Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук»

Бурмистров Дмитрий Евгеньевич

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ МЕТАЛЛОВ, ЗАКЛЮЧЕННЫХ В ПОЛИМЕРЫ, НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

На правах рукописи

1.5.2. — биофизика

Aleeecon

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

> Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор РАН, профессор Гудков Сергей Владимирович

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ 2
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ 6
ВВЕДЕНИЕ7
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР 14
1.1. Применение наночастиц металлов и оксидов металлов в биомедицине 14
1.2. Антибактериальная активность и механизмы антибактериального действия НЧ
металлов и оксидов металлов 18
Электростатические взаимодействия НЧ – бактериальная клетка; механическое
воздействие НЧ 19
Формирование катионов металлов, АФК-опосредованный механизм 22
Механизмы адаптации бактериальных клеток к воздействию НЧ 24
Генотоксическое действие НЧ оксидов металлов и взаимодействие с белками
бактериальной клетки 24
1.3. Биологические свойства и ключевые особенности НЧ оксида железа 25
Биологическая роль железа 25
Особенности антибактериальной активности НЧ оксида железа 26
Методы синтеза НЧ оксида железа 29
Влияние способа синтеза, состава, морфологических характеристик и
модификаций на антибактериальные свойства НЧ оксида железа 36
Биосовместимость НЧ оксида железа 41
Недостатки применения НЧ оксида железа 41
1.4. Антибактериальные свойства НЧ оксида цинка 42
Свойства и биологическая роль цинка 42
Области применения НЧ оксида цинка 43
Особенности антибактериальной активности НЧ оксида цинка 43
Методы повышения антибактериальной активности НЧ оксида цинка 51

1.5. Антибактериальные свойства НЧ оксида алюминия 56
Природа алюминия
Пути синтеза и возможные способы улучшения свойств НЧ оксида алюминия 57
Особенности активности НЧ оксида алюминия в отношении бактериальных клеток
Воздействие НЧ оксида алюминия на микроводоросли водоемов 66
Антимикотический эффект НЧ оксида алюминия 67
Цитотоксичность НЧ оксида алюминия
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 70
2.1. Биологические объекты исследования и сопутствующие реактивы 70
2.2. Приборы и аппаратура 70
2.2. Методы
2.2.1. Синтез наночастиц оксидов металлов
2.2.2. Синтез полимерных матриц и приготовление композитных материалов 71
Получение композитных материалов на основе матрицы БС 71
Получение композитного материала на основе матрицы ПЛГА
Получение композитного материала на основе матрицы ПТФЭ 72
Изготовление образцов (пленок) композитных материалов на основе ПЛГА и БС
2.2.3. Исследование физических свойств и характеризация полученных
композитных материалов
Оценка реологических характеристик полученных материалов 73
Термический анализ 73
Модуляционно-интерференционная микроскопия 73
2.2.4. Оценка концентрации перекиси водорода 74
2.2.5. Оценка концентрации гидроксильных радикалов
2.2.6. Оценка изменения концентрации долгоживущих активных форм белков 74
2.2.7. Количественное определение 8-оксогуанина в ДНК <i>in vitro</i> методом ИФА 75

2.2.8. Оценка бактериостатической активности материалов при помощи измерения
оптической плотности суспензионных культур бактерий 75
2.2.9. Метод микробиологических смывов с последующим посевом на твердую
питательную среду и подсчетом КОЕ 76
2.2.10. Определение антибиопленочных свойств композитных материалов на
основе ПТФЭ при помощи флуоресцентного окрашивания 77
2.2.11. Выделение и культивирование фибробластов лёгких мыши
2.2.11. Оценка жизнеспособности культур эукариотических клеток 78
2.2.10. Статистический анализ и обработка результатов
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ 80
3.1. Свойства композитных материалов, функционализированных НЧ оксида
железа
3.1.1. Синтез и характеризация НЧ оксида железа 80
3.1.2. Свойства композитных материалов на основе ПЛГА, содержащих НЧ оксида
железа
3.1.3. Свойства композитных материалов на основе БС, содержащих НЧ оксида
железа
3.1.4. Свойства композитных материалов на основе ПТФЭ, содержащих НЧ оксида
железа
3.2. Свойства композитных материалов, функционализированных НЧ оксида цинка
3.2.1. Синтез и характеризация НЧ оксида цинка 94
3.2.2. Свойства композитных материалов на основе ПЛГА, содержащих НЧ оксида
цинка
3.2.3. Свойства композитных материалов на основе БС, содержащих НЧ оксида
цинка
3.2.4. Свойства композитных материалов на основе ПТФЭ, содержащих НЧ оксида
цинка

3.3. Свойства композитных материалов, функционализированных НЧ оксида
алюминия
3.3.1. Синтез и характеризация НЧ оксида алюминия 111
3.3.2. Свойства композитных материалов на основе ПЛГА, содержащих НЧ оксида
алюминия
3.3.3. Свойства композитных материалов на основе БС, содержащих НЧ оксида
алюминия
3.3.4. Свойства композитных материалов на основе ПТФЭ, содержащих НЧ оксида
алюминия
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 126
ВЫВОЛЫ
СПИСОК ПУБЛИКАНИЙ ПО ТЕМЕ ЛИССЕРТАНИИ
список литературы

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- НЧ наночастицы
- НЧОЖ наночастицы оксида железа
- НЧОЦ наночастицы оксида цинка
- НЧОА наночастицы оксида алюминия
- БС боросилоксан
- ПЛГА поли(лактид-ко-гликолид)
- ПТФЭ политетрафторэтилен
- АФК активные формы кислорода
- ДАФБ долгоживущие активные формы белков
- КОЕ колониеобразующая единица
- ДРС динамическое рассеяние света
- ККК кумарин-3-карбоновая кислота
- 8-ОГ 7,8-дигидро-8-оксогуанин (8-оксогуанин)
- T_g температура стеклования
- ΔC_p теплоёмкость
- ИФА иммуноферментный анализ
- МИМ модуляционно-интерференционная микроскопия
- ПЭМ просвечивающая электронная микроскопия
- МИК минимальная ингибирующая концентрация
- МБК минимальная бактерицидная концентрация
- АСМ агар с сердечно-мозговым экстрактом
- АМХ агар Мюллера-Хинтон
- ТСА триптон-соевый агар
- ПА питательный агар
- ПБ питательный бульон
- ТКС триптон-казеин-соевый бульон
- СЛИ среда Левенштейна-Йенсена
- СДА агар Сабуро с декстрозой
- КДА картофельно-декстрозный агар
- КДС картофельно-декстрозная среда
- ДЭПД дрожжевой экстракт пептон декстроза
- ЛБ среда Лурия-Бертани
- БМХ бульон Мюллера-Хинтона

введение

Актуальность исследования

Открытие Александром Флемингом первого антибиотика, пенициллина, в 1928 году [Fleming, 1929] положило начало крупнейшему противостоянию человечества с бактериальными инфекциями, которое продолжается по сей день, поскольку бактериальные микроорганизмы мутируют и формируют устойчивость к антибиотикам. Возникновение постоянно полирезистентных штаммов, также известных под названием «супербактерии» зачастую происходит из-за широкого использования антибиотиков в пищевой промышленности, а также нерационального и неизбирательного применения человеком антибиотиков в различных сферах, включая терапию патологий, вызванных бактериальными инфекциями [Shin, 2017]. Антибиотикорезистентность представляет серьезную проблему для мирового здравоохранения в целом и экономик стран в частности, унося ежегодно тысячи жизней пациентов и приводя к существенным затратам на производство медикаментов [Namazova-Baranova & Baranov, 2017; Urban-Chmiel et al., 2022]. Известно, что инфекции дыхательных путей, а также кишечные инфекции входят в десяток основных причин смертности, согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения [ВОЗ, 2020]. Одной из основных причин такой высокой смертности, в том числе, является возникновение новых полирезистентных штаммов бактерий. В недавнем сообщении Управления Роспотребнадзора также сообщалось о возможном «надвижении постантибиотической эры», когда распространенные инфекции и незначительные травмы вновь могут стать смертельными, какими и были до открытия антибиотиков [Роспотребнадзор, 2019]. В свою очередь, в 2017 году Министерством здравоохранения Российской Федерации была разработана и внесена в Правительство стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 года. Тем не менее, принимаемые на сегодняшний день меры являются малоэффективными и поиск новых методов борьбы с бактериальными инфекциями, в том числе альтернативных, остается важнейшей задачей для мирового научного сообщества.

Одним из главных источников бактериальной контаминации являются поверхности, на которых возможна адгезия и колонизация бактериальных клеток [Doron & Gorbach, 2008]. Следовательно, появляется необходимость в разработке новых материалов и покрытий на их основе, способных оказывать пролонгированный антибактериальный эффект [Yang et al., 2022]. В настоящее время поиск передовых методов борьбы с бактериальной контаминацией осуществляется в нескольких направлениях. Одновременно разрабатываются и совершенствуются физические, химические, а также биологические средства, направленные на предотвращения роста и развития патогенных и условно патогенных микроорганизмов [Nastulyavichus et al., 2020]. Отдельное внимание уделяется исследованиям, направленным на

получение неорганических наноматериалов (<100 нм), обладающих антибактериальной активностью за счет своей большой удельной площади поверхности и высокой реакционной активности. Благодаря своим уникальным свойствам наноматериалы находят всё больше применений в различных областях жизни человека [Gudkov et al., 2020; Khlebtsov et al., 2022; Kolahalam et al., 2019; Pleskova et al., 2016]. Известно, что некоторые наночастицы (HЧ) металлов и оксидов металлов (ZnO, TiO₂, CuO, Fe₂O₃, Fe₃O₄, Ag₂O, Al₂O₃, MgO, Au и др.) проявляют бактериостатический и бактерицидный эффекты в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных видов бактерий [Gudkov et al., 2021; Patel et al., 2023; Hajipour et al., 2012; Nastulyavichus et al., 2022; Omelyanchik et al., 2020; Stanić & Tanasković, 2020], а в некоторых случаях могут проявляют активность в отношении грибковых патогенов [Sun et al., 2018].

Главным преимуществом использования НЧ металлов и оксидов металлов по сравнению с антибиотиками является низкая вероятность развития резистентности к наноматериалам за счет одновременного воздействия на бактериальную клетку несколькими повреждающими факторами (механическое повреждение, образование свободных катионов металлов и продукция AФК) [Wang et al., 2017]. Следовательно, данные наноматериалы могут быть весьма перспективными как для биомедицины, так и для пищевой промышленности. Однако практическое применение наноматериалов в чистом виде затруднено, так как не способно обеспечить продолжительный эффект и не всегда безопасно для организма человека и животных, в связи с чем возникает необходимость поиска путей применения наночастиц оксидов металлов в качестве функциональной добавки в материалах для покрытий. Для достижения стабильности наночастиц, снижения их токсического воздействия на клетки и ткани, а также обеспечения продолжительного антимикробного эффекта предлагается использовать наночастицы металлов и их оксидов в составе композитных материалов на основе полимерных матриц [Anwar et al., 2022; Arzhakova et al., 2021; Zezin et al., 2022; Гарасько и др., 2009; Чуловская и др., 2013].

Композитный материал (композиционный материал, композит) — это искусственно созданный неоднородный сплошной материал, состоящий из двух или более компонентов с чёткой границей раздела между ними. Отдельные компоненты композита обладают различными физическими и химическими свойствами. При этом в сочетании друг с другом они создают новый материал или улучшают характеристики одного из них. В большинстве композитов (за исключением слоистых) компоненты можно разделить на матрицу (или связующее) и включённые в неё армирующие элементы (или наполнители) [Гуменюк, Грушин, 2013].

Композитные материалы на основе полимеров с добавлением микроразмерных частиц используются человеком с начала 20 века: частицы углерода и металлов добавлялись в бакелит [Baekeland, 1909] и вулканизированный каучук [Goodyear, 1856] для придания механической

8

прочности данным полимерам. Значительно позднее, в середине 80-х, начале 90-х годов, создаются первые нанокомпозитные материалы [Bourgeat-Lami et al., 1996; Helbert et al., 1996; Okada et al., 1988; Reynaud et al., 2017]. Начинают активно исследоваться биологические свойствам композитных наноматериалов на основе полимеров с добавлением НЧ металлов и оксидов металлов, исследуется антибактериальная активность [Pradhan et al., 2011; Weickmann et al., 2005], а также биосовместимость данных материалов на клеточном и тканевом уровнях [Gerhardt et al., 2007]. Тем не менее, не смотря на значительное число современных работ, демонстрирующих получение композитных материалов на основе полимеров с добавлением НЧ металлов и оксидов металлов, проявляющих антибактериальные свойства, часто при процессе синтеза и при получении пленок на основе данных материалов возникают поверхностные дефекты и структурные повреждения [Hosseini et al., 2016; Ranjbar et al., 2019]. В ряде случаев синтезируемые материалы токсичны для клеток животных и человека [Lee et al., 2014; Nirmala et al., 2012; Ramezani et al., 2014]. Нужно отметить, что цитотоксичность антибактериальных композитных материалов в некоторых работах вовсе не рассматривалась [Cioffi et al., 2005; Dimitrakellis et al., 2021; Preethi et al., 2020].

Выбор материала, используемого в качестве полимерной матрицы, является ключевым этапом конструировании материала, функционализированного при композитного наночастицами, и зависит, в первую очередь, от его дальнейшего практического применения. Основными критериями к материалу, используемому в биомедицинских целях (объемные протезы, покрытия для имплантов и инструментов, стоматологический цементный материал, шовный материал), а также пищевой промышленности (покрытия производственных поверхностей, антибактериальная упаковка, одежда для персонала) является биосовместимость материала, отсутствие токсичности для клеток и тканей животных и человека, а также наличие необходимых механических свойств. Наиболее широко используемыми материалами для создания таких композитов являются полимеры и сополимеры органических кислот, биоразлагаемыми свойствами. Например, многообещающим материалом, обладающие выступающим в качестве матрицы антибактериального композитного материала, является сополимер молочной и гликолевой кислот — поли(лактид-ко-гликолид) (ПЛГА) [Eslami et al., 2018]. Особенностью данного полимера является регулируемая биоразлагаемость, достигаемая за счет изменения соотношения остатков лактата и гликолата в полимерной цепи [Haider et al., 2014; Haider et al., 2015; Makadia & Siegel, 2011]. В ряде исследований было продемонстрировано успешное создание композитов на основе ПЛГА, содержащих факторы роста [Scheiner et al., 2021; Sun et al., 2018] и наночастиц металлов и оксидов металлов [Eslami et al., 2018; Guo et al., 2020; Haider et al., 2015; Torres et al., 2007]. ПЛГА также широко изучается для доставки лекарств и регенерации тканей [Kapoor et al., 2015; Klose et al., 2008; Martins et al., 2018].

Отдельный интерес представляет возможность применения неньютоновских материалов в качестве матриц для создания композитных материалов. Особенностью таких материалов является зависимая либо от времени, либо от градиента скорости изменяемая вязкость. Одним из представителей таких материалов является боросилоксан (БС), относящийся к классу кремнийорганических соединений. БС обладает уникальной способностью к самовосстановлению, которую также называют «самозалечиванием боросилоксана». Благодаря этому интересному свойству данный полимер нашел широкое применение в качестве компонента для изготовления противоударных и демпфирующих элементов в спортивной экипировке, а также элементов брони. Создание материалов на основе БС, проявляющих антибактериальную активность за счет функционализации наночастицами оксидов металлов, может является полезным с прикладной точки зрения, например, в качестве «сухого» дезинфицирующего средства для рук.

Полимеры, обладающие высокой устойчивостью к внешнем механическому воздействию и агрессивным средам также являются чрезвычайно перспективными для использования в качестве матриц при создании композитных материалов. Одним из таких материалов является политетрафторэтилен (ПТФЭ, фторопласт, тефлон). ПТФЭ был впервые синтезирован Роем Дж. Планкеттом в DuPont[®] и получил коммерческое название Teflon[®]. Известно, что этот материал обладает превосходными гидрофобными, антифрикционными и термостабильными свойствами благодаря химической связи углерод-фтор [Dhanumalayan & Joshi, 2018]. Еще одной важной особенностью фторполимеров является их биоинертность и превосходная биосовместимость [Demling et al., 2010]. В совокупности все эти свойства делают ПТФЭ отличным кандидатом для использования в качестве матрицы для антибактериальных композитных покрытий, востребованных как в пищевой промышленности [Rungraeng et al., 2012; Zaporojtchenko et al., 2006], так и в биомедицине [Zhang et al., 2019]. Стоит отметить, что ПТФЭ особенно популярен в мясоперерабатывающей промышленности и проблема бактериальной контаминации поверхностей на данных предприятиях стоит особо остро.

Таким образом, для получения бездефектных образцов композитных материалов на основе рассматриваемых полимерных матриц, появляется необходимость в разработке и оптимизации метода синтеза [Fu et al., 2019; Hiremath et al., 2021; Xu & Blum, 2008]. Для дальнейшего практического применения важно также охарактеризовать физическо-химические свойства синтезированных материалов, а для биомедицинского применения композитных материалов, на основе неньютоновского материала (боросилоксан), необходимо оценивать механические (вязкоупругие) свойства при функционализации наночастицами. Безусловно важна оценка способности покрытий из синтезированных композитных материалов ингибировать рост бактериальных клеток. Отдельный научный интерес представляет исследование возможности

10

полученных материалов и покрытий на их основе предотвращать рост бактериальных биопленок, образованных в том числе имеющими эпидемиологическое значение бактериальными клетками. Также, немаловажной характеристикой новосинтезированных композитных материалов является способность формировать биологически активные соединения — активные формы кислорода; а также оценка степени их воздействия на клеточные биополимеры — нуклеиновые кислоты и белковые молекулы. Как известно, антибактериальные агенты, используемые в медицине, пищевой промышленности, и других сферах, не могут использоваться при наличии явного токсического воздействия на клетки. Как следствие, крайне актуальным является исследование влияния полученных образцов композитных материалов на жизнеспособность клеточных культур in *vitro*.

Цель работы:

Исследование влияния наночастиц оксидов железа, цинка и алюминия, импегрированных в полимерные матрицы боросилоксана (БС), поли(лактид-ко-гликолида) (ПЛГА) и политетрафторэтилена (ПТФЭ), на жизнеспособность прокариотических и эукариотических клеток.

Задачи:

1. Разработать метод получения композитных полимерных пленок с поверхностями, не имеющими существенных дефектов, на основе поли(лактид-ко-гликолида), боросилоксана, политетрафторэтилена и наночастиц оксидов железа, цинка и алюминия.

2. Оценить способность полученных композитных полимерных материалов к генерации в водных растворах активных форм кислорода, а также окислительному повреждению ДНК и белков *in vitro*.

3. Исследовать бактериостатические и бактерицидные свойства полученных композитных полимерных материалов в условиях культивирования клеток в жидких средах и на твердых поверхностях.

4. Изучить влияние полученных композитных полимерных материалов на параметры, характеризующие жизнеспособность эукариотических клеток в культурах.

Новизна научной работы

Ранее нашим коллективом была разработана модификация метода лазерной абляции в жидкостях, позволяющего получать наночастицы с заданными физико-химическими характеристиками. На основе литературных данных и серии предварительных экспериментов в ходе выполнения настоящей работы среди нескольких десятков типов синтезированных наночастиц были отобраны наиболее эффективные препараты НЧ оксидов металлов с необходимыми физико-химическими свойствами.

Была разработана низкотемпературная технология изготовления композитных материалов на основе полимеров, содержащих полученные наночастицы в различных концентрациях (0,001-0,1 %), а также установлен регламент получения образцов пленок на их основе [Симакин и др., 2022]. Полученные покрытия, содержащие в составе наночастицы оксида железа, способствовали генерации активных форм кислорода (гидроксильных радикалов и перекиси водорода). При контакте с данными покрытиями наблюдалось окислительное повреждение молекул ДНК и белков, что подтверждалось повышением содержания 8-оксогуанина в ДНК іп vitro, — ключевого биомаркера окислительного стресса, а также увеличением концентрации долгоживущих активных форм белков. Полученные композитные материалы обладали бактериостатическими свойствами; композитные материалы, функционализированные НЧ оксида цинка, обладали ярко выраженными антибактериальными свойствами и способностью разрушать бактериальные биопленки. При этом все синтезированные композитные материалы не влияли на рост и развитие культур эукариотических клеток линии SH-SY5Y и первичных культур легочных фибробластов мыши.

Научно-практическая ценность

Как было показано в многочисленных экспериментальных исследованиях, проведенных за последние десятилетия, НЧ многих металлов и оксидов металлов, а также системы на их основе, в том числе, композитные материалы, показывают многообещающие результаты в качестве агентов борьбы с бактериальными возбудителями инфекций, для включая антибиотикорезистентные штаммы. Как известно, широкое применение наноматериалов в качестве антибактериальных агентов возможно только при отсутствии токсического воздействия на клеточном уровне. Результаты, полученные в ходе исследований воздействия изготовленных композитных материалов на живые системы *in vitro* (исследование антибактериальной активности и влияние на жизнеспособность культур животных клеток) носят преимущественно прикладной характер, поскольку рассматривают возможность использования таких материалов в качестве покрытий, препятствующих росту и развитию бактериальных клеток на поверхностях, подверженных бактериальной контаминации. Использование таких покрытий может являться перспективным подходом для предотвращения контаминации и порчи продуктов в пищевой промышленности, а также в качестве материалов, применяемых в биомедицинской отрасли. В настоящее время покрытия на основе политетрафторэтилена, функционализированного наночастицами оксида цинка проходят апробацию в качестве материала для восстановления досок для разделки туш.

Положения, выносимые на защиту

Синтезированные низкотемпературным методом композитные материалы на основе ПЛГА, боросилоксана и политетрафторэтилена с наночастицами оксидов цинка, железа и алюминия

12

обладают бактериостатическими свойствами. Композитные материалы на основе ПЛГА, боросилоксана и политетрафторэтилена с наночастицами оксидов железа увеличивают интенсивность генерации активных форм кислорода в водных растворах, способствуют окислительному повреждению ДНК и белков *in vitro*.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность научных результатов воспроизводимостью подтверждается экспериментальных данных и обусловлена широкой апробацией и надёжностью использования экспериментальных методов исследования, а также качественной и количественной согласованностью с результатами других независимых исследований. Материалы и результаты исследований в диссертации были представлены на российских, конференциях, в том числе с международным участием: Международная конференция Volga Neuroscience Meeting (Нижний 2021): школа-конференция «Прохоровские чтения-2021» (Москва, Новгород. 2021): международная конференция «Food quality and food safety» (Москва, 2021); 75-ая всероссийская с международным участием школа-конференция «Биосистемы: организация, поведение, управление 2022» (Нижний Новгород, 2022); 20 международная конференция по лазерной оптике «ICLO-2022» (Санкт-Петербург, 2022); школа-конференция "Самоорганизация в «мягких» средах: достижения и современное состояние 2022" (Москва, 2022); школа-конференция «Физика водных растворов-2022» (Москва, 2022); 76-ая всероссийская с международным участием школа-конференция «Биосистемы: организация, поведение, управление 2023» (Нижний Новгород, 2023); VII Съезд биофизиков России (Краснодар, 2023).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 11 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в систему индексирования Web of Science.

Личный вклад автора

Автор лично участвовал в проведении экспериментальных исследований, обработке полученных и изложенных в диссертации результатов, их анализе и обсуждении, а также лично или в соавторстве участвовал в написании научных статей и апробации результатов исследования на научных конференциях и симпозиумах.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 173 страницах, содержит 4 таблицы, 74 рисунка. Библиографический указатель содержит 427 источников литературы.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Применение наночастиц металлов и оксидов металлов в биомедицине

Нанотехнологии — область исследований, известная с прошлого века. Термин «нанотехнология» впервые был введен нобелевским лауреатом Ричардом П. Фейнманом во время его знаменитого доклада 1959 года «На дне много места». [Feynman, 1960]. На сегодняшний день нанотехнологии являются смежной областью науки, которые на протяжении многих десятилетий чаще всего используется в таких областях как электроника, физика и Недавние нанотехнологические исследования в области биомедицины и инженерия. фармацевтики привели к успешному совершенствованию традиционных методов борьбы с инфекциями, бактериальными визуализации, а также доставки лекарств. Эта междисциплинарная наука также охватывает несколько приложений в других дисциплинах, таких как биофизика, молекулярная биология и биоинженерия [Ryabchikova, 2021; Shrivastava & Dash, 2009].

Наночастицы (НЧ) — это широкий класс микроскопических материалов, имеющих размер, по крайней мере в одном измерении, менее 100 нм [Laurent et al., 2008]. Наноразмерные материалы имеют больший процент атомов на поверхности, что обуславливает их высокую реакционную способность [Sirelkhatim et al., 2015]. Таким образом, нанотехнология определяется как манипулирование веществом в атомарном, молекулярном и надмолекулярном масштабе, включая разработку, производство, определение характеристик и применение различных наноразмерных материалов. В области биомедицины применяют широкий спектр наноматериалов, относящих как к классу органических (липосомы, дендримеры, мицеллы, полимерные НЧ, нанобиомолекулы), так и неорганических наноматериалов (углеродные нанотрубки, нанокремний, фуллерены, наночастицы металлов и оксидов металлов), а также их гибриды.

По сравнению с другими наноматериалами, наночастицы металлов и оксидов металлов обладают некоторыми преимуществами, позволяющими использовать их для биомедицинских приложений [Nikolova & Chavali, 2020]. К таким свойствам относятся: высокая стабильность, относительная простота синтеза, возможность получения данных НЧ желаемого размера, формы и пористости, отсутствие набухания, легкость включения в гидрофобные и гидрофильные системы, а также относительная легкость и доступность для функционализации различными молекулами благодаря заряду поверхности [Sanchez-Moreno et al., 2018]. Поскольку НЧ оксидов металлов по-разному реагируют с биологическими системами в зависимости от их размера, формы, чистоты, стабильности и свойств поверхности, необходимой характеристикой является морфология данных наноматериалов. Основываясь на количестве измерений, которые не

ограничиваются нанодиапазоном, НЧ металлов и оксидов металлов можно разделить на ноль-(квантовые точки и наносферы, нанокластеры, фуллерены), одно- (нанотрубки), двух-(нанолисты) и трехмерные (наноцветки, дендримеры, и т.д) [Poh et al., 2018]. Ниже представлены наиболее яркие примеры использования наночастиц металлов и оксидов металлов в биомедицине, которые также проиллюстрированы на рис. 1.

Одним из перспективных применений наночастиц, в том числе, на основе металлов и оксидов металлов, является биовизуализация. Например, суперпарамагнитные наночастицы оксида железа, ферритов и гадолиния в настоящее время используются в качестве контрастного вещества для магнитно-резонансной томографии (MPT). После внутривенного введения данные НЧ накапливаются в печени, селезенке и лимфатических узлах, что позволяет проводить исследования этих органов; данные наночастицы могут также повышать выявляемость метастазов опухоли в лимфатических узлах [Torabi et al., 2004]. Наноматериалы на основе НЧ оксида железа нашли широкое применение в визуализации и диагностике [Xie et al., 2010]; магнитно-резонансной томографии и компьютерной томографии [Cormode et al., 2014; Liu et al., 2017; Thomas et al., 2013; Waters & Wickline, 2008]; позитронно-эмиссионной томографии [Torres Martin de Rosales et al., 2011]; а также для сепарации клеток или молекул и разработки биосенсоров, которые могут применяться для иммуноанализа, нейроэлектронных исследований и биомедицинской визуализации [Freitas et al., 2012; Shen et al., 2013; Tamanaha et al., 2008]. НЧ оксида железа могут также применяться для визуализации и отслеживания клеток головного мозга *in vivo* [Guldris et al., 2017].

Различные терапевтические мишени, такие как раковые клетки, стволовые клетки, бактерии или отдельные молекулы, могут быть помечены высокофлуоресцентными НЧ, главным ____ квантовыми точками. Квантовые точки (KT) представляют собой образом высокофлуоресцентные и фотостабильные коллоидные полупроводниковые НЧ диаметром 2–10 нм, которые являются полезными для визуализации клеточных структур и процессов *in vivo*. При возбуждении КТ излучают свет с резким и симметричным спектром излучения и высоким квантовым выходом. Главное преимущество КТ перед контрастирующими красителями заключается в том, что они медленнее тускнеют со временем и не вступают в реакцию с компонентами клетки [Michalet et al., 2005]. Таким образом, с помощью КТ можно проводить биоиммиджинг, мониторинг миграции клеток, удержание в целевых сайтах или оценку жизнеспособности [Wierzbinski et al., 2018].

НЧ металлов и оксидов металлов могут применяться не только для диагностики, но и для терапии различных патологий, в том числе для адресной доставки лекарств и вирусных векторов, а также в качестве агентов для тераностики — подхода, объединяющего диагностику и терапию [Хие et al., 2021]. НЧ металлов и оксидов металлов обладают способностью образовывать

конъюгаты с полимерами и могут проявлять противораковую и противоопухолевую активность, а также способствовать снижению токсичности используемого препарата для интактной ткани. Для адресной доставки используют наноконьюгаты на основе НЧ серебра [Oluyomi & Faoziyat, [Daraee et 2014], 2015], золота al., оксида цинка Rasmussen et al., 2010], ферромагнитных/суперпарамагнитнх НЧ оксида железа [Dobson, 2008], селена [Varlamova et al., 2022] и других НЧ.

В свою очередь, золотые наночастицы показали многообещающие результаты при использовании в фототермической терапии [Terentyuk et al., 2009; Kennedy et al., 2011]. При данном подходе терапии частицы доставляются к очагу заболевания, лазерное излучение проникает в ткань, возбуждает локализованные НЧ и происходит передача тепловой энергии ткани, что приводит к локальной гибели раковых клеток [Bucharskaya et al., 2022]. Суперпарамагнитные НЧ оксила железа также являются многообешаюшими противоопухолевыми агентами при применении в магнитной гипертермии, поскольку известно, что раковые клетки обладают более высокой чувствительностью к повышению температуры [Espinosa et al., 2016; Pucci et al., 2022; Vilas-Boas et al., 2020; Vilas-Boas et al., 2019]. В ряде других работ была также продемонстрирована возможность использования НЧ оксида железа для доставки лекарств и вирусных векторов к клеткам-мишеням [Vavaev et al., 2022; Arachchige et al., 2017; Borroni et al., 2017].

Отдельный интерес представляют антибактериальные, а также антимикотические свойства НЧ металлов и оксидов металлов, а также металлоидов [Ionin et al., 2018; Nastulyavichus et al., 2019; Smirnov et al., 2018], реализуемые за счет нескольких механизмов: генерации АФК, образования свободных катионов металлов, электростатического взаимодействия с бактериальными клетками, а также механического воздействия НЧ на клетки. В свою очередь, применение данных наночастиц в составе композитных материалов рассматривается для создания высокоэффективных антибактериальных покрытий имплантов, стоматологических материалов, «самоочищающихся» поверхностей и биобезопасных материалов для упаковки [Imani et al., 2020; Nguyen-Tri et al., 2018]. Более подробно механизмы реализации антибактериального НЧ металлов и оксидов металлов описаны ниже, в разделе 1.2.

НЧ оксидов металлов могут использоваться не только в качестве антибактериальных агентов, но и для ускорения заживления ран, в виде наполнителя полимерных нановолокон, входящих в состав перевязочных материалов. Процесс заживления ран происходит в результате сложного каскада реакций, включающего повышенное накопление факторов роста, пролиферацию фибробластов и синтез внеклеточного матрикса, что в совокупности приводит к повторной эпителизации. Некоторые НЧ оксидов металлов, например, НЧ ZnO слабо проникают через кожный барьер [Labouta & Schneider, 2013] и медленно диссоциируют в водном растворе в

виде ионов [Shokri & Javar, 2015]. АФК, генерируемые НЧ, играют сигнальную и регуляторную роль в тканевой инженерии. Выяснилось, что АФК оценивают не только антисептическую роль в заживлении ран, но и участвуют в передаче сигналов между раной и лейкоцитами в ткани, ускоряя процесс заживления [Niethammer et al., 2009].

Отдельный интерес представляет использование наночастиц в молекулярной диагностике в качестве так называемых «биосенсоров» [Choi & Yoon, 2023]. Например, среди наноматериалов на основе оксидов металлов, оксиды переходных металлов, такие как оксид никеля (NiO), оксид кобальта (Co₃O₄) и оксид марганца (MnO₂), широко используются в качестве компонентов биосенсоров для детекции различных биомолекул, в частности, вирусных белков и нуклеиновых кислот [Manohara Reddy et al., 2022], глюкозы [Sehit & Altintas, 2020], микро-РНК [Wang et al., 2022]. быстрого и обратимого счет протекания фарадеевских за окислительновосстановительных реакции на границе между электродом и электролитом. Наночастицы благородных металлов, в основном золота, за последнее десятилетие получили широкое распространение в качестве колориметрических агентов в иммунохроматографических экспрессанализах (так называемых «тест-полосках»), используемых сегодня повсеместно для выявления биомаркеров, содержащихся в различных биологических жидкостях человека [Khlebtsov et al., 2019; Heath, 2015; Paek et al., 2000].



Рисунок 1. Биомедицинские области применения наноматериалов на основе металлов и оксидов металлов. Иллюстрация сгенерирована при помощи сервиса biorender.com

1.2. Антибактериальная активность и механизмы антибактериального действия НЧ металлов и оксидов металлов

Известно, что большинство механизмов устойчивости к антибиотикам не имеют отношения к наночастицам (НЧ), поскольку механизм действия НЧ зачастую заключается в прямом контакте со стенкой бактериальной клетки без необходимости проникновения внутрь клетки; это позволяет предполагать, что НЧ менее склонны к развитию устойчивости бактерий, чем антибиотики. Как показали многочисленные исследования, НЧ проявляют антибактериальные свойства широкого спектра действия против грамположительных и грамотрицательных бактерий. Например, было обнаружено, что НЧ ZnO ингибируют широкий спектр микроорганизмов, включая антибиотикорезистентные штаммы. В свою очередь, НЧ Ад проявляют зависящую от концентрации антимикробную активность против Escherichia coli и Pseudomonas aeruginosa [Ramalingam et al., 2016]. Однако подробные антибактериальные механизмы НЧ к настоящему времени полностью не объяснены, и одни и те же типы НЧ часто проявляют противоположные эффекты. Как правило, антибактериальные механизмы действия НЧ обычно описывают как соответствующие следующим моделям: индукция окислительного стресса [Gurunathan et al., 2012], высвобождение ионов металлов [Nagy et al., 2011], или неокислительные механизмы [Leung et al., 2014], а также индукция внутриклеточных антибактериальных эффектов, включая взаимодействия с ДНК и белками. Важно отметить, что эти механизмы могут действовать одновременно. Например, в некоторых исследованиях было высказано предположение, что НЧ серебра вызывают нейтрализацию поверхностного электрического заряда бактериальной мембраны и изменяют ее проницаемость, что в конечном итоге приводит к гибели бактерий. Более того, образование активных форм кислорода (АФК) подавляет систему антиоксидантной защиты и вызывает механическое повреждение клеточной мембраны. На рис. 2 представлена обобщенная схема, демонстрирующая ключевые общепризнанные механизмы антибактериального действия наночастиц металлов и оксидов металлов. Более детальное описание механизмов реализации активности наночастиц оксидов металлов в отношении бактериальных микроорганизмов представлены ниже, в контексте каждого вида исследуемых в настоящей работе НЧ оксидов металлов (оксидов железа, цинка и алюминия).



Рисунок 2. Механизмы антибактериальной активности наночастиц металлов и оксидов металлов. Иллюстрация сгенерирована при помощи сервиса biorender.com

Электростатические взаимодействия НЧ – бактериальная клетка; механическое воздействие НЧ

Считается, что положительный ζ-потенциал НЧ (разность потенциалов дисперсионной среды и неподвижного слоя жидкости, окружающего частицу) играет важнейшую роль в электростатической адгезии данных наночастиц на поверхности бактериальной мембраны или клеточной стенки. Отрицательный заряд поверхности грамположительных бактерий обусловлен высоким содержанием анионных полимеров клеточной стенки: пептидогликана, богатого карбоксильными группами ү-глютаминовой И мезо-диаминопимелиновой кислот, терминальными остатками D-Ala пептидных субъединиц; тейхоевыми и липотейхоевыми кислотами, богатыми фосфатными группами. Для грамотрицательных бактерий отрицательный заряд поверхности обеспечивается наличием кислых фосфолипидов и небольшим содержанием основных белков в составе наружной мембраны [Archibald et al., 1993]. В целом, различия строения клеточной стенки грамположительных и отрицательных бактерий может влиять на взаимодействие между НЧ и бактериями. Грамположительные бактерии имеют толстую наружную клеточную стенку (20-80 нм), образованную толстым пептидогликановым слоем с жесткими полисахаридными цепями, сшитыми пептидами [Fu et al., 2005]. Толстая наружная клеточная стенка может затруднять проникновение НЧ внутрь толстого слоя пептидогликана [Slavin et al., 2017]. Многочисленными исследованиями показано, что грамотрицательные бактерии за счет наличия внешней мембраны и тонкого промежуточного слоя пептидогликана (7-8 нм) демонстрируют более высокую чувствительность по отношению к воздействию НЧ

19

[Feng et al., 2000; Nikaido, 2003; Slavin et al., 2017], хотя данные неоднородны и имеются противоречия [Wang et al., 2017].

