналогичное количество йода. В данных вариантах отмечено 100%-ное гашение люминесценции, т.е. полная гибель микроорганизмов. В случае с раствором I-МУНТ 5% при 0.1 г/л также наблюдался высокий показатель индекса токсичности (98 ед.), однако антибактериальное действие чистого йода в сопоставимой концентрации было ниже – 89.9 ед. При разбавлении I-МУНТ 10 и 15% до 0.01 г/л токсичность растворов оставалась на прежнем уровне (98–99 ед.), тогда как растворы йода в соответствующих дозах (0.0015 и 0.001 г/л) оказали существенно более низкое противомикробное действие – выживаемость 15 и 21% соответственно. Индекс токсичности раствора I-МУНТ 5% с концентрацией 0.01 г/л и соответствующего раствора йода составил около 70%. Дальнейшее уменьшение концентрации I-МУНТ до 0.001 г/л привело к снижению токсичности до 55 ед. для I-МУНТ 15%, до 15 ед. для I-МУНТ 10%



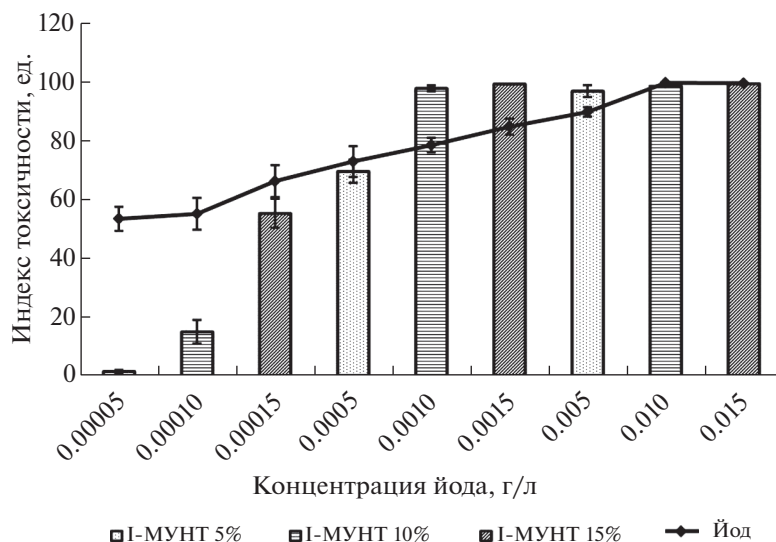


Рис. 5. Сравнение токсичности йода и I-МУНТ по отношению к *E. coli*.

и практически до 0 в случае с I-МУНТ 5%. При этом растворы йода соответствующих концентраций оказали высокое линейно зависимое противомикробное действие, индекс токсичности составил 66–53 ед.

Проведенное исследование антибактериальных эффектов I-МУНТ показало значительное увеличение противомикробной активности МУНТ при их модификации 15 и 10 мас. % йода — при концентрации 0.1 г/л выживаемость снизилась на 6%, при 0.01 г/л на 54–55%. Отметим, что в данных концентрациях биоцидное действие I-МУНТ 10 и 15% было сопоставимо с эталонным токсикантом SDS. Доза 0.001 г/л МУНТ не оказала негативного влияния на бактерии, в то время как I-МУНТ 10 и 15% в данной концентрации уменьшили выживаемость бактерий на 15 и 55%. Модификация МУНТ 5 мас. % йода также увеличила токсичность наноматериала — при 0.1 г/л на 4%, при 0.01 г/л на 26%. Исследуемые наноматериалы в концентрации 0.0001 г/л не оказали противомикробного действия.

Сравнительный анализ влияния функционализированных МУНТ и йода показал наличие синергетического эффекта для растворов I-МУНТ 5% 0.1 г/л и I-МУНТ 10 и 15% 0.01 г/л. В данных случаях совокупное токсическое действие I-МУНТ было выше действия МУНТ и йода по отдельности. Однако при дальнейшем разбавлении растворов I-МУНТ их антибактериальное воздействие было ниже, чем у растворов йода соответствующих концентраций, что, вероятно, связано с удержанием низкоконцентрированного йода нанотрубками.

**Цитотоксическое действие МУНТ.** Изучение цитотоксических свойств I-МУНТ показало тен-

денцию к снижению выживаемости клеток при возрастании концентрации растворов МУНТ и процентного содержания в них йода (рис. 6).

По уменьшению степени выраженности токсического эффекта (выживаемости клеток) растворы располагаются в следующем порядке: SDC — I-МУНТ 15% — I-МУНТ 10% — I-МУНТ 5% — МУНТ. Отметим, что функционализация йодом влияет на возрастание цитотоксических свойств МУНТ не так существенно, как в случае с бактериями.

