

ПОЛИМЕРНЫЕ, БИООРГАНИЧЕСКИЕ И ГИБРИДНЫЕ НАНОМАТЕРИАЛЫ

УДК 544.77.022; 547.022; 549.31

СИНТЕЗ И ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА РАДИКАЛСВЯЗЫВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ АРАБИНОГАЛАКТАН-СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ НАНОЧАСТИЦ СЕРЫ

© 2024 г. М. В. Зверева^{1,*}, Е. А. Карпова^{1,2}, А. В. Жмурова¹, Т. В. Хитева¹, А. Н. Сапожников³

¹Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия

²Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского, Иркутск, Россия

³Институт геохимии им. А.П. Виноградова, Иркутск, Россия

*E-mail: mlesnichaya@mail.ru

Поступила в редакцию 01.02.2024 г.

После доработки 22.05.2024 г.

Принята к публикации 22.05.2024 г.

Представлены результаты синтеза и хемилюминесцентной диагностики радикалсвязывающей активности водорастворимых арабиногалактан-стабилизированных наночастиц серы. Так, с использованием стабилизирующей способности природного полисахарида арабиногалактана впервые получены композиты, содержащие 0.3–4.6% наночастиц серы. Установлено, что средний размер наночастиц определяется количественным содержанием неорганической фазы в составе композитов, варьируясь в интервале 8.3–32.0 нм. С привлечением метода хемилюминесцентного анализа и радикалгенерирующих систем “люминол–пероксидаза хрена–перекись водорода” и “люминол–АБАП” охарактеризована антирадикальная активность полученных композитов. Обнаружено, что выраженность данной активности напрямую определяется не только типом используемой радикалгенерирующей системы, но и количественным содержанием серы в составе композита и концентрацией их водных растворов.

DOI: 10.56304/S1992722324601423

ВВЕДЕНИЕ

Поддержание гомеостаза животного организма остается одним из наиболее эффективных методов предупреждения развития ряда опасных заболеваний, в частности у сельскохозяйственных животных [1, 2]. Совокупность факторов внешней среды, а также генетически детерминированных состояний индуцирует нарушение гомеостаза, обеспечивающего нормальный метаболизм в организме, приводя к окислительному стрессу, лежащему в основе формирования ряда заболеваний (гипо- или гипермикрозлементозы, лейкозы, инфекционные заболевания, гельминтозы, пневмонии, новообразования, аллергические и иммунодефицитные состояния и др.), что сопровождается снижением продуктивности, фертильности и получением нежизнеспособного потомства [3–5]. В условиях нарушения баланса между образующимися в организме в избыточном количестве в условиях развития патологии свободными радикалами и эндогенными антиоксидантами, их нейтрализующими, практически единственным способом восстановления данного равновесия является введение в организм дополнительных количеств антиоксидантов [6]. Однако использу-

емые в сельском хозяйстве и ветеринарии препараты из групп антирадикальных средств, антиоксидантных ферментов и их активаторов, а также блокаторов образования свободных радикалов вследствие своей чрезмерной активности могут действовать в обратном направлении, т.е. ускорять свободно-радикальные реакции, усугубляя течение болезни [7, 8]. Это стимулирует продолжение поиска современных безопасных и эффективных препаратов с антирадикальной активностью, действие которых направлено на борьбу с патологическими заболеваниями сельскохозяйственных животных, обусловленными окислительно-восстановительными реакциями.

Активное вовлечение наночастиц (НЧ) различной природы в практику использования в таких областях, как медицина, биология, экология, а также сельское хозяйство, определяет потенциальное применение их и в качестве антиоксидантных средств [9–11]. На данный момент *in vitro* успешно продемонстрирована выраженная радикалсвязывающая способность целого ряда НЧ различной химической природы: Ag, Au, Pt, Pd, Cu, Fe₃O₄, ZnO, Se, NiO и др. в отношении свободных радикалов ДФПГ[•], АБТС^{•+}, NO, O₂ и т.д.

[12–16]. Однако большинство имеющихся работ посвящено исследованию антиоксидантной активности НЧ, стабилизированных либо синтетическими полимерными матрицами (поливинилпирролидон, полиэтиленгликоль, полиакриловая кислота), либо органическими соединениями различной природы, выделенными из природных экстрактов растений, грибов и микроорганизмов. В первом случае синтез НЧ сопровождается присутствием токсичных органических растворителей, восстанавливающих агентов или прекурсоров для синтеза самих полимерных матриц, что обуславливает необходимость последующей тщательной очистки получаемых наноматериалов от остатков реагентов и приводит к увеличению стадий процесса и стоимости получаемых наноматериалов. Синтез НЧ с использованием природных экстрактов также имеет ряд существенных недостатков вследствие жесткой зависимости химического состава, строения и количественного содержания в природном сырье активных компонентов, выполняющих функцию восстановителя и (или) стабилизатора образующихся НЧ, от региона их произрастания, возраста, фазы вегетации, климата, условий сбора и хранения, а также условий экстракции [17]. Невозможность стандартизации получаемых с использованием природных экстрактов наноматериалов накладывает существенные ограничения на возможность их практического применения в таких практически важных областях, как ветеринария, биомедицина и сельское хозяйство, для нейтрализации последствий патологически усиленных окислительно-восстановительных реакций в организмах сельскохозяйственных животных в том числе. Одним из возможных способов получения полностью биосовместимых, нетоксичных, водорастворимых и стабильных наноматериалов является использование в качестве стабилизирующей лигандной оболочки природного полисахарида арабиногалактана (АГ), выделяемого из древесины лиственницы сибирской (*Larix sibirica*) [18]. Ранее была успешно продемонстрирована перспективность получения гибридных органо-неорганических нанокомпозитов, сочетающих в себе свойства АГ (водорастворимость, биосовместимость, нетоксичность, мембранотропность), и НЧ различной химической природы (оптические свойства, иммуномодулирующие свойства, антимикробная, противогрибковая, антианемическая активности и т.д.) [19–23].