НЧ оксида железа (НЧОЖ) способны повреждать целостность клеточной стенки бактерий, как показано в работе [Kohanski et al., 2010]. Прямое связывание НЧОЖ с клеточной стенкой *Staphylococcus aureus* было также продемонстрировано с помощью сканирующей электронной микроскопии [Sousa et al., 2015]. В нескольких работах с помощью метода электронной микроскопии показано, что НЧ Fe₂O₃ могут связываться непосредственно с клеточной стенкой *E. coli*. НЧОЖ также могут проникать в цитоплазму, концентрироваться в ней и вызывать образование вакуолей и разрушение клеточной стенки [Armijo et al., 2020; Li et al., 2018]. НЧОЖ (Fe₃O₄) могут накапливаться между внешней и внутренней мембранами клеточной стенки у грамотрицательных бактерий за счет связывания с комплексом FHL во внутренней мембране. Следовательно, НЧ Fe₃O₄ обладают более выраженным антимикробным действием в отношении грамотрицательных бактерий [Gabrielyan et al., 2019]. Также, для НЧ Fe₃O₄ была показана бактерицидная и антибиопленочная активность. Положительно заряженные и нейтральные НЧОЖ способствовали более выраженному разрушению биопленок *Streptococcus mutans*, по сравнению с отрицательно заряженными НЧОЖ [Javanbakht et al., 2016].

НЧ Fe₃O₄ с высокой парамагнитной активностью также называют суперпарамагнитными наночастицами оксида железап (SPION) [Kolen'ko et al., 2014; Margabandhu et al., 2015; Patra et al., 2017; Rufus et al., 2016]. SPION в присутствии переменных магнитных полей вызывают гибель клеток и разрушение биопленки за счет вибрационного механического повреждения и локальной гипертермии. Вышеперечисленные факторы приводят к механическому отделению бактерий от биопленки, повреждению клеточной стенки бактерий и нарушению целостности клеточных мембран [Li et al., 2020].

Электростатическое притяжение HЧ ZnO к отрицательно заряженной поверхности бактериальной клетки также рассматривается как один из распространенных способов адгезии данных наночастиц. Концентрация Zn^{2+} в цитоплазме бактерий повышается за счет локального растворения прикрепленных HЧ ZnO, что впоследствии приводит к нарушениям проницаемости бактериальной мембраны, утечке содержимого клетки и потере протон-движущей силы, что в конечном итоге приводит к гибели клетки [Нарру et al., 2018]. Вгаупет et al., сообщали о потере целостности клеточной мембраны, как основной причине бактерицидного действия HЧ ZnO в отношении клеток *E.coli* [Brayner et al., 2006]. Адгезия и внутриклеточное накопление HЧ изменяет мембраный потенциал покоя клеточной мембраны и вызывает деполяризацию клеточной мембраны путем блокирования ионных K⁺ каналов, присутствующих в клеточной мембране [Warren & Payne, 2015].

В контексте микробиологических исследований с применением НЧ Al₂O₃ интересно отметить, что Bhuvaneshwari et al., [Bhuvaneshwari et al., 2016] сообщали о более высокой чувствительности к НЧ Al₂O₃ грамотрицательных Pseudomonas aeruginosa, по сравнению с грамположительными Bacillus altitudinis при добавлении НЧ даже в низкой концентрации (0,25-1 мг/л). Также, сообщалось о гибели 57%, 36% и 70% бактериальных клеток в культурах В. subtilis, E. coli и P. fluorescens, соответственно после 24 ч воздействия НЧ Al₂O₃. Методом ПЭМ было показано прикрепление наночастиц к поверхности бактерий. Предполагалось, что антибактериальный эффект был вызван агрегацией наночастиц с положительным дзетапотенциалом на отрицательно заряженной поверхности бактериальной клетки [Jiang et al., 2009]. Обширное присоединение НЧ Al₂O₃ к мембране бактериальных клеток полиирезистентного штамма P. aeruginosa приводило к значительному замедлению роста колоний данного вида бактерий [Ansari et al., 2015]. В других работах также было установлено, что агрегация НЧ Al₂O₃ на поверхности бактериальной клетки — один из ключевых механизмов антибактериального действия. На поверхности бактерий наблюдалась флокуляция наночастиц, которые нарушали целостность клеточной стенки и мембраны грамположительных полирезистентных S. aureus [Ansari et al., 2013], грамотрицательных E. coli и C. metallidurans [Ansari et al., 2014; Simon-Deckers & Loo], а также A. baumanii [Muzammil et al., 2020]. Методом сканирующей конфокальной микроскопии было показано, что клеточная стенка бактерий меняла свою морфологию после воздействия положительно-заряженных наночастиц [Mukha et al., 2013]. Muzammil et al., [Muzammil et al., 2020] после аппликации НЧ Al₂O₃ обнаруживали в межклеточной среде бактериальные биополимеры вследствие повреждения бактериальной мембраны и последующей утечки содержимого бактериальных клеток A. baumanii. Mu et al., было также выявлено обширное электростатическое присоединение НЧ Al₂O₃ на поверхности В. subtilis, вследствие чего предлагалось использование данных наночастиц для удаления Bacillus subtilis из ферментационного бульона [Mu et al., 2015]. Ansari et al., сообщалось об ингибировании роста колоний клинических изолятов E. coli вследствие многочисленных обширных НЧ Al₂O₃ — опосредованных повреждений мембран клеток [Ansari et al., 2014]. Данное наблюдение подтверждалось в другой работе с использованием E. coli в качестве тестбактерии, где было выявлено значительное снижение жизнеспособности клеток кишечной палочки при 24 часовой обработке НЧ Al₂O₃ [Simon-Deckers & Loo]. При помощи просвечивающей электронной микроскопии было также установлено, что НЧ Al₂O₃ меньшего размера равномерно распредены внутри бактериальных клеток, в то время как агломераты крупного размера оставались прикрепленными к поверхности мембраны клетки. Анализом ИК-Фурье спектрометрии подтверждалось взаимодействие НЧ Al₂O₃ с молекулами, входящими в

состав наружной мембраны *E.coli*: фосфатидилэтаноламином и липополисахаридами [Ansari et al., 2014].

Формирование катионов металлов, АФК-опосредованный механизм

Другим механизмом воздействия НЧ на рост и развитие бактериальных культур является индукция образования АФК.

Известно, что некоторые неорганические НЧ (фуллерены, НЧ TiO₂, ZnO, и др.), обладают фотокаталитической активностью. При этом НЧ ZnO проявляют наиболее высокую фотокаталитическую эффективность среди всех неорганических фотокаталитических материалов [Zhang, 2011]. Фотокатализ — это процесс, использующий природу солнечной энергии, преобразующейся в химическую энергию для запуска каталитической реакции, которая возбуждает окружающие молекулы кислорода и воды с образованием окисляющих радикалов [Gemeay & El-Halwagy, 2018]. ZnO хорошо поглощает свет в УФ диапазоне и фотопроводимость ZnO сохраняется долгое время после воздействия УФ-излучения. Общий механизм образования АФК в ходе протекания фотокаталитических реакций на поверхности НЧОЦ можно описать следующим образом: облучение НЧОЦ светом в видимом или ультрафиолетовом диапазоне приводит к фотогенерации в объеме НЧ электрон-дырочных пар. Электроны и дырки, реагируют на поверхности НЧ с водой растворенным в ней кислородом с образованием АФК: гидроксильных радикалов (\cdot OH) и супероксид анион-радикалов (\cdot O₂⁻⁻). Гидроксильный радикал является чрезвычайно сильным с точки зрения реакционной способности неселективным окислителем, приводящим к локальному окислению органических молекул [Liu et al., 2019]. Таким образом, НЧОЦ в водном растворе под воздействием УФ-излучения обладают фототоксическим действием, обусловленным продукцией АФК, таких как гидроксильные радикалы (\cdot OH) супероксид анион-радикалы (\cdot O₂⁻⁻), а также перекись водорода (H₂O₂).

С другой стороны, для НЧОЦ описана антибактериальная активность, опосредованная образованием Zn^{2+} с последующим увеличением их концентрации в бактериальной цитоплазме, при этом, в отсутствии светового воздействия на НЧ ZnO генерация АФК не обнаруживается. Катионы Zn^{2+} также могут конкурировать с ионами других двухвалентных металлов (Ca²⁺, Mg²⁺, Mn²⁺), входящих в состав металлопротеинов [Joe et al., 2017]. Токсичность катионов Zn^{2+} в отношении бактериальных клеток связана также с ингибированием гликолитических ферментов путем окисления их тиоловой группы, поскольку катионы Zn^{2+} имеют специфическое сродство к данным серосодержащим функциональным группам молекул, и, таким образом, ингибируют гликолитический путь [Choi et al., 2010].

Для НЧОЖ хорошо известна способность катализировать образование АФК в реакции Фентона [Fenton, 1894]. При наличии в среде H_2O_2 и катионов железа (II) в ходе данной реакции образуются гидроксильные радикалы и гидроксид-ионы: $H_2O_2 + Fe^{2+} = Fe^{3+} + \cdot OH + OH^-$. На сегодняшний день известно, что реакции Фентона можгут протекать и с участием других катионов металлов с переменной валентностью, в том числе, медью, кобальтом и никелем [Pham et al., 2013]. Антибактериальные свойства проявляются как у наночастиц на основе оксидов железа (НЧОЖ), так и у свободных ионов железа; однако, в отличие от свободных ионов, НЧОЖ, как правило, реже оказывают токсическое действие на клетки млекопитающих [Li et al., 2021; Saliani et al., 2015; Sihem et al., 2020]. Некоторые из механизмов действия НЧ Fe₃O₄ включают не только упомянутое ранее повреждение мембран и окслительные повреждения, но и катионопосредованное снижение окислительно-восстановительного потенциала и потоков H⁺, обусловленное ингибированием активности бактериальной Fo/F1-ATФазы [Gabrielyan et al., 2020].

Повышенная концентрация ионов Al³⁺ может стимулировать выработку АФК за счет деполяризации бактериальной мембраны, а также активации фермента NADPH оксидазы в клетках [Xia et al., 2006]. Также, сообщалось о пермеабилизации мембраны E. coli при воздействии ионов алюминия, что способствовало впоследствии транспорту токсичных ионов других металлов, в том числе железа, что усиливало антибактериальный эффект [Londono et al., 2017]. Взаимодействие Al³⁺ с фосфолипидами клеточной мембраны индуцирует ряд ее структурных и функциональных нарушений. К таким нарушениям относятся прямое взаимодействие A1³⁺ с белками, образующими ионные каналы, рецепторы и ферменты; индукция структурных изменений в липидной мембране; а также активность на поверхности раздела фаз липид/ белок [Zatta et al., 2002]. В целом, способность ионов Al³⁺ усиливать окислительное повреждение мембран является известным явлением. Известно, что ионы алюминия ускоряют перекисное окисление липидов мембран, индуцированное ионами железа (II) при кислых значениях pH [Gutteridge et al., 1985]. Отмечалось повышение внутриклеточного уровня АФК у бактерий *C. metallidurans* и *E. coli* через 2 часа после воздействия H4OA [Simon-Deckers & Loo]. Bhuvaneshwari et al., было установлено, что высвобождение ионов Al³⁺ при смешивании НЧОА в воде составляет 13, 17 и 20 мкг/л при концентрациях НЧОА 0,25, 0,5 и 1 мг/л соответственно [Bhuvaneshwari et al., 2016]. Mukherjee et al., сравнивали антибактериальный эффект как НЧОА в различных концентрациях, так и растворов, содержащих эквивалентную концентрацию ионов оксида алюминия. Обнаруживалась схожая степень антибактериальной активности между НЧОА и эквивалентной концентрацией соли алюминия [Mukherjee et al., 2011], что также подтверждает вклад образования свободных ионов алюминия в повреждения бактериальных клеток.

Механизмы адаптации бактериальных клеток к воздействию НЧ

В некоторых работах было показано, что воздействие сублетальных концентраций АФК может стимулировать проявление у бактерий защитных реакций. Данный процесс называется гормезисом [Gudkov et al., 2019]. Гормезис индуцирует защитные механизмы на двух уровнях. Первый уровень — ферментативный (кратковременная реакция). На этом уровне активируются антиоксидантные ферменты. Второй уровень – долговременная адаптация. Долговременная адаптация состоит из двух подуровней: транскрипционного и геномного. На уровне транскрипции АФК индуцируют адаптацию за счет активации антиоксидантных механизмов в течение нескольких часов или дней [Rochat et al., 2012]. На геномном уровне АФК могут вызывать повреждение структуры ДНК, что активирует механизмы восстановления повреждений ДНК. Эти механизмы включают гомологичную рекомбинацию и эксцизионную репарацию. В этих механизмах две ДНК-полимеразы, ответственные за синтез ДНК, обладают плохой валидационной активностью и могут включать аномальные основания в нити ДНК, что приводит к высокой частоте спонтанных мутаций и пластичности генома при неблагоприятных воздействиях [Tkachenko, 2018]. Такая пластичность генома может привести к развитию резистентности к металлам и наночастицам оксидов металлов [Graves Jr et al., 2015]. Механизмы адаптации бактерий по отношению к наночастицам включают также сверхэкспрессию бактериальными клетками внеклеточных веществ, таких как флагеллин, образующих внеклеточный матрикс, способствующий агломерации и дезактивации наночастиц [Niño-Martínez et al., 2019]. Еще одним важным механизмом, обуславливающим устойчивость некоторых видов бактерий к воздействию наночастиц, является повышение экспрессии эффлюксных насосов, обеспечивающих быстрое выведение избытка малоразмерных НЧ и катионов металлов из бактериальной цитоплазмы [Kamat & Kumari, 2023].

Генотоксическое действие НЧ оксидов металлов и взаимодействие с белками бактериальной клетки

Как уже описывалось ранее, одним из механизмов токсичности НЧ является генерация АФК [AlMatar et al., 2018; Kohanski et al., 2010]. АФК, в свою очередь, обладают генотоксическим действием, повреждая молекулы ДНК [Kohanski et al., 2010]. Другими мишенями для воздействия АФК являются белки, проявляющие высокую реакционную способность к окислению. Продукты окисления белков, такие как долгоживущие белковые радикалы и гидропероксиды могут являться источниками вторичных радикалов, повреждающих другие биомолекулы. Повышение концентрации АФК может быть обусловлено уменьшением активности ферментов антиоксидантной системы (супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионредуктазы) [Janani et al., 2021].

В ряде работ был продемонстрирован генотоксический эффект HЧ Al₂O₃. В частности, при обработке клеток *P. aeruginosa* и *B. altitudinis* было обнаружено значительное (p < 0,05) повреждение ДНК [Bhuvaneshwari et al., 2016]. Ранее сообщалось, что окислительный стресс, индуцированный наночастицами может действовать как основной фактор повреждения ДНК в бактериальных клетках [Kumar et al., 2011]. Образующиеся АФК вызывают разрыв цепи ДНК, удаление нуклеотидов, перекрестные связи ДНК-белок [Sharma et al., 2012], модификации оснований нуклеотидов [Schins & Knaapen, 2007] и окисление дезоксирибозы путем добавления радикалов •OH к двойным связям. Примечательно, что НЧОЖ могут вызывать подавление экспрессии генов устойчивости к антибиотикам у антибиотикорезистентных штаммов бактерий, обнаруженных в операционных [AlMatar et al., 2018].

Ионы металлов, образующиеся при деградации НЧ в среде, способны связываться с мекапто (-SH), амино (-NH) и карбоксильными (-COOH) функциональными группами белков, в том числе ферментов, что приводит к их инактивации или частичному ингибированию [Yu et al., 2014]. В частности, катионы Zn²⁺ способны вызывать конформационные изменения фермента или приводить к нарушению активного центра фермента, что споровождается его конкурентным или неконкурентным обратимым ингибированием [Maret, 2013]. Zn^{2+} могут взаимодействовать с -SH группой ферментов и ингибировать ферменты, подобные щелочным фосфатазам, ДНК- и РНК-полимеразы, карбоксипептидазы и др. Zn²⁺ также является конкурентным ингибитором связывания аспартата и магния [Kang & Fromm, 1995]. Zn²⁺ взаимодействуют с цистеином, гистидином, аспартатными боковыми цепями белков или ферментов и способны ингибировать глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, такие ферменты, как: альдегиддегидрогеназы, протеинтирозинфосфатазы (РТР) в наномолярной концентрации. Альдегиддегидрогеназа играет важную роль в процессе гликолиза, и высокие концентрации Zn²⁺ могут способствовать нарушению метаболизма бактерий, что приводит к их дальнейшей гибели.

1.3. Биологические свойства и ключевые особенности НЧ оксида железа

Биологическая роль железа

Железо является одним из самых распространенных элементов на Земле и четвертым по распространенности элементом в земной коре. Железо составляет более 85% массы земного ядра и около 5% массы земной коры [Пущаровский, 2019]. В живых системах железо является одним из ключевых микроэлементов. Оно выполняет несколько важных функций: является кофактором ряда ферментов (каталазы) и транспортных белков (гемоглобина), белков ЭТЦ (цитохромов и белков FeS) [Andreini, 2008], необходимо для репарации ДНК [Caza & Kronstad, 2013; Rodriguez-Quinones; Rouault, 2015]. Железо также содержится в регуляторных белках энтеробактерий Salmonella enterica, включая Fur, Fnr, NorR, SoxR, IscR и NsrR [Bagg & Neilands, 1987; D'Autréaux et al., 2005; Fink et al., 2007; Schwartz et al., 2001]. Некоторые бактерии могут накапливать оксиды железа в специальных органеллах, называемых магнитосомами, например, Magnetospirillum magnetum [Amor et al., 2020]. Предполагается, что магнитосомы обеспечивают бактерии постоянным магнитным диполем, предположительно, для ориентации в пространстве [Uebe & Schüler, 2016]. На примере Magnetospirillum magnetum дикого типа было показано, что магнитосомы играют ключевую роль в магнитоаэротаксисе. Магнитоаэротаксис — прямое движение бактерий в микроаэробной среде, благоприятной для роста [Smith et al., 2006]. Некоторые виды бактерий используют реакцию окисления железа $Fe^{2+} + 0.25O_2 + H^+ \rightarrow Fe^{3+} + 0.5$ H₂O для выработки энергии и поддержания метаболизма. Известны как минимум две группы облигатных железоокисляющих бактерий: Betaproteobacteria и Zetaproteobacteria относящиеся к типу Proteobacteria [Dworkin et al., 2006]. Железо необходимо для размножения микробных агентов инфекционных заболеваний, которые выработали пути получения железа от хозяина, при этом у хозяина имеются защитные механизмы, предотвращающие приобретение железа микроорганизмами [Dworkin et al., 2006; Parrow et al., 2013].

Несмотря на свои вышеупомянутые функции в живых организмах, ионы железа способны катализировать реакции повреждения ДНК, липидов и белков по реакции Фентона, более подробно рассмотренной в предыдущем параграфе.

Наночастицы оксида железа (НЧОЖ) могут быть получены разными методами, от лазерной абляции [Baimler et al., 2020] до химического синтеза [Ling et al., 2015; Lozhkomoev et al., 2021; Tyurikova et al., 2020]. Предполагается, что антибактериальные свойства наночастиц оксида железа связаны не только с формой оксида, но и с размером, морфологией и другими физико-химическими свойствами наночастиц. Известно несколько типов оксидов железа. Наиболее часто встречаются гематит Fe₂O₃, магнетит Fe₃O₄, а также смесь гидратов оксида железа (III) – лимонит Fe₂O₃×H₂O [Pilchin, 2006].

Особенности антибактериальной активности НЧ оксида железа

Антибактериальная активность НЧОЖ представляет особый интерес ввиду появления устойчивых к антибиотикам штаммов. Прямое бактерицидное действие НЧОЖ описано на примере *S. aureus* [Tran et al., 2010]. НЧ Fe₃O₄ могут быть использованы в регенеративной медицине [Markides et al., 2012]. При этом НЧОЖ обладают хорошей биосовместимостью *in vivo*

и *in vitro* [Hanini et al., 2011; Yiu et al., 2012], что отличает НЧОЖ от НЧ ZnO, обладающих умеренной и зачастую высокой цитотоксичностью [Bai et al., 2015; Gong et al., 2017]. Баланс антимикробной активности и биосовместимости делает НЧОЖ привлекательным кандидатом на роль антимикробного препарата нового поколения.

Перечень микроорганизмов, чувствительных к токсическому действию НЧОЖ, представлен в Таблице 1. В литературе упоминается как минимум 10 видов грамотрицательных и 11 видов грамположительных бактерий, а также три вида грибов, чувствительных к НЧОЖ (см. Табл.1). Большинство указанных микроорганизмов имеют эпидемиологическое значение [Kanoksil et al., 2013]. Диапазон бактериостатических концентраций НЧОЖ достаточно широк и составляет 25–2000 мкг/мл.

Тип микроорганизма	Вид/серотип	Источник		
	Escherichia coli	[Al-Shabib et al., 2018; Amutha & Sridhar, 2018; Arakha et al., 2015; Bhattacharya & Neogi, 2017; Bhushan et al., 2018; Chatterjee et al., 2011; Fracasso et al., 2018; Gabrielyan et al., 2019; Irshad et al., 2017; Janani et al., 2021; Khashan et al., 2017; Li et al., 2020; Rufus et al., 2016; Saqib et al., 2019; Vasantharaj et al., 2019]		
	Klebsiella pneumoniae	[Amutha & Sridhar, 2018; Fracasso et al., 2018; Irshad et al., 2017; Khashan et al., 2017; Mousavi et al., 2020; Sathishkumar et al., 2018; Vasantharaj et al., 2019]		
Грамотрицательные	Klebsiella sp.	[Sihem et al., 2020]		
оактерии	Proteus mirabilis	[Arokiyaraj et al., 2013]		
	Proteus vulgaris	[Prabhu et al., 2015]		
	Pseudomonas aeruginosa	[Al-Shabib et al., 2018; Amutha & Sridhar, 2018; Armijo et al., 2020; Bhattacharya & Neogi, 2017; Kelley et al., 2017; Mousavi et al., 2020; Velusamy et al., 2016]		
	Salmonella enterica серотип typhimurium	[Bhushan et al., 2018; Patra et al., 2017; Sathishkumar et al., 2018]		
	Serratia marcescens	[Al-Shabib et al., 2018; Tran et al., 2010]		
	Vibrio cholerae	[Saliani et al., 2015]		
	Xanthomonas sp.	[Prabhu et al., 2015]		
	Bacillus brevis	[Saliani et al., 2015]		
Грамположительные	Bacillus cereus	[Patra et al., 2017]		
бактерии	Bacillus licheniformis	[Saliani et al., 2015]		
	Bacillus sp.	[Sihem et al., 2020]		

Таблица 1. Перечень микроорганизмов, чувствительных к воздействию НЧОЖ

Тип микроорганизма	Вид/серотип	Источник		
	Bacillus subtilis	[Arakha et al., 2015; Arokiyaraj et al., 2013; Bhattacharya & Neogi, 2017; Bhushan et al., 2018; Fracasso et al., 2018; Irshad et al., 2017; Saliani et al., 2015]		
	Corynebacterium sp.	[Chatterjee et al., 2011]		
	Enterococcus hirae	[Gabrielyan et al., 2019]		
	Listeria monocytogenes	[Al-Shabib et al., 2018; Patra et al., 2017]		
	Micrococcus luteus	[Janani et al., 2021]		
	Staphylococcus aureus	[Saliani et al., 2015; Saqib et al., 2019; Sihem et al., 2020] [Amutha & Sridhar, 2018; Bhattacharya & Neogi, 2017; Bhushan et al., 2018; Fracasso et al., 2018; Irshad et al., 2017; Janani et al., 2021; Kelley et al., 2017; Khashan et al., 2017; Li et al., 2020; Rufus et al., 2016; Sathishkumar et al., 2018; Vasantharaj et al., 2019; Velusamy et al., 2016]		
	Staphylococcus epidermidis Streptococcus mutans	[Groiss et al., 2017; Javanbakht et al., 2016; Saliani et al., 2015]		
	Aspergillus niger	[Nehra et al., 2018]		
	Candida albicans	[Nehra et al., 2018; Patra et al., 2017]		
Гриби	Candida glabrata	[Patra et al., 2017]		
1 puon	Candida glochares	[Patra et al., 2017]		
	Candida saitoana	[Patra et al., 2017]		
	Fusarium solani	[Nehra et al., 2018]		

НЧОЖ обладают противомикробной активностью как против грамположительных (включая *Staphylococcus aureus*), так и против грамотрицательных (включая *Escherichia coli*) бактерий [Saqib et al., 2019]. Данные о зависимости антибактериального действия НЧОЖ от группы бактерий (грамположительные или грамотрицательные) неоднозначны. С одной стороны, имеются данные о сравнимом действии НЧОЖ в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий [Ismail et al., 2015], подобно CuO [Bezza et al., 2020], что отличает НЧОЖ от НЧ ZnO [Yusof et al., 2019]. С другой стороны, имеются данные о более выраженном бактериостатическом действии Fe3O4 в отношении грамотрицательных бактерий, по сравнению с грамположительными [Gabrielyan et al., 2019]. Указанные различия авторы связывают с особенностями строения клеточной стенки и метаболизма грамположительных и грамотрицательных бактерий [Gabrielyan et al., 2019].

НЧОЖ, покрытые олеиновой кислотой, могут препятствовать образованию биопленок *S. aureus* и *P. aeruginosa* [Velusamy et al., 2016]. НЧОЖ обладают способностью адсорбироваться и проникать в бактериальные биопленки благодаря своим физико-химическим характеристикам,

таким как поверхностный заряд, гидрофобность и высокое отношение площади поверхности к объему [Morones et al., 2005; Nel et al., 2006].

В 80% исследований НЧОЖ проявляют только бактериостатическое действие. Бактерицидное действие НЧОЖ описано в литературе в 20% случаев (см. Табл. 2). В зависимости от оксида, на основе которого синтезированы НЧ, различают несколько типов НЧОЖ: НЧ на основе гематита (α -Fe₂O₃) [AlMatar et al., 2018; Rufus et al., 2016], β -Fe₂O₃, γ -Fe₂O₃, ϵ -Fe₂O₃ [Alagiri & Hamid, 2014; Mohapatra & Anand, 2010; Upadhyay et al., 2016] и Fe₃O₄ [Gabrielyan et al., 2019; Prabhu et al., 2015]. Анализ литературных данных показал, что НЧ Fe₂O₃ проявляют более выраженное бактериостатическое действие, по сравнению с НЧ Fe₃O₄.

По сравнению с НЧ Fe₃O₄ композитные НЧ Fe₃O₄/SiO₂ обладали более выраженным фотокаталитическим бактерицидным действием в отношении *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*; при этом эффект был более выраженным в отношении грамположительных бактерий [Naeimi et al., 2015]. Использование комбинированного метода синтеза НЧОЖ позволял добиться значительного бактериостатического эффекта в отношении *Staphylococcus aureus*, *Xanthomonas sp., Escherichia coli* и *Proteus vulgaris* [Prabhu et al., 2015].

Методы синтеза НЧ оксида железа

Методы синтеза НЧОЖ многочисленны и включают соосаждение [Ali et al., 2016], термическое разложение [Irshad et al., 2017], низкотемпературный синтез [Al-Shabib et al., 2018], золь-гель метод [Toropova et al., 2021], гидротермальный метод [Li et al., 2020], электрохимический метод [Prabhu et al., 2015], лазерную абляцию. [Ismail et al., 2015; Omelchenko et al., 2015], сонохимический, микроволновой, микроэмульсионный методы, матрично-опосредованный метод с использованием ПВС (поливинилового спирта), «зеленый синтез» [Rufus et al., 2016] и многие другие [Arias et al., 2018; Armijo et al., 2020; Tran et al., 2010]. В исследованиях антибактериальных эффектов НЧОЖ, наиболее часто используемыми методами являются: соосаждение, термическое разложение, золь-гель метод, лазерная абляция и «зеленый синтез» (см. Табл. 2); поэтому ниже мы кратко опишем эти методы.

Соосаждение — наиболее широко используемый химический метод синтеза НЧОЖ. В этом методе НЧОЖ синтезируют путем одновременного осаждения солей Fe^{2+} и Fe^{3+} (молярное соотношение 1:2) в основном растворе при комнатной температуре или при нагревании [Ali et al., 2016; Kansara et al., 2018; Wu et al., 2015]. Преимуществом метода соосаждения является низкая стоимость синтеза получаемых НЧОЖ. Это важно в случаях крупносерийного производства [Amor et al., 2020]. Недостатками метода являются большой размер распределения образующихся НЧОЖ, агрегация, плохая кристалличность, высокая вероятность окисления и

плохие магнитные свойства [Huang et al., 2017]. Изменение pH раствора может улучшить свойства НЧОЖ, синтезированных методом соосаждения [Riaz et al., 2013].

Термическое разложение представляет собой неводный котором синтез, В металлоорганические соединения, такие как Fe(Acac)₃, Fe(C₂O₄)×2H₂O, Fe(CH₃COO)₂ или ферроцен, разлагаются при высоких температурах В органических растворителях (высококипящих) или в присутствии стабилизирующих поверхностно-активных веществ, таких как алифатический амин и жирные кислоты. Этот метод позволяет получать высококачественные НЧОЖ с близким распределением размеров частиц, высоким магнетизмом и высокой степенью кристалличности [Maity et al., 2008]. Дополнительными преимуществами этого метода являются высокий выход и отсутствие агрегации НЧОЖ [Peng et al., 1998]. Основным недостатком данного метода является нерастворимость полученных НЧОЖ в воде. Как следствие, возникает необходимость в дополнительных химических и физических манипуляциях для того, чтобы сделать поверхности данных НЧОЖ гидрофильными и использовать их в биологических растворах [Hatakeyama et al., 2011].

Золь-гель метод (влажно-химический метод) представляет собой результат реакций конденсации и гидролиза между алкоксидами и солями железа (например, хлоридами, нитратами и ацетатами) [Pandey & Mishra, 2011]. Основным преимуществом этого метода является хорошая однородность и узкое распределение размера получаемых НЧ, а также высокая чистота и количество НЧОЖ [Pandey & Mishra, 2011]. Недостатками метода являются требования соблюдения точных значений pH, температуры и концентрации реагентов при синтезе; высокая стоимость прекурсоров; зачастую низкая стабильность синтезированных НЧОЖ [Xu et al., 2014].

Синтез лазерной абляцией в растворе представляет собой синтез, запускаемый воздействием импульсного лазерного излучения на материал мишени, находящейся в среде, чаще всего жидкой [Amendola & Meneghetti, 2013]. Лазерный абляционный синтез позволяет работать с широким спектром материалов и растворителей. Лазерная абляция позволяет синтезировать кристаллы FeOx до кластеров из нескольких атомов [Fracasso et al., 2018].

Значительный интерес представляет так называемый «зеленый синтез». Данный метод представляет собой модификацию методов синтеза (как правило, соосаждение) с применением растительных экстрактов в качестве восстановителя. Имеются сообщения о применении экстрактов листьев *Psidium guajava* [Rufus et al., 2016], *Cynometra ramiflora* [Groiss et al., 2017], *Sida cordifolia* [Pallela et al., 2019], *Zea mays* [Patra et al., 2017], *Argemone mexicana* [Arokiyaraj et al., 2013], *Couroupita guianensis* [Sathishkumar et al., 2018], *Tridax procumb* [Patra et al., 2017], экстракты кожуры *Punica granatum* [Irshad et al., 2017], *Ruellia tuberosa* [Vasantharaj et al., 2019], *Malva sylvestris* [Mousavi et al., 2020] и *Citrus sinensis* [Bashir et al., 2020]. Этот метод является

малозатратным, если в качестве основного метода используется соосаждение [Bashir et al., 2020; Mousavi et al., 2020; Vasantharaj et al., 2019].

Крупномасштабный синтез представляет собой модификацию метода соосаждения с регулируемым нагревом и добавлением солей полиакриловой кислоты или олеата натрия в качестве поверхностно-активного вещества [Kolen'ko et al., 2014].

Гидротермальный метод представляет собой синтез НЧОЖ в водной среде из железосодержащих прекурсоров в условиях высокого давления и температуры [Kolen'ko et al., 2014]. Метод водного синтеза позволяет синтезировать НЧОЖ с низкой степенью кристаллизации [Dash & Cudworth II, 1998]. Замена воды другими органическими растворителями позволяет синтезировать НЧОЖ с контролируемой морфологией и высокой кристалличностью. Данный метод получил название сольвотермального синтеза [Maity et al., 2008]. Недостатком этого метода является длительное время синтеза (от часов до суток) [Lu et al., 2007].

