



УДК 579.61 (582.28)

АНТИМИКОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСПОЛЪЗУЕМОГО СТАБИЛИЗАТОРА



Т. А. Шульгина, О. В. Нечаева, Е. В. Глинская, Н. И. Дарьин,
А. С. Торгашова, Д. А. Теслюк, А. В. Бабайлова, Е. А. Панфилова

Шульгина Татьяна Андреевна, биолог отделения лабораторной диагностики, Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского. E-mail: tshylgina2012@yandex.ru

Нечаева Ольга Викторовна, доцент кафедры экологии, Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., кандидат биологических наук. E-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru

Глинская Елена Владимировна, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, кандидат биологических наук. E-mail: elenavg-2007@yandex.ru

Дарьин Николай Иванович, технический директор, Общество с ограниченной ответственностью «М9» (Тольятти). E-mail: nickel@nmt-9.com

Торгашова Анна Сергеевна, студент педиатрического факультета, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского. E-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru

Теслюк Дмитрий Александрович, заведующий лабораторией исследования наносистем, Институт экологии Волжского бассейна РАН (Тольятти). E-mail: Dy@nmt-9.com

Бабайлова Анастасия Владимировна, магистр биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: anastasya.babailova@mail.ru

Панфилова Екатерина Андреевна, магистр биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: eranfilova96@mail.ru

В последнее десятилетие получено большое количество фактических данных о неуклонно возрастающих осложнениях, обусловленных грамположительными и грамотрицательными микроорганизмами, а также вызванными грибами рода *Candida*. Сложившаяся ситуация явилась мощным стимулом для поиска и разработки новых средств, содержащих в своем составе вещества с выраженными химико-физическими свойствами и обладающими высокой биологической активностью. Современным и перспективным направлением стало применение нанотехнологий, в частности металлических наночастиц. Известно, что наночастицы металлов обладают специфическими свойствами, зависящими от способа химического синтеза и стабилизирующего полимера. В литературных источниках показано, что антимикробное действие наночастиц серебра обусловлено их связыванием

со структурными компонентами клеточных мембран, что, в свою очередь, сопровождается повреждением мембраны и гибелью микробной клетки. Проведено экспериментальное исследование антимикотического действия растворов наночастиц серебра, стабилизированных синтетическим (поливиниловый спирт) и натуральным (карбоксиметилцеллюлоза) полимерами в отношении стандартных и клинических штаммов дрожжеподобных грибов *Candida albicans*. Установлено, что растворы наночастиц серебра проявляли фунгицидную активность в отношении как стандартного, так и клинических штаммов *C. albicans* в диапазоне концентраций от 3 до 1% вне зависимости от стабилизатора.

Ключевые слова: *Candida albicans*, растворы наночастиц серебра, полимерные стабилизаторы.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-465-468

В настоящее время наряду с повышением уровня антибактериальной устойчивости возростает и частота инфекционно-воспалительных осложнений, вызванных грибами рода *Candida*.

Данные медицинской статистики доказывают, что до 50% грибковых заболеваний приходится на долю дрожжеподобных грибов рода *Candida*, причем 95% кандидозов вызвано штаммами *Candida albicans*. Высокая инфекционная активность вида связана с огромным количеством разнообразных факторов вирулентности: высокая степень адгезии, вырабатываемые ими секреторные аспарагиновые протеиназы и т.д. [1, 2].

Несмотря на огромный спектр антисептиков и антибиотиков, актуальным остается поиск новых соединений, обладающих эффективным действием в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и грибов. В этом направлении приоритетным является использование нанотехнологий, в частности металлических наночастиц в наноразмерном диапазоне. Особая роль принадлежит наночастицам серебра, которые обладают выраженным бактерицидным, антисептическим действием и являются эффективными обеззараживающими агентами в отношении широкого спектра условно-патогенных и патогенных микроорганизмов [3, 4].

По данным многочисленных исследований показано, что наночастицы серебра, являющиеся составляющими агентами новых препаратов, обладают выраженным антимикотическим действием для местного лечения гнойно-воспалительных



осложнений в послеоперационном периоде, трофических язв, инфицированных ожогов, а также по отношению к возбудителям воспалительных процессов в тканях пародонта [5, 6].

При этом одной из важнейших проблем является синтез достаточно стабильных наночастиц заданного размера, в течение длительного времени сохраняющих высокую химическую или биологическую активность. Поэтому при разработке методов синтеза наночастиц большое внимание уделяется выбору стабилизаторов, которые и определяют уровень их стабильности.