Такая универсальность стабилизирующих свойств макромолекул АГ позволяет использовать его и для синтеза наночастиц элементной серы (S^0 НЧ). В сельском хозяйстве S^0 НЧ используются в качестве фунгицидов и пестицидов в отношении ряда представителей патогенных микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Clavibacter* и др.), а также в качестве

стимуляторов роста и созревания растений, что позволяет избежать использования токсичных пестицидов и гормонов для этих целей [24, 25]. Кроме того, в ряде работ описывается способность НЧ серы нивелировать негативные последствия засоления почв, которое сопровождается выраженными физиологическими изменениями клеточных и митохондриальных мембран, снижением активности ферментов, в том числе антиоксидантных, и скорости дыхания, а также снижением транспорта питательных веществ, макро- и микроэлементов в растительный организм. В цепочке негативных последствий засоления почв для растительных организмов особое место занимает усиление выработки активных форм кислорода, провоцирующее окислительное повреждение ДНК, белков и мембранных липидов. НЧ серы в данном случае способны существенно увеличивать активность ферментов супероксиддисмутазы, пероксидазы, каталазы, аскорбатпероксидазы, глутатионредуктазы и глутатион S-трансферазы посредством активации ряда генов, отвечающих за иммунный ответ растительного организма, обуславливая устойчивость растений к патогенам и абиотическим стрессам. Таким образом, вследствие большого потенциала практического использования серы в сельском хозяйстве, в частности в наноразмерном состоянии, в качестве эффективных и безопасных фунгицидных, бактерицидных, акарицидных и адаптогенных средств, рассмотрение возможности их использования и в качестве антирадикальных агентов для нивелирования последствий окислительного стресса на фоне развития основного заболевания является особенно актуальным [26–28]. Использование для диагностики радикалсвязывающей способности хемилюминесцентного (ХЛ) метода выгодно отличается от часто используемых фотометрических, химических и электрохимических методик своей высокой чувствительностью, специфичностью моделирования условий эксперимента, соответствующих естественным биологическим, а также возможностью детально исследовать скорость реакций с участием свободных радикалов и получать информацию об активности потенциального антиоксиданта и его антиоксидантной емкости [29, 30].

Цель данной работы – синтез и характеристика структуры арабиногалактан-стабилизированных наночастиц серы (АГ- S^0 НЧ) с последующим исследованием их радикалсвязывающей способности ХЛ-методом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы. АГ лиственницы Сибирской (*Larix sibirica*) с молекулярной массой 45.3 кДа получали по методике, представленной в [31]. Найдено: С – 41.9, Н – 7.4, О – 50.7%. Порошковая сера

(Вектон), гидрат гидразина (64%), NaOH, KOH, KH_2PO_4 , этанол (Реахим), пероксидаза хрена, 30%-ная перекись водорода, люминол, 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорид (АБАП) (Sigma Aldrich) были использованы без дополнительной очистки.

Методы исследования. Микрофотографии АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ получали на просвечивающем электронном микроскопе (ПЭМ) "Leo 906E". Пробоподготовку образца для микроскопии осуществляли в соответствии с методикой, подробно описанной в [32]. Измерение НЧ осуществляли в ручном режиме обработкой микрофотографий с использованием программы IPWin45.

Рентгенофазовый анализ (РФА) выполнен на дифрактометре Bruker D8 ADVANCE (Cu-излучение), оснащенном зеркалом Геббеля.

Элементный состав исходного АГ и полученных на его основе композитов АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ определяли методом рентгеновского энергодисперсионного микроанализа на электронном сканирующем микроскопе Hitachi TM 3000, оснащенном SDD-детектором XFlash 430-4, и на CHNS-анализаторе Flash 2000 фирмы Thermo Scientific.

Спектры оптического поглощения 0.1%-ных водных растворов нанокompозитов АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ регистрировали в интервале длин волн 190–800 нм на спектрофотометре Perkin Elmer Lambda 35 в 1 см кварцевой кювете с использованием дистиллированной воды в качестве раствора сравнения.

Гидродинамические радиусы (R_h) АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ определяли методом динамического рассеяния света (ДРС) на корреляционном спектрометре Photocor Compact-Z (источник света – термостабилизированный полупроводниковый лазер мощностью 20 мВт с длиной волны $\lambda = 638$ нм) под углом 90° . Анализ корреляционной функции осуществляли с помощью программы обработки данных ДРС Dynals. Величины R_h рассчитывали из значений коэффициентов диффузии (D) по уравнению Эйнштейна–Стокса: $R_h = kT/6\pi\eta_0 D$ (η_0 – вязкость растворителя, k – постоянная Больцмана, T – температура). Дисперсность оценивали по стандартной методике с использованием распределения интенсивностей рассеяния в зависимости от значений R_h НЧ. Аналитические пробы готовили растворением в течение не менее пяти часов 5 мг образца в 10 мл дистиллированной воды, предварительно отфильтрованной через шприцевой фильтр. Полученный раствор еще раз очищали фильтрованием через шприцевой фильтр (диаметр пор 0.22 мкм). Время каждого измерения составляло не менее 200 с. Измерение проводили в трех повторях.