Nº	Метод синтеза	Состав	Размер (нм), форма	Концент рация	Среда, условия	Микроорганизм	Эфф.	Ссылка
1	Соосаждение	Fe ₂ O ₃	25–40, сфер	10–50 мкг/мл	ПА, 48 ч, 37 °C	E. coli, S. aureus, S. dysentery	БС	[Saqib et al., 2019]
2	Химическое осаждение с использованием экстракта листьев <i>Psidium</i> guajava в качестве восстановителя с последующей термической обработкой.	Fe ₂ O ₃	34, сфер	20–100 мкг/мл	АМХ, 24 ч, 37 °С	E. coli, S. aureus	БС	[Rufus et al., 2016]
3	Химическое осаждение с использованием экстракта кожуры Punica granatum в качестве восстановителя с последующей термической обработкой	-	-	31 мкг/мл	АМХ, 24 ч, 37 °С	P. aeruginosa	БС	[Irshad et al., 2017]
4	Мокрый химический метод	Fe ₃ O ₄	33–40, сфер	25–100 мкг/мл	ПБ, 24 ч, 37 °С	E. coli, P. vulgaris, S. aureus, Xanthomonas sp.	БС	[Prabhu et al., 2015]

Таблица 2. Параметры НЧОЖ с антибактериальным эффектом, сообщаемые в литературных источниках

N₂	Метод синтеза	Состав	Размер (нм), форма	Концент рация	Среда, условия	Микроорганизм	Эфф.	Ссылка
5	Модифицированн ый метод соосаждения	Fe ₃ O ₄	10,64 ± 4,73, сфер	50–500 мкг/мл	ПА, 24 ч, 3 °С	E. coli, E. hirae	БС	[Gabrielya n et al., 2019]
6	Соосаждение	Композит α-Fe ₂ O ₃ / Co ₃ O ₄	25, стрежн ., гексаг.	400-800 мкг/мл	АМХ, 24 ч, 37 °С	B. subtilis, E. coli, S. aureus, S. typhimurium	БЦ	[Bhushan et al., 2018]
7	Химическое осаждение с использованием экстракта <i>Cynomet</i> <i>ra ramiflora</i> в качестве восстановителя.	Fe ₂ O ₃ / Fe ₃ O ₄	- сфер	70 мкл суспензи и/диск	ПА, 24 ч, 37 °С	E. coli, S. epidermidis	БС	[Groiss et al., 2017]
8	Соосаждение	α-Fe ₂ O ₃ , ZnO/α- Fe ₂ O ₃	~30, сфер., овальн.	400-800 мкг	АМХ, 24 ч, 37 °С	B. subtilis, E. coli, S. aureus, S. typhimurium	БС	[Bhushan et al., 2018]
9	Соосаждение	Fe ₃ O ₄	6—9, сфер	32–128 мкг/мл	Бульон ЛБ, 37 °С	E. coli, L. monocytogenes, P. aeruginosa, S. marcescens	БС	[Al-Shabib et al., 2018]
10	Химическое осаждение с использованием <i>Si</i> <i>da cordifolia</i> в качестве восстановителя и стабилизатора	Fe ₂ O ₃	16, сфер	50 мкг/мл	АМХ, 24 ч, 37 °С	B. subtilis, E. coli, K. pneumoniae, S. aureus	БС	[Pallela et al., 2019]
11	Метод соосаждения	НЧОЖ с амоксицил лином	-	0,05–10 мМ	ТСБ, 24 ч, 37 °С	P. aeruginosa, S. aureus	-	[Kelley et al., 2017]
12	Готовый коммерческий продукт (Sigma-Aldrich)	Fe ₂ O ₃	<5	0,05–10 мМ	37 °C	E. coli	БЦ	[Li et al., 2018]
13	Соосаждение с использованием водного экстракта кукурузных початков (Zea mays L.)	Fe ₃ O ₄	37,86, сфер	25–50 мкг/диск	ПБ, 37 °C через 24 ч, для бактерий, КДА, 28 °C через 48 ч для грибков	B. cereus, C. albicans, C. glabrata, C. geochares, C. saitoana, E. coli, L. monocytogenes, S. aureus, S. typhimurium	БС	[Patra et al., 2017]
14	Метод соосаждения в щелочной среде с экстрактом	Fe ₃ O ₄	10–30, сфер	12,5–50 мг/диск	БМХ, 24 ч, 37 °С	B. subtilis, E. coli, P. mirabilis	БС	[Arokiyara j et al., 2013]

№	Метод синтеза	Состав	Размер (нм), форма	Концент рация	Среда, условия	Микроорганизм	Эфф.	Ссылка
	листьев A. mexicana							
15	Лазерная абляция в растворах диметилформамид а (ДМФА) и додецилсульфата натрия (ДСН)	α-Fe ₂ O ₃	50– 110, сфер	4,25 мг/мл	ПА, 24 ч, 37 °C	E. coli, P. aeruginosa, S. aureus, S. marcescens	БС	[Ismail et al., 2015]
16	Соосаждение с использованием во дного экстракта плодов Couroupita guianensis	Fe ₃ O ₄	~17, сфер	25–75 мкг/мл	ПБ, 24 ч., 37 °С	E. coli, K. pneumoniae S. typhimurium	БС	[Sathishku mar et al., 2018]
17	Соосаждение	Fe ₃ O ₄ , покрытый SiO ₂	~20, сфер	-	ПА, 24 ч., 37 °С	E. coli, S. aureus	БС	[Naeimi et al., 2015]
18	Химическое осаждение с использованием экстракта листьев <i>Tridax</i> <i>procumbens</i> в качестве восстановителя.	Fe ₃ O ₄	- сфер	10–40 мкл	КДА	P. aeruginosa	БС	[Senthil & Ramesh, 2012]
19	Соосаждение	Fe ₃ O ₄	8, сфер	50–200 мкг/мл	ЛБ, 37 °С, 14 ч.	E. coli	БС	[Chatterjee et al., 2011]
20	Сверхмасштабный синтез	Fe ₃ O ₄ или Fe ₃ O ₄ с покрытие м из альгината	~16, для покрыт ия альгин атом ~230, сфер	2,5–10 мкг	ЛБ, 37 °С, 16–18 ч.	P. aeruginosa	БС	[Yu et al., 2014]
21	Химическое осаждение с использованием водного экстракта листьев <i>Ruellia</i> <i>tuberosa</i> в качестве восстановителя	FeO	52,78, стержн	25–75 мкг/мл	АМХ, 24 ч., 37 °С,	E. coli, K. pneumoniae, S. aureus	БС	[Vasanthar aj et al., 2019]
22	Соосаждение	ПЭГ- Fe ₃ O ₄	26± 1,26, сфер	0,1–100 мкг/мл	-	E. coli, M. luteus, S. aureus	БС	[Janani et al., 2021]
23	Coocaждение с использованием Malva sylvestris в качестве восстановителя.	Fe ₃ O ₄	30–50, сфер	62,5 мг/мл	АСМ, 24 ч., 37 °С,	Corynebacteriu m sp., K. pneumonia, P. aeruginosa, S. aureus,	БС, БЦ	[Mousavi et al., 2020]

Nº	Метод синтеза	Состав	Размер (нм), форма	Концент рация	Среда, условия	Микроорганизм	Эфф.	Ссылка
24	Однореакторный гидротермальный метод	Fe ₃ O ₄	~160, сфер	300- 1000 мкг/мл	ЛБ, 37 °С, 14 ч.	E. coli, S. aureus	БС	[Li et al., 2020]
25	Химическое осаждение с использованием экстракта апельсиновой корки в качестве восстановителя и стабилизатора.	Fe ₂ O ₃	~50	0,5 мг/мл	Н/А, 36 °С, 24 ч.	B. subtilis, E. coli, P. aeruginosa, S. aureus	БС	[Bashir et al., 2020]
26	Химическое осаждение с использованием эк стракта листьев крапивы в качестве восстановителя	α-Fe2O3, α-Fe2O3 - Ag	100– 200	35 мкг/мл 5–35 мкг/диск	АМХ, 24 ч., 37 °С,	Bacillus sp., E. coli, K. pneumoniae, S. aureus	БС	[Sihem et al., 2020]
28	Соосаждение	Fe ₃ O ₄	10– 120, сфер	50 мг/мл	24 ч, 37 °С,	B. brevis, B. licheniformis, B. subtilis, E. coli, P. aeruginosa, S. aureus, S. epidermidis, S. flexneri, V. cholera	БС	[Behera et al., 2012]
29	Соосаждение	Fe ₃ O ₄ , Co/Fe ₂ O ₄ , Mn/Fe ₂ O ₄	14–68, кубич.	25–2000 мкг/мл	ПА, ПБ, 24 ч., 37 °С,	B. subtilis, E. coli	БС	[Manyasre e et al., 2016]
30	Сольвотермальный метод	НЧОЖ, модифици рованные олеиновой кислотой	75– 1110, сфер	25–125 мкг/мл	бульон ЛБ, 48 ч., 37 °С,	P. aeruginosa, S. aureus	БС	[Velusamy et al., 2016]
31	Лазерная абляция в растворах диметилформамид а (ДМФА) и додецилсульфата натрия (ДСН)	α-Fe ₂ O ₃	50– 110, сфер	-	Н/А, 24 ч., 37 °С,	E. coli, P. aeruginosa, S. aureus, S. marcescens	БС	[Ismail et al., 2015]
32	Золь-гель горение	Fe ₂ O ₃	35,16± 1,47, сфер	65 ± 1,5 мкг/мл	БМХ, 24 ч., 35 ± 2 °С,	B. subtilis, E. coli, P. aeruginosa, S. aureus	Низк ий БЦ	[Ahmed et al., 2021]
33	Матрично- опосредованный метод с использованием ПВА (поливинилацетат а)	Fe ₃ O ₄ / Fe ₂ O ₃	9±4, сфер	30—3000 мкг/мл,	ТСБ, 24 ч., 37 °С,	S. aureus	БС, БЦ	[Tran et al., 2010]

Nº	Метод синтеза	Состав	Размер (нм), форма	Концент рация	Среда, условия	Микроорганизм	Эфф.	Ссылка
34	Лазерная абляция в воде	НЧОЖ/уг леродные нанотрубк и	6—7, сфер	400-800 мкг/мл	ПБ, 24 ч., 37 °C,	E. coli, K. pneumoniae, S. aureus	БС	[Khashan et al., 2017]
35	Соосаждение	Fe ₃ O ₄ + TEPSA или TPED	14,6 ± 1,4, 20,4 ± 1,3 или 21,2 ± 1,6, сфер	1–3 мкг/мл	TCA, 24 ч, 37 °С, в темноте	S. mutans	БЦ	[Javanbakh t et al., 2016]
36	Соосаждение	Fe ₃ O ₄ , покрытый лимонной кислотой	~30, сфер	100 мкг/мл	ПА, 24 ч, 37 °С,	E. coli, S. typhimurium	БС	[Gabrielya n et al., 2020] [Gabrielya n et al., 2020]
37	Соосаждение	Fe ₃ O ₄ , Fe ₂ O ₃ с покрытие м из хитозана	10–20, сфер	2,5–50 мкМ	ПБ., 37 °С	B. subtilis, E. coli	БЦ	[Arakha et al., 2015]
38	Соосаждение	Fe ₃ O ₄ с покрытие м из хитозана	~11, сфер	3040 мкг/мл	ТСА для бактерий, ДЭПД для С. albicans, СҮА для <i>A. niger</i> , КДС для <i>F.</i> <i>solani.</i> 48 ч. при 30 °C	A. niger, B. subtilis, C. albicans, E. coli, F. solani	БС	[Nehra et al., 2018]
39	Соосаждение	Fe ₂ O ₃ , FeO, покрытый гентамици ном	10–15, сфер	200 мкг/мл	Бульон ЛБ, 24 ч., 37 °С	B. subtilis, E. coli, P. aeruginosa, S. aureus	БЦ	[Bhattacha rya & Neogi, 2017]
40	Соосаждение	Fe ₃ O ₄	20–25	5–80 мкг/мл	Н.Б., 24 ч., 37 °С	В. cereus, К. пневмонии,	БС, БЦ	[Saqib et al., 2019]
41	Соосаждение с применением водного экстракта <i>Glycosmis</i> <i>mauritiana</i> в качестве восстановителя	Fe ₃ O ₄	<100, сфер	10–30 мкг/мкл	АМХ, 24 ч., 37 °С,	E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa, S. aureus	БС	[Amutha & Sridhar, 2018]

Эфф. – эффект, БС – бактериостатический эффект, БЦ – бактерицидный эффект, АСМ – агар с сердечно-мозговым экстрактом, АМХ – агар Мюллера-Хинтона, БМХ –бульон Мюллера-Хинтона, ТСА – триптон-соевый агар, ТСБ – триптон-соевый бульон, ПА – питательный агар, ПБ – питательный бульон, ТКС – триптон-казеин-соевый бульон, СЛИ – среда Левенштейна-Йенсена, СДА – агар Сабуро с декстрозой, КДА – картофельно-декстрозный

N⁰	Метод синтеза	Состав	Размер (нм), форма	Концент рация	Среда, условия	Микроорганизм	Эфф.	Ссылка
----	---------------	--------	--------------------------	------------------	-------------------	---------------	------	--------

агар, КДС – картофельно-декстрозная среда, ДЭПД – дрожжевой экстракт пептон декстроза, ЛБ – среда Лурия-Бертани, БМХ – бульон Мюллера-Хинтона, СҮА – агар с дрожжевым экстрактом Чапека

Влияние способа синтеза, состава, морфологических характеристик и модификаций на антибактериальные свойства НЧ оксида железа

В большинстве исследований синтезированные НЧОЖ имеют сферическую форму (см. Табл. 2), что исключает вклад формы данных НЧ в антимикробное действие. Поэтому, на основе анализа литературных данных, оценивался вклад размера и состава НЧОЖ в их антибактериальный эффект. На основании проанализированных литературных данных мы не выявили связи между размером НЧОЖ и минимальными бактериостатическими концентрациями (рис. 3 A). В зависимости от оксида, на основе которого они синтезированы, различают несколько типов НЧОЖ: НЧ на основе гематита (α -Fe₂O₃) [AlMatar et al., 2018; Rufus et al., 2016], β -Fe₂O₃, γ -Fe₂O₃, ϵ -Fe₂O₃ [Alagiri & Hamid, 2014; Mohapatra & Anand, 2010; Upadhyay et al., 2016] и Fe₃O₄ [Gabrielyan et al., 2019; Prabhu et al., 2015]. Сравнивая литературные источники, мы обнаружили, что НЧ Fe₂O₃ проявляют более выраженное бактериостатическое действие, по сравнению с НЧ Fe₃O₄ (рис. 3 Б).



Рисунок 3. Сравнение антибактериальной эффективности НЧОЖ в зависимости от размера, состава и метода синтеза НЧ, согласно литературным источникам. А — оценка зависимости МИК НЧОЖ в отношении *E. coli* от размера НЧОЖ; Б — оценка зависимости МИК от типа НЧОЖ в отношении *E. coli*; В — оценка зависимости МИК от метода синтеза НЧОЖ в отношении *E. coli*. МИК – минимальная ингибирующая концентрация. *— *p* <0,05, *U* - критерий Манна–Уитни

Для более детального анализа мы оценили вклад метода синтеза НЧОЖ в их антимикробные свойства. НЧОЖ, синтезированные низкотемпературным методом из сульфата железа, проявляли противомикробное действие в отношении *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens* и *Listeria monocytogenes*, оказывая бактериостатическое действие и ингибируя образование биопленок [Al-Shabib et al., 2018]. НЧ, полученные методом лазерной абляции,
обладали сопоставимым бактериостатическим действием в отношении грамотрицательных (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Serratia marcescens*) и грамположительных (*Staphylococcus aureus*) бактерий. Бактериостатическое действие НЧОЖ не зависло от растворителя или группы бактерий (грамположительные или грамотрицательные) [Ismail et al., 2015].

Одним из наиболее распространенных методом синтеза НЧОЖ, сообщаемых в литературных источниках, являлось соосаждение солей Fe^{3+}/Fe^{2+} [Arokiyaraj et al., 2013; Chatterjee et al., 2011; Gabrielyan et al., 2019; Kaushik et al., 2008; Kelley et al., 2017; Salem, 2012; Soenen et al., 2011]. В ряде работ рассматривались модификации данного метода. Так, добавление олеиновой кислоты для получения сопряженных НЧОЖ [Gabrielyan et al., 2019; Soenen et al., 2019; Soenen et al., 2011], а также соосаждение различных солей металлов позволяют получать композитные HЧ, например, на основе FeSO₄×7H₂O и Co(NO₃)₂×6H₂O [Bhushan et al., 2018].

Одним из путей улучшения антимикробных свойств НЧОЖ является использование нанокомпозитов, например α-Fe₂O₃/Co₃O₄ [Ali et al., 2016]. Композитные НЧ обладают более выраженным антимикробным действием в отношении B. subtilis, S. aureus, E. coli и S. typhimirium. Наблюдался синергический эффект при совместном использовании НЧ Fe₂O₃ и Co₃O₄, по сравнению с оксидами, используемыми по отдельности. Однако при сильном бактериостатическом действии (практически полное торможение роста бактерий при концентрации 1200 мг/мл) бактерицидное действие практически отсутствовало [Bhushan et al., 2018]. Нанокомпозиты α-Fe₂O₃/ZnO проявляли более выраженное бактериостатическое действие в отношении грамположительных Bacillus subtilis и Staphylococcus aureus и грамотрицательных Escherichia coli и Salmonella typhi, чем НЧОЖ и НЧ ZnO по отдельности; при этом размер зоны ингибирования увеличивается с увеличением концентрации ZnO в композите [Bhushan et al., 2018].

По сравнению с НЧ Fe₃O₄ композитные НЧ Fe₃O₄/SiO₂ обладают более выраженным фотокаталитическим бактерицидным действием в отношении *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*; при этом эффект был выше в отношении грамположительных бактерий [Naeimi et al., 2015]. Использование комбинированного метода синтеза НЧОЖ позволял добиться значительного бактериостатического эффекта в отношении *Staphylococcus aureus*, *Xanthomonas sp., Escherichia coli* и *Proteus vulgaris* [Prabhu et al., 2015].

Значительный интерес вызвал так называемый «зеленый синтез». Данная модификация методов синтеза (как правило, соосаждение) включает применение растительных экстрактов в качестве восстановителя [Arias et al., 2018; Kansara et al., 2018; Prabhu et al., 2015; Toropova et al., 2021; Wu et al., 2015]. НЧОЖ, синтезированные «зеленым» методом, демонстрируют сопоставимые противомикробные эффекты как против грамотрицательных (*E. coli*), так и против

грамположительных (*S. aureus*) бактерий [Rufus et al., 2016]. Однако противомикробный эффект 50–100 мкг/мкл НЧОЖ был примерно в три раза ниже, чем при добавлении 20 мкг/мл стрептомицина. НЧОЖ, синтезированные в присутствии экстракта кожуры граната, оказывали бактериостатическое действие на *Pseudomonas aeruginosa*; при этом данные НЧОЖ не обладали гемолитической активностью в отношении эритроцитов [Irshad et al., 2017].

НЧОЖ в комплексе с экстрактом *Cynometra ramiflora* обладали более выраженным бактериостатическим действием в отношении грамположительных *S. epidermalis*, по сравнению с грамотрицательной кишечной палочкой [Groiss et al., 2017]. НЧ, синтезированные в среде экстракта *Zea mays*, не обладали собственными противомикробными и противогрибковыми свойствами, но значительно усиливали бактериостатическое действие канамицина и рифампицина в отношении грамположительных *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* и грамотрицательных *Escherichia coli* и *Salmonella. typhimurium*, а также противогрибковую активность этих антибиотиков в отношении шести штаммов *Candida* [Patra et al., 2017]. Помимо антимикробных свойств, НЧОЖ, полученные в результате «зеленого» синтеза, в ряде случаев обладали антиоксидантными свойствами и ингибировали их протеасомную активность, что позволило рассматривать НЧОЖ в качестве возможных кандидатов для терапии рака [Patra et al., 2017].

По сравнению с НЧ Fe₃O₄, НЧ Fe₃O₄/*Malva sylvestris* обладали более выраженным бактериостатическим и бактерицидным действием в отношении *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и оказывали цитотоксическое действие в отношении клеточных линий Hep-G2 и MCF-7 [Mousavi et al., 2020].

НЧОЖ, синтезированные в экстракте *Argemone mexicana*, обладали более выраженной бактериостатической активностью в отношении *E. coli*, *P. mirabilis* и *B. subtilis*, чем чистые НЧОЖ, что было сравнимо с эффектами стрептомицина [Arokiyaraj et al., 2013].

HЧ Fe₃O₄, синтезированные с экстрактом *Couroupita guianensis*, ингибировали рост E. coli, S. typhimurium, K. pneumoniae и S. aureus, а также индуцировали апоптоз клеточной линии гепатоцеллюлярной карциномы (HepG2) [Sathishkumar et al., 2018]. НЧОЖ, синтезированные в экстракте Ruellia tuberosa, ингибировали рост E. coli, K. pneumoniae и S. aureus дозозависимым образом. Эффективность НЧОЖ оказалась выше, чем у стрептомицина; механизм антимикробного действия заключался в генерации АФК [Vasantharaj et al., 2019]. НЧ Fe₂O₃/*Citrus* sinensis оказывали сопоставимое бактериостатическое лействие в отношении грамположительных (B. subtilis и S. aureus) и грамотрицательных (E. coli и P. aeruginosa) бактерий. Ингибирующее действие НЧ Fe₂O₃/Citrus sinensis было сравнимо с хлоргексидином, гексахлорофеном, хлоридом бензалкония и фенолом, взятыми в равных концентрациях [Bashir et al., 2020]. НЧ α-Fe₂O₃ в сочетании с экстрактом Sida cordifolia обладали сопоставимой

бактериостатической активностью в отношении *E. coli, K. pneumoniae, B. subtilis* и *S. aureus.* Бактериостатический эффект в отношении грамположительных бактерий был более выражен и был сопоставим с действием неомицина [Pallela et al., 2019]. Для некоторых экстрактов, например *Couroupita guianensis*, «зеленый синтез» приводит к усилению цитотоксичности НЧОЖ [Sathishkumar et al., 2018]. Также, в некоторых исследованиях исследовались антиоксидантные свойства НЧ Fe₃O₄, синтезированных «зеленым методом» [Patra et al., 2017].

В ходе метаанализа мы обнаружили, что НЧОЖ, полученные методом «зеленого синтеза», обладали в три раза более выраженной бактериостатической активностью, чем НЧОЖ, полученные классическим методом соосаждения (рис. 3 В).

Конъюгация НЧОЖ с углеродными нанотрубками позволяла добиться бактерицидного действия в отношении грамотрицательных (E.coli и K.pneumoniae), а также грамположительных (S. aureus) бактерий; при этом число КОЕ уменьшалось в два и более раза, по сравнению с контролем [Khashan et al., 2017]. Нанокомпозиты в виде углеродных нанотрубок с НЧОЖ ускоряли заживление ран у мышей в тесте на заживление ран на 25% и 50%, по сравнению с НЧОЖ или углеродными нанотрубками, взятыми по отдельности. Следует отметить, что в данном исследовании при значительном уменьшении КОЕ, размер зоны ингибирования увеличивался незначительно; поэтому антимикробный эффект НЧОЖ, оцениваемый лишь по размеру зоны ингибирования, в большинстве исследований может быть переоценен. В отличие от других типов НЧОЖ, Fe₃O₄ НЧ, покрытые олеиновой кислотой, по-разному влияют на рост и жизнеспособность грамположительных (Enterococcus hirae) и грамотрицательных (E. coli) бактерий. Более выраженное противомикробное действие наблюдалось в отношении грамотрицательных бактерий [Gabrielyan et al., 2019]. Авторы связали это явление с различиями в строении клеточной стенки; в частности, со способностью НЧ Fe₃O₄ концентрироваться между наружной и внутренней мембранами клеточной стенки у грамотрицательных бактерий и наличием комплекса FHL во внутренней мембране E. coli, являющегося дополнительной мишенью для НЧ Fe₃O₄. НЧ Fe₃O₄, покрытые олеиновой кислотой, вызывают снижение роста канамицин- и ампициллин резистентных штаммов E. coli за счет замедления логарифмической фазы роста, удлинения лаг-фазы, снижения потока Н⁺ через мембрану и окислительновосстановительного потенциала [Gabrielyan et al., 2020; Velusamy et al., 2016]. НЧОЖ, покрытые олеиновой кислотой, не только подавляли рост S. aureus и P. aeruginosa, но также предотвращают образование биопленок [Gabrielyan et al., 2020].

Модификация поверхности также является ключевым методом улучшения антибактериальных свойств НЧОЖ [Arakha et al., 2015]. Конъюгация НЧОЖ с хитозаном усиливала бактерицидное действие НЧОЖ против *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* за счет образования АФК [Arakha et al., 2015]. НЧ Fe₃O₄, покрытые полиэтиленгликолем (ПЭГ), оказывают дозозависимое бактерицидное действие в отношении *E. coli* и *S. aureus*, а также штамма *Micrococcus luteus*, устойчивого к антибиотикам. Предполагалось, что механизм токсичности НЧОЖ заключался в снижении активности ферментов антиоксидантной системы (СОД, каталазы и глутатионредуктазы) и, как следствие, в усилении образования $A\Phi K$ и окисления липидов [Janani et al., 2021]. НЧ Fe₃O₄, конъюгированные с хитозаном, обладали бактерицидным и фунгицидным действием в отношении *Candida albicans*, *Aspergillus niger* и *Fusarium solani* [Nehra et al., 2018]. Покрытие альгинатом или тобрамицином не оказывало существенного влияния на бактериостатическую активность НЧ Fe₃O₄ в отношении *P. aeruginosa* [Armijo et al., 2020]. Конъюгация НЧОЖ с полиэтиленгликолем (ПЭГ) и хитозаном позволяла не только улучшить антимикробные свойства НЧОЖ, но и уменьшить нежелательную адсорбцию НЧОЖ на макрофагах печени [Gomes & Sarria, 2018; Lee et al., 2009].

Одним из способов улучшения антимикробных свойств является использование сочетания «зеленого синтеза» с использованием растительных экстрактов в качестве восстановителя и изменения состава НЧ, например, добавлением золота. Бактериостатический эффект смеси НЧ α -Fe₂O₃/Ag, полученных с использованием экстракта листьев крапивы в отношении *S. aureus*, *Bacillus sp.*, *Klebsiella sp.* и *E. coli* был выше по сравнению с НЧ α -Fe₂O₃. Увеличение концентрации НЧ серебра в α -Fe₂O₃/Ag нанокомпозите оказывало выраженное влияние на рост грамотрицательных штаммов [Sihem et al., 2020].

Совместное использование НЧОЖ и золотых НЧ не снижало рост бактериальной биомассы культуры *E. coli*, но препятствовало делению бактериальных клеток [Chatterjee et al., 2011]; как следствие, *E. coli* меняли свою морфологию с палочек на нити длиной в несколько микрометров. Смесь НЧ Fe₃O₄ и Au ингибировала рост устойчивых к канамицину штаммов *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium* более эффективно, чем НЧ Fe₂O₃ [Chatterjee et al., 2011].

На примере гентамицина описан подход к улучшению антимикробных свойств НЧОЖ путем их конъюгации с антибиотиками [Bhattacharya & Neogi, 2017]. При этом в отношении грамположительных В. subtilis И S. aureus был достигнут более выраженный бактериостатический эффект, чем в отношении грамотрицательных E. coli и P. areuginosa. Конъюгация НЧОЖ с гентамицином снижала минимальную ингибирующую концентрацию в отношении всех рассматриваемых бактерий более чем в десять раз [Bhattacharya & Neogi, 2017]. В ряде случаев конъюгация НЧОЖ с антибиотиками может давать противоположный результат. НЧОЖ, конъюгированные с амоксициллином, усиливали рост Pseudomonas aeruginosa и Staphylococcus aureus [Kelley et al., 2017]. Таким образом, существенно влиять на антимикробную активность НЧОЖ можно добавками, покрытиями и конъюгатами, что, несомненно, может быть перспективными подходами в развитии этого направления.

Биосовместимость НЧ оксида железа

Показано, что НЧОЖ обладают хорошей биосовместимостью и биоразлагаемостью. В частности, внутривенное введение 0,8 мг/кг НЧ у-Fe₂O₃ не влияло на изменение веса у крыс и не вызывало активацию апоптоза в клетках HUVEC. После внутривенной инъекции НЧ были обнаружены в легких, печени и почках крыс, но не в головном мозге или сердце. Значительная часть НЧ выводилась с мочой через 72 часа [Hanini et al., 2011]. В целом НЧОЖ демонстрируют отсутствие или слабое цитотоксическое действие на клеточные культуры. Например, не наблюдалось неблагоприятного воздействия НЧОЖ. покрытых полиэтиленимином, димеркаптосукцинатом или цитратом на первичные культуры астроцитов коры мозжечка крысы и культивиры астроцитов мыши [Geppert et al., 2011; Yiu et al., 2012]. НЧОЖ, конъюгированные с PEG-фосфолипидами (WFION), не влияли на жизнеспособность клеточной линии B16-F10 в концентрациях до 0,75 мг Fe/мл [Lee et al., 2012]. НЧ Fe₃O₄ проявляют бактериостатический эффект, и в то же время не оказывают гемолитического действия [Gabrielyan et al., 2019; Irshad et al., 2017]. В ряде случаев НЧОЖ усиливают Саѕр3-зависимый апоптоз в клетках HUVEC, вызывают образование АФК, повреждение мембран, изменения цитоскелета и т. д. [Valdiglesias et al., 2016]. В целом цитотоксические свойства НЧОЖ проявляются при гораздо более высоких концентрациях, чем антимикробные свойства.

Недостатки применения НЧ оксида железа

НЧОЖ обладают не только бактериостатической и бактерицидной активностью, но и токсичностью для некоторых линий эукариотических клеток [Arias et al., 2018]. Основным механизмом токсичности НЧОЖ является продукция АФК, что приводит к повышению уровня перекисного окисления липидов, снижению антиоксидантных ферментов и агрегации белков [Araujo & Nel, 2009; Dwivedi et al., 2014; Singh et al., 2010; Yarjanli et al., 2017]. НЧОЖ могут приводить к перенасыщению клеток железом. Перегрузка железом вызывает серьезные вредные последствия, приводящие к гибели клеток [Singh et al., 2010; Yarjanli et al., 2017]. Кроме того, высокая концентрация НЧОЖ увеличивала метаболизм липидов, нарушала гомеостаз железа и усугубляла потерю функций печени у мышей *in vivo* [Wei et al., 2016].

Применение НЧОЖ в биомедицине ограничено из-за отсутствия контроля и предсказания конечных свойств НЧОЖ, включая взаимодействие НЧОЖ с клетками [Torchilin, 2005]. Важным аспектом НЧОЖ в биомедицинских приложениях является химическая модификация их поверхности [Grainger, 2013]. В частности, в ряде работ было продемонстрировано, что покрытие НЧОЖ полиэтиленгликолем (ПЭГ) снижало адсорбцию белка, повышало стабильность НЧОЖ, снижало поглощение НЧОЖ клетками культуры *in vitro* и целыми организмами *in vivo*, а также

увеличивало время удерживания НЧОЖ в кровотоке [Pelaz et al., 2015; Xie et al., 2007; Zhang et al., 2002]. К сожалению, ПЭГ может окисляться ферментами хозяина [Pelaz et al., 2015]. Белки обычно являются первыми биомолекулами, с которыми НЧОЖ сталкиваются при взаимодействии с биологическими системами *in vitro* или *in vivo* [Torchilin, 2005]. НЧОЖ могут быть покрыты бычьим сывороточным альбумином (БСА) или эмбриональной бычьей сывороткой [Yu et al., 2016]. БСА образует защитный слой на НЧ для улучшения биосовместимости и транспорта НЧОЖ. Покрытие НЧОЖ БСА позволяло накапливать лекарство в опухоли за счет повышенной проницаемости и удерживания, снижало риск реакций гиперчувствительности [Kalidasan et al., 2016]. Кроме того, покрытие БСА поддерживало коллоидную стабильность НЧОЖ в экспериментах с клеточными культурами [Yu et al., 2016].

НЧОЖ нашли широкое применение в различных областях биомедицины. Особый интерес представляет антибактериальная активность НЧОЖ. Однако ситуация с антимикробной активностью НЧОЖ неоднозначна. С одной стороны, антибактериальная активность НЧОЖ в значительной степени зависит от вида микроорганизма, а ингибирующее действие НЧОЖ зачастую менее выражено, чем у НЧ других оксидов металлов (CuO или ZnO). С другой стороны, НЧОЖ проявляют менее выраженные цитотоксические свойства и лучшую биосовместимость *in vivo*, по сравнению с НЧ CuO или ZnO. Предполагается, что в ближайшем будущем НЧОЖ позволят достичь баланса между антимикробным действием и биосовместимостью *in vivo*. В этом случае НЧОЖ можно рассматривать как потенциальные антимикробные агенты нового поколения.

1.4. Антибактериальные свойства НЧ оксида цинка

Свойства и биологическая роль цинка

Одним из хорошо изученных металлов, воздействующих на биологические объекты, является цинк (Zn) и его оксид (ZnO). Цинк является активным элементом и обладает сильными восстановительными свойствами, легко окисляется с образованием оксида цинка. Цинк играет важную роль в организме человека, так как является одним из важнейших микроэлементов [Maret, 2011]. Цинк содержится во всех тканях организма человека, при этом наибольшая концентрация обнаружена в миоцитах (85% от общего содержания цинка в организме) [Król et al., 2017]. Цинк необходим для работы более 300 ферментов, стабилизации ДНК и экспрессии генов [Frassinetti et al., 2006]. В свою очередь, структуры, называемые "цинковые пальцы", обеспечивают уникальный каркас, который позволяет белковым субдоменам взаимодействовать либо с ДНК, либо с другими белками [Klug & Rhodes, 1987]. Цинк также необходим для нормального функционирования ряда металлопротеинов, В том числе, ферментов

(карбоангидраза, алкогольдегидрогеназа, метионинсинтаза, и др). И хотя цинк считается относительно нетоксичным, появляется все больше доказательств его антибактериальных свойств, что делает изучение свойств наноматериалов на его основе важной научной задачей.

Области применения НЧ оксида цинка

На сегодняшний день растет интерес к наночастицам оксида цинка (НЧ ZnO, НЧОЦ), как легкодоступным наноматериалам, находящим множество применений в технике и медицине. НЧ ZnO используются в солнечных элементах [Beek et al., 2004; Suliman et al., 2007], газовых сенсорах, в частности, сенсорах для сжиженного нефтяного газа и этанола [Baruwati et al., 2006], химических сенсорах и биосенсорах, в светодиодах, фотодетекторах [Chang & Chen, 2012].

Интересно отметить, что оксид цинка широко применяется в производстве косметики, в частности, в качестве компонента солнцезащитных кремов [Восса et al., 2018], а также в составе зубных паст и цементов в терапевтической стоматологии. В биологии и медицине известна цитостатическая активность НЧОЦ в отношении раковых клеток, антимикробная и фунгицидная активность [Dadi et al., 2019; Houšková et al., 2007], противовоспалительная активность [Agarwal & Shanmugam, 2020; Nagajyothi et al., 2015], способность ускорять заживление ран [Mishra et al., 2017], а также возможность использования в биоимиджинге благодаря хемилюминесцентным свойствам наночастиц [Eixenberger et al., 2019; Wang et al., 2015]. Примечательно, что во многих странах оксид цинка разрешен для использования в различных сферах промышленности, в том числе пищевой. В частности, в США, оксид цинка одобрен управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов FDA (Food and Drug Administration).

Особенности антибактериальной активности НЧ оксида цинка

НЧОЦ имеют ряд преимуществ: высокая антибактериальная эффективность при низких концентрациях (0,16–5,00 мМ/л), активность в отношении широкого спектра штаммов, а также относительно низкая стоимость [Azam et al., 2012; Houšková et al., 2007; Manzoor et al., 2016]. НЧОЦ преимущественно синтезируют физико-химическим золь-гель методом из солей цинка [Alias & Mohamad, 2014; Azam et al., 2012], химическим методом [Souza et al., 2019], химическим синтезом при низких температурах [Khan et al., 2014] и механическим методом [Tran et al., 2010]. В ряде случаев добавляют стабилизаторы, например, хитозан [AbdElhady, 2012; Yusof et al., 2019].

Механизмы действия НЧОЦ можно свести к следующим: разрушение клеточной мембраны [Liu & He; Sirelkhatim et al., 2015], связывание Zn^{2+} с белками и ДНК, образование активных форм кислорода (АФК) [Dutta et al., 2012; Mesaros et al., 2019; Parks & Messmer, 2015],

нарушение процесса репликации бактериальной ДНК, изменения (в онсновном, даун-регуляции) экспрессии широкого спектра генов [Xie et al., 2011]. Показано прямое бактерицидное действие наночастиц ZnO как в отношении грамотрицательных, так и грамположительных бактерий, а также в отношении некоторых видов грибов [Akbar et al., 2019; Janaki et al., 2015; Yusof et al., 2019].

Несмотря на кажущийся широкий спектр микроорганизмов, в отношении которых данные наночастицы проявляют антимикробную активность, их эффективность в отношении отдельных видов может существенно различаться. Как правило, грамотрицательные бактерии менее чувствительны к НЧОЦ, чем грамположительные [da Silva et al., 2019; Yusof et al., 2019; Zhong et al., 2018]. Несколько более высокая резистентность грамотрицательных бактерий может быть объяснена особенностями строения их клеточной стенки. В отличие от грамположительных бактерий клеточная стенка грамотрицательных бактерий включает дополнительную наружную мембрану, содержащую липополисахариды (ЛПС) [Kashef et al., 2017]. Показано, что ЛПС может улучшать барьерные свойства наружной мембраны и, следовательно, повышать устойчивость бактерий, в частности, к антибиотикам [Nikaido, 2003]. Особого внимания заслуживают эпидемиологически значимые микроорганизмы, например *Mycobacterium tuberculosis*, в отношении которых НЧОЦ оказывают бактериостатическое, но не бактерицидное действие [Heidary et al., 2019].

Напротив, некоторые микроорганизмы (например, Campylobacter jejuni) обладают повышенной чувствительностью к НЧОЦ, что делает их удобной моделью для изучения молекулярных механизмов антимикробного действия данных НЧ [Li et al., 2010]. НЧОЦ нарушают процессы репликации бактериальной ДНК, снижают экспрессию широкого спектра генов C. jejuni, ответственных за вирулентность, существенно изменяют экспрессию генов окислительного и общего стресса [Li et al., 2010]. Важной особенностью НЧОЦ, использованных в одном из исследований, являлась антибактериальная активность в отношении устойчивых штаммов бактерий, например, устойчивых к карбапенемам Acinetobacter baumannii (RS-307 и RS-6694) [Tiwari et al., 2018]. Для НЧОЦ показана зависимость эффективности от фазы роста бактерий. В частности, НЧОЦ эффективны против грамотрицательных и грамположительных бактерий в экспоненциальной фазе роста; однако антибактериальные свойства наночастиц значительно снижаются в лаг- и стационарной фазах [Dadi et al., 2019]. В настоящее время ведется активный поиск способов повышения антимикробного действия наночастиц. Ниже представлена таблица, иллюстрирующая характеристики НЧОЦ, обладающих антибактериальной активностью, согласно литературным данным (см. Табл. 3). Наночастицы классифицируют по способу синтеза, размеру, структуре, форме, отсутствию или наличию оболочки или ядра.