Одним из перспективных методов синтеза металлических наночастиц является их химическое восстановление в водном растворе стабилизатора за счет депротонированной формы кверцетина (заявление на выдачу патента № 2016117030).

В связи с вышеизложенным целью данного исследования явилось изучение зависимости противогрибковой активности наночастиц серебра от используемого стабилизатора.

Материалы и методы

В работе использовались растворы наночастиц серебра, стабилизированных полимерными соединениями: карбоксиметилцеллюлозой (Ag/CMC) и поливиниловым спиртом (Ag/PVA) [7]. Содержание наночастиц в растворах составляло 0,5 г/л. Согласно авторской методике синтеза наночастиц, в процессе восстановления кверцетин передает валентный электрон иону серебра, тем самым восстанавливая его до металлического состояния. Атомы металлического серебра объединяются в кластеры, размер которых ограничивается стабилизатором. Стабилизатор в растворенной форме образует в воде супрамолекулярную систему, которая представляет собой наноразмерные полости, в которых происходит восстановление. Размер полостей регулируется количеством стабилизатора, которое выбирается в зависимости от его природы.

В результате восстановления формируется кристалл металлического серебра, на поверхности которого адсорбируются молекулы стабилизатора. Также молекулы стабилизатора пассивируют поверхность кристалла и предотвращают окисление кристалла кислородом, растворенным в воде.

В качестве экспериментальной модели использовали стандартный и клинические штаммы дрожжеподобных грибов *Candida albicans*. Диапазон концентраций растворов наночастиц серебра составлял 3; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125%.

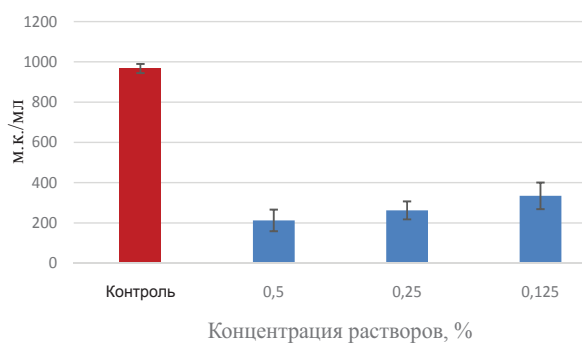
Антимикотическую активность исследуемых растворов изучали с использованием метода серийных разведений в плотной питательной среде, в

качестве которой использовали среду Сабуро (МУК 4.2.1890-04) [8]. Посевы культивировали в течение 48 часов при температуре 37°C. Учет результатов проводили путем подсчета количества колониеобразующих единиц на чашках Петри и определения количества микробных клеток в 1 мл (м.к./мл).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась при помощи пакета программ STATISTICA 6,0 с подсчетом средних значений (M), среднеквадратичных ошибок (m) и уровня достоверности (p).

Результаты и их обсуждение

В ходе проведенных исследований было установлено, что растворы наночастиц серебра проявляли фунгицидную активность в отношении как стандартного, так и клинических штаммов *C. albicans* в диапазоне концентраций от 3 до 1% вне зависимости от стабилизатора, за исключением 1%-ного раствора наночастиц серебра, стабилизированного поливиниловым спиртом, который проявил частично фунгицидное действие в отношении клинического штамма *C. albicans* № 4. Статистически достоверное снижение количества микробных клеток отмечалось при действии концентраций 0,5; 0,25 и 0,125% раствора наночастиц серебра, стабилизированного поливиниловым спиртом ($p < 0,001$), что приводило к снижению данного показателя в 5,2–2,7 раза соответственно по сравнению с контрольными значениями (рис. 1).



Ри. 1. Действие раствора наночастиц серебра, стабилизированного поливиниловым спиртом, на стандартный и клинические штаммы *C. albicans*

При действии раствора наночастиц серебра, стабилизированного карбоксиметилцеллюлозой, в отношении как стандартного, так и клинических штаммов *C. albicans* фунгицидный эффект был выявлен в концентрациях 3; 2; 1 и 0,5%. Исключением явился клинический штамм *C. albicans* № 1, для которого отмечен частично фунгицидный эффект при действии 0,5% раствора Ag/CMC.



При этом количество микробных клеток снижалось в 5,2 раза по сравнению с контрольными значениями.