Синтез композитов АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$. В трехгорлую колбу объемом 50 мл, оборудованную термометром и обратным холодильником, поместили 0.124 г

NaOH и 0.2 мл $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, после чего при постоянном перемешивании довели температуру реакционной среды до 70°C . После полного растворения NaOH и гомогенизации смеси в колбу внесли 0.05 г порошковой серы. Синтез сульфид-анионов осуществляли в атмосфере аргона в течение 30 мин. В процессе синтеза порошковая сера полностью растворилась в системе " $\text{NaOH}-\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ", а реакционная смесь приобрела оранжево-желтый цвет. Далее аликвоту ($V = 5-60$ мкл) реакционной среды, содержащей S^{2-} -анионы, добавили к предварительно полученному водному раствору АГ (0.3 г в 15 мл H_2O) и перемешивали полученную смесь при комнатной температуре в течение 25 мин. Выделение нанокompозитов и их очистку от примесей побочных продуктов реакции осуществляли осаждением в четырехкратный избыток этанола с последующим отделением образовавшегося осадка на фильтре Шотта, его многократной промывкой этанолом и высушиванием на воздухе. Выход 85.0–91.2%. Найдено: АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ -0.3: С – 40.57, Н – 6.67, S – 0.30, О – 52.46%; АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ -1.0: С – 39.87, Н – 6.42, S – 1.00, О – 52.71%; АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ -2.0: С – 39.18, Н – 6.12, S – 2.00, О – 52.70%; АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ -4.6: С – 39.85, Н – 6.25, S – 4.60, О – 49.30%. ИК-спектр АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$: 3425 (О–Н), 2920 (С–Н), 1636, (О–Н), 890–1220 (С–С, С–О) (cm^{-1}).

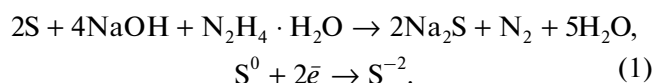
Исследование радикалсвязывающей способности композитов АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ ХЛ-методом с использованием радикалгенерирующей системы "люминол–пероксидаза хрена–перекись водорода". Оценку радикалсвязывающей способности композитов АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ осуществляли в соответствии с модифицированной методикой, подробно представленной в [33] с использованием хемилюминетра Lum-100 ("ДИСофт", Россия) и программы PowerGraph 3.3 для регистрации ХЛ. Кратко: в пластиковую кювету помещали 40 мкл 1 мМ раствора люминола в фосфатном буфере (рН 7.4), 40 мкл водного раствора нанокompозитов АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ в концентрациях 2.1–10 мг/мл и 900 мкл фосфатного буфера. После записи фонового сигнала ХЛ в течение 40 с в кювету с анализируемой смесью вносили 100 мкл H_2O_2 в концентрации 1 мМ и продолжали регистрацию ХЛ в течение 20 мин. Каждый эксперимент проводили в трех повторях. Результаты усредняли.

Исследование радикалсвязывающей способности композитов АГ- $\text{S}^0\text{HЧ}$ ХЛ-методом с использованием радикалгенерирующей системы "АБАП–люминол". Методика тестирования, подробно представленная в [33], была подвергнута незначительным изменениям. В пластиковую кювету помещали 900 мкл фосфатного буфера (рН 7.4), 20 мкл 0.03 мМ раствора люминола в фосфатном буфере (рН 7.4), 40 мкл водного раствора нанокompози-

тов АГ-S⁰НЧ в концентрациях 1.6–10 мг/мл. После записи фонового сигнала ХЛ в течение 40 с в кювету с анализируемой смесью вносили 40 мкл 0.16 мМ раствора АБАП в буфере и продолжали регистрацию ХЛ в течение 50 мин. Каждый эксперимент проводили в трех повторах. Результаты усредняли.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез АГ-S⁰НЧ осуществлен посредством мягкого окисления в водно-полисахаридном растворе сульфид-анионов, предварительно сгенерированных в результате восстановления порошковой элементной серы в основно-восстановительной системе “гидразин–гидрат/NaOH” в инертной атмосфере согласно уравнению



Продолжительность синтеза составляла 25 мин при температуре 40°C. Так, в результате взаимодействия сульфид-анионов с кислородом, присутствующим в составе реакционной среды, происходит их окисление до нуль-валентной серы с последующей коалесценцией сформировавшихся атомов S⁰ в наночастицы через прохождение ряда стадий зарождения, роста и созревания новой фазы и стабилизацией их поверхности макромолекулами АГ [34]. Содержание серы в составе нанокompозитов варьировали в интервале 0.3–4.6 изменением соотношения S²⁻/АГ от 0.004 до 0.05. Использование щелочи в данном случае сводится к направленному получению сульфида натрия, легко гидролизующегося в среде водного раствора АГ до NaHS и H₂S. Эти особенности создают благоприятные условия для постепенного образования атомов элементной серы, их коалесценции в зародыши новой фазы, их роста, созревания и формирования АГ-S⁰НЧ.

Согласно данным просвечивающей электронной микроскопии нанокompозиты АГ-S⁰НЧ формируются в виде диспергированных в полисахаридной матрице НЧ, форма которых близка к сферической (рис. 1). Их средний размер и степень полидисперсности находятся в зависимости от условий синтеза нанокompозитов и особенно от количества вводимых в состав АГ-матрицы наночастиц серы. Так, в нанокompозите, содержащем 0.3% серы, средний размер частиц составил 8.3 нм при разбросе диаметров частиц от 4 до 15 нм. Увеличение содержания НЧ серы в составе композита до 2% сопровождается ростом среднего размера частиц до 11.3 нм и варьированием размеров в диапазоне 6–23 нм (рис. 1). Максимальный размер НЧ серы зафиксирован в нанокompозите, содержащем 4.6% неорганической фазы.

Размерное распределение частиц в данном образце составило 12–64 нм со средним значением 32 нм.