N⁰	Размер	Состав	Микроорганизм	Эфф.	Концентрация	Среда,	Метод синтеза	Ссылка
	(нм),					условия		
	форма							
1	3, сфер.	ZnO,	E. coli,	БС	0.5–1.5 М/л	ТКС,	Золь-гель метод	[Dadi et
		-OR,	P. aeruginosa,			24 ч.,		al., 2019]
		-OH	S. aureus			35 °C		
2	<50 ± 9,	ZnO	V. cholerae,	БЦ	0,78; 1,56;	ЛБ, АМХ, 48	Химический	[Siddiqu
	сфер.		E. coli,		3,125; 6,25;	ч.,		e et al.,
			C. jejuni,		12,5; 25; 50	37°С (для С.		2013]
			S. aureus		мМ.	Jejuni 42 °C)		
			(MRSA)					
3	50–70,	ZnO,	St. aureus,	БС	30 мкл/мл	TCA,	Микроволновый	[Yusof et
	сфер.	хитозан	E. coli			37 °C	нагрев с	al., 2019]
							использованием	
							хитозана в	
							качестве	
							стабилизирующег	
	10	7.0		EG	10,100		о агента	F A
4	18,	ZnO	E. Coll,	ЬС	10-100	11A, 24	Золь-гель метод	$\begin{bmatrix} Azam \\ et \end{bmatrix}$
	сфер.		St.aureus,		MKI7MJI	24 4., 25 + 2 °C		al., 2012]
			P. aeruginosa, B. subtilis			33 ± 2 C		
			D. Subillis					
5	0.2 ± 2.0	7n0	M tubaraulosis	FC	1.64 Mar/Mar	СШИ	Vuuuaaraa	[Haidam
3	9.3 ± 3.9	ZIIO	M. IUDErCUIOSIS	DC, FII	I-04 MKI/MJI	СЛИ, 24 н	лимическое	et al
				ЪЦ		24 4., 37 °C	осаждение	et al., 2019]
						57 0		2017]
6	53 33 0	7n()	S aurous	FC	1 25 0 01 MT /	AMX	Sour Feur Meton	[da_Silva
U	<i>4</i> 5 <i>2</i> 1 <i>2</i>	GPTMS-	E coli	БЦ	1,23—0,01 MI / МП	24 ч	золь-гель метод	et al
	68382	ZnO	<i>L.</i> con.	ЪЦ	14131	24 1., 37 °C		2019]
	5.3. 6.7.	2110				37 0		2017]
	cdep							
	• # • P							
7	50. сфер	ΟΓ.	E. coli.	БЦ	100 мкМ	ЛБ.	Молифицированн	[Zhong et
	(ZnO)	покрыты	S. typhimurium,			12 ч.,	ый метод	al., 2018]
	~1000	е НЧ	B. subtilis,			37 °C	Хаммерса	
	игольч.	ZnO	E. faecalis				-	
	(ОГ-		-					
	ZnO)							
8	~18,	ZnO	S. aureus,	БС,	50, 100, 200	АМХ, для	Химический с	[Elumala
	сфер		P. aeruginosa,	БЦ,	мкг/мл	грибов-	использованиемв	i &
			B. subtilis,	ΦС		декстрозный	одного экстракта	Velmuru
			P. mirabilis,			агар Сабуро,	A. Indica	gan,
			E. coli,			24 ч., 37 °С		2015]
			C. albicans,			для бактерий		
			C. tropicalis			и от 28 °С до		
						35 °С для		
						дрожжей		

Таблица 3. Основные характеристики, физико-химические и биологические параметры наночастиц ZnO, сообщаемые в литературных источниках

N⁰	Размер	Состав	Микроорганизм	Эфф.	Концентрация	Среда,	Метод синтеза	Ссылка
	(НМ), формо					условия		
9	форма 10. сфер	7n()	S aurous	БЦ	10_5187 MrM	СЛА АСМ	Химинеский	Dobruck
/	10, εφερ	LIIO	P. aeruginosa.	ЪЦ, ΦЦ	10-5107 MRIVI.	сда, аст, бульон МХ.	синтез с	a et al.
			E. coli,			бульон СД;	использованием	2018]
			C. albicans,			грибы 5 дней-	водного	_
			A. niger,			3 недели	экстракта	
			T. rubrum			34 °C;	Chelidonium	
						бактерии 18	majus	
						ч., 34 °С.		
10	22 1	7.0		FC	10 /		V	FA1 TT. 1.
10	33, cqep	ZnO	E. Coll, S. cholargasuis	БС	10 мг/мл	AMA, 48 h	ЛИМИЧЕСКОе	[Al-Hada
			B. subtilis			48 II., 37 °C	осаждение	20171
			D. Subilis			57 C		2017]
11	длина	ZnO	B. cereus,	БС,	0,01–100	TCA,	Сонохимический	[Souza et
	90-100;		S. aureus,	БЦ	мг/мл	24 ч.,	метод	al., 2019]
	диаметр		P. aeruginosa,			35 °C		
	80–90,		S. typhimurium					
	стержн.							
10	20	7.0	<u> </u>	FII	0.025.0.1			F37'
12	~30,	ZnO	C. jejuni, S. contorior	ьц	0.025–0.1	БМХ, ЛЬ, С. ізінті 24 н	I отовыи	$\begin{bmatrix} X_{10} & et \\ cl & 20111 \end{bmatrix}$
	сфер		F coli		MI / MJI	C. <i>Jejuni</i> 24 4., 42 °C S	коммерческий пролукт Inframat	al., 2011]
			1. 0011			enterica. E	Advanced	
						<i>coli</i> 16 ч.,	Materials LLC	
						37°C	(Manchester, CT)	
13	20, сфер	ZnO	S. typhimurium,	БЦ	1,33 мМ	ΠА,	Золь-гель метод	[Akbar et
			S. aureus			24 ч.,		al., 2019]
						37°C		
14	20, сфер	ZnO,	P. aeruginosa, E. francis	БС	25; 50 мкг/мл	11A, 24	Химическое	[Divya et
		ZnO+жe	E. Jaecalls,			24 4., 37 °C	осаждение	al., 2018]
		латин	C. uibicans			57 C		
15	23–26,	ZnO	K. pneumonia,	БС	62,5–100	AMX	Химическое	[Janaki et
	сфер		S. aureus,		мкг/мл		осаждение с	al., 2015]
			C. albicans,				использованием	
			P. notatum				порошкового	
							экстракта сухого	
							корня имбиря	
							(Zingiber	
16	23.7-	ZnO	S aureus	БС	0.25.05	ПА СЛА	Золь-гель метол	[Khan_et
10	88.8,		E. coli,		мг/мл	24 ч., 37 °С;	при различных	al., 2014]
	цветк		C. albicans			(C. albicans	температурах	
						при 28°С)	(25° C, 35 °C, 55	
							°C, 75°C)	

Nº	Размер (нм), форма	Состав	Микроорганизм	Эфф.	Концентрация	Среда, условия	Метод синтеза	Ссылка
17	1750– 2250, цветк; 36,71– 51,80, сфер	ZnO	E. coli	БС	0,1—0,4 г/мл	АМХ, 24 ч., 37 °С	Химическое осаждение	[Souza et al., 2019]
18	60–70	ZnO	S. aureus, P. aeruginosa, E. coli	БС	125 –1028 мкг/мл	АМХ, 18 ч., 35±1 ℃.	Химический метод с использованием водного экстракта цветков Trifolium pretense	[Dobruck a & Długasze wska, 2016]
19	ZnO ~21.05; Ag-ZnO ~30.13, cфep	ZnO, Ag, AgO,	E. coli, K. pneumonia, P. aeruginosa, S. typhi, S. aureus, Fusarium spp., R. necatrix	БС, ФС	100 мг/мл	ПА, КДА, 8–24 ч., 37 ° С.	Химический метод с использованием водного экстракта листьев <i>Cannabis sativa</i>	[Chauha n et al., 2020]
20	22, сфер	ZnO	B. subtilis , S. mutans , S. Aureus, E. coli , P. aeruginosa, K. oxytoca	БС	0,5 мг	АМХ, 24 ч., 37 °С	Золь-гель метод	[Reyes- López, 2019]
21	20–25, сфер, гексаг	ZnO	S. aureus, S. typhimurium, A, flavus, A, fumigatus	БС	20–100 мкг/мл	БМХ, бульон ЛБ, 24 ч., 37 °С	Химическое осаждение	[Navale et al., 2015]
22	200–500, сфер (ZnO), стержн (ZnO- Cu)	ZnO, a также ZnO, легир. Mn, Fe, Co, Ni, Cu.	E. coli	БС	0,5 мг/мл	ПБ, 48 ч., 37 °С	Сольвотермальны й метод	[Qi et al., 2020]
23	42–64, сфержн.	ZnO	A. hydrophila, E. coli, S. aureus, P. aeruginosa, E. faecalis, S. pyogenes, A. flavus, A. niger, C. albicans	БС	1,2–25 мкг/мл	АМХ, 24 ч., 37 °С	Биосинтез наночастиц оксида цинка с использованием воспроизводимых бактерий <i>Aeromonas</i> <i>hydrophila</i>	[Jayaseel an et al., 2012]

N⁰	Размер (шм)	Состав	Микроорганизм	Эфф.	Концентрация	Среда,	Метод синтеза	Ссылка
	(пм), форма					условия		
24	20–50, сфержн.	ZnO	S. paratyphi, E. coli.	БС	20 мкл экстракта	АМХ, 24 ч	Химический с использованием	[Raja et al., 2018]
	• • • • • • •		S. aureus		было	37 °C	водного	, _010]
					нанесено на 6		экстракта листьев	
					мм диск		Tabernaemontana	
25	800	7=0	C. gungug	ГС	25 125 xm/z		divaricata	[V.umon
25	800- 3000	ZnO	S. aureus, E. coli	БС	25—125 МГ/Л	АМА, 18–24 ч	лимическое осажление	[Kumar et al
	цветк.		<i>L. con</i>			37 °C	oeuxgenne	2013]
26	5, сфер.	ZnO,	L.monocytogenes,	БС	0,1-0,5 мг/мл	Жидк. яичн.	Золь-гель метод	[Jin et al.,
		(ZnO-	S. enteritidis,			белок, АСМ,		2009]
		PVP)	E. coli			ТСБ,		
		поливин				48 ч., 22 °С		
		илпирро лилон				22 C		
		, inden						
27	4.45 ±	ZnO	S. aureus,	БС	0,375–1,5	ТСБ,	Химическое	[Saliani
	0.37,		E. coli		мг/мл для Е.	24 ч.,	осаждение	et al.,
	сфер.				<i>coli</i> ;	37 °C		2015]
					0,09–0,375			
					мі/мл для 5. aureus			
28	3	-	S. aureus,	БС	0.5–16 мг/мл	ПБ,	Сонохимический	[Zarrindo
			E. coli			24 ч.,	метод	kht,
	• 10			20		37°C		2012]
29	~ 249, Sectory	ZnO	E. coli	БС	0.1,0.25 г/л	ЛБ, 8-16-и	Использовали	[Zhang et $_{2}$] 2010]
	оесформ					37 °C	коммерческий	al., 2010]
	•					0, 0	продукт от	
							Nanophase	
							Technologies and	
							Nanostructured &	
							Amorphous Materials	
30	~ 20,	Zno, Ag	E. coli,	БС	20-70 мкг/мл	ПА, бульон	Химический с	[Zare et
	сфер.		S. aureus			ЛБ,	применением	al., 2019]
						24 ч.,	экстракта листьев	
						37 °C	Thymus vulgaris	
31	~ 124.6	ZnO	S aureus	БС	20-100	AMX	Химический с	[Senthilk
01	сфер.	Liio	B. subtilis,	БС	мкг/мл	24 ч.,	применением	umar et
			E. coli,			37 °C	водного	al., 2017]
			S. paratyphi				экстракта листьев	
							Tectona grandis	
22	7n0.242	7n0 E-	E col: D	ГII	15 25	ANAV	(L.)	[A interest
32	ZnO 243; ZnO-Fe	ZnO, Fe	L. COII, D.	ΔЦ	13-23 МКЛ	АМА, 24 ч	лимическии	[Aiswary a Devi et
	197.		Sujensis			24 ч., 37 °C	применением	al., 2017]
	стержн.						экстракта	, . . ,1

№	Размер	Состав	Микроорганизм	Эфф.	Концентрация	Среда,	Метод синтеза	Ссылка
	(нм), форма					условия		
							Amaranthus spinosus в качестве восстановителя	
33	20–30, стержн., цветков., сфер.	ZnO	E. coli, S. aureus	БС	0.625-10 мг/мл	ПБ, 24 ч., 37 °С	Сольвотермальны й метод	[Zare et al., 2018]
34	4, 10, 30, сфер.	ZnO	E. coli, S. aureus	БС	12.5-1000 мкг/мл	бульон ЛБ, НА, 24 ч., 37 °С	Сольвотермальны й метод	[Bai et al., 2015]
35	70, сфер., стержн.	ZnO	E. coli	БС	0–12 мМ/л ⁻¹	ТСА, 12 ч., 37 °С	Использовали готовый коммерческий материал от Alfa Aesar (Ward Hill, MA, USA)	[Liu & He]
36	HЧ-ZnO 13.79; ZnO-Mn (5%Mn) 16.72; ZnO-Mn (10%Mn) 17.43, семяпод обн.	ZnO, Mn	E. coli, K. pneumoniae, S. dysenteriae, S. typhi, P. aeruginosa, B. subtilis, S. aureus	БС	50—250 мкг/мл	АМХ, 24 ч., 37 °С	Метод химического осаждения	[Rekha et al., 2010]
37	3–25, игольч.	ZnO	B. subtilis, E. coli, C. albicans	БС	0,5 мг/мл	ПА, 24 ч., 37 °С	Золь-гель метод	[Khan et al., 2016]
38	5, гексаг, пирамид	ZnO	S. epidermidis, B. subtilis, K. pneumoniae, P. aeruginosa	БС	10 мкг/мл	ПА, 24 ч., 37 °С	Биогенный синтез НЧ-ZnO, с использованием водного экстракта каллуса и цельного растения Isodon rugosus, полученного in vitro	[Siddiqu ah et al., 2018]

№	Размер	Состав	Микроорганизм	Эфф.	Концентрация	Среда,	Метод синтеза	Ссылка
	(нм), форма					условия		
39	~28, сфер.	ZnO	K. aerogenes, E. coli, P. desmolyticum, S. aureus	БС	200,400мкг/л унку 100 мкг/лиск	ПА, 36 ч., 37 °С	Биогенный синтез с использованием водного экстракта стеблей <i>Ruta graveolens</i> в качестве восстановителя	[Lingaraj u et al., 2015]
	гексаг.	LIIO	Proteus sp., Acinetobacter sp, P. aerogenosa, E. coli	БС	20 мкг/мл	24 ч., 37 °C	использованием экстракта листьев Ficus carica	Sajjad, 2017]
41	14, сфер.	ZnO	M. luteus, S. aureus, S. pneumoniae, E. coli, P. aeruginosa	БС	70–150 мкг/мл	АМХ, 24 ч., 37 °С	Синтез с использованием экстракта корня Rubia Cordifolia	[Prachi et al., 2017]
42	~1000, цветк.	НЧ Ад и TiO ₂ на поверхн ости НЧ ZnO	E. coli	БС	0,4 г/л	ЛБ, 24 ч., 37 °С	Гидротермальный синтез	[Pant et al., 2013]
43	164 ± 2, сфер.	альгинат натрия/ поли винилов ый спирт, содержа щие НЧ ZnO	S. aureus, E. coli	БС	SA/PVA с различными концентрация ми наночастиц ZnO (0,5, 1, 2 и 5%)	бульон ЛБ, ПА, 24 ч., 37 °С	Золь-гель метод	[Shalum on et al., 2011]
44	20,99– 32,24, гексаг.	ZnO, ZnO+ Fe (1-17%)	E. coli, P. aeruginosa	БС	1—8 мг/мл	ПА, 24 ч., 30 °С	Золь-гель метод	[Kayani et al., 2018]
45	2–28, сфер.	ZnO	Psedomanas sp., Fusarium sp.	БС, ФС	10 ⁻¹ M	ПА, 24 ч., 37 °С	Химический метод, включая использование ПАВ	[Sharma et al., 2010]
46	60–80, сфер.	ZnO в полимер	E. coli, S. aureus.	БС	-	24 ч., 37 °С	Одностадийный плазменный синтез	[Al- Jumaili et al., 2019]

№	Размер	Состав	Микроорганизм	Эфф.	Концентрация	Среда,	Метод синтеза	Ссылка
	(НМ), фаруа					условия		
	форма	ной						
		нои						
47	>100	среде ZnO	E coli	FC	8 55 xm/ 100	ПЕ	Vuuuuooroo	[Dutta_at
4/	~100,	Z_{nO}	E. COII	DC, EII	8-33 MI7 100	ЛВ, 12 н	лимическое	$\begin{bmatrix} Duita & et \\ al & 20121 \end{bmatrix}$
	сфер.			ЪЦ	MJI	12 4., 27 °C	осаждение	al., 2012]
		покрыты ж				37 C		
		И						
		еролом						
48	800 +	HU ZnO	E coli	БC	8 mp/mit p	ΠΔ	Метол "пар-	[A iswary
40	200 ± 200		E. con, S aureus	DC	ЛМСО	24 u	жилкость-тверлое	a Devi et
	игольч	молифик	S. un cus		50мкп	21 1., 37 °C	тело" с	al 2017]
	111 0.112 1.	анинй			раствора на	57 0	последующей	un, 2017]
		поверхн			лунку		молификацией	
		ости					поверхности	
							путем	
							отжига в	
							аргоновой среде	
49	40-	ZnO,	E. coli,	БС	1 мкМ ⁻⁷ мМ	ЛБ,	Мокрый	[Zare et
	1200,	ZnO+	S. aureus			24 ч.,	химический	al., 2018]
	сфер.	полиэти				37 °C	синтез	-
		ленглик						
		оль,						
		ZnO+						
		крахмал.						
50	10–60,	ZnO	A. baumannii	БС	1–50 мМ	Бульон ЛБ,	Золь-гель синтез	[Tiwari
	сфер				(ЛД50 2мМ)	12 ч.,	с	et al.,
						37 °C	использованием	2018]
							водного	
							экстракта	
							листьев Calotropi	
							s procera	

Эфф. – эффект, БС – бактериостатический эффект, БЦ – бактерицидный эффект, ФС – фунгистатический эффект, ФЦ – фунгицидный эффект, АСМ – агар с сердечно-мозговым экстрактом, АМХ – агар Мюллера-Хинтона, БМХ – бульон Мюллера-Хинтона, ТСА – триптон-соевый агар, ТСБ – триптон-соевый бульон, ПА – питательный агар, ПБ – питательный бульон, ТКС – триптон-казеин-соевый бульон, СЛИ – среда Левенштейна-Йенсена, СДА – агар Сабуро с декстрозой, КДА – картофельно-декстрозный агар, КДС – картофельно-декстрозная среда, ДЭПД – дрожжевой экстракт пептон декстроза, ЛБ – среда Лурия-Бертани, БМХ – бульон Мюллера-Хинтона

Методы повышения антибактериальной активности НЧ оксида цинка

Рассмотрим предлагаемые авторами исследований способы повышения антибактериальных свойств НЧОЦ. Первый способ повышения антибактериальных свойств НЧОЦ заключается в использовании комбинации различных соединений металлов [Dadi et al., 2019] [Al-Hada et al., 2017]. Например, CuO и ZnO обладают сравнимой эффективностью против грамотрицательных *E. coli* и грамположительных *S. aureus* в экспоненциальной фазе роста.

НЧОЦ были практически неактивны в лаг- и стационарной фазах, в то время как наночастицы CuO сохраняли значительную активность [Dadi et al., 2019]. Наночастицы Ag и ZnO в различных соотношениях ингибировали рост устойчивых к антибиотикам штаммов Mycobacterium tuberculesis, но не приводили к гибели бактерий [Heidary et al., 2019]. Совместное использование НЧ ZrO2 и НЧ ZnO оказывало выраженное антимикробное действие, в отличие от наночастиц ZrO₂, однако антимикробный эффект наночастиц ZrO₂/ZnO не превышал эффект от использования только наночастиц ZnO [Reyes-López, 2019]. Однако комбинации НЧ оксидов металлов не всегда дают синергетический эффект. В частности, нанокомпозиты CdO-ZnO обладали антимикробным действием, сравнимым с действием НЧ CdO [Al-Hada et al., 2017]. Легирование НЧ ZnO ионами железа позволяло достичь значительного антибактериального эффекта в отношении E. coli и P. aeruginosa [Kayani et al., 2018]. НЧ TiO₂/ZnO обладали более выраженным бактерицидным действием в отношении *E. coli*, по сравнению с HY ZnO. Также, HY Ag/TiO₂/ZnO были более эффективны, чем HЧ TiO₂/ZnO [Pant et al., 2013]. По сравнению с HЧ ZnO, нанокомпозиты ZnO-Mn обладали более высокой антимикробной активностью в отношении K. pneumoniae, Shigella dysenteriae, S. enterica Typhimurium, P. aeruginosa и других видов бактерий [Rekha et al., 2010].

Второй способ повышения антимикробной эффективности заключается в использовании комбинаций НЧ ZnO и углеродных наночастиц, в частности, веретенообразных наночастиц оксида графена (OГ) [Bai et al., 2015; Liu & He; Rekha et al., 2010]. Показано, что НЧ OГ-ZnO эффективно ингибируют рост грамотрицательных (*E. coli, S. typhimurium*) и грамположительных (*Bacillus subtilis, Enterococcus faecalis*) бактерий [Liu & He]. При этом антибактериальная эффективность смеси НЧ OГ-ZnO оказалась почти вдвое выше, чем у НЧ ZnO, и почти в четыре раза выше, чем у НЧ ОГ [Zhong et al., 2018].

Третий метод – покрытие НЧ ZnO модифицирующими агентами. Покрытые НЧ ZnO желатином показало более выраженное ингибирование роста грамотрицательных бактерий, по сравнению с грамположительными бактериями [Divya et al., 2018]. Покрытые желатином НЧ ZnO способствовало подавлению образования биопленки *C. albicans* (дополнительный фактор устойчивости) [Divya et al., 2018]. Данные наночастицы также ингибировали ангиогенез у куриных эмбрионов, что делало их кандидатами для разработки препаратов, предотвращающих нежелательный ангиогенез [Divya et al., 2018]. Химическая модификация поверхности НЧОЦ с помощью (3-глицидилоксипропил)триметоксисилана (ГПТМС) и уменьшение размера до 5 нм приводили к повышению антимикробной эффективности наночастиц в отношении *S. aureus* [da Silva et al., 2019]. Обработка полистиролом усиливала бактериостатический эффект НЧ ZnO в отношении *E. coli* и *Listeria monocytogenes*; при этом НЧ ZnO без покрытия не оказывали бактериостатического действия в отношении *L. monocytogenes* [Jin et al., 2009]. Модификация НЧ

ZnO ПЭГ или крахмалом также способствовала изменению свойств синтезированных НЧ [Nair et al., 2009]. Модификация ПЭГ усиливала бактериостатическое действие НЧ ZnO в отношении E. coli и S. aureus; при этом эффективность в отношении грамотрицательных бактерий была выше. ПЭГ усиливал цитотоксичность НЧ ZnO в отношении линии раковых клеток MG-63 за счет индукции апоптоза. Модификация крахмалом позволила сохранить антибактериальные снизить цитотоксичность, по ZnO свойства НЧ И сравнению с модификацией полиэтиленгликолем [Nair et al., 2009]. Обработка тиоглицерином, вопреки ожиданиям, не повышала бактериостатическую и бактерицидную активность НЧ ZnO [Dutta et al., 2012]. Полимерные пленки ИЗ альгината натрия/поливинилового спирта приобрели бактериостатические свойства после включения НЧ ZnO, что может быть использовано при разработке прочных материалов, обладающих антибактериальным потенциалом [Shalumon et al., 20111.

Четвертый способ — модификация метода синтеза, приводящая к изменению геометрических характеристик НЧ. НЧ ZnO, синтезированные сонохимическим методом, обладали более выраженными ингибирующими свойствами в отношении Bacillus cereus, S. aureus, S. Typhimurium и Pseudomonas aeruginosa, чем НЧ ZnO, синтезированные классическими физико-химическими методами [Souza et al., 2019]. Наночастицы, синтезированные при сравнительно низких температурах, имели форму цветка и обладали сопоставимой противомикробной активностью в отношении грамположительных (*S*. aureus) И грамотрицательных (E. coli) бактерий и, в меньшей степени, грибов (C. albicans) [Khan et al., 2014]. При сравнении активности фотокаталитической генерации АФК и высвобождения Zn²⁺ наночастицами ZnO, имеющими форму цветка, наблюдалась более выраженная антимикробная активность в отношении E. coli, по сравнению с НЧ ZnO гексагональной формы [Mesaros et al., 2019].

Антибактериальные свойства НЧ могут зависеть от их размера [Yousefi et al., 2017]; [Kavitha et al., 2012; Leung et al., 2012]. Для некоторых НЧ наибольшая антибактериальная активность достигается при наименьшем размере [Zhang et al., 2010]; [Bai et al., 2015; Zare et al., 2018], однако, на основе сообщаемых в литературных источниках данных четкой зависимости антибактериальной эффективности от размера используемых НЧ ZnO выявлено не было. Анализ литературы позволял констатировать, что наиболее высокая потенциальная антимикробная эффективность наночастиц как в отношении *E. coli*, так и в отношении *S. aureus* наблюдается при размере наночастиц около 100 нм (рис. 4). Следует отметить, что «зеленая химия» не всегда приводит к синтезу эффективных НЧ. Например, в исследованиях на *S. aureus* только два типа НЧОЦ из шести (33%) обладали антибактериальной активностью на уровне выше среднего. В исследованиях на *E. coli* только один из пяти (20%) видов НЧОЦ, полученных с помощью «зеленого синтеза», проявлял антибактериальную активность на уровне выше среднего. Поэтому можно предположить, что НЧОЦ, синтезируемые при помощи «зеленой химии», все еще обладают недостаточной эффективностью.



Рисунок 4. Зависимость минимальных ингибирующих концентраций от размера НЧОЦ, а также зависимость средних размеров зон ингибирования от размера НЧОЦ в отношении грамотрицательных бактерий на примере *E. coli* (A, Б) и грамположительных бактерий на примере *S. aureus* (B, Г), сообщаемые в литературе. Серые точки — образцы, синтезированные методами без использования «зеленого синтеза», зеленые точки — образцы, полученные с использованием «зеленого синтеза»

Как видно из рис. 4 Б,Г наблюдается достаточно высокий разброс эффективности НЧ в области малых размеров наночастиц (1–50 нм). Поэтому была рассмотрена зависимость минимальной ингибирующей концентрации (МИК) от размеров синтезированных НЧОЦ (рис. 4 А,В). Обнаружено, что использование наночастиц размером до 10 нм неэффективно. Обычно при таких средних размерах НЧ распределение наночастиц по размерам достаточно сложное и не всегда узкое. По-видимому, этим объясняется высокая дисперсия антибактериальной активности при малых размерах наночастиц.

НЧ ZnO в форме цветка могут достигать больших размеров (до 3 мкм) и демонстрировать противомикробную активность как в отношении грамположительных (*S. aureus*), так и грамотрицательных (*E. coli*) бактерий [Kumar et al., 2013]. Для сферических HЧ ZnO антимикробная активность практически не зависит от типа организма-мишени. Гексагональные HЧ ZnO обладают более высокой бактерицидной активностью в отношении устойчивых к антибиотикам штаммов *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, по сравнению с

НЧ ZnO треугольной формы [Siddiquah et al., 2018]. НЧ ZnO в виде шипов вызывают значительное замедление роста колоний *B. subtilis, E. coli* и *C. albicans*; демонстрируют антибактериальную и противогрибковую активность [Khan et al., 2016].

Пятый способ — модификация физико-химическими методами, например, отжигом в среде Ar при высоких температурах или плазменным оксидированием. При этом эффекты модификации могут быть различными: отжиг Ar снижает антибактериальную активность НЧОЦ, а плазменное окисление улучшает антибактериальные свойства НЧОЦ в отношении *E. coli* и *S. aureus* [Mehmood et al., 2015].

Шестой метод — использование добавок, вызывающих фотокатализ активных форм кислорода (АФК). Эта модификация позволяет значительно повысить антибактериальные свойства НЧОЦ [Chauhan et al., 2020; Saha et al., 2020].

Седьмой метод — это так называемый «зеленый синтез» [Nagajyothi et al., 2013; Paulpandi et al., 2013]. НЧ ZnO, полученные в результате «зеленого синтеза», обладают антимикробной активностью в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также некоторых грибов рода *Candida* [Elumalai & Velmurugan, 2015]. В свою очередь, наночастицы, синтезированные с использованием экстракта *Tabernaemontana divaricata*, продемонстрировали антибактериальную активность в отношении *S. aureus*, *E. coli* и более низкую активность в отношении *S. enterica Paratyphi* [Raja et al., 2018].

Восьмой метод — это изменение условий окружающей среды. При кислых значениях pH HЧ ZnO проявляли более высокое бактериостатическое действие в отношении *S. aureus* и *E. coli*, чем при нейтральном значении pH [Saliani et al., 2015].

Наиболее перспективным подходом может быть сочетание описанных выше подходов, например, использование наночастиц Ag-ZnO, синтезированных в экстракте *Cannabis sativa*. Данные нанокомпозиты обладали фотокаталитической активностью и проявляли значительную антибактериальную и противогрибковую активность [Chauhan et al., 2020].

В целом. НЧОЦ обладают значительным антибактериальным потенциалом. Использование различных методов синтеза, химической модификации, а также совместное использование с другими наноматериалами влияет на физические и морфологические характеристики НЧ, что, в свою очередь, приводит к изменению их антибактериальных свойств. В результате, НЧ на основе ZnO находят все более широкое применение не только в наноэлектронике и оптике, но и в таких областях промышленности, как косметика, пищевая промышленность, фармацевтика, бытовая химия и др. Применение данных НЧ представляет большой интерес как для создания упаковки и материалов, как препятствующих росту микроорганизмов и порчу продуктов питания, так и для создания антибактериальных медицинских перевязочных материалов.

1.5. Антибактериальные свойства НЧ оксида алюминия

Природа алюминия

Алюминий — самый распространенный металл в составе земной коры (~8%) и третий по распространенности элемент в составе литосферы. Как известно, алюминий не принимает участия в биологических процессах. И хотя все современные живые организмы содержат некоторое количество алюминия, научных доказательств факта задействования алюминия в нормальных биохимических процессах организмов отсутствуют. Также, отсутствуют какие-либо доказательства роли алюминия в биохимических процессах организмов в ходе эволюции. Таким образом, отсутствие биологической роли алюминия на фоне высокой распространенности этого металла остается своего рода «биохимической загадкой» [Trivedi et al.].

Алюминий является активным амфотерным металлом и в обычных условиях образует на поверхности оксидную пленку белого цвета. Наиболее известными фазовыми модификациями оксида алюминия являются α-, β- и γ-Al₂O₃. В природе встречается преимущественно α-модификация оксида алюминия. α-Al₂O₃, также известная как глинозем, который вместе с диоксидом кремния составляет основу глинообразующих минералов. Чистый α-Al₂O₃ встречается в виде минерала корунд и его редких разновидностей (рубин, сапфир и т. д.). α-Al₂O₃ применяют в качестве абразивного материала, сырья для получения чистого алюминия, а также для производства огнеупорного материала ввиду его высокой температуры плавления. Кристаллы из разновидностей корунда являются рабочими телами лазеров, из рубинов изготавливают камни для точных механизмов. Данная фаза является единственной термодинамически стабильной формой Al₂O₃.

При термообработке гидроксидов алюминия при температуре около 400 °C получают γформу оксида алюминия. γ-Al₂O₃ применяют в качестве носителя катализаторов и осушителя в процессах химических и нефтехимических производств. Нагрев до 1100—1200 °C способствует необратимому превращению γ-модификации в α-Al₂O₃ [Paglia, 2004]. β-оксид алюминия имеет гексагональную кристаллическую решетку. β-Al₂O₃ не является истинным оксидом алюминия, а представляет собой смесь алюминатов щелочных и щелочноземельных металлов с высоким содержанием оксида алюминия. При 1600—1700 °C β-модификация разлагается на α-Al₂O₃ и оксид соответствующего металла, который выделяется в виде пара. Существует также аморфный алюминия оксид — алюмогель, образующийся при обезвоживании гелеобразного Al(OH)₃ и представляющий собой пористое, иногда прозрачное вещество. Алюмогель широко применяется в качестве адсорбента как в технике, так и в медицине. Наночастицы α - и γ -Al₂O₃ (HUOA) благодаря своим уникальным свойствам, таким как высокая механическая прочность, большая площадь поверхности относительно объема, высокая твердость и хорошая химическая стабильность, сегодня находит всё больше применений в различных областях, [Jiao et al., 2012; Manikandan et al., 2019]. В частности, предлагается использование НЧОА в качестве катализаторов [Nasrollahzadeh et al., 2019], абсорбентов [Ezati et al., 2021], добавки к строительным смесям [Saliani et al., 2021], трибологических добавок для смазывающих жидкостей [Luo et al., 2014], сырья для создания керамики [Kalneus et al., 2021], в косметической и текстильной промышленностях [Wu et al., 2022], а также в микроэлектронике [Devendiran et al., 2022]. Возможность применения НЧОА в биомедицинских целях [Hassanpour et al., 2018; Zahra & Tammemi, 2021], в частности, в качестве антибактериального агента представляет большой интерес, однако в настоящее время имеется очень мало данных о механизмах воздействия данных наночастиц на рост и развитие микроорганизмов.

В данном параграфе мы сфокусируемся на литературных данных об антибактериальных свойствах НЧОА, обсудим основные пути синтеза данных НЧ, а также возможные решения для увеличения их антибактериальной активности, проведем анализ накопленных к настоящему времени результатов исследований, посвященных воздействию НЧОА на микробиологические объекты.

Пути синтеза и возможные способы улучшения свойств НЧ оксида алюминия

Применяют различные подходы для синтеза НЧОА, включающие как методы снизу-вверх, так и сверху-вниз. К основным наиболее часто применяемым нисходящим методам относятся лазерная абляция [Astashev et al., 2022; Jwad et al., 2019], и измельчение шаровой мельницей [Geoprincy et al., 2012]. Другие методы (восходящие) включают золь-гель синтез [Mohamad et al., 2019], метод микроэмульсии [Francis et al., 2011], микроволновая обработка [Manikandan et al., 2019; Suryavanshi et al., 2017; Sutradhar et al., 2013], сольвотермальный синтез [Chu et al., 2019], горение [Prashanth et al., 2015]. Лазерная абляция — широко используемый методом производства НЧ, позволяющий проводить синтез в различных средах: в пустоте, жидкости и газе [Nastulyavichus et al., 2018]. Преимуществами данного метода являются высокая скорость процесса синтеза, чистота синтезируемого продукта, а также возможность контролировать характеристики получаемых наноматериалов [Jwad et al., 2019].

Метод химического осаждения [Ramakrishnan & Rajakarthihan, 2020] и микроволновой нагрев [Ansari et al., 2015; Manikandan et al., 2019] также широко применяются для синтеза НЧОА. Метод химического осаждения является простым и экономичным методом, не требующим высокотехнологичного оборудования [Arunarajeswari et al., 2022]. Отдельное внимание уделяется

использованию "зеленых путей синтеза" НЧОА, включающий применение растительных экстрактов в ходе химического синтеза НЧОА, как правило, в качестве восстанавливающего агента. В частности, отмечалось успешное использование экстрактов *Prunus* × *yedoensis* [Manikandan et al., 2019], *L. majucula* [Manogar et al., 2022], *Colletotrichum sp.* [Suryavanshi et al., 2017], *Urtica dioica* [Devi et al., 2021], *Cymbopogon citratus* [Ansari et al., 2015; Jalal et al., 2016] при синтезе НЧОА. Однако использование растительных экстрактов при синтезе НЧОА не приводило к усилению антибактериального эффекта (см. рис. 5).

В нескольких работах сообщалось о высокой эффективности нанокомпозитных материалов с наночастицами других металлов и оксидов металлов, а также с использованием полимеров, содержащих НЧОА в составе. Например, Al₂O₃–Ag нанокомпозит проявлял бактериостатическую активность как в отношении *E. coli*, так и против *S. epidermidis*, при этом эффекта при использовании чистых НЧОА в отношении E. *coli* не наблюдалось [Bala et al., 2011].

Использование биоразлагаемых полимеров, таких как полилактид (ПЛА), полигликолид (ПГА), их сополимер (ПЛГА), альгиновая кислота, желатин, и др., совместно с НЧОА, является многообещающим подходом для увеличения как биосовместимости, так и антибактериальных свойств материалов. В ряде работ было рассмотрена модификация НЧОА хитозаном, что позволяло усилить антибактериальные свойства рассматриваемых наноматериалов [Abdel-Naby et al., 2021; El Nahrawy et al., 2019; Khajeh Mehrizi et al., 2016]. Также, Yakumi et al., [Yakdoumi & Hadj-Hamou, 2020] были сконструированы композиты на основе ПЛА, содержащие HЧ Al₂O₃ и TiO₂ в качестве наполнителя (PLA/Al₂O₃ и PLA/TiO₂ -Al₂O₃). Полученные композитные материалов способствовало усилению их бактериостатических свойств. Отмечалось более высокая эффективность ингибирования роста рассматриваемых тест-бактерий при использовании ПЛА/TiO₂ -Al₂O₃, по сравнению с ПЛА/Al₂O₃. Таким образом, рассмотренные методы модификации НЧОА позволяют усиливать антимикробный потенциал данных наночастиц путем создания композитных материалов как с помощью добавления наночастиц с высокой бактерицидной активностью, так и использование полимериы.



Рисунок 5. Зависимость средних размеров зон ингибирования от размера НЧОА, сообщаемые в литературе для *S. aureus*. Зеленые точки- НЧ, синтезированные с применением растительных экстрактов. Оранжевые точки- НЧ, модифицированные хитозаном

НЧОА получают в виде трёх основных форм: сферическая, стержнеобразная и хлопьевидная. На основе найденных литературных данных было установлено, что синтезированные НЧОА имеют преимущественно сферическую морфологию (n=21). Также в трёх проанализированных работах были получены стержневидные НЧОА и только в 1 работе исследовались антибактериальные свойства хлопьевидных наночастиц. Мы сравнили антибактериальный эффект двух морфологических разновидностей НЧОА (сферической и стержнеобразной), сообщаемый в литературных источниках, однако статистически значимой разницы выявлено не было (рис.6).



Рисунок 6. Сравнение антибактериальной активности НЧОА сферической и стержнеобразной морфологии на основе данных, сообщаемых в литературных источниках, *— *p* <0,05, *U* - критерий Манна– Уитни

Особенности активности НЧ оксида алюминия в отношении бактериальных клеток

НЧОА оказывают значительный эффект на рост и развитие бактериальных культур, как правило, при высоких концентрациях (≥1000 мкг/мл) (см. Табл. 3). В основном, воздействие

характеризуется замедлением скорости деления *in vitro*, увеличением размера зон ингибирования, т.е оказывается бактериостатический эффект. НЧОА не проявляли значительной токсичности в отношении распространенных почвенных бактерий Bacillus cereus и Pseudomonas et al., 2014]. В нескольких работах сообщалось об stutzeri Fajardo умеренном бактериостатическом эффекте НЧОА концентрацией 1 мг/мл и размером около 180 нм в отношении E. coli [Ansari et al., 2014; Sadiq et al., 2009]. Отмечалось снижение скорости роста бактериальных культур *P. putida* на 40% при добавлении НЧОА, по сравнению аппликацией ненаноразмерного Al₂O₃ [Doskocz et al., 2017]. Важно также отметить сообщаемый в ряде исследований ингибирующий эффект в отношении полирезистентных грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также клинических штаммов. В частности, было продемонстрировано снижение скорости роста трёх штаммов S. aureus (ATCC 25923, MSSA и MRSA) ~ в 8 раз при добавлении 1000 мкг/мл НЧОА, а также ~ в 16 раз при добавлении 2000 мкг/мл НЧОА через 16 часов после воздействия [Ansari et al., 2013]. Также, для полирезистентных клинических изолятов *P. aeruginosa* сообщалось ингибирующее и бактерицидное действие НЧОА. Были определены диапазоны МИК и МБК, которые и составляли 1600-3200 мкг/мл и 3200-6400 мкг/мл, соответственно [Ansari et al., 2015]. В другой работе данных авторов также рассматривалось влияние НЧОА на рост полирезистентных клинических изолятов E. coli. Диапазоны МИК и МБК соответствовали сообщаемым для *P. aeruginosa* [Ansari et al., 2014]. Для полирезистентных штаммов A. baumanii также было выявлено ингибирующее действие НЧОА в умеренных концентрациях и бактерицидное действие при высоких. Диапазон МИК и МБК лежал в пределах от 125 до 1000 мкг/мл [Muzammil et al., 2020].