Более низкие концентрации раствора наночастиц серебра, стабилизированного карбоксиметилцеллюлозой, в частности 0,25%, также приводили к статистически достоверному снижению числа микробных клеток в 1,6 раза ($p < 0,05$) вне зависимости от штамма *C. albicans* по сравнению с контролем, что свидетельствовало о частично фунгицидном действии (рис. 2). Воздействие минимальной рабочей концентрации раствора наночастиц серебра, стабилизированного карбоксиметилцеллюлозой, не вызывало достоверного снижения количества клеток по сравнению с контрольными значениями.

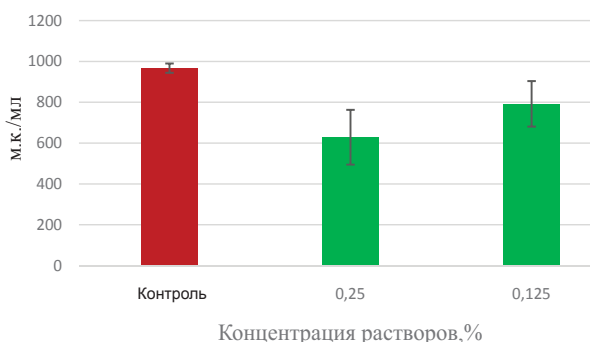


Рис. 2. Действие раствора наночастиц серебра, стабилизированного карбоксиметилцеллюлозой, на стандартный и клинические штаммы *C. albicans*

Полученные нами результаты позволили установить, что растворы наночастиц серебра, стабилизированные как синтетическим, так и натуральным полимерами, оказывают фунгицидное действие только при относительно высоких концентрациях, что свидетельствует о меньшей чувствительности клеток грибов по сравнению с бактериальными клетками [9]. Вероятно, это связано с особенностями строения их клеточной стенки, однако данное предположение требует более детального изучения.

Использование стабилизаторов в процессе синтеза наночастиц серебра обеспечивает создание защитного органического покрытия, которое экранирует неорганическое ядро металла от контакта с водной средой и снижает вероятность агломерации наночастиц, что способствует повышению коллоидной стабильности их водных дисперсий [7]. Используемая в исследовании карбоксиметилцеллюлоза является натуральным полимерным соединением и не обладает антимикробной активностью. Для поливинилового спирта, как синтетического по-

лимера, в исследованиях ряда авторов показан широкий спектр антимикробного действия [10]. Вероятно, помимо стабилизирующего эффекта, Ag/PVA обеспечивал синергидный эффект дисперсии наночастиц серебра, что проявлялось в большей эффективности данной дисперсии в отношении стандартного и клинических штаммов *C. albicans*.

Таким образом, растворы наночастиц серебра, стабилизированные полимерными соединениями, можно рассматривать в качестве перспективных компонентов антимикотических препаратов для лечения местных поражений, вызванных микроскопическими грибами, в медицинской и ветеринарной практике.

Список литературы

1. Канустина О. А., Карташова О. Л. Факторы патогенности грибов рода *Candida* и возможность их регуляции эфирными маслами // Бюл. Оренбург. науч. центра УрО РАН (электрон. журн.). 2013. № 1. С. 1–10.
2. Naglik J. R., Challacombe S. J., Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2003. Vol. 67, № 3. P. 400–428.
3. Кутырева М. П., Гатаулина А. Р., Медведева О. И. Биохимическая активность композиционных составов наночастиц биофильных металлов и гиперразветвленных полиэфирополиолов // Бутлеровские сообщения. 2013. Т. 34, № 6. С. 22–29.
4. Петрицкая Е. Н., Рогаткин Д. А., Русанова Е. В. Сравнительная характеристика антибактериального действия препаратов серебра и наносеребра in vitro // Альманах клинической медицины. 2016. № 44 (2). С. 221–226.
5. Бабушкина И. В., Мамонова И. А., Гладкова Е. В. Обоснование комплексного подхода к местному лечению гнойно-воспалительных осложнений // Междунар. журн. прикладных и фундаментальных исследований. 2017. № 4–3. С. 501–505.
6. Белоклицкая Г. Ф., Павленко Э. М., Руденко А. В. Изучение бактерицидной активности препаратов серебра по отношению к возбудителям воспалительных процессов в тканях пародонта // Современная стоматология. 2014. № 5. С. 18–22.
7. Николаев А. Ф., Мосягина Л. П. Поливиниловый спирт и сополимеры винилового спирта в медицине // Пластические массы. 2000. № 3. С. 34–42.
8. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам // МУК 4.2.1890-04. М.: Изд. отд. Федер. центра Госсанэпиднадзора Минздрава РФ, 2004. 91 с.
9. Шульгина Т. А., Нечаева О. В. Анализ эффективности действия нанопрепаратов в составе водных растворов на биологическую активность грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов // Вестн. Костром. гос. ун-та им. Н. А. Некрасова. 2014. № 4. С. 31–36.