С использованием порошкового РФА установлено, что все полученные нанокompозиты АГ-S⁰НЧ являются рентгеноаморфными веществами. Их дифрактограммы практически полностью повторяют дифрактограмму исходной стабилизирующей матрицы АГ (рис. 2а).

Электронные спектры поглощения водных растворов композитов АГ-S⁰НЧ характеризуются плавным ростом в УФ-области с малоинтенсивным максимумом поглощения при 290 нм, характерным для коллоидных растворов S⁰ [35]. При этом увеличение концентрации серы в составе нанокompозитов сопровождается ростом интенсивности данного максимума, подтверждая его принадлежность электронным переходам на поверхности НЧ S⁰ (рис. 2б). Согласно данным ДРС в образце водного раствора нанокompозита, содержащего 4.6% серы, обнаружена одна фракция частиц с величиной среднего значения гидродинамических радиусов (R_h) 36.5 нм, вероятно, соответствующая межмолекулярным ассоциатам клубкообразных макромолекул АГ со сформировавшимся в них НЧ серы. Изменение количественного содержания неорганической фазы в составе композита не сопровождается существенными отклонениями среднего значения R_h частиц от указанного выше значения или появлением дополнительных фракций.

С применением ИК-спектроскопии установлено, что введение в состав АГ наночастиц S⁰ в количестве 0.3–4.6% не сопровождается значительными изменениями функционального состава его макромолекул. ИК-спектры полученных нанокompозитов характеризуются наличием ряда полос, присутствующих в спектрах исходного АГ, в частности интенсивной и широкой полосы в области 3425 см⁻¹, обусловленной колебаниями О–Н-групп полисахарида; относительно слабой полосы в области ~2920 см⁻¹, принадлежащей колебаниям С–Н-связей; полосы в области 1636 см⁻¹, обусловленной колебаниями О–Н-связей; набора полос в диапазоне 890–1220 см⁻¹, относящихся к С–О антисимметричным колебаниям С–О–Н- и С–О–С-групп полисахарида.

Тестирование радикалсвязывающей способности полученных нанокompозитов АГ-S⁰НЧ было проведено ХЛ-методом с использованием двух типов радикалгенерирующих систем: “люминол–пероксидаза хрена–H₂O₂” и “люминол–АБАП”. Согласно имеющимся представлениям окисление люминола до возбужденной молекулы – аминифталата, сопровождающееся эмиссией фотонов в рамках использования радикалгенерирующей системы “пероксидаза хрена–перекись водорода”, инициируется взаимодействием пе-

рооксидазы хрена с перекисью водорода, приводящим к отщеплению от пероксидазы двух электронов (один от атома железа и один от порфиринового кольца) с образованием продукта с окисленным оксоферрильным центром $\text{Fe}^{4+}=\text{O}$ и порфириновым катион-радикалом. После чего полученный продукт восстанавливается до исходной пероксидазы в результате его взаимодействия с молекулой люминола (донора электронов) с образованием люминол-радикала и 3-аминофталат дианиона в возбужденном состоянии (AP^{2-})*, переход которого в основное состояние сопровождается испусканием фотона $h\nu$ (425 нм) [36]. Таким образом, с использованием данной радикалгенерирующей системы, а также посредством обработки кинетических кривых ХЛ-методом TAR (Total Antioxidant Reactivity) обнаружено, что введение в ее состав растворов полученных наноконкомпозитов АГ- $\text{S}^0\text{НЧ}$ сопровождается изменением кинетики ХЛ, степень выраженности которой определяется в первую очередь количеством серы в составе композитов и концентрацией их водных растворов. Так, начало процесса генерации свободных радикалов в контрольном образце, активированном добавлением пероксида водорода, идентифицируется резким возрастанием интенсивности ХЛ с достижением фазы стационарного свечения в течение 2.3–3.0 мин, наличие которой свидетельствует о постоянной скорости генерирования радикалов-инициаторов окисления люминола, появляющихся при разложении пероксида водорода пероксидазой хрена. По истечении указанного времени система переходит в фазу довольно резкого (в течение 2 мин) снижения интенсивности ХЛ, связанного с уменьшением общего количества радикалов в системе (рис. 3).

При предварительном введении в объем анализируемой пробы, содержащей систему “люминол–пероксидаза хрена– H_2O_2 ”, аликвоты водного раствора композита АГ- $\text{S}^0\text{НЧ}$ в концентрации 3.3 мг/мл экспериментально зафиксировано резкое нарастание интенсивности ХЛ, связанное с активной генерацией свободных радикалов, инициируемое введением перекиси водорода, с выходом интенсивности ХЛ на максимальные значения в виде плато, продолжительность которого составила 2.3 мин с последующим плавным спадом до базовых значений (рис. 3а). Полученные кривые ХЛ аналогичны кривым ХЛ в контрольных опытах (без антиоксиданта). При этом увеличение количественного содержания серы в составе композита, соответственно, и в водном растворе, используемом в эксперименте, сопровождается сохранением формы кривых ХЛ одновременно с уменьшением до 35% продолжительности плато максимальных значений интенсивности ХЛ. Использование растворов с более высокой (5 мг/мл)