Фазовый состав НЧОА может являться важным фактором, определяющим антибактериальные свойства данных наноматериалов. Pakrashi et al., была продемонстрирована более высокая антибактериальная активность γ -фазы оксида алюминия по сравнению с α -Al₂O₃ после 2-х часового воздействия в отношении *Bacillus licheniformis* [Pakrashi et al., 2014], что проявлялось в более высоком содержании АФК после экспозиции с γ -Al₂O₃ (2,6 ± 0,02 %), по сравнению с α -Al₂O₃ (0,6 ± 0,003 %) при воздействии 5 мкг/мл НЧОА. Снижение образования АФК при воздействии НЧ α -Al₂O₃ хорошо коррелировало с данными о более низкой цитотоксичности данных наночастиц.

Основными механизмами реализации бактериостатического эффекта НЧОА является электростатическое взаимодействие данных наночастиц с наружной мембраной/клеточной стенкой бактерий, а также формирование Al³⁺, инициирующих образование АФК, окисляющих биополимеры. Подробное описание каждого из перечисленных механизмов содержится в разделе 1.2. «Антибактериальная активность и механизмы антибактериального действия НЧ металлов и оксидов металлов».

Таблица 4. Результаты воздействия наночастиц оксида алюминия на рост и развитие микроорганизмов, сообщаемые в литературе

№	Метод синтеза	Состав НЧ	Размер (нм), форма	Концент рация	Среда, условия	Микроорганизм	Эфф.	Ссылка
1	Микроволновой синтез с использованием экстракта листьев <i>Prunus</i> × yedoensis в качестве восстановителя	Al ₂ O _{3,} различн. pH	50– 100, сфер, гекс	50, 75, 100 мкг/мл	ПА, 24 ч., 37 °С,	S. aureus, E. coli	БС	[Manikandan et al., 2019]
2	Готовый коммерческий продукт Sigma Aldrich	Al ₂ O ₃	<50, сфер	3, 6, 12, 24, 48, 96, 192 мг/л	-	Scenedesmus sp., Chlorella sp.	AC	[Sadiq et al., 2011]
3	Химическое осаждение с использованием экстракта водорослей <i>L.majucula</i>	Al ₂ O ₃	36.42, сфер	-	24–48 ч., 30±2 ∘С, для бактерий 72–96 ч., 37± 2 ∘С для грибов	S. aureus, B. subtilis, K. pneumoniae, S. paratyphi, C. albicans, A. flavus	БС, ФС	[Manogar et al., 2022]
4	Микроволновой нагрев с использованием экстракта гриба <i>Colletotrichum sp.</i>	Al ₂ O ₃	39± 35, сфер	МИК: 400 ± 1.08 мг/мл для S. typhi; 300 ± 2.36 мг/мл для C. violaceu m; 1000 ± 1.1 мг/мл для L. monocyto genes; 250 ± 0.65 мг/мл для A. flavus; 150 ± 2.77 мг/мл для F. oxysporu m	АМХ, АСМ, 24 ч., 37 °С	S. typhi, F. oxysporum, A. flavus, C. violaceum, L.monocytogenes	БС	[Suryavanshi et al., 2017]
5	Готовый коммерческий	Al ₂ O ₃	~179	10-1000 мкг/л	ЛБ, 30°С	E. coli	БС	[Sadiq et al., 2009]

	продукт Aldrich (St. Louis, Missouri; CAS Number 1344-28- 1)							
6	Готовый коммерческий продукт Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)	Пленки хитозана с Al ₂ O ₃ -HЧ	<50, сфер	0.05, 0.1 г/мл	БМХ, 24 ч., 37 °С	S. aureus, P. aeruginosa, S. epidermidis,	БС	[Abdel-Naby et al., 2021]
7	Метод микроэмульсии	Al ₂ O ₃	30-60	МИК:10 мкг/мл	-	S.typhi, V.cholerae, K.pneumoniae	БС	[Francis et al., 2011]
8	Готовый коммерческий продукт (Sigma- Aldrich)	Al ₂ O ₃	<50, сфер	0.5 мг/л	26 °С, 16 ч.	P. putida	-	[Doskocz et al., 2017]
9	Готовый коммерческий продукт Sigma Aldrich (MERCK, Darmstadt, Germany)	Al ₂ O ₃	<100, стержн.	100 мкг/мл	ТСБ, 24 ч., 37 °С	E. coli, S. aureus, P. aeruginosa, C. albicans	БС	[Sikora et al., 2018]
10	Готовый коммерческий продукт Sigma Aldrich (St. Louis, MO; CAS Number 1344-28- 1)	Al ₂ O ₃	9 - 182, сфер	250, 500, 1000, 2,000 мкг/мл	ЛБ, 16 ч., 37 °С	Полирезистентн ые штаммы <i>S. aureus</i> (MRSA, MSSA, MRCoNS)	БС	[Ansari et al., 2013]
				1,700– 3,400 мг/мл				
11	Метод соосаждения	Al ₂ O ₃	35, непр. сфер	10, 20, 30, 40, 50 мг/мл	НА, АСМ, 24 ч., 37 °С	S. aureus, S. mutans, E. coli, P. vulgaris	БС	[Manyasree et al., 2018]
				МИК: 4 мг/мл для <i>E. coli</i> ; 8 мг/мл для <i>P.</i> vulgaris; 6 мг/мл для <i>S.</i> <i>mutans</i> , 4 мг/мл для <i>S.</i> <i>aureus</i>				

12	Готовый коммерческий продукт (HiMedia Laboratories, India)	Al ₂ O ₃	13.5± 2.3, сфер	0.25, 0.5, 1 мг/л	ПА, ПБ, 24 ч.	P. aeruginosa, B. altitudinis	БС	[Bhuvanesh wari et al., 2016]
13	Готовый коммерческий продукт Shenzhen Crystal Material Chemical Co., Ltd (Shenzhen, China)	Al ₂ O ₃	40	0.05–2.0 г/л	30 °С, 24 ч.	B. subtilis	БС	[Mu et al., 2015]
14	Метод горения	α-Al ₂ O ₃	5–30, хлопь евидн	5, 500 мг/50 мл; 1000 мг/150 мл	37∘С, 36 ч.	K. aerogenes, E. coli, P. desmolyticum, S. aureus	БС	[Prashanth et al., 2015]
15	Микроволновой синтез с использованием экстрактов листьев <i>Cymbopogon</i> citratus	Al ₂ O ₃	(9- 180) 34,5, сфер	1600- 3200 мкг/мл	АМХ, 24 ч., 37 ∘С	мультирезист. P. aeruginosa	БЦ	[Ansari et al., 2015]
16	Готовый коммерческий продукт: γ- Al ₂ O ₃ Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA); α-Al ₂ O ₃ Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd.	α-Al ₂ O ₃ ; γ- Al ₂ O ₃	20–30 (α- Al ₂ O ₃); 13 (γ- Al ₂ O ₃)	0.05, 0.5, 1, 5 мкг/мл	25 °С, 30 мин	B. licheniformis	БС	[Pakrashi et al., 2014]
17	Готовый коммерческий продукт: гамма- Al ₂ O ₃ Sigma- Aldrich (St. Louis, MO, USA)	Al ₂ O ₃	51 ± 8	1,5,10 г/л	ЛБ, 48 ч., 30 °С для В. <i>cereus;</i> 37 °С для Р. <i>stutzeri</i>	B. cereus, P. stutzeri	-	[Fajardo et al., 2014]

18	"Зеленый метод" с использованием экстракта листьев <i>Cymbopogon</i> <i>citratus</i>	Al ₂ O ₃	34.5, сфер	0-1500 мкг/мл 250–500 мкг/мл для <i>Candida</i> <i>spp;</i>	48 ч., 28 °С	 C. albicans, C. parapsilosis, C. tropicalis, C. glabrata; устойчивый к флуконазолу C. albicans, C. dubliniensis; чувствительные к флуконазолу C. albicans, C. albicans, C. albicans, C. albicans, C. dubliniensis 	ΦC	[Jalal et al., 2016]
19	Готовый коммерческий продукт Aldrich (St. Louis, Missouri; CAS Number 1344-28- 1)	Al ₂ O ₃	10-70 (ср. 78±9) сфер	50, 500, 1000 мкг/л	-	Scenedesmus sp., Chlorella sp.	БС	[Pakrashi et al., 2012]
20	Готовый коммерческий продукт Dr. Karl Martin of NovaCentrix, Austin, TX, USA (Product code: M1056, M1049- D; purity: >90%)	Al ₂ O ₃	30 и 40, сфер	0.02, 0.04, 0.075, 0.15, 0.30, 0.60, 1.25, 2.5 мг/лнн ку	ПБ, 48 ч., 37 °С	S. typhimurium	-	[Balasubram anyam et al., 2010]
21	Газофазная конденсация при лазерном испарения твердотельной мишени	Al ₂ O ₃	<10	0-1 мкг/мл	ЛБ, 24-120 ч., 37°С	мультирезист. A. baumanii	БС	[Muzammil et al., 2020]
22	Готовый коммерческий продукт Sigma- Aldrich (St.Louis, MO; CAS Number 1344-28- 1)	Al ₂ O ₃	<50, сфер	МИК: 1600- 3200 мкг /мл; МБК: 3200- 6400 мкг /мл	АМХ, 24 ч., 37 °С	мультирезист. клинич. изолят <i>E. coli</i>	БС, БЦ	[Ansari et al., 2014]
23	Золь-гель синтез	Хитозан/ SiO ₂ /Al ₂ O ₃	-	-	5 ч., 40 ∘С	S. aureus, P. aeruginosa,	БС	[El Nahrawy et al., 2019]

						C. albicans, A. niger		
24	Химическое осаждение с использованием Urtica dioica в качестве восстановителя	Al ₂ O ₃	10- 13, сфер	25, 50, 75 мг/мл	КДС, 48 ч., 25±2°С	A. niger, M. piriformis	ФС	[Devi et al., 2021]
25	Готовый коммерческий продукт (Neutrino Co.)	Al ₂ O ₃ -HЧ, покрытые хитозаном	80	0.025 мг/мл	ПБ, 24 ч., 37 °С	S. aureus ATCC 6538	БС	[Khajeh Mehrizi et al., 2016]
26	Химическое осаждение γ-облученн. полианилин (ПАНИ)/ НЧ Al ₂ O ₃ НЧ композит	ПАНИ– Al ₂ O ₃ – НЧ композит	14-19	17 мг/мл	АМХ, 24 ч., 37 °С	E. coli, S. aureus	БС	[Ramakrishn an & Rajakarthiha n, 2020]
27	Химический метод	ПАНИ — Al ₂ O ₃	-	5, 10 мг/мл	ПА, 24 ч., 37 °C	B. subtilis, E. coli	БС	[Vyas et al., 2021]
28	Химический синтез с использованием отходов алюминия	Al ₂ O ₃	<15, <50	-	АМХ, ПБ, 24-48 ч., 35 °С	E. coli, S. typhimurium, P. aeruginosa, A. aquatilis, S. aureus, S.pneumonia, A. niger, A. flavus, Penicillium sp.	БС	[Baghdadi et al., 2022]
29	Готовый коммерческий продукт: Sigma-Aldrich, CША (TiO ₂), XIYA REAGENT(Al ₂ O ₃)	ПЛА/Al ₂ O ₃ ПЛА/TiO ₂ - Al ₂ O ₃	21 (TiO ₂), 30 (Al ₂ O ₃), сфер	-	АМХ, 24 ч., 37°С	P. aeruginosa, E. coli	БС	[Yakdoumi & Hadj- Hamou, 2020]
30	Лазерная абляция	Al ₂ O ₃	10- 60, сфер	25, 50, 75, 100 мкг/мл	АМХ, 24 ч., 37 °С	E. coli, P. aeruginosa, S. aureus	БС	[Jwad et al., 2019]
31	Готовый коммерческий продукт Zhejiang Hongsheng Material Technology Co., China	Al ₂ O ₃	60, сфер	20 мг/л	ТСА, 24 ч., 30 ∘С	B. subtilis, E. coli, P. fluorescens	БС	[Jiang et al., 2009]

32	Измельчение шаровой мельницей	Al ₂ O ₃	50- 60, сфер	MIC: 100 мкг	ПА, 24 ч., 37 °С,	B. cereus, B. subtilis, K. pneumoniea, V. cholerae	БС	[Geoprincy et al., 2012]
33	Химическое осаждение	γ-Al ₂ O ₃	23,5 & 33, стерж н	-	-	P. aeruginosa, B. subtilis	БС	[Arunarajesw ari et al., 2022]
34	-	Al ₂ O ₃ –Ag	100– 200, сфер	1,10, 30, 50 % массы	ЛБ для E. coli, ACM для S. epidermidis, 37 °C	E. coli, S. epidermidis	БС	[Bala et al., 2011]
35	Готовый коммерческий продукт (Degussa)	Al ₂ O ₃	11, сфер	50, 100, 500 мг/л	TCA, 29 °C, для <i>C.</i> <i>metallidurans;</i> ЛБ, 37 °C для <i>E.coli</i>	C.metallidurans, E. coli	БЦ	[Simon-Deck ers & Loo]
36	Лазерная абляция	Al ₂ O ₃ /боросилок сан	45, сфер	0,001-0,1 % массы	LB, 24 ч., 37 °С	E. coli	БС	[Astashev et al., 2022]
37	Готовый коммерческий продукт Sigma– Aldrich (St. Louis, MO)	Al ₂ O ₃	50, стерж н	1000 мг/л	ДЭПД, 10 ч., 30 °С	S. cerevisiae	ΦC	[García- Saucedo et al., 2011]

Эфф. – эффект, БС – бактериостатический эффект, БЦ – бактерицидный эффект, ФС – фунгистатический эффект, АС – альгостатический эффект, ПАНИ – полианилин, АСМ – агар с сердечно-мозговым экстрактом, АМХ – агар Мюллера-Хинтона, БМХ –бульон Мюллера-Хинтона, ТСА – триптон-соевый агар, ТСБ – триптон-соевый бульон, ПА – питательный агар, ПБ – питательный бульон, ТКС – триптон-казеин-соевый бульон, СЛИ – среда Левенштейна-Йенсена, СДА – агар Сабуро с декстрозой, КДА – картофельно-декстрозный агар, КДС – картофельно-декстрозная среда, ДЭПД – дрожжевой экстракт пептон декстроза, ЛБ – среда Лурия-Бертани, БМХ – бульон Мюллера-Хинтона

Воздействие НЧ оксида алюминия на микроводоросли водоемов

Ввиду массового применения НЧОА в промышленности, большой интерес представляет изучение токсического эффекта, оказываемого данных наноматериалов на водные экосистемы при попадании в водоемы. Появляется всё больше сообщений о токсичности НЧОА в отношении микроскопических водорослей. Sadiq et al., был выявлен токсический эффект НЧОА в отношении *Scenedesmus sp.* и *Chlorella sp.*, полученных из открытого водоема. Полумаксимальная эффективная концентрация НЧОА для *Scenedesmus sp.* составила 39,35 мг/л, для *Chlorella sp.* 45,4 мг/л через 72 часа после добавления наночастиц [Sadiq et al., 2011]. Также, Pakrashi et al., в продолжительных экспериментах с искусственными водоемами (микрокосм) отмечали краткосрочное воздействие НЧОА (5 дней) на резидентную популяцию водорослей *Scenedesmus sp.* и *Chlorella sp.*, сопровождающееся резким снижением жизнеспособности клеток водорослей

66

на ~25% [Pakrashi et al., 2012]. При длительном воздействие в течение 7 месяцев (210 дней) показано постепенное восстановление показателей жизнеспособности [Pakrashi et al., 2012].

Антимикотический эффект НЧ оксида алюминия

Определенный интерес вызывают исследования возлействия НЧОА на рост микроскопических грибов. В нескольких работах был выявлен не только эффект воздействия НЧОА на бактериальные клетки, но также и микроскопические грибы. В частности, добавление НЧОА ингибировало рост роста грибов C. albicans и A. flavus [Manogar et al., 2022], A. niger и M. piriformis [Devi et al., 2021]. Аппликация НЧОА лишь в высоких концентрациях (свыше 1000 мкг/мл) способствовала разрушению мембран дрожжей Saccharomyces cerevisiae [García-Saucedo et al., 2011]. В недавней работе также было подтверждено ингибирование роста Aspergillus niger, Aspergillus flavus и Penicillium sp., усиливающиеся с ростом концентрации HЧOA [Baghdadi et al., 2022]. НЧОА ингибировали рост чувствительных и устойчивых к флуконазолу C. albicans и C. dubliniensis. Методом электронной микроскопии было показано, что НЧОА не только адгезируются к поверхности, но и проникают внутрь клеток грибов рода Candida, что что приводило к их морфологическим нарушениям и подавляло физиологическую активность, что в конечном итоге приводило к гибели клеток [Jalal et al., 2016]. Полученные наблюдения позволяют предположить возможность применения данных НЧ в качестве антифунгиальных агентов.

Цитотоксичность НЧ оксида алюминия

Вопрос цитотоксичности НЧОА в отношении эукариотических клеток также представляет большой интерес и является весьма спорным. С одной стороны, в ряде исследований было показано, что НЧОА проявляют низкую токсичность по отношению к эукариотическим клеткам в экспериментах *in vitro*. Например, было продемонстрировано отсутствие влияния на жизнеспособность клеток линии HeLa при добавлении НЧОА концентрацией 120 мкг/мл, при использовании концентрации 240 мкг/мл отмечались морфологические изменения клеток [Миzammil et al., 2020]. Также, было обнаружено проникновение НЧОА (10-200 мкг/мл) через мембраны клеток L929 и BJ без значимого снижения уровня жизнеспособности и изменения уровня апоптоза клеток после 24 часовой экспозиции [Radziun et al., 2011]. С другой стороны, отмечалось снижение жизнеспособности клеток А549 (карцинома легкого человека) при добавлении НЧОА концентрацией 10 и 25 мкг/мл через 24 ч после воздействия. Предполагалось, что данный эффект был обусловлен деполяризацией мембраны клеток [Lin et al., 2008]. Также, было выявлено влияние НЧОА на рост и развитие 4 клеточных линий: VERO, HEp-2, A549, MDA-

МВ-231. Значения ЛД-50 для клеток VERO и НЕр-2 составили 31,25 мкг/мл, для А549 и MDA-MB-231 5,625 мкг/мл [Francis et al., 2011]. Интересно отметить сообщаемую цитотоксичность НЧОА в отношении нервных клеток. Как известно нейроны наиболее чувствительны к внешним воздействиям и отличаются низкой устойчивостью к стресс-факторам в экспериментах *in vitro*. В частности, было показано, что введение НЧОА оказывало нейротоксический эффект *in vitro*, обусловленный развитием окислительного стресса в нервных клетках с характерным увеличением уровня экспрессии лактатдегидрогеназы, нарушением функционирования митохондрий, нарушением клеточного цикла и индукцией апоптоза [Liu et al., 2020]. В другом исследовании также подтверждалось АФК-опосредованное перекисное окисление липидов и белков, истощение глутатиона и митохондриальная дисфункции клеток ткани головного мозга крыс при хроническом введении НЧОА животным в течение 28 дней [Mirshafa et al., 2018]. Особое место занимают исследования, посвященные исследованию роли алюминия в развитии нейродегенеративных заболеваний ЦНС, включая болезнь Альцгеймера [Dey & Singh, 2022] и болезнь Паркинсона [Raj et al., 2021]. Связь между процессом аккумуляции алюминия в тканях организма, в т.ч мозговой ткани [Exley & Clarkson, 2020], агрегацией бета-амилоида (Аβ) [Crisponi et al., 2012], развитием нейровоспалительного ответа [Praticò et al., 2002] и патогенезом болезни Альцгеймера является предметом многочисленных исследований, проводимых за последние десятилетия. Имеется ряд предположений и доказательств, подтверждающих алюминий-опосредованную нейротоксичность, однако точный механизм нейротоксичности алюминия остается открытым для дальнейших дискуссий [Dey & Singh, 2022].

Таким образом, поиск новых методов борьбы с бактериальными инфекциями, устойчивыми к антибиотикам — важная проблема для мирового здравоохранения. В связи с этим рассматривается применение неорганических наноматериалов, в основном, НЧ металлов и оксидов металлов в качестве антибактериальных агентов нового поколения. На фоне доказанной антибактериальной эффективности НЧ оксидов металлов с известными механизмами воздействия на бактериальные клетки (оксид титана, оксид железа, серебро, оксид цинка), нанооксид алюминия остается мало изученным материалом. Несмотря на большое распространение алюминия в природе, а также широкое применение НЧОА в производствах, использование в биомедицинских приложениях, в том числе для антибактериального применения, этих наночастиц затруднено. Это обусловлено малой доказательной базой эффективности воздействия НЧОА на рост и развитие бактерий, а также низкой реакционной способностью оксида алюминия. Тем не менее, ряд успешных исследований НЧОА, проведенных за последние годы, в том числе в отношении полирезистентных и клинических бактериальных штаммов, дают обнадеживающие результаты. Известно, что антибактериальный эффект НЧОА проявляется, как правило, лишь при высоких концентрациях наночастиц и обусловлен адсорбцией этих наночастиц на поверхности бактерий, а также образованием катионов алюминия, способствующих образованию АФК, вызывающих окисление биомакромолекул и приводящих к гибели бактериальной клетки. Сообщаемая фунгистатическая активность НЧОА по отношению к некоторым видам грибов также представляет большой интерес и требует более детального рассмотрения. Наконец, возможность алюминия индуцировать окислительный стресс в эукариотических клетках И демонстрируемая В многочисленных исследованиях нейротоксичность, а также роль в развитии нейропатологий указывают на необходимость более глубокого изучения механизмов воздействия алюминия на биологические системы.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Биологические объекты исследования и сопутствующие реактивы

В качестве биологических объектов исследования были использованы клеточные культуры: постоянная клеточная линия нейробластомы человека SH-SY5Y (ATCC® CRL-2266TM), а также первичные культуры фибробластов легких мыши. Клеточная линия SH-SY5Y является удобной моделью для изучения развития и дифференцировки клеток *in vitro*. Все манипуляции с тканями и клетками животных проводили в чистых помещениях с использованием бокса биологической безопасности II класса «Ламинар-С» («Lamsystems», Россия). Первичные культуры клеток изолированных фибробластов легких мыши получали по стандартному протоколу с небольшими изменениями; легочную ткань получали из мышей линии BALB/c. В качестве питательной среды для культивирования клеточных культур использовали среду ДМЕМ («Биолот», Россия), содержащую 10% эмбриональной бычьей сыворотки (Gibco, США), L-глутамин («ПанЭко», Россия), 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина (ПанЭко, Россия). Культивирование проводили в инкубаторе S-Bt Smart Biotherm CO₂ (Biosan, Латвия) при температуре 37 °С и 5% СО₂.

2.2. Приборы и аппаратура

Для реализации экспериментов в работе были использованы приборы и аппаратура, представленные ниже. Zetasizer Ultra Red Label (Malvern Panalytical, Великобритания) использовали для ДРС-анализа коллоидных растворов наночастиц оксида цинка, а также для определениия дзета-потенциала. Просвечивающий электронный микроскоп Libra 200 FE HR (Carl Zeiss, Германия) в сочетании с энергодисперсионным рентгеновским спектрометром JED-2300 (Carl Zeiss, Германия) использовался для оценки морфологии полученных наночастиц и определения состава полученных наночастиц. Для получения спектра поглощения полученных наночастиц использовали спектрометр с двойным монохроматором Cintra 4040 (GBC Scientific Equipment, Australia). Для измерения реологических характеристик полученных композитных материалов использовали модульный реометр MCR 302e (Anton Paar, Австрия). Высокочувствительный хемилюминометр, Биотокс-7А-УЗЭ (АНО «Инженерный центр — Экология», Россия) использовали для регистрации и измерения люминесценции при определении концентрации активных форм кислорода, а также для изучения долгоживущих активных форм белков. Для ИФА использовали планшетный фотометр (Titertek Multiscan, Финляндия). Для анализа тепловых характеристик использовали дифференциальный сканирующий калориметр DSC3 Excellence (Mettler Toledo, США). Спектрофлуориметр JASCO 8300 (JASCO, Япония) использовали для регистрации флуоресценции 7-OH-ККК. Анализ профиля микро- и нанорельефа поверхностей образцов композитных материалов осуществлялся

при помощи атомно-силового микроскопа NPX200 (Seiko Instruments, Япония). Распределение наночастии полимерной матрице оценивалось при помоши модуляционнов интерференционного микроскопа MIM-321 (Amphora Lab, Россия). Для микроскопического анализа клеток бактерий и животных использовали инвертированный микроскоп Leica DMI6000 (Leica Microsystems, Германия). Для культивирования бактериальных культур использовали шейкер-инкубатор ES-20 (Biosan, Латвия). Капельный спектрометр UV5Nano Excellence (Mettler Toledo, США), использовали для измерения оптической плотности бактериальной суспензии. CO2 инкубатор S-Bt Smart Biotherm (Biosan, Латвия) использовали для культивирования эукариотических клеток в исследованиях in vitro.

2.2. Методы

2.2.1. Синтез наночастиц оксидов металлов

НЧ оксидов металлов были синтезированы методом лазерной абляции в деионизированной воде [Dolgaev et al., 2002]. В качестве мишени использовались образцы металлов (железа, цинка и алюминия) высокой чистоты (≥99,99%) в виде пластины, погруженной в рабочую жидкость (V=10 мл). Был использован импульсный иттербиевый волоконный лазер со следующими параметрами излучения: длина волны 1064 нм; длительность импульса 4–200 нс; частота следования импульсов — 10-20 кГц; средняя мощность — до 20 Вт; энергия импульса — 0,7–2 мДж. Слой жидкости над мишенью составлял около 1000–1500 мкм. Время облучения варьировалось в пределах от 5 до 20 мин. Схема установки для синтеза НЧ представлена на рис. 7.



Рисунок 7. Схематическое изображение установки для получения коллоидных растворов НЧ оксидов металлов. 1 — металлическая мишень, 2 — чашка Петри, 3 — лазерный модуль, 6 — лазерные лучи, 4 — гальвано-механический сканатор, 5 — theta объектив

2.2.2. Синтез полимерных матриц и приготовление композитных материалов

Получение композитных материалов на основе матрицы БС

Для получения композитных материалов на основе боросилоксана использовали полидиметилсилоксан с концевыми гидроксильными группами (ПДМС) (молекулярная масса

20000 г/моль) (Sigma-Aldrich, США) и измельченную борную кислоту (БК) (Sigma-Aldrich, США) (содержание основного вещества 99,9%, массовая доля борного ангидрида 57,1%, средний размер частиц БК 0,075 мм) в качестве прекурсоров. Массовое соотношение ПДМС и БК составляло 10:1. Боросилоксан разбавляли этанолом и смешивали с НЧ до конечных концентраций 0,001; 0,01; 0,1 % массы. Далее этанол упаривали в вакууме. Боросилоксан без НЧ также разбавляли этанолом и сушили. Образцы композитов и боросилоксан, не содержащий НЧ, раскатывали при помощи валиков для формирования образцов в виде пленок.

Получение композитного материала на основе матрицы ПЛГА

Для получения композитного материала на основе ПЛГА применялась низкотемпературная технология. Вкратце, композитный материал готовился путем предварительного приготовления 3% раствора коммерческого ПЛГА (Creative Biolabs, США) в хлороформе с перемешиванием до гомогенного состояния в течение 1 часа при температуре раствора 57 °C. Далее к растворенному ПЛГА добавлялся коллоидный раствор НЧ необходимой концентрации. Материал нагревали до 40 °C, а затем прокатывали через валки.

Получение композитного материала на основе матрицы ПТФЭ

Для синтеза композитных материалов на основе матрицы ПТФЭ, в коллоидных растворах НЧ воду заменяли ацетоном при помощи центрифугирования. Коллоидный раствор наночастиц центрифугировали на с помощью центрифуги Sigma 3-16KL (Sigma, Германия) в течение 40 мин при 7000g; надосадочную жидкость заменяли на ацетон (не менее трех раз). Полученный коллоидный раствор смешивали с фторопластовым лаком (Пласт Полимер-Пром, Россия) до конечной концентрации наночастиц 0,1, 0,01 и 0,001%. Данный лак представляет собой политетрафторэтилен, растворенный в смеси ацетона, бутилацетата, циклогексанона и толуола в соотношении 25:40:10:25 массовых частей. Для получения образцов покрытий капли раствора наночастиц в лаке объемом 500 мкл наносили на круглые обезжиренные стекла диаметром 25 мм. Перед началом экспериментов покрытия сушили в течение 48 ч в вытяжном шкафу. Перед проведением микробиологических исследований образцы фторопласта ($4 \times 4 \times 6$ мм) с нанесенным композитным покрытием предварительно дезинфицировали путем замачивания в 70%-ном этиловом спирте на 2–3 ч.
Изготовление образцов (пленок) композитных материалов на основе ПЛГА и БС

Нагретый до 40°C композитный материал прокатывали через валки. После прокатки получали пленку толщиной около 700–900 мкм. Из массивной заготовки вырезались прямоугольные пленки размером 20×20 мм. Пленки хранились в полипропиленовых флаконах. Методические тонкости характеризации образцов композитных материалов, в т.ч оценки биоактивности (генерации АФК или повреждения биологических макромолекул) представлены ниже.

2.2.3. Исследование физических свойств и характеризация полученных композитных материалов

Оценка реологических характеристик полученных материалов

Реологические характеристики боросилоксана и композитных материалов на его основе измеряли модульным малогабаритным реометром MCR 302e (Anton Paar, Австрия). Измерения проводились в осцилляторном режиме с использованием шпинделя с плоской поверхностью PP25 (Anton Paar, Австрия).

Термический анализ

Анализ тепловых характеристик проводился с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии с DSC 3 Excellence (Mettler Toledo, США). Для оценки тепловых характеристик строили термограммы в режимах нагрева и охлаждения. Температуры стеклования (Tg) и изменение теплоемкости (ΔC_p) также оценивались при различных концентрациях наночастиц.

Модуляционно-интерференционная микроскопия

Интерференционная микроскопия – хорошо известная техника, применяемая для комплексного анализа оптических и геометрических свойств широкого круга микро- и нанообъектов в различных областях науки и техники. В основу метода МИМ положен принцип измерения локальных фаз промодулированной объектом световой волны. Оптическая схема лазерного канала представляет собой модификацию интерферометра Маха-Цандера с фазовым модулятором в опорном плече. Основное преимущество схемы Маха-Цандера состоит в возможности независимого управления поляризацией в объектном и опорном плечах интерферометра с последующим учетом поворота плоскости поляризации, вносимого измеряемым образцом. Управление поляризацией осуществляется при помоши автоматизированных модуляторов поляризации, позволяющих вращать плоскости поляризации

объектного и опорного лучей интерферометра, а также изменять тип поляризации (эллиптическая или круговая поляризация). Для анализа образцов, обладающих оптической активностью, перед КМОП-камерой устанавливается анализатор. В качестве источника когерентного излучения используется полупроводниковый лазер с длиной волны 405 нм [Игнатьев и др., 2013].

2.2.4. Оценка концентрации перекиси водорода

Оценку концентрации образовавшейся H_2O_2 осуществляли с помошью хемилюминесцентного метода с использованием системы люминол-пара-йодофенолпероксидаза хрена. Хемилюминесценцию регистрировали с помощью высокочувствительного хемилюминометра Биотокс-7А-УЗИ (АНО «Инженерный центр – Экология», Россия). Образцы композитных материалов, содержащие различные концентрации НЧ в составе (0,001–0,1 %), в виде пленок размером 10×10 мм и толщиной 700-900 мкм помещали в полипропиленовые флаконы (Beckman, США) при 40 °С на 2 часа. После инкубации в 20 мл воды к пробе добавляли 1 мл заранее приготовленного «счетного раствора». Данный раствор содержит 1 мМ Трис-HCl буфера, рН 8,5, 50 мкл пара-йодфенола, 50 мкл люминола,10 нМ пероксидазы хрена. В группе «контроль» эксперимент проводился без образца. Чувствительность метода позволяла определять H₂O₂ при концентрациях <1 нМ.

2.2.5. Оценка концентрации гидроксильных радикалов

Концентрацию ОН радикалов, образующихся в водных растворах, определяли по реакции с кумарин-3-карбоновой кислотой (ККК), продуктом которой является гидроксикумарин-3-карбоновая кислота (7-OH-KKK). 7-OH-KKK — флуоресцентный зонд, обеспечивающий количественное определение OH-радикалов. 0,2 M PBS (pH 7,4) добавляли к раствору ККК в воде V=20 мл (0,5 мМ, pH 3,6). Далее, во флаконы добавляли образцы пленок композитных материалов, содержащие различные концентрации Al₂O₃ HЧ в составе (0,001–0,1 %). В группе «Контроль» эксперимент проводился без образца. Далее полипропиленовые флаконы с образцами и реактивами нагревали в термостате при температуре $80,0 \pm 0,1$ °C в течение 2 часов. Флуоресценцию 7-OH-KKK регистрировали на спектрофлуориметре JASCO 8300 (JASCO, Япония) при λ ex = 400 нм (длина волны возбуждения), λ em = 450 нм (длина волны излучения). Коммерческая 7-OH-KKK (Sigma -Aldrich, США) использовалась для калибровки.

2.2.6. Оценка изменения концентрации долгоживущих активных форм белков

Оценка изменения концентрации долгоживущих активных форм белков осуществлялась при помощи хемилюминесцентного метода. Данный метод эффективен и чувствителен для определения свободнорадикальных реакций. Хемилюминометр Биотокс-7А (АНО «Инженерный центр – Экология», Россия) использовали для изучения долгоживущих реакционноспособных

форм белков путем измерения хемилюминесценции белковых растворов бычьего сывороточного альбумина при повышении температуры. Измерения хемилюминесценции проводили в темноте при комнатной температуре в пластиковых полипропиленовых флаконах объемом 20 мл (Beckman, CША). Образцы предварительно нагревали на водяной бане до 45 °C в течение 2 часов. Все образцы хранились в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин после экспозиции. В качестве контроля использовали ненагретые белковые растворы.

2.2.7. Количественное определение 8-оксогуанина в ДНК *in vitro* методом ИФА

Для количественного определения 8-оксогуанина в ДНК использовали неконкурентный твердофазный ИФА с использованием моноклональных антител, специфичных к 8-оксогуанину. Образцы ДНК (350 мкг/мл) денатурировали кипячением на водяной бане в течение 5 мин и охлаждением на льду в течение 3-4 мин. Аликвоты (42 мкл) наносили на дно лунок планшетов для ИФА. ДНК иммобилизовали с помощью простой процедуры адсорбции с инкубацией в течение 3 ч при 80°С до полного высыхания раствора. Неспецифические участки адсорбции блокировали добавлением 300 мкл раствора, содержащего 1 % сухого обезжиренного молока в 0,15 М трис-HCl-буфере, pH 8,7 и 0,15 М NaCl. Далее планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение ночи (14–18 ч). Формирование комплекса антиген-антитело с антителами против 8-ОГ (в разведении 1:2000) проводили в блокирующем растворе (100 мкл/лунку) путем инкубации в течение 3 ч. при 37 °С. Его дважды промывали (300 мкл/лунку) 50 мМ Трис-HClбуфером (pH 8,7) и 0,15 M NaCl, содержащем 0,1% Triton X-100 после 20-минутной инкубации. Далее формировали комплекс с конъюгатом (антимышиный иммуноглобулин, меченный пероксидазой хрена (1:1000)) путем инкубации в течение 1,5 ч при 37 °С в блокирующем растворе (80 мкл/лунку). Затем лунки промывали 3 раза, как описано выше. Далее, в каждую лунку добавляли хромогенный субстрат, содержащий 18,2 мМ ABTS и перекись водорода (2,6 мМ) в 75 мМ цитратном буфере, рН 4,2 (100 мкл/лунку). Реакции останавливали добавлением равного объема 1,5 мМ NaN₃ в 0,1 М цитратном буфере (pH 4,3) при достижении окраски. Оптическую плотность образцов измеряли на планшетном фотометре (Titertek Multiscan, Финляндия) при $\lambda = 405$ нм.

2.2.8. Оценка бактериостатической активности материалов при помощи измерения оптической плотности суспензионных культур бактерий

Антибактериальную (бактериостатическую) эффективность полученных композитных материалов оценивали в отношении планктонных клеток грамотрицательных бактерий *Escherichia coli*. Стерильные образцы покрытий в виде пленок площадью 20 см², предварительно вымоченные в течение нескольких часов в 70% этаноле, надевали на стерильный обруч, на который затем помещали бульон ЛБ с известной начальной концентрацией планктонных

бактериальных клеток, подсчитанной при помощи счетной камеры Горяева. Образец зафиксированного композитного материала (пленки) с помещенной клеточной суспензией в бульоне инкубировали в шейкер-инкубаторе ES-20 (Віозап, Латвия) при 37 °C, ~150 об/мин в течение 24 часов. Оптическую плотность бактериальной суспензии оценивали с помощью капельного спектрометра UV5Nano Excellence (Mettler Toledo, США). Оптическая плотность, измеренная при 600 нм (OD₆₀₀), отражала концентрацию бактериальных клеток в питательной среде на единицу объема.