10. Пасько Д. А., Кириченко А. В. Молекулярно-динамическое моделирование взаимодействия поливинилового спирта с наночастицей серебра // Вісн. Харк. нац. ун-ту, сер. Хімія. 2015. Вып. 25, № 48. С. 29–38.

Antimycotic Activity of Silver Nanoparticles Depending on the Stabilizer Used

**T. A. Shulgina, O. V. Nechaeva, E. V. Glinskaya,
N. I. Daryin, A. S. Torgashova, D. A. Teslyuk,
A. V. Babailova, E. A. Panfilova**

Tatiana A. Shulgina, ORCID 0000-0003-3945-5910, Research institute of traumatology, orthopedics and neurosurgery of the Saratov State Medical University, 148, Chernyshevsky Str., Saratov, 410002, Russia, tshylgina2012@yandex.ru

Olga V. Nechaeva, ORCID 0000-0003-3331-1051, Saratov State Technical University, 77, Polytechnicheskaya Str., Saratov, 410054, Russia, olgav.nechaeva@rambler.ru

Elena V. Glinskaya, ORCID 0000-0002-1675-5438, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, elenavg-2007@yandex.ru

Nikolay I. Daryin, ORCID 0000-0002-7836-0909, «M9», 10, Komzin Str., Togliatti, 445002, Russia, nickel@nmt-9.com

Anna S. Torgashova, ORCID 0000-0003-0996-6840, Saratov State Medical University, 112, Bolshaya Kazachia Str., Saratov, 410012, Russia, gekon_toki@mail.ru

Dmitry A. Teslyuk, ORCID 0000-0002-7480-9369, Institute Ecology of Volga River Basin RAS, 10, Komzin Str., Togliatti, 445003, Russia, Dy@nmt-9.com

Anastasia V. Babailova, ORCID 0000-0002-8984-1441, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, anastasya.babailova@mail.ru

Ekaterina A. Panfilova, ORCID 0000-0001-8605-2802, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, epanfilova96@mail.ru

In the last decade, a large number of factual data about the steadily increasing complications caused by gram-positive and gram-negative microorganisms, as well as caused by fungi of the genus *Candida*, have been obtained. The developed situation was a powerful stimulus for the search and creation of new products containing substances with pronounced chemical-physical properties and high biological activity. The modern and promising direction was the using of nanotechnology, in particular, metallic nanoparticles. It is known, that metal nanoparticles have specific properties, depending on the method of chemical synthesis and the stabilizing polymer. Literature sources show that the antimicrobial effect of silver nanoparticles is due to their binding to the structural components of cell membranes, which in turn is accompanied with damaging of the membrane and microbial cell death. An experimental study of the antimycotic action of solutions of silver nanoparticles stabilized by synthetic (polyvinyl alcohol) and natural (carboxymethylcellulose) polymers against standard and clinical strains of yeast-like fungi *Candida albicans* was carried out. It was found that solutions of silver nanoparticles showed fungicidal activity against both standard and clinical strains of *C. albicans* in the concentration range from 3 to 1% irrespective of the stabilizer.

Key words: *Candida albicans*, solutions of silver nanoparticles, polymeric stabilizers.

Образец для цитирования:

Шульгина Т. А., Нечаева О. В., Глинская Е. В., Дарьин Н. И., Торгашова А. С., Теслюк Д. А., Бабайлова А. В., Панфилова Е. А. Антимикотическая активность наночастиц серебра в зависимости от используемого стабилизатора // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 4. С. 465–468. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-465-468.

Cite this article as:

Shulgina T. A., Nechaeva O. V., Glinskaya E. V., Daryin N. I., Torgashova A. S., Teslyuk D. A., Babailova A. V., Panfilova E. A. Antimycotic Activity of Silver Nanoparticles Depending on the Stabilizer Used. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 4, pp. 465–468 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-465-468.