При концентрациях 0.0001, 0.001 и 0.01 г/л выживаемость клеток в растворе МУНТ и в растворе I-МУНТ 5% была примерно одинакова (78%). При концентрации 0.1 г/л выживаемость клеток в данных растворах снижалась на 1% в растворе МУНТ и на 2% в растворе I-МУНТ 5%. Выживаемость клеток в растворах I-МУНТ 10% и I-МУНТ 15% каждый раз снижалась на 1% при переходе к большей концентрации раствора в следующем ряду: 0.0001, 0.001, 0.01 и 0.1 г/л. При этом среднее значение цитотоксического действия растворов нефункционализированных и функционализированных МУНТ при определенной концентрации заметно уступало токсичности раствора SDC (при 0.0001 г/л — на 7.5%, при 0.001 г/л — на 8%, при 0.01 г/л — на 8.5%, при 0.1 г/л — на 9%).

С ростом процентного содержания йода в составе МУНТ несколько увеличивалась разница в выживаемости клеток между растворами МУНТ и I-МУНТ. Разница в выживаемости клеток между растворами МУНТ и I-МУНТ 10% составляла ~1%, между растворами МУНТ и I-МУНТ 15% ~3%.

Более существенно с увеличением процентного содержания йода в составе МУНТ уменьша-

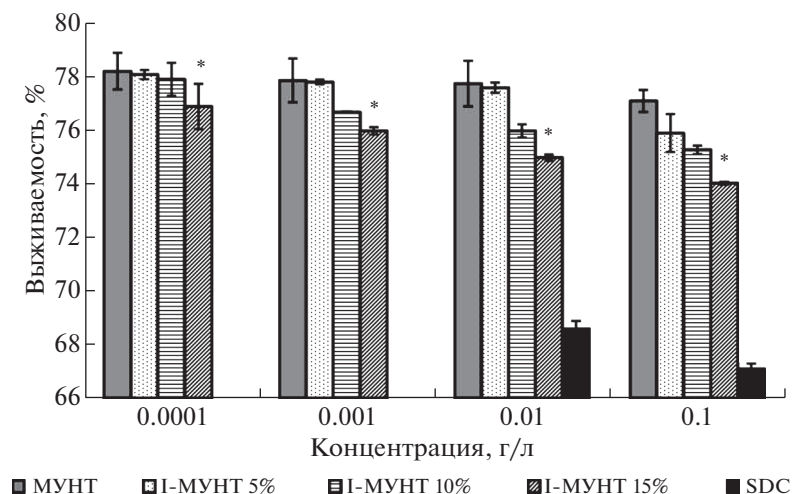


Рис. 6. Цитотоксичность I-MUNT по отношению к клеткам линии MCF-7.

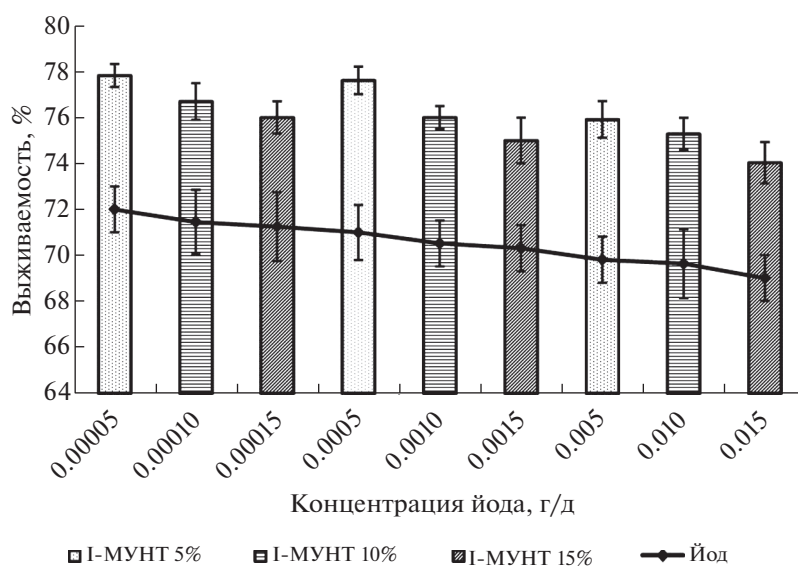


Рис. 7. Сравнение цитотоксичности йода и I-MUNT по отношению к клеткам линии MCF-7.