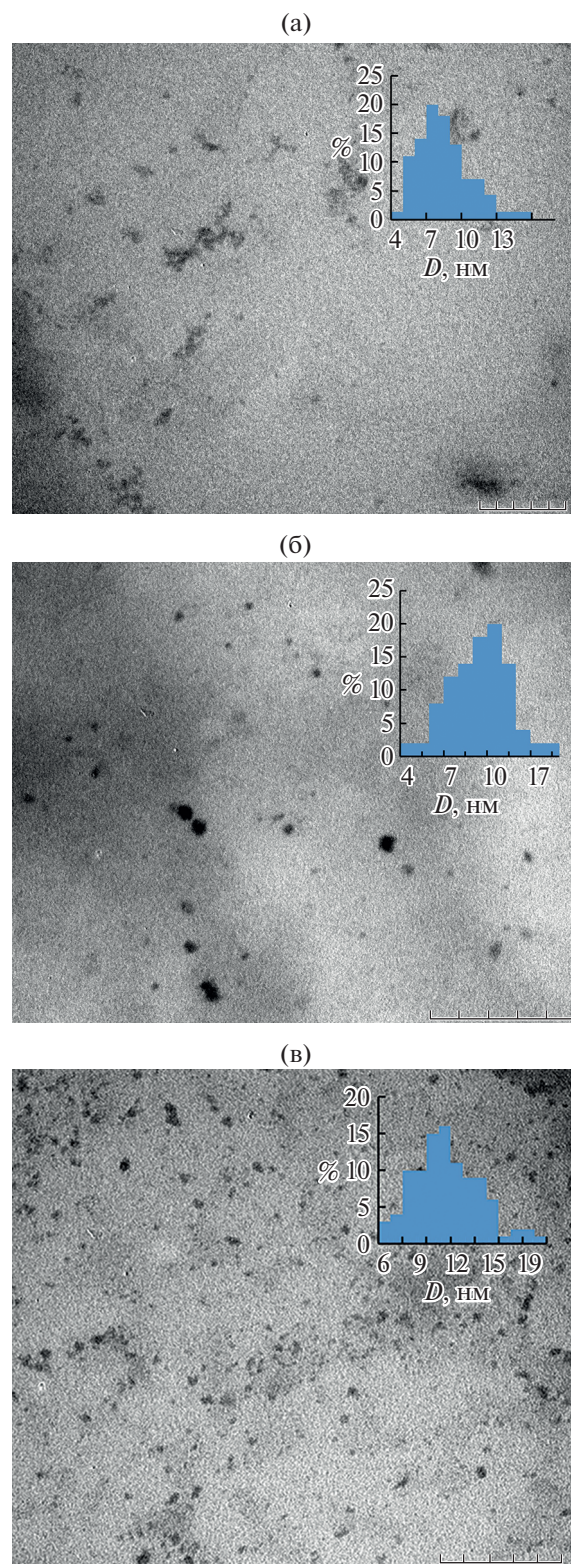


Рис. 1. ПЭМ-изображение и диаграммы дисперсного распределения (на вставке) наночастиц серы в наноконкомпозитах АГ- $\text{S}^0\text{НЧ}$, содержащих 0.3 (а), 1.0 (б), 2.0% S (в).

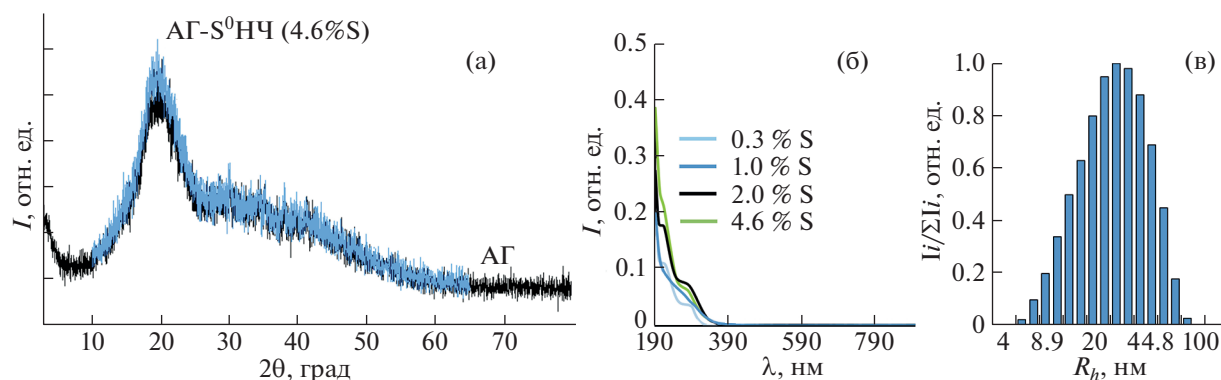


Рис. 2. Типичная дифрактограмма (РФА) нанокмпозитов АГ-S⁰НЧ в сравнении с исходным АГ (а); спектры поглощения 0.1%-ных водных растворов нанокмпозитов АГ-S⁰НЧ (б); распределение частиц по интенсивности их рассеяния в водном растворе нанокмпозита АГ-S⁰НЧ (4.6% S) (в).