2.2.9. Метод микробиологических смывов с последующим посевом на твердую питательную среду и подсчетом КОЕ

Для оценки антибактериальных свойств покрытий ПТФЭ, содержащих различные концентрации НЧ оксидов металлов, применялся метод микробиологических посевов на твёрдую питательную среду с последующим подсчетом КОЕ. Для оценки антибактериальных свойств покрытий на основе композитных материалов на основе ПТФЭ применялись бактериальные изоляты, полученные с поверхностей пищевых производств (грамположительные: L. monocytogenes (устойчивые к азитромицину, эритромицину и сульфаметоксазолу), S. aureus и грамотрицательные: *P. aeruginosa*, *S. enterica* серотип *Typhimurium* (резистентные к азитромицину). Экспериментальная часть микробиологических исследований с использованием микробиологических изолятов проводилась на базе Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова Российской Академии Наук (ФНЦ ПС РАН). В качестве культуральных сред использовали среду Луриа-Бертани (ЛБ) (BD Difco, США) и триптонсоевый бульон (TSB) (Panreac AppliChem, Испания). В качестве тест-поверхностей для культивирования бактериальных клеток использовали тефлоновые кубики (имитация разделочной доски) со сторонами 4 × 4 × 6 мм, покрытые композитным материалом с различной концентрацией НЧ (0,001-0,1%) в составе, а также без покрытия и с ПТФЭ покрытием, не НЧ. Для исследования суточные бульонные культуры солержашим исследуемых микроорганизмов с исходной концентрацией 10⁹ КОЕ/мл разводили в 100 раз до конечной концентрации 10⁷ КОЕ/мл в стерильном бульоне ЛБ и разливали в стерильные пробирки (V=2 мл). В каждую пробирку добавляли предварительно простерилизованные тефлоновые кубики (по одному образцу) и инкубировали 6 и 18 часов в термостате при 37 °С. После инкубации кубики однократно промывали дистиллированной водой (для удаления планктонных клеток), переносили в пробирки со стерильным физиологическим раствором (0,9% раствор NaCl) и энергично встряхивали в течение 15 мин не менее 3-х раз. Далее полученные смывы титровали (делали десятикратные разведения), переносили в чашки Петри с агаром ЛБ и равномерно

распределяли по поверхности стерильным шпателем. Результаты регистрировали путём подсчёта количества колониеобразующих единиц (КОЕ) через 24 ч после инкубации при 37 °C.

2.2.10. Определение антибиопленочных свойств композитных материалов на основе ПТФЭ при помощи флуоресцентного окрашивания

Для изучения антибиоплёночной активности композитных покрытий на основе ПТФЭ на поверхность тефлоновых кубиков наносили бульонную культуру бактериальных клеток (V=30 мкл) и оставляли высыхать при комнатной температуре на 30 мин. Далее, для визуализации живых и мертвых клеток образцы окрашивали набором флуоресцентных красителей Filmtracer Live/Dead Biofilm Viability Kit (Invitrogen, CША) и анализировали под микроскопом с соответствующими фильтрами. Используемый набор содержит флуоресцентные красители SYTO[®] 9 и пропидий-иодид. Оба красителя окрашивают ДНК микроорганизмов; однако SYTO[®] 9 способен быстро проникать через мембрану живых бактерий, в то время как пропидий-иодид с трудом проникает через клеточные стенки живых бактерий. Через 20 мин окрашивания живые клетки окрашиваются в зеленый цвет, мертвые — в красный. Микроскопию проводили с использованием системы визуализации Eclipse Ni (Nikon, Япония).

2.2.11. Выделение и культивирование фибробластов лёгких мыши

Все манипуляции с тканями и клетками животных проводили в чистых помещениях с использованием бокса биологической безопасности «Ламинар-С» II класса («Lamsystems», Россия). Первичные культуры клеток изолированных фибробластов легкого мыши получали по стандартному протоколу с небольшими изменениями. Для экспериментов использовали взрослые особи самцов мышей BALB/с в возрасте 2–3 месяцев. Эвтаназию мышей проводили путём цервикальной дислокации. С помощью хирургических ножниц из грудной клетки животного удаляли легкие. Легкие помещали в стерильную чашку Петри Ø60 (ТРР, Швейцария), содержащую небольшой объем раствора PBS. Органы измельчали стерильными ножницами на кусочки объемом ~1 мм³. Кусочки легочной ткани инкубировали в течение 1 ч в 25 мл среды DMEM, содержащей 0,2% коллагеназы II типа, при 37 °С на качающемся шейкере MR-1 (Biosan, Латвия). Коллагеназа ингибировалась 20% FBS. Кусочки ткани, инкубированные в растворе коллагеназы, ресуспендировали пипетированием, а затем пропускали через сито EASTstrainerTM с размером ячеек 70 мкм (Greiner bio-one, Австрия). Клетки промывали в DMEM и дважды центрифугировали при 350×g в течение 5 мин. Выделенные клетки далее культивировали в культуральных матрасах Т-25 (ТРР, Швейцария) в среде DMEM/F12 с добавлением 10% FBS, 2 мМ L-глутамина, 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина (ПанЭко, Россия). При достижении 80-90% конфлюэнтности клетки диссоциировали 0,05% раствором трипсин-ЭДТА (ПанЭко, Россия) в течение 5 мин при 37 °С. Трипсин инактивировали 10% FBS. Клетки

пассировали не менее 3 раз перед началом исследований цитототоксического воздействия материалов.

2.2.11. Оценка жизнеспособности культур эукариотических клеток

Поверхности полученных образцов композитных материалов оценивали in vitro в отношении постоянной клеточной линии нейробластомы человека SH-SY5Y, а также первичных культур легочных фибробластов мыши. Стерильные образцы пленок композита размером 20×20 мм помещали в чашки Петри диаметром 35 мм для каждого из образцов. На поверхность образцов наносили суспензию клеток SH-SY5Y (104 кл/см², V=3 мл). Время культивирования in *vitro* на поверхности исследуемых плёнок составило 72 часа. Затем оценивали жизнеспособность клеточных культур путем окрашивания культур флуоресцентными красителями Hoechst 33342 (Sigma, США) и пропидий-иодид (Sigma, США) в концентрации 2 мкг/мл каждого. Hoechst 33342 окрашивает как живые, так и нежизнеспособные клетки. Пропидий-иодид (PI) окрашивает нежизнеспособные клетки с повреждённой цитоплазматической мембраной. Этот краситель крайне медленно проникает в живые клетки. Для микроскопического анализа клеток на поверхности композитных образцов использовалась система визуализации на базе Leica DMI6000 (Leica Microsystems, Германия). В ходе анализа на поверхности пленок насчитывали не менее 500 клеток. Была сделана серия изображений на случайно выбранном поле рассматриваемой культуры в проходящем свете, с фильтрами Hoechst и PI. В качестве основных параметров, определяющих рост и развитие клеток, с помощью ПО ImageJ оценивались доля нежизнеспособных клеток, плотность клеточной культуры, процент площади свободной от клеток поверхности, а также митотический индекс. Оценку митотического индекса клеток проводили для анализа клеточной пролиферации. Клетки в состоянии митоза идентифицировали по распределению хроматина, окрашенного Hoechst 33342 (Sigma, США), характерного для профазы (P), метафазы (M), анафазы (A) и телофазы (T). Митотический индекс (МИ) рассчитывали по формуле $MH = (P + M + A + T)/N \times 100\%$, где (P + M + A + T) — количество клеток на стадиях профазы, метафазы, анафазы и телофазы соответственно. N - общее количество проанализированных клеток.

2.2.10. Статистический анализ и обработка результатов

Статистический анализ данных проводили с помощью пакетов программного обеспечения SigmaPlot 12 и GraphPad Prism 8. Данные на графиках представляются в виде средних значений \pm стандартная ошибка среднего. Для усреднения использовали данные не менее трёх независимых экспериментов (n≥3). Для проверки нормальности распределения выборки применялся критерий Шапиро-Уилка. Для сравнения 2-х независимых выборок, подчиняющихся нормальному закону распределения, применялся *t*-критерий Стьюдента. Для сравнения 2-х независимых выборок, подчиняющихся нормальному закону распределения, применялся *t*-критерий Стьюдента. Для сравнения 2-х независимых выборок, не подчиняющихся нормальному закону распределения, применялся *t*-критерий Стьюдента. Для сравнения 2-х независимых выборок, не подчиняющихся нормальному закону распределения, применялся *t*-критерий Стьюдента. Для сравнения 2-х независимых выборок, к с большим количеством независимых экспериментальных группой в экспериментах с большим количеством независимых экспериментальных групп (>3) применялся дисперсионный анализ Уэлча (ANOVA Уэлча), являющийся альтернативой однофакторному дисперсионному анализу, при котором нарушается допущение о равных дисперсиях. В качестве апостериорного критерия для множественных сравнительных тестов использовался критерий Даннета. Различия считали достоверными при уровне значимости *p* <0,05.

ГЛАВА З. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Свойства композитных материалов, функционализированных НЧ оксида железа 3.1.1. Синтез и характеризация НЧ оксида железа

Используемый для синтеза композитных материалов коллоидный раствор НЧ оксида железа содержал НЧ со средним гидродинамический диаметром около 50 нм (рис. 8 A). Кроме того, был определен ζ-потенциал наночастиц, который составил порядка +20 мВ (рис. 8 Б). Спектры оптического поглощения получали с помощью дифференциального спектрофотометра (рис. 8 В). Полученные спектры поглощения позволяют предположить, что наночастицы, вероятно, состоят в основном из Fe₂O₃. Морфологический анализ проводили с помощью ПЭМ. Было обнаружено, что все наночастицы в коллоидном растворе имели сферическую форму со средним диаметром около 50 нм (рис. 8 Г).



Рисунок 8. Физико-химические характеристики коллоидного раствора НЧ Fe₂O₃. А — концентрация (оранжевая линия) и распределение по размерам (черная линия) НЧ Fe₂O₃; Б — распределение ζ -потенциала НЧ Fe₂O₃; В — спектр оптического поглощения полученного коллоидного раствора НЧ; Г — ПЭМ-изображение одиночных НЧ Fe₂O₃

С помощью энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии был определён химический состав полученных наночастиц. Выявлено содержание двух элементов в составе наночастиц: железа и кислорода. Установлено, что коллоидный раствор содержит химически чистые наночастицы без примесей, состоящие из оксида железа (рис. 9 А,Б).



Рисунок 9. Соотношение элементов, входящих в состав НЧ оксида железа, определенное при помощи метода энергодисперсионной спектроскопии. А — увеличенное место измерения; Б — профиль наночастиц по Fe Kα1 и O Kα1

3.1.2. Свойства композитных материалов на основе ПЛГА, содержащих НЧ оксида железа



Рисунок 10. Реконструкция поверхности ПЛГА-НЧ Fe₂O₃ композитного материала, полученная с помощью атомно-силовой микроскопии

Изготовление композитных материалов на основе ПЛГА и НЧ Fe₂O₃ осуществлялось низкотемпературным методом (см. раздел 2 «Материалы и методы»). Полученные образцы пленок композитных материалов визуально имели однородную и гладкую поверхность. С помощью атомно-силовой микроскопии (ACM) установлено, что поверхность данных пленок однородна и не имеет трещин, изломов и других артефактов (рис. 10).

Для изучения расположения наночастиц в полимере использовался метод модуляционноинтерференционной микроскопии (МИМ), позволяющий выявлять объекты, различающиеся по показателям преломления. Показатель преломления определяли на длине волны лазерного микроскопа. Показатель преломления не модифицированного ПЛГА составляет 1,47 при 405 нм, в то время как показатель преломления Fe₂O₃ составляет 2,5 при 405 нм. Было показано, что ПЛГА, не содержащий HЧ, является оптически однородным материалом (рис.11 А). Введение НЧ оксида железа в матрицу ПЛГА даже в минимальной концентрации (0,001%) приводило к образованию областей с повышенной концентрацией НЧ, отличающихся изменением фазы лазерного излучения (рис.11 Б). При увеличении концентрации НЧ оксида железа до 0,1% наблюдалось увеличение размера таких областей до несколько микрометров (рис.11 В,Г). Таким образом, показано, что распределение наночастиц оксида железа в композите на основе ПЛГА было неравномерным.



Рисунок 11. Результаты анализа распределения НЧ Fe₂O₃ в матрице ПЛГА с помощью МИМ: А — ПЛГА без добавления НЧ; Б — ПЛГА с добавлением 0,001 % НЧ Fe₂O₃; В — ПЛГА с добавлением 0,01 % НЧ Fe₂O₃; Г — ПЛГА с добавлением 0,1% НЧ Fe₂O₃. Изображения представлены в виде трехмерных реконструкций, где оси абсцисс и ординат соответствуют реальному расстоянию в мкм. По оси Z отображается разность фаз в нм (чем больше разность фаз, тем выше значение по оси Z). Исходные данные о пространственном распределении разности фаз в анализируемом образце показаны в нижних левых углах каждой панели

Был проведен термический анализ полученных композитных материалов. На рис. 12 А представлены термограммы образцов, полученные в режиме нагрева и охлаждения. Цифрами указаны концентрации НЧ оксида железа в составе композита. Добавление НЧ Fe₂O₃ к ПЛГА привело к снижению температуры стеклования. В интервале температур 317–320 К наблюдался процесс стеклования композитов, общий для всех рассмотренных образцов композитов. С помощью дифференциальной сканирующей калориметрии были определены температуры

стеклования (T_g) и изменение теплоемкости (ΔC_p) исследуемых образцов (рис. 12). Температура стеклования находится в диапазоне 317–319 К, что соответствует литературным данным для чистого ПЛГА. Значения ΔC_p статистически не изменялись при добавлении НЧ оксида железа в матрицы ПЛГА. Отмечалась тенденция к увеличению теплоемкости материалов.



Рисунок 12. Результаты термического анализа синтезированных ПЛГА–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов; А — термограммы, полученные в режиме нагрева и охлаждения материала на основе ПЛГА и НЧ Fe₂O₃ различной концентрации; Б — зависимость теплоемкости и В — температуры стеклования от концентрации наночастиц в образцах

Известно, что НЧ оксида железа способны генерировать АФК, в основном в результате образования свободных катионов Fe^{2+} , участвующих в реакциях Фентона и Габера-Вейсса [Ezealigo et al., 2021]. Исследована способность синтезированных ПЛГА–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов генерировать такие АФК, как перекись водорода и гидроксильные радикалы. Показано, что чистый ПЛГА не влияет на генерацию АФК в водных растворах. Добавление в матрицу ПЛГА НЧ Fe₂O₃, в концентрации минимальной 0,001%, способствовало усилению образования как перекиси водорода (рис.13 А). Композиты с наибольшей концентрацией наночастиц оксида железа 0,1% способствовали увеличению образования H₂O₂ в ~6 раз и гидроксильных радикалов в ~7 раз, по сравнению с контрольными значениями.





Известно, что высокие концентрации АФК способствуют повреждению биополимеров, в том числе ДНК и белков. Было исследовано влияние ПЛГА–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на образование 8-оксогуанина (8-ОГ) в ДНК *in vitro*. Было обнаружено, что ПЛГА, не содержащий НЧ Fe₂O₃ не влияет на скорость образования 8-ОГ в ДНК. При концентрации наночастиц 0,1% наблюдалось статистически значимое увеличение скорости образования 8-оксогуанина в ДНК в ~12 раз (рис. 14 А).



Рисунок 14. Влияние ПЛГА–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на формирование окислительных повреждений биомолекул. А — образование 8-ОГ в ДНК *in vitro*, Б — динамика образования долгоживущих активных форм белков. * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Было исследовано влияние композитных материалов на основе ПЛГА, функционализированного НЧ Fe₂O₃, на формирование долгоживущих активных форм белков (ДАФБ). ПЛГА, не содержащий в своем составе НЧ, не влиял ни на скорость образования долгоживущих активных белковых форм, ни на время их полужизни. Функционализация ПЛГА 0,1% НЧ Fe₂O₃ способствовала значительному увеличению скорости образования долгоживущих активных форм белков (рис.14 Б). В то же время добавление НЧ не оказывало существенного влияния на время полужизни белков, которое составляло около 4 – 5 часов.

Исследовали бактериостатические свойства ПЛГА–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов в отношении суспензионных культур бактерий *E. coli*. ПЛГА без добавления HЧ Fe₂O₃ не оказывал влияния на рост бактериальных клеток. В то же время, добавление HЧ Fe₂O₃ в концентрации 0,01% в матрицу ПЛГА приводило к резкому замедлению деления бактериальных клеток. Увеличение концентрации НЧ приводило к усилению ингибирующего эффекта. Концентрация бактериальных клеток в среде, контактирующей с поверхностями образцов композитных материалов, содержащих 0,01 % наночастиц была меньше примерно в 5,2 раз меньше, по сравнению с контрольными значениями. ПЛГА–НЧ Fe₂O₃ композитный материал, содержащий 0,1 % НЧ Fe₂O₃, обладал наиболее выраженными бактериостатическими свойствами (рис.15).



Рисунок 15. Влияние ПЛГА–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на рост суспензионных культур клеток *E. coli,* * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Образцы пленок ПЛГА–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов изучали *in vitro* в качестве поверхностей для культивирования культур клеточной линии SH-SY5Y (рис. 16 A–Г). При использовании в качестве поверхности для роста клеток ПЛГА без HЧ Fe₂O₃ (группа 0%) все рассматриваемые параметры не изменились и находились на уровне «контрольной» группы. В культурах присутствовало около 4% нежизнеспособных клеток; ~1,3% клеток проявляли митотическую активность; плотность культур составила ~1000 клеток/мм², ~70% площади образца композитного материала была занята клетками. Образования единого монослоя не наблюдалось. При использовании композитных материалов с наибольшей концентрацией наночастиц оксида железа (группа 0,1%) выявлено статистически значимое увеличение доли нежизнеспособных клеток в культурах (~7%). Остальные показатели не изменились; отмечена тенденция к увеличению плотности культур клеток, а также доли клеток, проявляющих митотическую активность. Таким образом, установлено, что поверхности ПЛГА–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов были пригодны для адгезии, роста и развития культур зукариотических клеток линии SH-SY5Y.







Рисунок 16. Результаты оценки жизнеспособности культур клеток линии SH-SY5Y, культивируемых в течение 72 часов на поверхностях композитных материалов на основе ПЛГА, функционализированных HЧ Fe₂O₃. А — доля (%) нежизнеспособных клеток в культуре; Б — митотический индекс; В — плотность клеточных культур; Г — доля (%) площади поверхности образца композитного материала, свободная от клеток, # — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, *t*-критерий Стьюдента; * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, ANOVA

3.1.3. Свойства композитных материалов на основе БС, содержащих НЧ оксида железа

Проведенные реологические исследования полученных композитных материалов на основе БС, содержащих НЧ Fe₂O₃ различной концентрации показали, что при низких частотах сдвига наблюдается преобладание вязких свойств БС над упругими, с увеличением частоты вклад вязких свойств снижается. При этом область перехода от вязких свойств к упругим регулировалась на стадии синтеза борсилоксана, а добавление НЧ Fe₂O₃ в рассматриваемом диапазоне концентраций не приводит к значительному изменению вязкоупругих свойств БС–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов. Было также установлено, что вязкость в рассматриваемом температурном диапазоне изменялась линейно при увеличении температуры. При увеличении температуры с 294 до 310 К, вязкость композитного материала уменьшалась не значительно (рис. 17).



Рисунок 17. Влияние добавления НЧ Fe₂O₃ к полимеру БС на механические спектры композитных материалов. Модуль накопления — синий цвет, модуль потерь — красный цвет. А — зависимость изменения механических спектров композитов от круговой частоты вращения, Б — температурная зависимость изменения механических спектров композитов

Исследование поверхности образцов композитных материалов на основе БС при помощи АСМ было затруднено тем, что кантилевер задевал о поверхность образца.

Была исследована способность композитного материала на основе БС, функционализированного НЧ Fe₂O₃ усиливать генерацию перекиси водорода и гидроксильных радикалов в водных растворах. Установлено, что что добавление НЧ Fe₂O₃ в концентрациях 0,01 % и 0,1 % в полимерные матрицы БС приводило к статистически значимому повышению концентрации рассматриваемых АФК. Отмечалось повышение в водном растворе концентрации гидроксильных радикалов до 150 нМ и перекиси водорода до 17 нМ при концентрации НЧ Fe₂O₃ в матрице БС 0,1 %. При этом использование чистой полимерной матрицы БС не оказывало значимого эффекта.



Рисунок 18. Влияние БС–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на образование активных форм кислорода в водных растворах. А — генерация пероксида водорода (2 ч, 40 °C); Б — генерация гидроксильных радикалов (2 ч, 80 °C); * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Ввиду известного деструктивного действия АФК на биомолекулы, было исследовано воздействие полученных БС–НЧ Fe₂O₃ композитных полимерных материалов на образование 8-ОГ в ДНК и ДАФБ. Отмечалось значительное увеличение рассматриваемых соединений при добавлении НЧ Fe₂O₃ в концентрации 0,1% в матрицу БС (рис. 19 А,Б).



Рисунок 19. Влияние БС–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на формирование окислительных повреждений биомолекул. А — образование 8-ОГ в ДНК *in vitro*, Б — динамика образования активных долгоживущих форм белков. * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

В ходе микробиологических исследований было установлено, что рост планктонных клеток *E. coli* в контакте с образцами БС–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов был замедлен; эффект был аналогичен применению композитных материалов на основе ПЛГА, содержащих НЧ Fe₂O₃. Концентрация бактериальных клеток объеме среды при использовании композитного материала на основе БС, содержащего 0,1% НЧ Fe₂O₃ была ~в 10,5 раз меньше, по сравнению с контрольными значениями (рис. 20).



Рисунок 20. Влияние БС–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на рост суспензионных культур клеток *E. coli.* * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05



Рисунок 21. Результаты оценки жизнеспособности культур клеток линии SH-SY5Y, культивируемых в течение
72 часов на поверхностях композитных материалов на основе БС, функционализированных НЧ Fe₂O₃. А — доля
(%) нежизнеспособных клеток в культуре; Б — митотический индекс; В — плотность клеточных культур; Г — доля (%) площади поверхности образца композитного материала, свободная от клеток,
— статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, *t*-критерий Стьюдента;
* — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, ANOVA

По результатам оценки жизнеспособности клеточных культур, растущих на поверхностях полученных образцов БС–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов (рис. 21 A– Γ) было установлено, что поверхности композитных материалов не препятствуют адгезии клеток к поверхностям композитных покрытий. Показатели митотического индекса, плотности клеточных культур, а также свободной от клеток площади не отличались от контрольных значений. Процент нежизнеспособнох клеток в культурах, растущих на плёнках композитных материалов на основе БС, содержащих 0,1% НЧ Fe₂O₃, составлял 7±0,95% и статистически значимо отличался от значения группы «контроль» (3,98±0,86%). Важно отметить, что общее число нежизнеспособных клеток в культурах.

3.1.4. Свойства композитных материалов на основе ПТФЭ, содержащих НЧ оксида железа

Покрытие на основе ПТФЭ, содержащее НЧ Fe₂O₃, было нанесено на образцы поврежденного фторопласта (имитация поверхности разделочных досок) и культуральных слёкол с последующей сушкой в течение 48 часов для дальнейших исследований. Обнаружено, что композитное покрытие обладало превосходной адгезией к поврежденной поверхности образца фторопласта, заполняя все видимые повреждения. При попытке механического повреждения поверхности фторопласта с нанесенным покрытием видимых нарушений целостности покрытия и нижележащего слоя выявлено не было.

Методом АСМ была изучена поверхность композитного материала, при помощи МИМ оценено распределение наночастиц внутри полимерной матрицы. Изменение рельефа поверхности покрытия композитным материалом не превышало 10 нм (рис. 22 А). Поверхность композитного материала также не имела трещин, складок, а также других повреждений и дефектов (рис. 22).



Рисунок 22. А — пример нанесения покрытия на основе ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитного материала на поврежденную поверхность фторопласта до (слева) и после (справа) покрытия: Б — реконструкция поверхности ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитного материала, полученная с помощью ACM

При исследовании с помощью МИМ ПТФЭ без добавления НЧ Fe₂O₃ выраженных оптических неоднородностей обнаружено не было (рис. 23 A), в то время как при добавлении к ПТФЭ НЧ Fe₂O₃ в концентрации 0,001% в образце были обнаружены области с увеличенной концентрацией НЧ (рис. 23 Б). Данные неоднородности имели длину 0,25–1,0 мкм и ширину 0,20–0,25 мкм. Наибольшее значение разности фаз составляло 150–160 нм. В случае композитов ПТФЭ с НЧ Fe₂O₃ в концентрациях 0,01 и 0,1% наблюдалась аналогичная картина (рис. 23 В, Г), размер данных областей увеличивался при увеличении концентрации наночастиц. При концентрации НЧ Fe₂O₃ 0,01% длина и ширина неоднородностей составляли 0,5–2 и 0,2–0,25 мкм соответственно. Разность фаз составляла 150–170 нм (рис. 23 В). При максимальной концентрации НЧ Fe₂O₃ 0,1% длина, ширина и разность фаз неоднородностей составляли 0,5–2, 0,25–0,5 мкм и 150–170 нм соответственно (рис. 23 Г).



Рисунок 23. Результаты анализа распределения НЧ Fe₂O₃ в матрице ПТФЭ с помощью МИМ: А — ПТФЭ без добавления НЧ; Б — ПТФЭ с добавлением 0,001% НЧ Fe₂O₃; В — ПТФЭ с добавлением 0,01% НЧ Fe₂O₃; Г — ПТФЭ с добавлением 0,1% НЧ Fe₂O₃. Изображения представлены в виде трехмерных реконструкций, где оси абсцисс и ординат соответствуют реальному расстоянию в мкм. По оси Z отображается разность фаз в нм (чем больше разность фаз, тем выше значение по оси Z). Исходные данные о пространственном распределении разности фаз в анализируемом образце показаны в нижних левых углах каждой панели

Было исследовано влияние ПТФЭ-НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на генерацию H₂O₂ и ·OH в водных растворах (рис. 24). Значения концентрации H₂O₂ в группе ПТФЭ без НЧ Fe₂O₃ не отличались от контрольных значений (рис. 24 A). В присутствии пленок композитных материалов ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃, содержащих 0,1% НЧ, зафиксировано значительное увеличение концентрации H₂O₂ в 6 раз. Аналогично, ПТФЭ без НЧ Fe₂O₃ не способствовал усилению образования гидроксильных радикалов, по сравнению с контролем (рис. 24 Б). В присутствии ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитного материала с концентрацией НЧ 0,1 % наблюдалось увеличение концентрации гидроксильных радикалов ~ в 7 раз, по сравнению с контрольными значениями.



Рисунок 24. Влияние ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на образование активных форм кислорода в водных растворах. А — генерация пероксида водорода (2 ч, 40 °C); Б — генерация гидроксильных радикалов (2 ч, 80 °C); * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

На следующем этапе исследования оценивалось влияние синтезированных образцов пленок ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на генерацию маркеров окислительного повреждения биологических полимеров (8-ОГ в ДНК, а также ДАФБ).



Рисунок 25. Влияние ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на формирование окислительных повреждений биомолекул. А — образование 8-ОГ в ДНК *in vitro*, Б — динамика образования активных долгоживущих форм белков. * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Композитные материалы с концентрацией НЧ Fe₂O₃ 0,1% НЧ существенно увеличивали продукцию 8-ОГ в 6 раз по сравнению с контрольными значениями, соответственно (рис. 25 A). Образцы полимеров ПТФЭ, не содержащие НЧ Fe₂O₃, не влияли продукцию ДАФБ и 8-ОГ (рис. 25). Добавление НЧ Fe₂O₃ в концентрации 0,1 % к матрице ПТФЭ увеличивало генерацию ДАФБ в 3 раза, по сравнению с контрольными значениями (рис. 25 Б).

Микробиологические исследования показали, что образцы ПТФЭ без добавления НЧ Fe2O₃ не влияли на скорость роста планктонных клеток *E. coli*, по сравнению с контролем (рис. 26). Добавление НЧ Fe₂O₃ к ПТФЭ значительно ингибировало рост бактерий в объеме среды, контактирующей с образцами исследуемых композитных материалов в течение 24 часов. Эффект был дозозависимым; концентрация бактерий была на ~75% ниже по сравнению с контрольными значениями при концентрации НЧ Fe₂O₃ в матрицах ПТФЭ 0,01% и на ~85% по сравнению с образцами, содержащими 0,1 % НЧ Fe₂O₃.



Рисунок 26. Влияние ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на рост суспензионных культур клеток *E. coli,* * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Было установлено, что композитные покрытия на основе ПТФЭ, содержащие 0,1% НЧ Fe₂O₃, значительно ингибировали рост колоний рассматриваемых бактериальных изолятов пищевых производств: *L. monocytogenes* (устойчивые к азитромицину, эритромицину и сульфаметоксазолу), *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. enterica* серотип *Typhimurium* (резистентные к азитромицину) (рис. 27).



Рисунок 27. Влияние ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов на рост и развитие грамположительных (А — *S. aureus*, Б — *L. monocytogenes*) и грамотрицательных (В — *P. aeruginosa*, Г — *S. enterica* сер. *Typhimurium*) бактерий; «контроль -» — поверхности тефлона без покрытия, «контроль +» — ПТФЭ покрытие без добавления НЧ Fe₂O₃, Время инкубации 6 и 8 часов; * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Было также изучено влияние полученных ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитных покрытий, нанесенных на поверхность стекол для культивирования клеток, в отношении первичных клеточных культур легочных фибробластов мыши. В качестве критериев оценки цитотоксического воздействия были рассмотрены показатели доли погибших клеток и плотности клеточных культур.



Рисунок 28. Результаты оценки жизнеспособности культур клеток фибробластов мыши, культивируемых в течение 72 часов на поверхностях композитных материалов на основе политетрафторэтилена с добавлением 0,1% НЧ Fe₂O₃. А — доля (%) нежизнеспособных клеток в культуре, Б — плотность клеточных культур, В — репрезентативная микрофотография клеточной культуры на поверхности рассматриваемого композитного материала; # — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. р <0,05, *t*-критерий Стьюдента; * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, ANOVA

Процент нежизнеспособных клеток в культурах контрольной группы (культуральное стекло) составил 1,18±0,65% (рис. 28 А). Среднее значение процента нежизнеспособных клеток в культурах, растущих на ПТФЭ без НЧ, составило ~1,8%, при этом статистически значимых различий в показателях доли мертвых клеток, выявленных на поверхностях ПТФЭ без НЧ Fe₂O₃, а также на поверхностях ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитного покрытия и на культуральном стекле не обнаружено. Средняя доля нежизнеспособных на поверхностях ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитных различий между показателями плотности клеточных культур при культивировании на поверхностях ПТФЭ–НЧ Fe₂O₃ композитных материалов, содержащих 0,1% НЧ Fe₂O₃ и контролем, также не выявлено (рис. 28 Б).

3.2. Свойства композитных материалов, функционализированных НЧ оксида цинка 3.2.1. Синтез и характеризация НЧ оксида цинка

Используемый для синтеза композитных материалов, коллоидный раствор НЧ оксида цинка содержал ~450 миллионов НЧ/мл. Средний гидродинамический диаметр НЧ составлял ~47 нм (рис. 29 А). Распределение НЧ по размерам было мономодальным. Профиль ζ-потенциала НЧ распределялся в диапазоне от 6 до 40 мВ с максимумом +20 мВ (рис. 29 Б). Спектр абсорбции коллоидного раствора полученных НЧ соответствовал оксиду цинка (рис. 29 В). Морфологический анализ с помощью ПЭМ показал наличие в коллоидном растворе наночастиц стержневидной морфологии длиной около 40–70 нм (рис. 29 Г).



Рисунок 29. Физико-химические свойства синтезированных НЧ ZnO. А — концентрация (синяя линия) и распределение по размерам (черная линия) НЧ ZnO; Б — распределение ζ-потенциала НЧ ZnO; В — спектр оптического поглощение водного коллоидного раствора НЧ ZnO; Γ — ПЭМ-изображение группы НЧ ZnO

С помощью энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии определен элементный состав полученных наночастиц. Выявлено содержание двух элементов в составе НЧ: цинка и кислорода. Полученные наночастицы содержали ~90% ZnO и ~ 10% металлического цинка. Таким образом, было установлено, что коллоидный раствор содержал химически чистые HЧ ZnO без примесей в своем составе (рис. 30 A–B).





Рисунок 30. Соотношение элементов, входящих в состав НЧ оксида железа, определенное при помощи метода энергодисперсионной спектроскопии. A,Б — увеличенное место измерения; В — профиль наночастиц по Zn Kα1 и О Kα1

3.2.2. Свойства композитных материалов на основе ПЛГА, содержащих НЧ оксида цинка

Образцы композитных ПЛГА–НЧ ZnO материалов были изготовлены с использованием разработанного низкотемпературного метода. Образцы пленок композитных материалов визуально имели однородную и гладкую поверхность. С помощью ACM установлено, что поверхность полученного композита однородна, не имеет трещин, изломов и других артефактов (рис. 31).



Рисунок 31. Реконструкция поверхности ПЛГА-НЧ ZnO композитного материала, выполненная с помощью АСМ

Для изучения локализации и распределения наночастиц в объеме полимера ПЛГА использовался метод МИМ. Показатель преломления определяли на длине волны лазерного микроскопа (405 нм). Показатель преломления не модифицированного ПЛГА составляет 1,47 при 405 нм, показатель преломления оксида цинка составляет 2,02 при 405 нм. Таким образом, показатель преломления ПЛГА и НЧ оксида цинка различался почти на 0,5 единицы. Было установлено, что ПЛГА без НЧ не имеет ярко выраженной структурированности (рис. 32 А). Добавление НЧ оксида цинка (0,001%) привело к образованию в объеме полимера областей с повышенной концентрацией НЧ, отличающихся фазовым изменением лазерного излучения (рис. 32 Б). Отмечалось слияние таких областей с образованием оптических неоднородностей

размером в несколько микрометров при увеличении концентрации НЧ ZnO до 0,1% (рис. 32 В, Г). Таким образом, распределение НЧ оксида цинка в объеме полимерной матрицы ПЛГА было неравномерным.



Рисунок 32. Результаты анализа распределения НЧ ZnO в матрице ПТФЭ с помощью МИМ: А — ПЛГА без добавления НЧ; Б — ПЛГА с добавлением 0,001 % НЧ ZnO; В — ПЛГА с добавлением 0,01% НЧ ZnO; Г — ПЛГА с добавлением 0,1% НЧ ZnO. Изображения представлены в виде трехмерных реконструкций, где оси абсцисс и ординат соответствуют реальному расстоянию в мкм. По оси Z отображается разность фаз в нм (чем больше разность фаз, тем выше значение по оси Z). Исходные данные о пространственном распределении разности фаз в анализируемом образце показаны в нижних левых углах каждой панели

Мы также провели термический анализ полученных композитов ПЛГА–НЧ ZnO. На рис. 33 представлены термограммы образцов ПЛГА–НЧ ZnO, полученные в режимах нагрева и охлаждения. Цифры указывают на разные концентрации HЧ ZnO в композите. В интервале температур 320–330 К отчетливо виден процесс стеклования полимера, который наблюдается для всех образцов. Добавление HЧ ZnO к ПЛГА не влияло температуру стеклования материала. По результатам дифференциальной сканирующей калориметрии были определены температуры стеклования (T_g) и изменение теплоемкости (ΔC_P) исследуемых образцов, концентрационные зависимости которых представлены на рис. 33 Б, В соответственно. Температура стеклования находится в диапазоне 317–319К и соответствует литературным данным для чистого ПЛГА. При увеличении нагрузки от 0,001% до 0,1% T_g имеет тенденцию к увеличению из-за ограничения движения полимерной цепи за счет включения HЧ ZnO в полимерную цепь посредством электростатического взаимодействия. При добавлении HЧ ZnO в состав ПЛГА значения ΔC_P

статистически не изменились, отмечалась тенденция к увеличению теплоемкости по мере роста концентрации НЧ.



Рисунок 33. Результаты термического анализа синтезированных ПЛГА–НЧ ZnO композитных материалов; А — термограммы, полученные в режиме нагрева и охлаждения материала на основе ПЛГА и НЧ ZnO различной концентрации; Б — зависимость теплоемкости и В — температуры стеклования от концентрации наночастиц в образцах

Используемые в работе композитные материалы имеют массовую долю HЧ ZnO 0,001– 0,1%. Такая малая концентрация HЧ не оказывает существенного влияния на термодинамические свойства несущей среды (полимерной матрицы), так как существенные изменения, как правило, начинаются от концентрации наполнителя (HЧ) от 1 % массы и выше.

Была исследована способность синтезированных ПЛГА–НЧ ZnO композитных материалов усиливать генерацию AФK: перекиси водорода и гидроксильных радикалов. Было обнаружено, что чистый ПЛГА, а также инкубация с образами композитные материалы на основе данной полимерной матрицы, содержащие HЧ ZnO в диапазоне концентраций 0,001–0,1%, незначительно влияет на генерацию рассматриваемых AФK в водном растворе. Отмечалась тенденция к увеличению концентрации рассматриваемых AФK при инкубации водных растворов с образцами ПЛГА–HЧ ZnO композитных материалов (рис. 34 А,Б).



Рисунок 34. Влияние ПЛГА–НЧ ZnO композитных материалов на образование активных форм кислорода в водных растворах. А — генерация пероксида водорода (2 ч, 40 °C); Б — генерация гидроксильных радикалов (2 ч, 80 °C); * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Было исследовано влияние ПЛГА–НЧ ZnO композитных материалов на образование 8-ОГ в ДНК *in vitro*. Обнаружено, что ПЛГА *in vitro* не влияет на скорость образования 8-ОГ в ДНК и ДАФБ. При функционализации ПЛГА всеми рассматриваемыми концентрациями НЧ ZnO значительного образования рассматриваемых соединений выявлено не было (рис. 35 A,Б).