лась разница в выживаемости клеток между растворами I-MUNT и SDC. Разница в выживаемости клеток между растворами I-MUNT 15% и SDC составила ~7%, между растворами I-MUNT 10% и SDC ~8%, между растворами I-MUNT 5% и SDC ~9%. Такое же значение (~9%) имеет разница между растворами MUNT и SDC.

В ходе сравнения растворов функционализированных MUNT между собой наблюдается незначительное возрастание токсичности при увеличении разницы в процентном содержании йода в MUNT. Разница в выживаемости клеток между растворами I-MUNT 5% и I-MUNT 10% составила 1%, между растворами I-MUNT 10% и I-MUNT

15% – 1%, между растворами I-MUNT 10% и I-MUNT 15% – 2%.

Сравнение влияния йода в концентрациях, используемых для модификации MUNT и I-MUNT, показало, что цитотоксическое действие чистого йода было гораздо выше, чем действие MUNT, содержащих йод в тех же количествах (рис. 7). Показатель выживаемости клеток линейно снижался с 72% при 0.00005 г/л до 69% при 0.015 г/л. В то время как для I-MUNT минимальная выживаемость клеток составила 74% при максимальной концентрации I-MUNT 15%, что на 5% выше, чем при воздействии йода без MUNT. Самый высокий показатель выживаемости среди экспериментальных групп I-MUNT отмечен в варианте с

самой низкой концентрацией (0.0001 г/л) I-МУНТ 5% в растворе — ~78%, т.е. на 6% выше, чем в случае с раствором, содержащим соответствующую концентрацию чистого йода.

Отмечена более высокая токсичность растворов йода по отношению к клеткам MCF-7 по сравнению с растворами МУНТ, содержащими те же концентрации йода. Данные результаты могут свидетельствовать о связывании нанотрубками ионов йода, что снижает их цитотоксическое действие.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Антибактериальные и цитотоксические эффекты МУНТ описаны достаточно подробно [16–19], при этом отмечается высокая чувствительность бактерий к этому типу наноматериалов [20, 21]. Одним из основных механизмов возникновения повреждающих эффектов углеродных наноматериалов считается окислительный стресс [22]. Однако работ, посвященных воздействию функционализированных галогенами углеродных нанотрубок на живые организмы или биомолекулы, крайне немного.

В исследовании [23] отмечается, что легирование углерода неметаллическими гетероатомами может изменить электронную структуру и электрохимические свойства исходных углеродных материалов, что является эффективным методом улучшения их каталитической активности. Были синтезированы легированные фтором углеродные нанотрубки (F-УНТ), которые проявили повышенную каталитическую активность в ходе гетерогенного каталитического озонирования для разложения органических загрязнителей. Эффективность удаления щавелевой кислоты с помощью F-УНТ была примерно в 2 раза выше, чем у чистых УНТ, а также превышала эффективность четырех традиционных катализаторов на основе металлов ( $ZnO$ ,  $Al_2O_3$ ,  $Fe_2O_3$  и  $MnO_2$ ). Исследования с помощью методов рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии и КРС подтвердили, что в УНТ происходит образование ковалентных связей C–F и  $sp^2$ -гибридизация атомов углерода меняется на  $sp^3$ , что не только приводит к высокой плотности положительного заряда атомов C, соседних с атомами F, но и сохраняет неповрежденной делокализованную  $\pi$ -систему углеродной структуры F-УНТ, которая способствует превращению молекул озона ( $O_3$ ) в активные формы кислорода (АФК) и высокой эффективности разложения щавелевой кислоты. Кроме того, исследования электронно-спинового резонанса показали, что доминирующими АФК, ответственными за разложение щавелевой кислоты в этих каталитических системах, являются супероксидные радикалы ( $O_2^-$ ) и синглет-

ный кислород ( $^1O_2$ ). Как известно, окислительный стресс является одним из ключевых механизмов токсичности углеродных наноматериалов. Например, в [24] показано снижение жизнеспособности клеток опухоли легких человека A549 по причине развития апоптоза и оксидативного стресса под влиянием МУНТ. Было установлено, что МУНТ способствовали образованию АФК и малонового диальдегида, а также уменьшению активности каталазы и глутатиона.

Легированные фтором углеродные нанотрубки использовались и в [25], где катализатор состава F-УНТ использовался при изготовлении газодиффузионного электрода для электрохимического получения пероксида водорода. Было обнаружено, что легирование F активизирует восстановление кислорода и увеличивает выход  $H_2O_2$ . Нанотрубки, содержащие 0.6 M HF (F-УНТ-0.6), обеспечивали более высокий выход  $H_2O_2$  (47.6 мг/л) и выход по току (89.5%), чем у чистых УНТ (29.6 мг/л и 70.1%) при напряжении смещения  $-1.3$  В и рН 7. Установлено, что высокая каталитическая активность F-УНТ-0.6 может сохраняться в пяти последовательных реакционных циклах. Характеристики материала и электрохимические испытания показали, что легирование F не оказало значительного влияния на площадь поверхности УНТ, но увеличило степень их дефектности. Также указано, что повышенная эффективность получения  $H_2O_2$  может быть связана с образованием  $CF_2$  и  $CF_3$  на поверхности УНТ, легированных фтором.