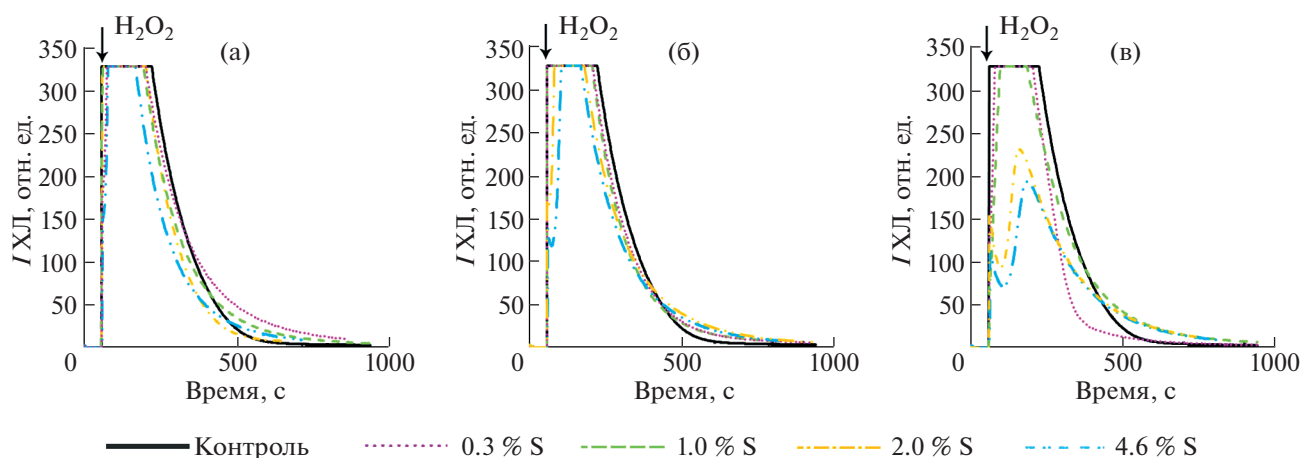


Рис. 3. Кривые люминол-активированной ХЛ радикалгенерирующей системы “пероксидаза хрена–H₂O₂” в присутствии композитов АГ-S⁰НЧ с варьируемым количеством серы в составе и в концентрациях водных растворов 3.3 (а), 5 (б), 10 мг/мл (в).

концентрацией характеризуется той же тенденцией в изменении динамики ХЛ, а именно укорочением периода наивысших значений ХЛ, достигающих 35% в случае композита, содержащего 2.0% S (рис. 3б). В случае наивысшего для данного исследования содержания серы в составе композита (4.6%) наблюдалось краткосрочное подавление интенсивности ХЛ в начальный период измерения до уровня 52% от контроля с дальнейшим увеличением интенсивности ХЛ до контрольных значений. В концентрации 10 мг/мл, а также в случае тестирования нанокмпозитов с содержанием серы 2.0 и 4.6% тушение ХЛ было более выраженным с наличием значительного (до 21–28% от контроля), но краткосрочного подавления ХЛ в начальный период (вторая минута) времени измерения с последующим увеличением интенсивности ХЛ, не превышающим 58–69% от контроля (рис. 3в).

Кроме того, антиоксидантные свойства полученных композитов АГ-S⁰НЧ оценивали с использованием АБАП в качестве источника гидрофильных радикалов для получения высокой и продолжительной ХЛ. Так, генерирующиеся в результате термоллиза АБАП пероксильные радикалы взаимодействуют с люминолом (LH₂) с образованием люминол-радикалов (LH[•]) (2), из которых далее через образование промежуточных веществ (гидропероксида люминола и эндопероксида люминола) образуются молекулы 3-аминофталевой кислоты в электронно-возбужденном состоянии, дающие свечение [38]:



Интенсивность свечения при этом пропорциональна скорости образования фотонов, а она пропорциональна стационарной концентрации LH[•] в системе. Взаимодействуя с радикалами, ан-

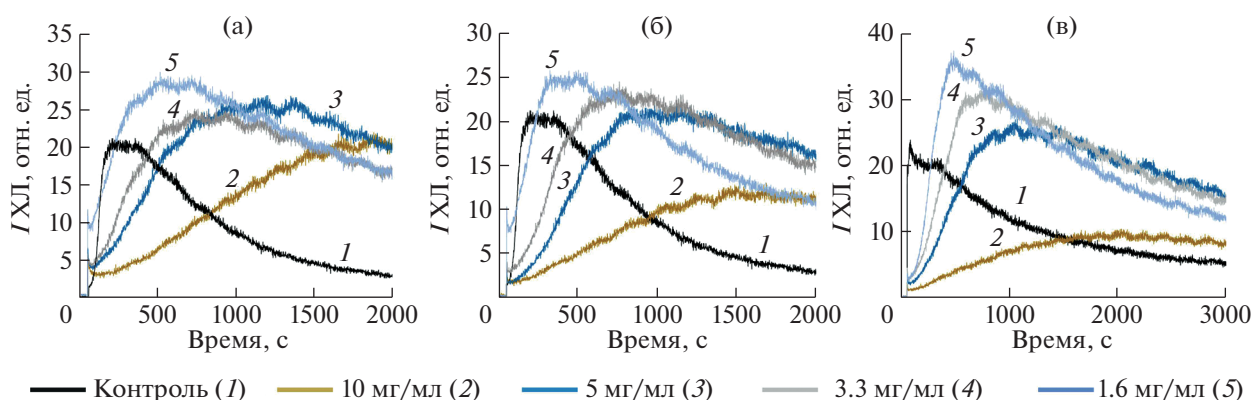


Рис. 4. Влияние водных растворов (концентрации указаны на рисунке) нанокompозитов серы, содержащих 0.3 (а), 2.0 (б), 4.6% S (в) на ХЛ-системы “АБАП–люминол”.

тиоксиданты прерывают описанную цепочку превращений и препятствуют образованию фотонов.

В качестве параметра оценки выраженности антиоксидантного эффекта тестируемых образцов использовали как значение максимальной интенсивности ХЛ, так и значение антиоксидантной емкости, рассчитанное по изменению площади (ΔS) под кинетической кривой ХЛ (суммы) при добавлении потенциального антиоксиданта [38]. Величину ΔS вычисляли как разницу между значением площади под кинетической кривой ХЛ для системы с предварительно введенным в ее состав антиоксидантом (S_a) и значения площади для системы без антиоксиданта (S_0).