Рисунок 35. Влияние ПЛГА–НЧ ZnO композитных материалов на формирование окислительных повреждений биомолекул. А — образование 8-ОГ в ДНК *in vitro*, Б — динамика образования активных долгоживущих форм белков. * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Было также изучено влияние полученных композитов ПЛГА–НЧ ZnO на способность ингибировать рост планктонных клеток бактерий *E. coli*. Образцы ПЛГА без включения HЧ ZnO не влияли на рост рассматриваемых бактериальных клеток. При добавлении в матрицу ПЛГА HЧ ZnO в концентрации 0,001% отмечалась тенденция к ингибированию роста суспензионных культур *E. coli*. Добавление HЧ ZnO концентрацией 0,01% к ПЛГА приводило к ингибированию роста бактериальных клеток в объеме среды ЛБ, контактирующей с поверхностями композитных материалов в течение 24 часов. Увеличение концентрации HЧ ZnO приводило к усилению бактериостатического эффекта. Количество клеток на поверхности композита с 0,01% HЧ ZnO было меньше в 10 раз. Композитные материалы ПЛГА–НЧ ZnO, содержащие 0,1% HЧ ZnO, обладали выраженными бактериостатическими свойствами (рис. 36).



Рисунок 36. Влияние ПЛГА–НЧ ZnO композитных материалов на рост суспензионных культур клеток *E. coli,* * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Было исследовано влияние ПЛГА–НЧ ZnO на рост и развитие культур эукариотических клеток (рис. 37 А–Г). При использовании в качестве поверхности для адгезии клеток плёнок ПЛГА все рассматриваемые параметры не изменялись и находились на уровне «контрольной» группы. Наблюдалось около 4% нежизнеспособных клеток, 1,3% клеток проявляли митотическую активность, плотность культур составляла ~1200 клеток/мм², через 3 суток кульивирования *in vitro* ~30% площади полимера было занято клетками. Образования единого монослоя не наблюдалось.

При использовании ПЛГА–НЧ ZnO композитных материалов с концентрацией ZnO-HЧ 0,1% наблюдалось статистически значимое увеличение доли нежизнеспособных клеток в культурах, локализованных на поверхностях данных композитных материалов; отмечалась тенденция к увеличению площади поверхности, не занятой клетками, по сравнению с контрольными значениями. Таким образом, показано, что поверхности ПЛГА–НЧ ZnO композитных материалов не препятствовал адгезии, росту и развитию эукариотических клеток, однако проявляли умеренную цитотоксичность при концентрации HЧ 0,1%.







Рисунок 37. Результаты оценки жизнеспособности культур клеток линии SH-SY5Y, культивируемых в течение 72 часов на поверхностях композитных материалов на основе ПЛГА, функционализированных HЧ ZnO. А — доля (%) нежизнеспособных клеток в культуре; Б — митотический индекс; В— плотность клеточных культур; Г — доля (%) площади поверхности образца композитного материала, свободная от клеток, # — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, *t*-критерий Стьюдента; * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, ANOVA

101

3.2.3. Свойства композитных материалов на основе БС, содержащих НЧ оксида цинка

Оценка реологических характеристик полимера БС и композитных систем на его основе важна для возможности применения в биомедицинских целях. На рис. 38 представлены концентрационные зависимости действительной и мнимой частей динамического модуля упругости при различных концентрациях НЧ ZnO.



Рисунок 38. Влияние добавления НЧ ZnO в матрицу БС на механические спектры композитных материалов. Модуль накопления — синий цвет, модуль потерь — красный цвет. А — зависимость изменения механических спектров композитов от круговой частоты вращения, Б — температурная зависимость изменения механических спектров композитов

На основании полученных данных (рис. 38) был сделан вывод, что при малых частотах сдвига наблюдается преобладание вязких свойств БС над упругими, с увеличением частоты вклад вязких свойств уменьшается. При этом область перехода от вязких свойств к упругим регулируется на стадии синтеза БС в зависимости от количества и свойств вводимых функциональных добавок. Такое поведение боросилоксана существенно отличает его от других полимерных матриц [Balenko et al., 2021; Bezborodov et al., 2021; Gupta et al., 2014].

Было изучено влияние композитного материала БС–НЧ ZnO на образование активных форм кислорода (перекиси водорода (рис. 39 А) и гидроксильных радикалов (рис. 39 Б). Показано, что БС, а также композитные материалы на основе БС, содержащие различные концентрации НЧ

ZnO, не влияли на образование перекиси водорода и гидроксильных радикалов в водных растворах. Отмечалась тенденция к увеличению интенсивности образования рассматриваемых АФК пропорционально росту концентрации НЧ ZnO в полимерной матрице БС.



Рисунок 39. Влияние БС–НЧ ZnO композитных материалов на образование активных форм кислорода в водных растворах. А — генерация пероксида водорода (2 ч, 40 °C); Б — генерация гидроксильных радикалов (2 ч, 80 °C); * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Исследовано влияние композитного материала на основе БС и НЧ ZnO на образование 8-ОГ в ДНК и ДАФБ (рис. 40 A, Б). Показано, что при контакте водных растворов белков и ДНК с БС, не содержащим НЧ ZnO, а также БС–НЧ ZnO композитными материалами, скорость образования и распада ДАФБ не отличалась от контрольных значений; содержание 8-ОГ в ДНК *in vitro* также существенно не изменялось. Отмечалась тенденция к увеличению количества образующихся ДАФБ, а также 8-ОГ в ДНК при функционализации БС НЧ ZnO в концентрациях 0,01 и 0,1%.



Рисунок 40. Влияние БС–НЧ ZnO композитных материалов на формирование окислительных повреждений биомолекул. А — образование 8-ОГ в ДНК *in vitro*, Б — динамика образования активных долгоживущих форм белков. * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Результаты микробиологических исследований показали, что образцы БС без добавления НЧ ZnO не влияли на рост планктонных клеток *E. coli* (рис. 41). Добавление НЧ ZnO в матрицу БС статистически значимо ингибировало рост бактериальных клеток, культивируемых в контакте с поверхностями БС–НЧ ZnO композитных материалов, на 90 и 96 % при концентрации наночастиц 0,01 и 0,1% соответственно.



Рисунок 41. Влияние БС–НЧ ZnO композитных материалов на рост суспензионных культур клеток *E. coli,* * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Было также исследовано влияние БС–НЧ ZnO композитных материалов на жизнеспособность клеток линии SH-SY5Y. Доля нежизнеспособных клеток в культурах группы «контроль» не превышала 4%. Примерно такое же количество нежизнеспособных клеток наблюдалось при культивировании на поверхности БС без HЧ ZnO или содержащем 0,001% HЧ. Значение показателя доли нежизнеспособных клеток в культурах значительно изменялись только в культурах, локализованных на поверхностях БС–НЧ ZnO композитных материалов, содержащих 0,1% HЧ ZnO, и составляло около 7,5% (рис. 42 A).





Рисунок 42. Результаты оценки жизнеспособности культур клеток линии SH-SY5Y, культивируемых в течение 72 часов на поверхностях композитных материалов на основе БС, функционализированных HЧ ZnO. А — доля (%) нежизнеспособных клеток в культуре; Б — митотический индекс; В — плотность клеточных культур; Г — доля (%) площади поверхности образца композитного материала, свободная от клеток, # — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, *t*-критерий Стьюдента; * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, ANOVA

Для анализа способности клеток к делению оценивался показатель митотического индекса клеток. Митотический индекс составил 0,8-1,1% при культивировании клеток на поверхностях плёнок БС–НЧ ZnO композитных материалов и значительно не изменялся, по сравнению с контрольными значениями (рис. 42 Б). Плотность клеточных культур, культивируемых в течение 3-х суток *in vitro* на поверхностях композитных материалов на основе БС и HЧ ZnO, достигала 700–900 клеток/мм², отмечалась тенденция к снижению плотности клеточных культур, культивируемых на поверхностях БС–НЧ ZnO композитных материалов (рис. 42 В). В то же время через 72 ч культивирования на поверхностях всех образцов композитных материалов клетки занимали около 70–75% доступной для роста поверхности (рис. 42 Г).

3.2.4. Свойства композитных материалов на основе ПТФЭ, содержащих НЧ оксида цинка

Композитный материал ПТФЭ–НЧ ZnO наносили на поверхность поврежденного тефлонового кубика (глубина повреждения <1 мм). Было обнаружено, что композитный ПТФЭ– НЧ ZnO материал равномерно покрывает поврежденную поверхность тефлонового образца (рис. 43 A), а также заполняет любые имеющиеся видимые дефекты (рис. 43 Б).



Рисунок 43. Фотография поврежденного участка образца тефлона до (А) и после (Б) нанесения ПТФЭ–НЧ ZnO композитного материала

С помощью ACM установлено, что поверхности образцов пленок композитных материалов после добавления HЧ ZnO даже в максимальной концентрации 0,1% практически не имеют значительных дефектов. На анализируемых участках неоднородность поверхности не превышала нескольких нанометров (рис. 44).



Рисунок 44. Реконструкция поверхности ПТФЭ–НЧ ZnO композитного материала, полученная при помощи ACM

Метод МИМ использовали для оценки распределения НЧ ZnO внутри полимерной матрицы. В ПТФЭ без добавления НЧ ZnO участков со значительной разницей фаз обнаружено не было. Разность фаз в подавляющем большинстве анализируемых участков полимера не превышала в среднем десятков нанометров (рис. 45 А). При добавлении НЧ ZnO в концентрации 0,001% были обнаружены области со значительной разницей фаз. Эти участки могут свидетельствовать о локальном увеличении плотности НЧ или наличии агрегатов НЧ ZnO внутри полимерной матрицы. Размеры областей с высоким фазовым переходом составляли 0,1–0,5 мкм (рис. 45 Б). При увеличении концентрации введенных НЧ до 0,01 % наблюдалось увеличение размеров таких зон до 0,2–2,0 мкм. Разность фаз при этом составляла 100–150 нм (рис. 45 В). Добавление НЧ ZnO в концентрации 0,1 % привело к увеличению размера аггрегатов до 1,0–4 мкм. Кроме того, наблюдалось увеличение разности фаз до 200–240 нм (рис. 45 Г).



Рисунок 45. Результаты анализа распределения НЧ ZnO в матрице ПТФЭ с помощью МИМ: А — ПТФЭ без добавления наночастиц; Б — ПТФЭ с добавлением 0,001 % НЧ Fe₂O₃; В — ПТФЭ с добавлением 0,01 % НЧ ZnO; Г — ПТФЭ с добавлением 0,1% НЧ ZnO. Изображения представлены в виде трехмерных реконструкций, где оси абсцисс и ординат соответствуют реальному расстоянию в мкм. По оси Z отображается разность фаз в нм (чем больше разность фаз, тем выше значение по оси Z). Исходные данные о пространственном распределении разности фаз в анализируемом образце показаны в нижних левых углах каждой панели

Была также изучена способность ПТФЭ–НЧ ZnO композитных материалов усиливать образование AФK (перекиси водорода и гидроксильных радикалов) в водных растворах (рис. 46). ПТФЭ без добавления HЧ ZnO, а также образцы ПТФЭ–НЧ ZnO, содержащие HЧ в диапазоне концентраций 0,001–0,1%, значительно не влияли на продукцию ни перекиси водорода (рис. 46 А), ни гидроксильных радикалов (рис. 46 Б). Отмечалась тенденция к увеличению концентрации рассматриваемых АФК при инкубации с образцами композитных материалов.



Рисунок 46. Влияние ПТФЭ–НЧ ZnO композитных материалов на образование активных форм кислорода в водных растворах. А — генерация пероксида водорода (2 ч, 40 °C); Б — генерация гидроксильных радикалов (2 ч, 80 °C); * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Для изучения потенциального влияния полученных композитных материалов на биополимеры, была проведена количественная оценка продукции ключевого биомаркера повреждения ДНК, 8-ОГ, а также ДАФБ. В группе «контроль», без образца композитного материала, образование 8-ОГ составляло ~1,5/10⁵ гуанинов ДНК (рис. 47 А). Интенсивность хемилюминесценции ДАФБ в контрольной группе не превышала 300 имп./мин. Период полураспада ДАФБ составлял ≥ 5 часов (рис. 47 Б). Установлено, что ПТФЭ без НЧ ZnO не влиял на образование 8-ОГ (рис. 47 А) и ДАФБ (рис. 47 Б). Добавление НЧ ZnO в полимерные матрицы ПТФЭ не приводило к статистически значимому образованию 8-ОГ в ДНК и ДАФБ, однако отмечалась тенденция к увеличению концентрации 8-ОГ в ДНК и ДАФБ при контакте с композитными материалами.



Рисунок 47. Влияние ПТФЭ–НЧ ZnO композитных материалов на формирование окислительных повреждений биомолекул. А — образование 8-ОГ в ДНК *in vitro*, Б — динамика образования активных долгоживущих форм белков. * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Для оценки способности ингибировать рост планктонных клеток E. coli (рис. 48), а также свойства в бактерий-патогенов проявлять антибактериальные отношении пищевого происхождения (рис. 49) композитными ПТФЭ-НЧ ZnO полимерными композитными были проведены микробиологические исследования. Установлено, материалами что композитные покрытия на основе ПТФЭ, функционализированного НЧ ZnO, ингибировали деление планктонных клеток E. coli. ПТФЭ, не содержащий НЧ ZnO не оказывал эффекта, и в объеме среды ЛБ содержалась та же концентрациях кишечных палочек (2600±200 кл./мм²), что и в контрольной группе (2700±300 кл./мм²). При культивировании клеток *E. coli* в течение 24 ч. в контакте с поверхностями ПТФЭ-НЧ ZnO композитных материалах концентрация бактериальных клеток была на ~88 и ~99% ниже в присутствии образцов материалов, содержащих 0,01 и 0,01% НЧ ZnO, соответственно, по сравнению с контрольными значениями.



Рисунок 48. Влияние ПТФЭ–НЧ ZnO композитных материалов на рост суспензионных культур клеток *E. coli,* * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Полимерная матрица ПТФЭ без добавления НЧ ZnO не влияла на рост колоний всех исследованных бактерий-изолятов пищевых производств (рис. 49) через 6 и 18 часов инкубации. Добавление 0,001% НЧ ZnO значительно ингибировало рост всех исследованных микроорганизмов. Через 6 ч. инкубации в смывах со всех образцов композитных материалов было обнаружено не более 12 КОЕ/мл. Через 16 ч концентрация КОЕ/мл грамотрицательных Р. aeruginosa и S. enterica серотип Typhimurium, а также грамположительных L. monocytogenes и S. *аигеиs* снизилось на три порядка, по сравнению с контролем. На поверхностях ПТФЭ–НЧ ZnO композитных материалов, содержащих 0,01% НЧ, через 6 ч культивирования, КОЕ исследуемых микроорганизмов не наблюдалось. После 18 ч инкубации на поверхностях ПТФЭ-НЧ ZnO композитных покрытий, содержащих 0,01% НЧ ZnO, наблюдалось уменьшение численности грамотрицательных бактерий P. aeruginosa и S. enterica серотип Typhimurium на два порядка, в то же время отмечалось уменьшение числа КОЕ грамположительных бактерий L. monocytogenes и S. aureus на три порядка, по сравнению с контролем. На композитном материале $\Pi T \Phi \Im$ -HY ZnO, содержащем 0,1% НЧ ZnO через 6 ч КОЕ всех четырех исследованных видов бактерий не регистрировались. Через 16 ч. количество КОЕ всех рассматриваемых микроорганизмов не превышало ≤5. Проведенное микробиологическое исследование показало, что покрытие ПТФЭ– НЧ ZnO обладает выраженной бактерицидной активностью как В отношении грамположительных (S. aureus, L. monocytogenes) (рис. 49 А,Б), так и грамотрицательных бактерий (P. aeruginosa, S. enterica серотип Typhimurium) (рис. 49 В,Г). Антибактериальный эффект не зависел от грам-принадлежности бактерий.


Рисунок 49. Влияние ПТФЭ–НЧ ZnO композитных материалов на рост и развитие грамположительных (А — S. aureus, Б — L. monocytogenes) и грамотрицательных (В — P. aeruginosa, Г — S. enterica cep. Typhimurium) бактерий; «контроль -» — поверхности тефлона без покрытия, «контроль +» — ПТФЭ покрытие без добавления НЧ ZnO, Время инкубации 6 и 8 часов; * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

С помощью флуоресцентной микроскопии было изучено влияние ПТФЭ–НЧ ZnO (0,1%) композитного материала на разрушение бактериальных биоплёнок. Бактериальные биоплёнки находились в контакте с композитным материалом в течение нескольких часов. Было установлено, что непокрытая поверхность фторопласта и участки, покрытые ПТФЭ без НЧ не влияет на жизнеспособность бактериальных клеток, входящих в состав биопленки. При этом контакт биоплёнки с композитным материалом на основе ПТФЭ, содержащего 0,1% НЧ ZnO, приводит к практически полной нежизнеспособности бактериальных клеток, образующих биопленки (рис.50).

109



Рисунок 50. Репрезентативные микрофотографии бактериальных биопленок, окрашенных SYTO® 9 (жизнеспособные — зеленые клетки) и PI (мертвые — красные клетки), обнаруженных на: А — поверхности тефлона без покрытия («контроль -»), Б — ПТФЭ покрытие без добавление НЧ ZnO («контроль +»), В — композитное покрытие ПТФЭ–НЧ ZnO, содержащее 0,1% НЧ ZnO

110

Примечательно, что большинство мертвых клеток, обнаруженных на поверхности ПТФЭ– НЧ ZnO композитного покрытия, имели аномальную морфологию (рис. 50 В). Таким образом, композитные покрытия ПТФЭ–НЧ ZnO, функционализированные 0,1% НЧ ZnO, обладали явными бактерицидными свойствами и способствовали разрушению бактериальных биопленок.

Исследования воздействия полученных ПТФЭ–НЧ ZnO композитных материалов в отношении первичных культур клеток фибробластов легких мыши показали, что поверхности ПТФЭ покрытий без HЧ ZnO слабо влияли на рост и развитие клеток; ПТФЭ–HЧ ZnO композитные покрытия, содержащие 0,1% HЧ ZnO, способствовали статистически значимому увеличению процента нежизнеспособных клеток в культурах (4,08±0,87) к четвертому дню культивирования *in vitro* (рис. 51 А),. Также, отмечалась тенденция к уменьшению плотности клеточных культур на поверхностях пленок ПТФЭ–HЧ ZnO композитных материалов по сравнению с культурами, растущими на поверхности ПТФЭ без HЧ ZnO (рис. 51 Б). Важно отметить, что явных морфологических изменений в клетках, локализованных на рассматриваемом покрытии на основе ПТФЭ, содержащем 0,1% HЧ ZnO, не наблюдалось (рис. 51 В).



Рисунок 51. Результаты оценки жизнеспособности культур клеток фибробластов мыши, культивируемых в течение 72 часов на поверхностях композитных материалов на основе политетрафторэтилена с добавлением 0,1% НЧ ZnO. А — доля (%) нежизнеспособных клеток в культуре, Б — плотность клеточных культур, В — репрезентативная микрофотография клеточной культуры на поверхности рассматриваемого композитного материала; # — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. р <0,05, *t*-критерий Стьюдента; * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, ANOVA

3.3. Свойства композитных материалов, функционализированных НЧ оксида алюминия 3.3.1. Синтез и характеризация НЧ оксида алюминия

Используемые коллоидные растворы НЧ оксида алюминия для синтеза композитных материалов имели унимодальное и довольно узкое распределение гидродинамического диаметра НЧ (рис. 52 A). Средний гидродинамический диаметр НЧ составлял около 55 нм. Концентрация НЧ была порядка $4,3 \times 10^8$ НЧ /мл. Распределение ζ-потенциала НЧ было унимодальным (рис. 52 Б). ζ-потенциал НЧ был распределен в диапазоне от +33 до +68 мВ. Максимум распределения ζ-потенциала составил +50,6 мВ. Спектр поглощения коллоидного раствора соответствовал спектру НЧ Al₂O₃ (рис. 52 В). При помощи ПЭМ было установлено, что НЧ имеют сферическую морфологию (рис. 52 Г).



Рисунок 52. Физико-химические свойства синтезированных НЧ Al₂O₃. А — концентрация (синяя линия) и распределение по размерам (черная линия) НЧ Al₂O₃; Б — распределение ζ-потенциала НЧ Al₂O₃; В — спектр оптического поглощение водного коллоидного раствора НЧ Al₂O₃; Г — ПЭМ-изображение группы НЧ Al₂O₃

С помощью энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии установлено, что полученные наночастицы состоят из химических элементов алюминия и кислорода. Соотношение атомов Al/O = 0,65 соответственно. Следовательно полученные HЧ преимущественно состоят из Al₂O₃ (рис. 53).



Рисунок 53. Соотношение элементов, входящих в состав НЧ оксида железа, определенное при помощи метода энергодисперсионной спектроскопии. А — увеличенное место измерения; Б — профиль наночастиц по Al Кα1 и О Ка1

3.3.2. Свойства композитных материалов на основе ПЛГА, содержащих НЧ оксида алюминия

Полученные композитные материалы на основе ПЛГА, содержащие НЧ Al₂O₃ (0.001– 0.1 %) имели гладкую поверхность без дефектов и шероховатостей. С помощью АСМ было подтверждено отсутствие значительных дефектов на поверхностях образцов пленок ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов (рис. 54).



Рисунок 54. 3D-реконструкция поверхности ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитного материала, полученная при помощи ACM

Показатель преломления ПЛГА при 405 нм составляет 1,47. Показатель преломления HЧ Al₂O₃ при 405 нм составляет 1,79. Разница между значениями показателей преломления составляет более 0,3, что позволяет идентифицировать НЧ в полимерной матрице при помощи МИМ (рис. 55). ПЛГА без НЧ не содержит ярко выраженных внутренних структур. При добавлении в полимерную матрицу ПЛГА НЧ Al₂O₃ в композите обнаруживались области с

112

повышенной концентрацией НЧ при всех исследованных концентрациях НЧ Al₂O₃ (0,001–0,1 %) (рис. 55 Б–Г).



Рисунок 55. Результаты анализа распределения НЧ Al₂O₃ в матрице ПЛГА с помощью МИМ: А — ПЛГА без добавления наночастиц; Б — ПЛГА с добавлением 0,001 % НЧ Fe₂O₃; В — ПЛГА с добавлением 0,01 % НЧ Al₂O₃; Г — ПЛГА с добавлением 0,1% НЧ Al₂O₃. Изображения представлены в виде трехмерных реконструкций, где оси абсцисс и ординат соответствуют реальному расстоянию в мкм. По оси Z отображается разность фаз в нм (чем больше разность фаз, тем выше значение по оси Z). Исходные данные о пространственном распределении разности фаз в анализируемом образце показаны в нижних левых углах каждой панели

Набег фаз, отражающий размер таких скоплений НЧ, увеличивался с ростом концентрации НЧ Al₂O₃. Наиболее выраженные локальные скопления НЧ Al₂O₃ наблюдались при концентрации НЧ 0,1 % и достигали нескольких микрометров. Полученные данные свидетельствуют о неравномерном распределении НЧ Al₂O₃ в матрицах ПЛГА. Концентрация НЧ в некоторых участках полимерной матрицы достаточно высока.

Результаты термического анализа ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов показаны на рис. 57. Для полимерной матрицы без НЧ Al₂O₃ значения ΔC_p и T_g составляют и ~0,56 Дж/(г×К) и 319 К соответственно. Добавление НЧ Al₂O₃ уменьшает теплоемкость композита, по сравнению с чистым ПЛГА (рис. 56 В). Данная тенденция усиливалась с увеличением концентрации НЧ в полимере. При концентрации НЧ Al₂O₃ 0,001 % T_g составила 317 K, а при 0,1% T_g увеличилась до ~ 322 K (рис. 56 Б).



Рисунок 56. Результаты термического анализа синтезированных ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов; А — термограммы, полученные в режиме нагрева и охлаждения материала на основе ПЛГА и НЧ Al₂O₃ различной концентрации; Б — зависимость теплоемкости и В — температуры стеклования от концентрации наночастиц в образцах

Оценивалась способность синтезированных ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов усиливать генерирацию AФK: H₂O₂ (рис. 57 A) и OH-радикалов (рис. 57 Б). Образцы ПЛГА без HЧ Al₂O₃, а также композитные материалы на основе ПЛГА, содержащие HЧ Al₂O₃, не влияли на генерацию исследованных AФK. Отмечалась тенденция к усилению генерации как перекиси водорода (рис. 57 A), так и OH-радикалов (рис. 57 Б) в водных растворах, инкубируемых с образцами ПЛГА–HЧ Al₂O₃ композитных материалов.



Рисунок 57. Влияние ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на образование активных форм кислорода в водных растворах. А — генерация пероксида водорода (2 ч, 40 °C); Б — генерация гидроксильных радикалов (2 ч, 80 °C); * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Было также исследовано влияние ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на образование 8-ОГ и ДАФБ (рис. 58). Аналогично, ПЛГА без НЧ Al₂O₃, образцы ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов не влияли на образование 8-ОГ в ДНК и ДАФБ (рис. 58 A,Б). Отмечалась тенденция к увеличению скорости образования данных соединений при инкубации с образцами ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов.

114



Рисунок 58. Влияние ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на формирование окислительных повреждений биомолекул. А — образование 8-ОГ в ДНК *in vitro*; Б — динамика образования ДАФБ. * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Исследования бактериостатических свойств ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов в отношении планктонных клеток *E. coli* показали, что ПЛГА без содержания HЧ Al₂O₃ и ПЛГА– HЧ Al₂O₃ композитные материалы, функционализированные 0,001 % и 0,01 % HЧ Al₂O₃, не изменяли скорость роста планктонных клеток *E. coli* (рис. 59). Увеличение концентрации HЧ Al₂O₃ в полимерной матрице ПЛГА до 0,1 % приводило к значительному ингибированию роста планктонных клеток *E. coli* на 74 %.



Рисунок 59. Влияние ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на рост суспензионных культур клеток *E. coli,* * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Была проведена оценка влияния синтезированных ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на жизнеспособность эукариотических клеток линии SH-SY5Y *in vitro* (рис. 60). В качестве контроля оценивалась жизнеспособность клеточных культур, растущих на культуральном пластике. Процент нежизнеспособных клеток в культурах контрольной группы составлял не более 4% (рис. 60 A). Митотический индекс контрольных клеточных культур составлял ~1,25 % (рис. 60 Б). Клетки, культивированные на поверхностях всех исследуемых образцов ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов, имели значения митотического индекса, сопостовимые с контрольными. Плотность клеточных культур группы «контроль» составляла

115

~1011 клеток/мм² (рис. 60 В). Статистически значимых различий показателя плотности клеточных культур, растущих на поверхностях ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалах и контрольной группой выявлено не было. Плотность клеток, растущих на ПЛГА, функционализированном 0,1% НЧ Al₂O₃, составила ~860 клеток/мм². Также, оценивалась способность клеточных культур адгезироваться и делиться на поверхностях полученных композитных материалов. Площадь свободной от клеток поверхности как ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов при всех исследованных концентрациях, так и на ПЛГА без НЧ не отличалась от контроля и составляла ~30% (рис. 60 Г). На основании полученных данных сделан вывод об отсутствии существенного влияния полученных ПЛГА–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на жизнеспособность клеточных культур линии SH-SY5Y.



Рисунок 60. Результаты оценки жизнеспособности культур клеток линии SH-SY5Y, культивируемых в течение 72 часов на поверхностях композитных материалов на основе ПЛГА, функционализированных H4 Al₂O₃. А — доля (%) нежизнеспособных клеток в культуре; Б — митотический индекс; В — плотность клеточных культур; Г — доля (%) площади поверхности образца композитного материала, свободная от клеток, # — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, *t*-критерий Стьюдента; * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, ANOVA

3.3.3. Свойства композитных материалов на основе БС, содержащих НЧ оксида алюминия

На рис. 61 представлены концентрационные зависимости действительной и мнимой частей динамического модуля упругости при различных концентрациях НЧ оксида алюминия. С увеличением концентрации НЧ Al₂O₃ наблюдается повышение БС–НЧ Al₂O₃ композитных материалов. БС имеет сложные реологические реакции при приложении нагрузок сдвига из-за микроструктурной реорганизации.





Рисунок 61. Влияние добавления HU Al₂O₃ к полимеру БС на механические спектры композитных материалов. Модуль накопления — синий цвет, модуль потерь — красный цвет. А — зависимость изменения механических спектров композитов от круговой частоты вращения, Б — температурная зависимость изменения механических спектров композитов

БС-НЧ Al₂O₃ композитный материал проявляет неньютоновские свойства, постепенно уменьшающиеся с ростом температуры во всем диапазоне температур.

НЧ Al₂O₃ и БС существенно различаются по своим оптическим свойствам (показатель преломления на длине волны 405 нм БС равен 1.57, в то время как показатель преломления Al₂O₃ равен 1.99). В связи с этим использовался метод МИМ для оценки распределения HЧ Al₂O₃ в матрице БС. При добавлении в матрицу БС НЧ Al₂O₃ в концентрации 0,001% НЧ в объеме БС образуют области, значительно различающиеся по изменению фазы лазерного излучения (рис. 62 А,Б). При увеличении концентрации НЧ в полимере до 0,01 или 0,1% массы наблюдается слияние областей с повышенной концентрацией НЧ друг с другом с образованием вытянутых структур длиной в несколько микрометров (рис. 62 В,Г). Полученные данные позволяют утверждать, что наночастицы в полимере распределены неравномерно. Можно предположить, что области с большим набегом фазы являются центрами концентрации наночастиц в полимере.







Рисунок 62. Результаты анализа распределения HЧ Al₂O₃ в матрице БС с помощью МИМ: А — БС без добавления наночастиц; Б — БС с добавлением 0,001 % НЧ Fe₂O₃; В — БС с добавлением 0,01 % НЧ Al₂O₃; Г — БС с добавлением 0,1% НЧ Al₂O₃. Изображения представлены в виде трехмерных реконструкций, где оси абсцисс и ординат соответствуют реальному расстоянию в мкм. По оси Z отображается разность фаз в нм (чем больше разность фаз, тем выше значение по оси Z). Исходные данные о пространственном распределении разности фаз в анализируемом образце показаны в нижних левых углах каждой панели

Было исследовано влияние композитного материала БС–НЧ Al₂O₃ на образование перекиси водорода (рис. 63 A) и гидроксильных радикалов (рис. 63 Б). Показано, что матрица БС не влияет на образование перекиси водорода. Композитные материалы на основе БС, функционализированные НЧ Al₂O₃ значительно не влияли на образование рассматриваемых АФК в водных растворах, наблюдалась тенденция к увеличению интенсивности образования рассматриваемых АФК в водных растворах при концентрации НЧ Al₂O₃ 0,1 % в матрице БС.



Рисунок 63. Влияние БС–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на образование активных форм кислорода в водных растворах. А — генерация пероксида водорода (2 ч, 40 °C); Б — генерация гидроксильных радикалов (2 ч, 80 °C); * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Было исследовано влияние композитного материала на основе БС, функционализированного НЧ Al₂O₃ на образование 8-ОГ в ДНК *in vitro* (рис. 64 A). Было установлено, что ни матрица БС, ни БС–НЧ Al₂O₃ композитные материалы не влияют на образование 8-ОГ в ДНК *in vitro*. Отмечалась тенденция к увеличению образования 8оксогуанинов в ДНК на 65% при добавлении в полимерную матрицу НЧ Al₂O₃. Значительного влияния БС–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на окислительное повреждение белков с образованием ДАФБ также выявлено не было. Отмечалась тенденция к увеличению количества образующихся ДАФБ пропорционально увеличению концентрации НЧ Al₂O₃ в матрице БС (рис. 64 Б). В то же время БС–НЧ Al₂O₃ композитные материалы не влияли на среднее время полураспада ДАФБ, которое составляло около 4–5 ч. во всех экспериментальных группах.



Рисунок 64. Влияние БС–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на формирование окислительных повреждений биомолекул. А — генерация 8-ОГ в ДНК *in vitro*; Б — динамика образования ДАФБ. * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Были также проведены микробиологоческие исследования БС–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на деление планктонных клеток грамотрицательных бактерий *E. coli* (рис. 65). БС без НЧ не влиял на рост *E. coli*. Значительное уменьшение концентрации бактериальных клеток в объеме среды (на 81%) наблюдалось лишь при инкубации бактериальной суспензии в контакте с БС–НЧ Al₂O₃ композитными материалами, содержащими 0,1 % НЧ Al₂O₃.



Рисунок 65. Влияние БС–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на рост суспензионных культур клеток *E. coli,* * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Исследование влияния БС-НЧ Al₂O₃ композитных материалов на параметры, отражающие жизнеспособность культур клеток SH-SY5Y показало, что поверхности

полученных композитных материалов не оказывают значительного влияния на рост и развитие культур эукариотических клеток (рис. 66). Доля нежизнеспособных клеток составляла на поверхностях пленок БС–НЧ Al₂O₃ композитных материалов около 5–6,5 (рис. 66 A). Митотический индекс составил 1,0–1,3% при выращивании клеток на поверхностях БС–НЧ Al₂O₃ композитных материалов и не отличался от контрольных показателей (рис. 66 Б). Плотность клеток в культурах, адгезированных на поверхностях композитных материалов, достигала 900–1250 кл/мм² (рис. 66 В). Культуры клеток занимали около 70–75% доступной для роста поверхности образцов полимерных композитных материалов (рис. 66 Г).



Рисунок 66. Результаты оценки жизнеспособности культур клеток линии SH-SY5Y, культивируемых в течение 72 часов на поверхностях композитных материалов на основе БС, функционализированных HЧ Al₂O₃. A — доля (%) нежизнеспособных клеток в культуре; Б — митотический индекс; В — плотность клеточных культур; Г — доля (%) площади поверхности образца композитного материала, свободная от клеток,

— статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, *t*-критерий Стьюдента;

* — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. p < 0,05, ANOVA

3.3.4. Свойства композитных материалов на основе ПТФЭ, содержащих НЧ оксида алюминия

Синтезированные образцы композитных материалов на основе ΠΤΦЭ, функционализированных НЧ Al₂O₃, были нанесен на поверхности поврежденных образцов фторопласта. Высушенные покрытия были визуально гладкими И однородными (рис. 67). Полученный композитный материал обладал способностью заполнять видимые повреждения и имел хорошую адгезию к тестируемой поверхности.



Рисунок 67. Фотография поврежденного участка образца тефлона до (слева) и после (справа) нанесения ПТФЭ-НЧ Al₂O₃ композитного материала

АСМ подтвердила отсутствие существенных дефектов в микроструктуре поверхности композитного материала (рис. 68).



Рисунок 68. Реконструкция поверхности ПТФЭ–НЧ Al₂O₃ композитного материала, полученная при помощи АСМ

Показатель преломления ПТФЭ составляет 1,4 на длине волны 405 нм, в то же время показатель преломления НЧ Al₂O₃ составляет 1,77 на длине волны 405 нм, что позволило оценивать распределение наночастиц в полимерной матрице при помощи МИМ. Было обнаружено, что НЧ Al₂O₃ локализованы в полимере в виде неоднородно, образуя области с повышенным скоплением НЧ, размер которых увеличивался пропорционально росту концентрации НЧ Al₂O₃ в матрице ПТФЭ (рис. 69).



Рисунок 69. Результаты анализа распределения НЧ Al₂O₃ в матрице ПТФЭ с помощью МИМ: А — БС без добавления НЧ; Б — БС с добавлением 0,001 % НЧ Al₂O₃; В — БС с добавлением 0,01 % НЧ Al₂O₃; Г — БС с добавлением 0,1% НЧ Al₂O₃. Изображения представлены в виде трехмерных реконструкций, где оси абсцисс и ординат соответствуют реальному расстоянию в мкм. По оси Z отображается разность фаз в нм (чем больше разность фаз, тем выше значение по оси Z). Исходные данные о пространственном распределении разности фаз в нализируемом образце показаны в нижних левых углах каждой панели

Была также исследована способность полученных ПТФЭ–НЧ Al₂O₃ композитных материалов усиливать образование H₂O₂ и гидроксильных радикалов в водных растворах. Было установлено, что полученные композитные материалы не существенно влияют на образование рассматриваемых AФK. Отмечалась тенденция к увеличению концентрации перекиси водорода и гидроксильных радикалов в водных растворах, инкубируемых с пленками ПТФЭ–НЧ Al₂O₃ композитных материалов, содержащих HЧ Al₂O₃ (рис. 70 A, Б).



Рисунок 70. Влияние ПТФЭ–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на образование активных форм кислорода в водных растворах. А — генерация пероксида водорода (2 ч, 40 °C); Б — генерация гидроксильных радикалов (2 ч, 80 °C); * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

122

Установлено, что полимерные композитные материалы на основе ПТФЭ, функционализированные НЧ Al₂O₃ не значительно влияли на образование 8-ОГ в ДНК *in vitro*, а также ДАФБ. Отмечалась тенденция к увеличению 8-ОГ в ДНК в 1,5 раза; при концентрации НЧ 0,1%. Период полураспада ДАФБ после добавления НЧ Al₂O₃ не изменялся и составлял порядка 4–5 ч (рис. 71 Б).



Рисунок 71. Влияние ПТФЭ–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на формирование окислительных повреждений биомолекул. А — генерация 8-ОГ в ДНК *in vitro*; Б — динамика образования ДАФБ. * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

Было обнаружено, что полученные ПТФЭ–НЧ Al₂O₃ композитные покрытия, содержащие 0,01% НЧ Al₂O₃, обладают бактериостатическим действием в отношении суспензионных клеток *E. coli* (рис. 72). Аналогично материалам на основе БС и ПЛГА, содержащим различные концентрации НЧ Al₂O₃, статистически значимый бактериостатический эффект был обнаружен лишь при концентрации данных НЧ в матрице ПТФЭ 0,1%.