Единичным исследованием, где описано воздействие функционализированных галогеном УНТ на живые клетки, стала работа [26], в которой был синтезирован композит МУНТ – со-легированные фтором и  $TiO_2$ . Исследовалась антимикробная и фотокаталитическая активность полученных образцов. Установлено, что композиты обладали улучшенными абсорбционными свойствами в УФ-диапазоне по сравнению с чистым  $TiO_2$ . Композиты F– $TiO_2$ –МУНТ показали значительную фотокаталитическую активность в генерации АФК, что нашло отражение в антибактериальных эффектах. Композиты действовали на *S. aureus* и *P. aeruginosa* как сильное антибактериальное средство, при этом зона подавления роста культуры *S. aureus* (22 мм) оказалась выше, чем у *P. aeruginosa* (18 мм).

Таким образом, с учетом перечисленных выше данных, а также принимая во внимание сообщения об изменении характера переноса электронов в ОУНТ при допировании их йодом [27, 28] и ро-сте фотокаталитической активности МУНТ при модификации их сложными оксидами, содержащими йод [29], можно предположить, что наличие йода на поверхности МУНТ катализирует процессы окисления молекул воды и редукции



растворенного в воде кислорода, что способствует образованию АФК, которые являются причиной окислительного стресса, повреждающего клетки. Данные о повышении гидрофильности УНТ при функционализации йодом [30] также могут свидетельствовать о потенциале повышения биодоступности/токсичности таких композитов.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены композиты МУНТ с йодом и проведены тесты на бактериях *E. coli* и опухолевых клетках аденокарциномы молочной железы MCF-7.

В тесте на бактериях отмечено существенное увеличение противомикробной активности МУНТ при их модификации 15 и 10 мас. % йода — при концентрациях 0.1 и 0.01 г/л выживаемость бактерий составила менее 2%, в то время как для МУНТ без йода показатель составил 7 и 30% соответственно. Модификация МУНТ 5 мас. % йода также усилила антибактериальные свойства нанотрубок, но менее существенно. На клетки MCF-7 наибольшее цитотоксическое действие оказали МУНТ, содержащие 15 и 10% йода. В отличие от бактерий разница показателей выживаемости клеток по сравнению с чистыми МУНТ была не более 3%. Различия в цитотоксичности между группами I-МУНТ были незначительными. Сравнение влияния йода в составе МУНТ и чистого йода показало, что для бактерий большей токсичностью обладали функционализированные МУНТ в концентрациях выше 0.001 г/л, тогда как для клеток растворы чистого йода обладали большей цитотоксичностью.

Предполагаемым механизмом противомикробного и цитотоксического действия композитов I-МУНТ является окислительный стресс, возникающий в результате образования АФК в водной среде на границе с поверхностью наноматериалов, при этом йод, вероятно, служит дополнительным катализатором этого процесса.

Важным выводом проведенной работы является то, варьируя количество йода на стадии синтеза, можно управлять антибактериальными свойствами получаемых композитов I-МУНТ. Безусловно, механизмы отмеченных явлений требуют дальнейшего изучения.