При введении в радикалгенерирующую систему “АБАП –люминол” водных растворов нанокompозитов АГ- S^0 НЧ, содержащих 0.3–4.6% неорганической фазы, какого-либо антирадикального эффекта, выражающегося в снижении интенсивности ХЛ или значения площади под кривой ХЛ, зафиксировано не было (рис. 4). Практически единственным исключением являются случаи использования концентрированных растворов (10 мг/мл) тестируемых композитов с содержанием элементной серы 2.0 и 4.6%. Снижение интенсивности ХЛ при этом составило 70 и 44% от контрольных значений соответственно (рис. 4). Тогда как снижение значения площади под кривой ХЛ составило 85 и 73% от контрольных значений соответственно. Обнаруженные значения в совокупности с данными, полученными с использованием радикалгенерирующей системы “пероксидаза хрена– H_2O_2 –люминол”, позволяют сделать заключение о наличии радикалсвязывающей способности у полученных композитов АГ- S^0 НЧ, особенно в высоких концентрациях серы в растворе.

В [39, 40] было продемонстрировано наличие у НЧ серы (8–11 нм), стабилизированных полиэтиленгликолем (ПЭГ), выраженной антирадикаль-

ной активности в отношении ДФПГ $\cdot$ и АБТС $^{+ \cdot}$. Высказывалось предположение, что такая антирадикальная активность НЧ серы обусловлена наличием на их поверхности макромолекул ПЭГ, содержащих гидроксильные группы [32]. Перенос $H\cdot$ с гидроксильных групп на радикалы АБТС $^{+ \cdot}$ и ДФПГ $\cdot$ приводит к тушению свободнорадикальных форм. Этот антиоксидантный потенциал ПЭГ был подробно изучен в [41]. Подобный механизм антирадикального действия можно было бы ожидать и для полученных АГ- S^0 НЧ. Отметим, что для исходного чистого АГ не зафиксировали наличия антирадикального действия в условиях использования всех тестируемых радикалгенерирующих систем в выбранном концентрационном интервале. Следовательно, обнаруженный антирадикальный эффект синтезированных композитов АГ- S^0 НЧ обусловлен непосредственно НЧ S, а именно их высокоразвитой удельной поверхностью, напрямую взаимодействующей с функциональными группами макромолекул АГ. Учитывая небольшое (0.3–4.6%) содержание серы в составе композитов, можно заключить, что им свойственна высокая радикалсвязывающая активность, сопоставимая по величине с активностью аскорбиновой кислоты. Так, на нейтрализацию 50% радикалов в системе “люминол–пероксидаза хрена–перекись водорода” требовалось 5.7×10^{-8} моль S^0 НЧ. Тогда как количество аскорбиновой кислоты для аналогичной цели достигало 9.9×10^{-7} моль. В случае системы “люминол–АБАП” 50%-ная нейтрализация радикалов осуществлялась 2.5×10^{-8} и 4.6×10^{-8} моль серы для композитов, содержащих 2.0 и 4.6% S соответственно. То есть увеличение содержания серы в составе композитов, а следовательно, и увеличение среднего размера входящих в их состав НЧ (детектируемое ПЭМ) сопровождается снижением выраженности их радикалсвязывающего дей-

ствия. Подобный эффект наблюдался ранее для композитов селена и серебра [42, 43].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С использованием стабилизирующего потенциала природного полисахарида арабиногалактана и оригинальной методики генерирования НЧ элементных халькогенов из их объемных предшественников успешно получен ряд новых, водорастворимых нанокомпозитов, представляющих собой НЧ элементной серы со средним размером 8,3–32,0 нм, стабилизированные макромолекулами АГ. С привлечением метода ХЛ-анализа и радикал-генерирующих систем “люминол–пероксидаза хрена–перекись водорода” и “люминол–АБАП” охарактеризована антирадикальная активность полученных композитов. Выраженность данной активности напрямую определяется не только типом используемой радикалгенерирующей системы, но и количественным содержанием серы в составе композита и концентрацией их водных растворов. Полученные данные определяют перспективность разработки на основе АГ-S⁰НЧ не только антимикробных, фунгицидных или акарицидных препаратов, но и препаратов для борьбы с окислительным стрессом и коррекции его последствий.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-26-00140).

В экспериментах использовали материалы и оборудование БАЦКП Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН и ЦКП “Изотопно-геохимических исследований ИГХ СО РАН”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hu G., Do D.N., Gray J., Miar Y. // *Animals*. 2020. V. 10. № 9. P. 1717. <https://doi.org/10.3390/ani10091717>
2. Considine M.J., Foyer C.H. // *Antioxid. Redox. Sign.* 2014. V. 21. № 9. P. 1305. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5665>
3. Durand D., Collin A., Merlot E. et al. // *Animal*. 2022. V. 16. № 6. P. 100543. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100543>
4. Lykkesfeldt J., Svendsen O. // *Vet. J.* 2007. V. 173. № 3. P. 502. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.06.005>
5. Celi P., Gabai G. // *Front. Vet. Sci.* 2015. V. 2. P. 48. <https://doi.org/10.3389/fvets.2015.00048>
6. Corino C., Rossi R. // *Antioxidants*. 2021. V. 10. № 12. P. 1877. <https://doi.org/10.3390/antiox10121877>
7. Ostapchuk P.S., Zubochenko D.V., Kuevda T.A. // *Agric. Sci. Euro-North-East*. 2019. V. 20. № 2. P. 103. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2019.20.2.103-117>
8. Flieger J., Flieger W., Baj J. et al. // *Materials*. 2021. V. 14. № 15. P. 4135. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
9. Haleem A., Javaid M., Singh R.P. et al. // *Global Health J.* 2023. V. 7. № 2. P. 70. <https://doi.org/10.1016/j.glohj.2023.02.008>
10. Neme K., Nafady A., Uddin S. et al. // *Heliyon*. 2021. V. 7. № 12. P. e08539. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08539>
11. Youssef F.S., El-Banna H.A., Elzorba H.Y. et al. // *Int. J. Vet. Sci. Med.* 2019. V. 7. № 1. P. 78. <https://doi.org/10.1080/23144599.2019.1691379>
12. Bedlovičová Z., Strapáč I., Baláž M. et al. // *Molecules*. 2020. V. 25. № 14. P. 3191. <https://doi.org/10.3390/molecules25143191>
13. Valgimigli L., Baschieri A., Amorati R. // *J. Mater. Chem. B*. 2018. V. 6. № 14. P. 2036. <https://doi.org/10.1039/C8TB00107C>
14. Keshari A.K., Srivastava R., Singh P. et al. // *J. Ayurveda Integr. Med.* 2020. V. 11. № 1. P. 37. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2017.11.003>
15. Heidari G., Hassanpour M., Nejaddehbashi F. et al. // *Mater. Chem. Horizons*. 2022. V. 1. № 1. P. 35. <https://doi.org/10.22128/mch.2022.553.1005>
16. González-Flores D., Espino J., Pariente J.A. // *Turk. J. Biol.* 2023. V. 47. № 4. P. 218. <https://doi.org/10.55730/1300-0152.2658>
17. Naikoo G.A., Mustaqeem M., Hassan I.U. et al. // *J. Saudi Chem. Soc.* 2021. V. 25. № 9. P. 101304. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2021.101304>
18. Zvereva M.V., Aleksandrova G.P. // *Russ. J. Gen. Chem.* 2023. V. 93. № Suppl. 1. P. S347. <https://doi.org/10.1134/S1070363223140141>
19. Lesnichaya M., Tsvileva O. // *J. Clust. Sci.* 2022. V. 34. № 2. P. 853. <https://doi.org/10.1007/s10876-022-02264-z>
20. Lesnichaya M.V., Malysheva S.F., Belogorlova N.A. et al. // *Rus. Chem. B*. 2019. V. 68. P. 2245. <https://doi.org/10.1007/s11172-019-2694-x>
21. Войткова В.В., Дубровина В.И., Лукьянова С.В. и др. // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015. № 2 (81). С. 107.
22. Красникова И.М., Четверикова Т.Д., Куклина Л.Б. и др. // *Байкальский медицинский журнал*. 2002. Т. 30. № 1. С. 26.
23. Дубровина В.И., Голубинский Е.П., Медведева С.А. и др. // *Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра СО РАМН*. 2004. № 2 (1). С. 76.
24. Wang Y., Deng C., Shen Y. et al. // *J. Agr. Food Chem.* 2022. V. 70. № 45. P. 14377. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c05255>
25. Lesnichaya M., Gazizova A., Perfilova A. et al. // *IET Nanobiotechnol.* 2021. V. 15. № 7. P. 585. <https://doi.org/10.1049/nbt2.12044>
26. Saad-Allah K.M., Ragab G.A. // *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2020. V. 26. № 11. P. 2209. <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00899-8>
27. Sun Y., Jiang Y., Li Y. et al. // *Chem. Sci.* 2024. V. 15. № 13. P. 4709. <https://doi.org/10.1039/d3sc06122a>

28. *Cao X., Wang C., Luo X. et al.* // ACS Nano. 2021. V. 15. № 7. P. 11817.
<https://doi.org/10.1021/acsnano.1c02917>
29. *Zvereva M.V., Zhmurova A.V.* // Biophys. Rev. 2023. V. 15. № 5. P. 963.
<https://doi.org/10.1007/s12551-023-01148-4>
30. *Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В.* // Успехи биологической химии. 2009. Т. 49. С. 341.
31. *Александрова Г.П., Боймирзаев А.С., Лесничая М.В. и др.* // Журн. орган. химии. 2015. Т. 85. № 2. С. 317.
32. *Лесничая М.В., Сухов Б.Г.* // Российские нанотехнологии. 2021. Т. 16. № 2. С. 222.
<https://doi.org/10.1134/S1992722321020096>
33. *Алексеев А.В., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А.* // Вестн. МГУ. Сер. 2. 2012. Т. 53. № 3. С. 187.
34. *Zvereva M., Zhmurova A., Shendrik R.* // J. Clust. Sci. 2023.
<https://doi.org/10.1007/s10876-023-02525-5>
35. *Mahan N.K., Rasool K.H., Abd A.N.* // J. Phys. Conf. Ser. 2022. V. 2322. № 1. P. 012067.
<https://doi.org/10.1088/1742-6596/2322/1/012067>
36. *Zhang Z., Lai J., Wu K. et al.* // Talanta. 2018. V. 180. P. 260.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.12.024>
37. *Vladimirov G., Sergunova E.V., Izmaylov D.Yu. et al.* // Bulletin of Russian State Medical University. 2016. V. 2. P. 62.
38. *Dresch M.T., Rossato S.B., Kappel V.D. et al.* // Anal. Biochem. 2009. V. 385. № 1. P. 107.
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.10.036>
39. *Priyadarshi R., Riahi Z., Rhim J.-W. et al.* // Mater. Today Sustainability. 2022. V. 20. P. 100243.
<https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2022.100243>
40. *Riahi Z., Priyadarshi R., Rhim J.W. et al.* // Colloid Surf. B. 2022. V. 215. P. 112519.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112519>
41. *Juarez-Moreno K., Ayala M., Vazquez-Duhalt R.* // Appl. Biochem. Biotechnol. 2015. V. 177. P. 1364.
<https://doi.org/10.1007/s12010-015-1820-y>
42. *Лесничая М.В., Сапожников А.Н., Сухов Б.Г.* // Изв. РАН. Сер. хим. 2020. № 10. С. 1979.
43. *Зверева М.В., Жмурова А.В.* // Журн. орган. химии. 2022. Т. 92. № 10. С. 1628.