Полученные результаты могут быть полезны при разработке нанотехнологических методов очистки воды от бактериальных загрязнений, а также в биомедицинских исследованиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБОУ ВО “РЭУ им. Г.В. Плеханова”.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Global Carbon Nanotubes (CNT) Market by Type (Single Walled & Multi Walled), End-Use Industry (Electronics & Semiconductors, Chemical Materials & Polymers, Structural Composites, Energy & Storage, Medical), Method, and Region — Forecast to 2026. 2021. 232 p. (URL — <https://www.researchandmarkets.com/reports/5328286/global-carbon-nanotubes-cnt-market-by-type>)
2. *Deline A.R., Frank B.P., Smith C.L. et al.* // Chem. Rev. 2020. V. 120. P. 11651. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00351>
3. *Nayak T.R., Jian L., Phua L.C. et al.* // ACS Nano. 2010. V. 4. P. 7717. <https://doi.org/10.1021/nn102738c>
4. *Liu D., Yi C., Zhang D. et al.* // ACS Nano. 2010. V. 4. P. 2185. <https://doi.org/10.1021/nn901479w>
5. *Chowdhry A., Kaur J., Khatri M. et al.* // Heliyon. 2019. V. 5. P. e02605. doi.org/<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02605>
6. *Jiang T., Amadei C.A., Gou N. et al.* // Environ. Sci.: Nano. 2020. V. 7. P. 1348. <https://doi.org/10.1039/D0EN00230E>
7. *Mrakovcic M., Meindl C., Leitinger G. et al.* // Toxicol. Sci. 2015. V. 144. P. 114. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu260>
8. *Gutiérrez-Praena D., Pichardo S., Sánchez E. et al.* // Toxicol. In Vitro. 2011. V. 25. P. 1883 <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.05.027>
9. *Zhao Y., Wei J., Vajtai R. et al.* // Sci. Rep. 2011. V. 1. P. 83. <https://doi.org/10.1038/srep00083>
10. *Janas D., Herman A.P., Boncel S. et al.* // Carbon. 2014. V. 73. P. 225. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2014.02.058>
11. *Mogil'naia O.A., Puzyr A.P., Bondar V.S.* // Prikl. Biokhim. Mikrobiol. 2010. V. 46. P. 40.
12. *Zarubina A.P., Lukashev E.P., Deev L.I. et al.* // Nanotechnologies in Russia. 2009. V. 4. P. 871. <https://doi.org/10.1134/S1995078009110159>
13. *Zakharova O.V., Godymchuk A.Y., Gusev A.A. et al.* // Biomed. Res. Int. 2015. V. 2015. P. 412530. <https://doi.org/10.1155/2015/412530>
14. *Ciapetti G., Cenni E., Pratelli L. et al.* // Biomaterials. 1993. V. 14. P. 359. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(93\)90055-7](https://doi.org/10.1016/0142-9612(93)90055-7)
15. *Szymonowicz M., Korczynski M., Dobrzyński M. et al.* // Materials. 2017. V. 10. P. 590. <https://doi.org/10.3390/ma10060590>
16. *Chen M., Sun Y., Liang J. et al.* // Environ. Int. 2019. V. 126. P. 690. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.02.005>
17. *De Maio F., Palmieri V., De Spirito M. et al.* // Expert Rev. Med. Devices. 2019. V. 16. P. 863. <https://doi.org/10.1080/17434440.2019.1671820>
18. *Wu Z.L., Zhao J., Xu R.* // Int. J. Nanomed. 2020. V. 15. P. 9587. <https://doi.org/10.2147/ijn.s279652>

19. *Riley P.R., Narayan R.J.* // *Curr. Opin. Biomed. Eng.* 2021. V. 17. P. 100262.  
<https://doi.org/10.1016/j.cobme.2021.100262>
20. *Maas M.* // *Materials (Basel)*. 2016. V. 9. P. 617.  
<https://doi.org/10.3390/ma9080617>
21. *Mocan T., Matea C.T., Pop T. et al.* // *Cell. Mol. Life Sci.* 2017. V. 74. P. 3467.  
<https://doi.org/10.1007/s00018-017-2532-y>
22. *Johnston H.J., Hutchison G.R., Christensen F.M. et al.* // *Nanotoxicology*. 2010. V. 4. P. 207.  
<https://doi.org/10.3109/17435390903569639>
23. *Wang J., Chen S., Quan X. et al.* // *Chemosphere*. 2018. V. 190. P. 135.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.119>
24. *Srivastava R.K., Pant A.B., Kashyap M.P. et al.* // *Nanotoxicology*. 2011. V. 5. P. 195.  
<https://doi.org/10.3109/17435390.2010.503944>
25. *Wang W., Lu X., Su P. et al.* // *Chemosphere*. 2020. V. 259. P. 127423.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127423>
26. *Sangari M., Umadevi M., Mayandi J. et al.* // *Spectrochim. Acta A*. 2015. V. 139. P. 290.  
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.12.061>
27. *Zhao Y., Wei J., Vajtai R. et al.* // *Sci. Rep.* 2011. V. 1. P. 83.  
<https://doi.org/10.1038/srep00083>
28. *Park T., Sim K., Lee J. et al.* // *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2012. V. 12. P. 5812.  
<https://doi.org/10.1166/jnn.2012.6338>
29. *Li S., Hu S., Xu K. et al.* // *Nanomaterials*. 2017. V. 7. P. 22.  
<https://doi.org/10.3390/nano7010022>
30. *Song H., Ishii Y., Al-zubaidi A. et al.* // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2013. V. 15. P. 5767.  
<https://doi.org/10.1039/C3CP50506E>