Рисунок 72. Влияние ПТФЭ –НЧ Al₂O₃ композитных материалов на рост суспензионных культур клеток *E. coli,* * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

При помощи метода микробиологических смывов и посевов на твердую питательную среду с последующим подсчетом КОЕ оценивались антибактериальные свойства полученных ПТФЭ–НЧ Al₂O₃ композитных материалов в отношении 2-х грамположительных (*L. monocytogenes*, *S. aureus*) и 2-х грамотрицательных (*P. aeruginosa*, *S. typhimurium*) бактериальных изолятов, выделенных на пищевых производствах. Установлено, что поверхности полученных ПТФЭ–НЧ Al₂O₃ композитных материалов, содержащих 0,1% НЧ Al₂O₃ в составе, значительно ингибировали рост всех рассматриваемых бактериальных клеток (рис. 73 A–Г).



ТКонтроль - Т Контроль + 7 0,1% НЧ Al2O3

Рисунок 73. Влияние ПТФЭ–НЧ Al₂O₃ композитных материалов на рост и развитие грамположительных (А — *S. aureus*, Б — *L. monocytogenes*) и грамотрицательных (В — *P. aeruginosa*, Г — *S. enterica* сер. *Typhimurium*) бактерий; «контроль -» — поверхности тефлона без покрытия, «контроль +» — ПТФЭ покрытие без добавления НЧ Al₂O₃, Время инкубации 6 и 8 часов; * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем, ANOVA, *p* <0,05

ПТФЭ–НЧ Al₂O₃ композитных Анализ влияния полученных материалов на жизнеспособность культур клеток фибробластов легких мыши показал отсутствие значимых различий в показателях доли нежизнеспособных клеток и плотности клеточных культур между культурами, локализованными на поверхностях композитных материалов и контрольными показателями (клетками, растущими на культуральном стекле) (рис. 74 А,Б). Процент нежизнеспособных клеток в группе «0,1% НЧ Al_2O_3 » составил 1,23 ± 0,25% (рис. 74 A). Плотность клеток, растущих на поверхностях ПТФЭ-НЧ Al₂O₃ композитных покрытий, составила $317 \pm 57,28$ клеток/мм². Таким образом, поверхность композитных ПТФЭ–НЧ Al₂O₃ покрытий, функционализированных НЧ Al₂O₃, не препятствовала адгезии, росту и нормальному развитию первичных культур клеток фибробластов мыши в течение 3 суток культивирования *in* vitro.



Рисунок 74. Результаты оценки жизнеспособности культур клеток фибробластов мыши, культивируемых в течение 72 часов на поверхностях композитных материалов на основе политетрафторэтилена с добавлением 0,1% НЧ Al₂O₃. А — доля (%) нежизнеспособных клеток в культуре, Б — плотность клеточных культур, В — репрезентативная микрофотография клеточной культуры на поверхности рассматриваемого композитного материала; # — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. р <0,05, *t*-критерий Стьюдента; * — статистически значимая разница, по сравнению с контролем. *p* <0,05, ANOVA

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработка новых композитных материалов на основе наночастиц оксидов металлов, является одной из многообещающих стратегий для преодоления проблемы бактериальной антибиотикорезистентности. Данная работа посвящена получению композитных материалов на основе наночастиц Fe₂O₃, ZnO, Al₂O₃ в составе полимерных матриц и исследованию биоактивных свойств данных композитных материалов.

Благодаря использованию метода лазерной абляции в воде была предварительно синтезирована «библиотека» коллоидных растворов НЧ трёх оксидов металлов (железа, цинка и алюминия). Данный метод позволяет синтезировать устойчивые коллоидные растворы наночастиц металлов и оксидов металлов, не требует применения блокирующих и стабилизирующих агентов; обеспечивает получение наночастиц необходимыми с морфологическими параметрами [Kim et al., 2017; Sportelli et al., 2018]. Синтезированные наночастицы были охарактеризованы с применением ряда методов, таких как: динамическое светорассеяние, электрофоретическое светорассеяние, просвечивающая электронная микроскопия и энергодисперсионная спектроскопия. Далее, на основании анализа литературных данных, а также серии предварительно проведенных микробиологических экспериментов, были отобраны образцы НЧ с необходимыми характеристиками. Используемые в дальнейшем наночастицы имели средний гидродинамический диаметр НЧ около 50 нм. Максимумы распределений ζ-потенциалов составляли порядка +20, +20 и +50 мВ для HЧ Fe₂O₃, ZnO и Al₂O₃, соответственно. Известно, что показатель ζ-потенциала отражает стабильность коллоидных систем. Чем более отличено от 0 значение ζ-потенциала по модулю, тем стабильнее коллоидный раствор. Как привило, при показателях <15 мВ по модулю наблюдается начало агломерации частиц [Bhattacharjee, 2016]. Поскольку мембраны и клеточные стенки бактериальных клеток, имеют отраицательный заряд, ζ-потенциал может влиять на способность НЧ адгезироваться на поверхности клеток, повреждать и проникать через клеточные мембраны [Clogston & Patri, 2011]. Еще одним немаловажным критерием в характеризации наноматериалов является определение состава и наличия примесей в составе НЧ. Был использован метод рентгеновской энергодисперсионной спектроскопии, позволяющий достаточно точно определять состав анализируемого при электронной микросокпии материала [Carlton et al., 2004]. Полученные наночастицы имеют в составе элементы соответствующего металла и кислород, без содержания побочных примесей. Для синтеза композитных материалов были выбраны 3 вида полимерных матриц: поли(лактид-ко-гликолид) (ПЛГА), боросилоксан, а также политетрафторэтилен. Используемые полимерные матрицы относились к различным классам полимеров и имели отличительные свойства, представляющие интерес для применения в биомедицинских целях и пищевой промышленности. Как известно, в процессе синтеза композитных материалов и при

формировании пленок или покрытий на их основе часто применяют высокотемпературные методы, что может негативно сказывается на микроструктуре получаемых композитов и часто приводит к возникновению поверхностных дефектов [Jawaid et al., 2018]. Наиболее дефектами распространенными синтезированных полимерных покрытий является растрескивание и осыпание, которые негативно влияют на целостность и эксплуатационные характеристики материала [Wu et al., 2023]. В связи с этим, была разработана технология низкотемпературного синтеза композитных материалов, основанная на использовании органических растворителей, а также был разработан лабораторный регламент, позволяющие получать образцы композитных материалов [Симакин 2022]. пленок И дp., Все синтезированные композитные материалы были охарактеризованы при помощи физикохимических методов. Как известно, классическим подходом для детекции дефектов на поверхностях материалов является использование атомно-силового микроскопа, обеспечивающего высокую разрешающую способность (до 0,1-1 нм по горизонтали и до 0,01 нм по вертикали) [Giessibl, 2003]. Было установлено, что образцы композитных материалов на основе ПЛГА и ПТФЭ и всех рассматриваемых НЧ оксидов металлов не имели значительных дефектов на поверхности, высота микрорельефа поверхностей пленок композитных материалов не превышала десятков нанометров. Однако использование атомно-силовой микроскопии для исследования топологии материалов на основе боросилоксана не представлялось возможным изза текучести этого полимера.

Другим важным аспектом является оценка распределения наночастиц в объеме полимера. Для этой задачи применялся метод модуляционно-интерференционной микроскопии, позволяющей различать вещества и смеси по оптическим свойствам (коэффициенту преломления) [Loparev et al., 2010]. Показатели преломления наночастиц оксидов железа, цинка и алюминия значительно отличались от коэффициентов преломления полимеров (2.50 для НЧ оксида железа, 2.02 для НЧ оксида цинка, 1.99 для НЧ оксида алюминия, 1.57 для боросилоксана, 1.47 для ПЛГА, 1.77 для политетрафторэтилена). Было установлено, что наночастицы неоднородно распределены в матрицах полимеров, образуя, вероятно, области с увеличенной концентрацией НЧ; размер таких областей возрастал до нескольких микрометров с увеличением концентрации НЧ в составе материалов. Такой процесс может быть объяснён тем, что при испарении растворителя полимера, используемого при синтезе композитного материала, на границе жидкость/пар образуется слой, который либо богат, либо беден НЧ, в зависимости от силы взаимодействия НЧ/полимер [Cheng & Grest, 2016].

Поскольку боросилоксан является полимером с изменяемыми вязкоупругими свойствами в зависимости от градиента скорости приложения внешнего воздействия и ведет себя как неньютоновская жидкость, то было важно оценивать влияние добавления НЧ оксидов металлов

на механические свойства получаемых композитных материалов. Проведенные реологические исследования полученных композитов на основе боросилоксана, функционализированного HЧ Fe₂O₃, HЧ ZnO и HЧ Al₂O₃ показали, что при малых частотах сдвига наблюдается преобладание вязких свойств БС над упругими, при этом с увеличением частоты сдвига вклад вязких свойств уменьшается. Из полученных результатов следует, что добавление HЧ в используемом диапазоне концентраций (0,001–0,1 %) не приводило к значительному изменению реологических свойств боросилоксана. Также установлено, что уменьшение вязкости при увеличении температуры в рассматриваемом диапазоне (295–335 K) являлось близким к линейному. В температурном диапазоне от 294 до 310 K, соответствующему температурному диапазону 21–37 °C, вязкость композитных материалов на основе боросилоксана уменьшалась незначительно, независимо от концентрации вносимых НЧ оксидов металлов.

В свою очередь, проведенный при помощи дифференциальной сканирующей калориметрии термический анализ материалов на основе ПЛГА показал, что функционализация данного полимера наночастицами рассматриваемых оксидов металлов в диапазоне концентраций 0,001–0,1 % не приводит к значительным изменениям теплоемкости композитного материала (ΔC_p) и температуры стеклования (T_g). При добавлении всех рассматриваемых НЧ оксидов металлов в матрицу ПЛГА наблюдалась тенденция к изменению T_g в интервале температур 317–320 К, что соответствует литературным данным для чистого ПЛГА [Ash et al., 2004; Chen et al., 2013; Serenko et al., 2017; Sharifzadeh & Cheraghi, 2021]. Значения ΔC_p также статистически не изменились при добавлении НЧ всех рассматриваемых оксидов металлов в матрицу ПЛГА.

Было также исследовано влияние синтезированных композитных материалов на генерацию биологически активных молекул — АФК. Количественная оценка образовавшихся перекиси водорода и гидроксильных радикалов, как основных представителей классов радикальных и нерадикальных АФК, показала, что значительному усилению генерации данных АФК в водных растворах способствовали лишь полимерные композитные материалы, содержащие HЧ Fe₂O₃. Наблюдаемый эффект, вероятнее всего, обусловлен усилением образования гидроксильных радикалов в водных растворах катионами металлов с переменной валентностью, в частности, ионами Fe²⁺, в результате реакции Фентона [Fenton, 1894]. Известно, что АФК являются высоко реакционноспособными соединениями, проявляющие биологическую активность, повреждающие биологические макромолекулы (мембранные липиды, белки и нуклеиновые кислоты) и являющиеся молекулами, участвующими в реализации антибактериальной активности [Dutta et al., 2012; Zuo et al., 2015]. Одними из мишеней воздействия АФК являются белки. Известно, что белки проявляют высокую реакционную способность к окислению. В присутствии кислорода в среде, АФК способны генерировать долгоживущие активные формы белков (ДАФБ), к которым относятся долгоживущие белковые радикалы и белковые

гидропероксиды. Также, ДАФБ могут являться источником вторичных свободных радикалов, вызывающих последующее повреждение других биомолекул. В связи с этим, оценивалась степень повреждения белковых молекул, опосредованного присутствием АФК в среде. Для ДАФБ был использован оценки образующихся высокочувствительный метод хемилюминесценции. Было установлено, что наиболее интенсивное образование ДАФБ наблюдалось при использовании образцов композитных материалов, функционализированных 0,1 % НЧ Fe₂O₃. Наиболее распространенным маркером окислительного стресса в ДНК является образование 8-оксогуанинов в ДНК. Данный продукт окисления гуанина приводит к образованию несовпадающих нуклеотидов с аденином, поскольку 8-ОГ комплементарен как цитозину, так и аденину. Вследствие таких ошибочных спариваний в ходе последующих актов репликации ДНК происходит замена пары Г-Ц на А-Т, процесс, также известный как трансверсия [Collins, 2000]. Примечательно, что, как и в результатах оценки образовавшихся ДАФБ, значительное образование 8-ОГ наблюдалось в экспериментальных группах с использованием композитных материалов, содержащих 0,1% НЧ Fe₂O₃. Полученные результаты свидетельствуют о более высокой окислительной способности композитных материалов, содержащих НЧ Fe₂O₃ и хорошо согласуются с полученными результатами количественной оценки образующихся АФК.

Были проведены микробиологические исследования всех синтезированных образцов композитных материалов в отношении планктонных клеток лабораторного штамма E. coli. Полимерные композитные материалы, содержащие НЧ Al₂O₃ проявляли бактериостатический эффект только при высоких концентрациях НЧ (0,1%) в полимерных матрицах. Бактериостатический эффект для полимерных композитных материалов, функционализированных НЧ Fe₂O₃ и ZnO наблюдался при концентрации данных НЧ от 0.01 %. Примечательно, что на фоне более высокой активности материалов, содержащих НЧ Fe₂O₃, усиливать образование АФК и способствовать окислению ДНК и белков in vitro, более выраженным бактериостатическим эффектом в отношении E. coli обладали композитные материалы, содержащие НЧ ZnO. Стоит отметить, что композитные материалы на основе политетрафторэтилена, функционализированные рассматриваемыми НЧ оксидов металлов в концентрации 0,1%, активно подавляли рост не только планктонных клеток *E. coli*, но и активно предотвращали рост колоний бактериальных изолятов, выделенных на пищевых производствах, в том числе, антибиотикорезистентных L. monocytogenes (устойчивые к азитромицину, эритромицину и сульфаметоксазолу) и S. enterica серотип Typhimurium (резистентные к азитромицину). Важно отметить, что композитные материалы на основе политетрафторэтилена, содержащие НЧ оксида цинка, обладали ярко выраженными бактерицидными свойствами в отношении всех рассматриваемых бактериальных изолятов; наблюдалось снижение числа КОЕ, выявленных на данных поверхностях, на >3 порядка. Визуализация при помощи

флуоресцентного окрашивания бактериальных клеток на поверхностях данных композитных покрытий также показала, что жизнеспособные клетки практически отсутствуют, а нежизнеспособные бактериальные клетки имеют нарушенную морфологию.

Для исследования влияния синтезированных композитных материалов на ключевые параметры роста и развития клеточных культур in vitro была проведена серия экспериментов с культурами эукариотических клеток линии SH-SY5Y и первичных культур фибробластов мыши. По результатам культивирования клеточных культур в течение 3 суток на поверхностях всех рассматриваемых композитных материалов было выявлено слабое воздействие на рост рассматриваемых клеточных культур; поверхности образцов пленок композитных материалов не препятствовали адгезии и делению клеток, морфология клеток не была значительно нарушена. Параметры митотического индекса, плотности клеточных культур, а также площади поверхности без клеток статистически не отличались от контрольных показателей. Показатели процента нежизнеспособных клеток статистически значимо отличались от контрольной группы только в культурах, растущих на поверхностях композитных материалов, содержащих 0,1% НЧ оксида железа (в случае композитных материалов на основе БС и ПЛГА) и 0,1% НЧ оксида цинка (для всех композитных материалов); средний процент нежизнеспособных клеток в клеточных культурах, визуализированных на поверхностях данных полимерных композитных образцов, не превышал 10%. Слабое влияние исследуемых композитных материалов на жизнеспособность клеток in vitro может быть обусловлено как оптимальным диапазоном концентраций рассматриваемых НЧ, так и свойствами применяемых полимерных матриц, отличающихся высокой степенью биосовместимости и способных обеспечивать уменьшение цитотоксического эффекта при использовании в качестве матриц для конструирования композитных материалов. Известно, что ПЛГА за счет биоразлагаемых свойств находит активное применение в медицине. Кремнийорганические соединения, к которым относится боросилоксан, также проявляют низкое токсическое действие в отношении клеток и тканей и находят широкое применение при изготовлении биосовместимых смазок, полимеров, резин. В свою очередь, политетрафторэтилен также имеет доказанную биоинертность и одобрен для повсеместного, в том числе и для бытового использования, применения в составе медицинских приборов, а также для пищевой промышленности.

Подводя итог, можно предположить, что полученные полимерные композитные материалы могут являться перспективной основой для изготовления антибактериальных покрытий для оборудования пищевой промышленности, биомедицинской техники и аппаратов автономного использования.

выводы

На основании проведенной диссертационной работы можно сформулировать следующие выводы:

1. Благодаря разработанному низкотемпературному методу, получены образцы композитных материалов на основе полимеров ПЛГА, боросилоксана и политетрафторэтилена, содержащие наночастицы оксидов железа, цинка и алюминия. Образцы пленок, изготовленные из полученных материалов, не обладали значительными дефектами поверхностей.

2. Показано, что композитные материалы на основе ПЛГА, боросилоксана и политетрафторэтилена с добавлением наночастиц оксидов цинка и алюминия существенно не влияют на интенсивность генерации активных форм кислорода в водных растворах, не способствуют окислительному повреждению ДНК и белков *in vitro*. Все композитные материалы, содержащие 0,1% наночастиц оксида железа, увеличивали генерацию АФК и поврежденность биополимеров. По сравнению с контролем, повышенная генерация АФК также наблюдалась при меньших концентрациях наночастиц оксида железа в полимере, вплоть до 0,001% для материала на основе ПЛГА.

3. Установлено, что полученные композитные материалы проявляют выраженные бактериостатические свойства по отношению к суспензионным культурам клеток *E. coli*, при этом наиболее выраженную бактериостатическую активность проявляют материалы, содержащие НЧ оксида цинка. Материалы на основе НЧ оксида цинка обладали ярко выраженными бактерицидными свойствами относительно резистентных патогенных микроорганизмов *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. enterica* серотип *Typhimurium*, предотвращая образования биопленок на поверхности.

4. Показано, что негативное влияние полученных композитных материалов менее выражено в отношении культур эукариотических клеток, по сравнению с прокариотическими клетками.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах:

Burmistrov D.E., Simakin A.V., Smirnova V.V., Uvarov O.V., Ivashkin P.I., Kucherov R.N., Ivanov V.E., Bruskov V.I., Sevostyanov M.A., Baikin A.S., Kozlov V.A., Rebezov M.B., Semenova A.A., Lisitsyn A.B., Vedunova M.V., Gudkov S.V. Bacteriostatic and Cytotoxic Properties of Composite Material Based on ZnO Nanoparticles in PLGA Obtained by Low Temperature Method // Polymers. 2021. Vol. 14. p. 49. [doi: 10.3390/polym140100491].

Burmistrov D.E., Yanykin D.V., Paskhin M.O., Nagaev E.V., Efimov A.D., Kaziev A.V., Ageychenkov D. G., Gudkov S.V. Additive Production of a Material Based on an Acrylic Polymer with a Nanoscale Layer of Zno Nanorods Deposited Using a Direct Current Magnetron Discharge: Morphology, Photoconversion Properties, and Biosafety // Materials. 2021. Vol. 14. p. 21. [doi: 10.3390/ma14216586].

Burmistrov D.E., Serov D.A., Simakin A.V., Baimler I.V., Uvarov O.V., Gudkov S.V. A Polytetrafluoroethylene (PTFE) and Nano-Al₂O₃ Based Composite Coating with a Bacteriostatic Effect against *E. coli* and Low Cytotoxicity // Polymers. 2022. Vol. 14, p. 4764.

Gudkov S.V., **Burmistrov D.E**., Serov D.A., Rebezov M.B., Semenova A.A., Lisitsyn A.B. A Mini Review of Antibacterial Properties of ZnO Nanoparticles // Frontiers in Physics. 2021. Vol. 9. p. 641481. [doi: 10.3389/fphy.2021.641481].

Gudkov S.V., **Burmistrov D.E**., Serov D.A., Rebezov M.B., Semenova A.A., Lisitsyn A.B. Do iron oxide nanoparticles have significant antibacterial properties? // Antibiotics. 2021. Vol. 10. p. 884. [doi: 10.3390/antibiotics10070884].

Gudkov S.V., **Burmistrov D.E**., Smirnova V.V., Semenova A.A., Lisitsyn A.B. A Mini Review of Antibacterial Properties of Al₂O₃ Nanoparticles // Nanomaterials. 2022. Vol. 12. p. 2635. [doi: 10.3390/nano12152635].

Serov D.A., **Burmistrov D.E**., Simakin A.V., Astashev M.E., Uvarov O.V., Tolordava E.R., Semenova A.A., Lisitsyn A.B., Gudkov S.V. Composite Coating for the Food Industry Based on Fluoroplast and ZnO-NPs: Physical and Chemical Properties, Antibacterial and Antibiofilm Activity, Cytotoxicity // Nanomaterials. 2022. Vol. 12, p. 4158.

Chausov D.N., **Burmistrov D.E**., Kurilov A.D., Bunkin N.F., Astashev M.E., Simakin A.V., Vedunova M.V., Gudkov S.V. New Organosilicon Composite Based on Borosiloxane and Zinc Oxide Nanoparticles Inhibits Bacterial Growth, but Does Not Have a Toxic Effect on the Development of Animal Eukaryotic Cells // Materials. 2021. Vol. 14. p. 6281. [doi: 10.3390/ma14216281].

Gudkov S.V., **Burmistrov D.E.**, Lednev V.N., Simakin A.V., Uvarov O.V., Kucherov R.N., Ivashkin P.I., Dorokhov A.S., Izmailov A.Yu. Biosafety Construction Composite Based on Iron Oxide Nanoparticles and PLGA // Inventions. 2022. Vol. 7. p. 61. [doi: 10.3390/inventions7030061]. Serov D.A., Baimler I.V., **Burmistrov D.E.**, Baryshev A.S., Yanykin D.V., Astashev M.E., Simakin A.V., Sergey V Gudkov. The Development of New Nanocomposite Polytetrafluoroethylene/Fe₂O₃ NPs to Prevent Bacterial Contamination in Meat Industry // Polymers. 2021. Vol. 22. p. 4880.

Astashev M.E., Sarimov R.M., Serov D.A., Matveeva T.A., Simakin A.V., Ignatenko D.N., **Burmistrov D.E.**, Smirnova V.V., Kurilov A.D., Mashchenko V.I., Ivashkin P.I., Uvarov O.V., Voronov V.V., Shkirin A.V., Nagaev E.V., Efimov A.D., Ivanov V.E., Bruskov V.I., Dubinin M.V., Sharapov M.G., Kozlov V.A., Bunkin N.F., Volkov M.Yu., Vedunova M.V., Rebezov M.B., Semenova A.A., Lisitsyn A.B., Glinushkin A.P., Chausov D.N., Gudkov S.V. Antibacterial behavior of organosilicon composite with nano aluminum oxide without influencing animal cells // Reactive and Functional Polymers. 2022. Vol. 170. p. 105143. [doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105143].

Hoy-xay:

Симакин А.В., Бурмистров Д.Е., Гудков С.В. Секрет производства (ноу-хау): «Способ получения полимерных композитных материалов с антибактериальными свойствами». Приказ №313 от 31.10.2022 г. Правообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный научный центр Пищевые системы Российской академии наук.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

 Abdel-Naby A. S., Nabil S., Aldulaijan S., Ababutain I. M., Alghamdi A. I., Almubayedh S., Khalil K. D. Synthesis, Characterization of Chitosan-Aluminum Oxide Nanocomposite for Green Synthesis of Annulated Imidazopyrazol Thione Derivatives // Polymers. – 2021. – V. 13, № 7. – P. 1160.
 AbdElhady M. M. Preparation and Characterization of Chitosan/Zinc Oxide Nanoparticles for

Imparting Antimicrobial and UV Protection to Cotton Fabric // International Journal of Carbohydrate Chemistry. - 2012. - V. 2012. - P. 840591. https://doi.org/10.1155/2012/840591

3. Agarwal H., Shanmugam V. A review on anti-inflammatory activity of green synthesized zinc oxide nanoparticle: Mechanism-based approach // Bioorg Chem. – 2020. – V. 94. – P. 103423. https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103423

4. Ahmed T., Wu Z., Jiang H., Luo J., Noman M., Shahid M., Manzoor I., Allemailem K. S., Alrumaihi F., Li B. Bioinspired green synthesis of zinc oxide nanoparticles from a native Bacillus cereus strain RNT6: characterization and antibacterial activity against rice panicle blight pathogens Burkholderia glumae and B. gladioli // Nanomaterials. -2021. - V. 11, No 4. - P. 884.

5. Aiswarya Devi S., Harshiny M., Udaykumar S., Gopinath P., Matheswaran M. Strategy of metal iron doping and green-mediated ZnO nanoparticles: dissolubility, antibacterial and cytotoxic traits // Toxicology Research. – 2017. – V. 6, № 6. – P. 854-865. https://doi.org/10.1039/c7tx00093f

6. Akbar A., Sadiq M. B., Ali I., Muhammad N., Rehman Z., Khan M. N., Muhammad J., Khan S. A., Rehman F. U., Anal A. K. Synthesis and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens Salmonella typhimurium and Staphylococcus aureus // Biocatalysis and agricultural biotechnology. – 2019. – V. 17. – P. 36-42.

Al-Hada N. M., Kamari H. M., Abdullah C. A. C., Saion E., Shaari A. H., Talib Z. A., Matori K.
A. Down-top nanofabrication of binary (CdO) x (ZnO) 1–x nanoparticles and their antibacterial activity
// International journal of nanomedicine. – 2017. – V. 12. – P. 8309.

8. Al-Jumaili A., Mulvey P., Kumar A., Prasad K., Bazaka K., Warner J., Jacob M. V. Eco-friendly nanocomposites derived from geranium oil and zinc oxide in one step approach // Scientific Reports. – 2019. – V. 9, № 1. https://doi.org/10.1038/s41598-019-42211-z

 Al-Shabib N. A., Husain F. M., Ahmed F., Khan R. A., Khan M. S., Ansari F. A., Alam M. Z., Ahmed M. A., Khan M. S., Baig M. H., Khan J. M., Shahzad S. A., Arshad M., Alyousef A., Ahmad I. Low Temperature Synthesis of Superparamagnetic Iron Oxide (Fe₃O₄) Nanoparticles and Their ROS Mediated Inhibition of Biofilm Formed by Food-Associated Bacteria // Frontiers in Microbiology. – 2018. – V. 9. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02567

10. Alagiri M., Hamid S. B. A. Synthesis, characterization and photocatalytic application of α -Fe₂O₃ microflower // Materials Letters. – 2014. – V. 136. – P. 329-332.

Ali A., Zafar H., Zia M., Ul Haq I., Phull A. R., Ali J. S., Hussain A. Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles // Nanotechnol Sci Appl. – 2016. – V. 9. – P. 49-67. https://doi.org/10.2147/nsa.s99986

Synthesis of zinc oxide by sol-gel method for photoelectrochemical cells. / Alias S. S., Mohamad
 A. A.: Springer, 2014.

13. AlMatar M., Makky E. A., Var I., Koksal F. The role of nanoparticles in the inhibition of multidrug-resistant bacteria and biofilms // Current drug delivery. – 2018. – V. 15, № 4. – P. 470-484.

14. Amendola V., Meneghetti M. What controls the composition and the structure of nanomaterials generated by laser ablation in liquid solution? // Physical Chemistry Chemical Physics. -2013. - V. 15, $N_{\rm P} 9. - P. 3027-3046$. https://doi.org/10.1039/C2CP42895D

15. Amor M., Ceballos A., Wan J., Simon C. P., Aron A. T., Chang C. J., Hellman F., Komeili A. Magnetotactic bacteria accumulate a large pool of iron distinct from their magnetite crystals // Applied and environmental microbiology. – 2020. – V. 86, № 22. – P. e01278-20.

16. Amutha S., Sridhar S. Green synthesis of magnetic iron oxide nanoparticle using leaves of Glycosmis mauritiana and their antibacterial activity against human pathogens // Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences. -2018. - V. 5, No 2. - P. 22-26.

Andreini C. B. I., Cavallaro, G., Holliday, G. and Thornton // J."Metal Ions in Biological Catalysis: From Enzyme Databases to General Principles." Journal of Biological Inorganic Chemistry. – 2008. – V. 13. – P. 1205-1218.

18. Ansari M., Khan H., Khan A., Cameotra S. S., Saquib Q., Musarrat J. Interaction of Al_2O_3 nanoparticles with E scherichia coli and their cell envelope biomolecules // Journal of applied microbiology. – 2014. – V. 116, No 4. – P. 772-783.

19. Ansari M. A., Khan H. M., Khan A. A., Pal R., Cameotra S. S. Antibacterial potential of Al₂O₃ nanoparticles against multidrug resistance strains of Staphylococcusaureus isolated from skin exudates // Journal of Nanoparticle Research. – 2013. – V. 15, № 10. – P. 1970. https://doi.org/10.1007/s11051-013-1970-1

20. Ansari M. A., Khan H. M., Alzohairy M. A., Jalal M., Ali S. G., Pal R., Musarrat J. Green synthesis of Al2O3 nanoparticles and their bactericidal potential against clinical isolates of multi-drug resistant Pseudomonas aeruginosa // World J Microbiol Biotechnol. – 2015. – V. 31, № 1. – P. 153-64. https://doi.org/10.1007/s11274-014-1757-2

21. Anwar Y., Ul-Islam M., Mohammed Ali H. S. H., Ullah I., Khalil A., Kamal T. Silver impregnated bacterial cellulose-chitosan composite hydrogels for antibacterial and catalytic applications // Journal of Materials Research and Technology. – 2022. – V. 18. – P. 2037-2047. https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2022.03.089

22. Arachchige M. P., Laha S. S., Naik A. R., Lewis K. T., Naik R., Jena B. P. Functionalized nanoparticles enable tracking the rapid entry and release of doxorubicin in human pancreatic cancer cells // Micron. – 2017. – V. 92. – P. 25-31. https://doi.org/10.1016/j.micron.2016.10.005

Arakha M., Pal S., Samantarrai D., Panigrahi T. K., Mallick B. C., Pramanik K., Mallick B., Jha
S. Antimicrobial activity of iron oxide nanoparticle upon modulation of nanoparticle-bacteria interface
// Scientific Reports. – 2015. – V. 5, № 1. – P. 14813. https://doi.org/10.1038/srep14813

24. Araujo J. A., Nel A. E. Particulate matter and atherosclerosis: role of particle size, composition and oxidative stress // Particle and fibre toxicology. -2009. - V. 6, No 1. - P. 1-19.

25. Archibald A., Hancock I., Harwood C. Cell wall structure, synthesis, and turnover // Bacillus subtilis and Other Gram-Positive Bacteria: Biochemistry, Physiology, and Molecular Genetics. – 1993.
– P. 379-410.

26. Arias L. S., Pessan J. P., Vieira A. P. M., Lima T. M. T. d., Delbem A. C. B., Monteiro D. R. Iron oxide nanoparticles for biomedical applications: A perspective on synthesis, drugs, antimicrobial activity, and toxicity // Antibiotics. -2018. - V. 7, No 2. - P. 46.

27. Armijo L. M., Wawrzyniec S. J., Kopciuch M., Brandt Y. I., Rivera A. C., Withers N. J., Cook N. C., Huber D. L., Monson T. C., Smyth H. D. Antibacterial activity of iron oxide, iron nitride, and tobramycin conjugated nanoparticles against Pseudomonas aeruginosa biofilms // Journal of Nanobiotechnology. -2020. - V. 18, No 1. - P. 1-27.

28. Arokiyaraj S., Saravanan M., Prakash N. U., Arasu M. V., Vijayakumar B., Vincent S. Enhanced antibacterial activity of iron oxide magnetic nanoparticles treated with Argemone mexicana L. leaf extract: an in vitro study // Materials Research Bulletin. – 2013. – V. 48, № 9. – P. 3323-3327.

29. Arunarajeswari P., Mathavan T., Jeyaseelan S. C., Divya A., Benial A. M. F. Anionic acid functionalized mesoporous γ - Al₂O₃ nanorods: Preparation, physicochemical and biological characterizations // Chemical Data Collections. – 2022. – V. 37. – P. 100819. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cdc.2021.100819

30. Arzhakova O. V., Dolgova A. A., Yarysheva A. Y., Zezin A. A. Controlled green synthesis of hybrid organo-inorganic nanomaterials based on poly(ethylene terephthalate) and silver nanoparticles by X-ray radiolysis // Express Polymer Letters. – 2021. – V. 15, № 6. – P. 531-540. https://doi.org/10.3144/expresspolymlett.2021.45

Ash B. J., Siegel R. W., Schadler L. S. Glass-transition temperature behavior of alumina/PMMA nanocomposites // Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics. – 2004. – V. 42, № 23. – P. 4371-4383. https://doi.org/10.1002/polb.20297

32. Astashev M., Sarimov R., Serov D., Matveeva T., Simakin A., Ignatenko D., Burmistrov D., Smirnova V., Kurilov A., Mashchenko V. Antibacterial behavior of organosilicon composite with nano

aluminum oxide without influencing animal cells // Reactive and Functional Polymers. – 2022. – V. 170. – P. 105143.

33. Azam A., Ahmed A. S., Oves M., Khan M. S., Habib S. S., Memic A. Antimicrobial activity of metal oxide nanoparticles against Gram-positive and Gram-negative bacteria: a comparative study // Int J Nanomedicine. – 2012. – V. 7. – P. 6003-9. https://doi.org/10.2147/ijn.S35347

34. Baekeland L. H. The synthesis, constitution, and uses of Bakelite // Industrial & Engineering Chemistry. – 1909. – V. 1, № 3. – P. 149-161.

Bagg A., Neilands J. Ferric uptake regulation protein acts as a repressor, employing iron (II) as a cofactor to bind the operator of an iron transport operon in Escherichia coli // Biochemistry. – 1987. – V. 26, № 17. – P. 5471-5477.

36. Baghdadi A. M., Saddiq A. A., Aissa A., Algamal Y., Khalil N. M. Structural refinement and antimicrobial activity of aluminum oxide nanoparticles // Journal of the Ceramic Society of Japan. – 2022. – V. 130, № 3. – P. 257-263.

37. Bai X., Li L., Liu H., Tan L., Liu T., Meng X. Solvothermal Synthesis of ZnO Nanoparticles and Anti-Infection Application in Vivo // ACS Applied Materials & Interfaces. – 2015. – V. 7, № 2. – P. 1308-1317. https://doi.org/10.1021/am507532p

38. Baimler I. V., Lisitsyn A. B., Serov D. A., Astashev M. E., Gudkov S. V. Analysis of acoustic signals during the optical breakdown of aqueous solutions of Fe nanoparticles // Frontiers in Physics. – 2020. – V. 8. – P. 622791.

39. Bala T., Armstrong G., Laffir F., Thornton R. Titania–silver and alumina–silver composite nanoparticles: Novel, versatile synthesis, reaction mechanism and potential antimicrobial application // Journal of Colloid and Interface Science. – 2011. – V. 356, № 2. – P. 395-403. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.01.044

40. Balasubramanyam A., Sailaja N., Mahboob M., Rahman M. F., Hussain S. M., Grover P. In vitro mutagenicity assessment of aluminium oxide nanomaterials using the Salmonella/microsome assay // Toxicology in Vitro. _ 2010. _ V. 24, № 6. _ P. 1871-1876. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.07.004

41. Balenko N. V., Bobrovsky A. Y., Vtyurina E. S., Shibaev V. P. Mechanosensitive Liquid Crystalline Composites Based on Cholesterics Dispersed in Polyvinyl Alcohol Films // Liquid Crystals and their Application. – 2021. – V. 21, № 3. – P. 26-31. https://doi.org/10.18083/LCAppl.2021.3.26

42. Baruwati B., Kumar D. K., Manorama S. V. Hydrothermal synthesis of highly crystalline ZnO nanoparticles: A competitive sensor for LPG and EtOH // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2006.
– V. 119, № 2. – P. 676-682. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.snb.2006.01.028

43. Bashir M., Ali S., Farrukh M. A. Green synthesis of Fe_2O_3 nanoparticles from orange peel extract and a study of its antibacterial activity // Journal of the Korean Physical Society. – 2020. – V. 76, No 9. – P. 848-854.

44. Beek W. J., Wienk M. M., Janssen R. A. Efficient hybrid solar cells from zinc oxide nanoparticles and a conjugated polymer // Advanced Materials. – 2004. – V. 16, № 12. – P. 1009-1013.

45. Behera S., Patra J., Pramanik K., Panda N., Thatoi H. Characterization and evaluation of antibacterial activities of chemically synthesized iron oxide nanoparticles. World J Nano Sci Eng 02: 196–200 // Book Characterization and evaluation of antibacterial activities of chemically synthesized iron oxide nanoparticles. World J Nano Sci Eng 02: 196–200 / Editor, 2012.

46. Bezborodov V. S., Finko A. V., Mikhalyonok S. G., Derikov Y. I., Shandryuk G. A., Kuz'menok N. M., Arol A. S., Karpov O. N., Talroze R. V. Anisotropic Derivatives of 6-Aryloxyhexanoic Acid and Nanocomposites on their Base // Liquid Crystals and their Application. – 2021. – V. 21, № 2. – P. 24-34. https://doi.org/10.18083/LCAppl.2021.2.24

47. Bezza F. A., Tichapondwa S. M., Chirwa E. Fabrication of monodispersed copper oxide nanoparticles with potential application as antimicrobial agents // Scientific reports. – 2020. – V. 10, N_{\odot} 1. – P. 1-18.

48. Bhattacharjee S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? // Journal of Controlled Release. – 2016. – V. 235. – P. 337-351. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017

49. Bhattacharya P., Neogi S. Gentamicin coated iron oxide nanoparticles as novel antibacterial agents // Materials Research Express. – 2017. – V. 4, № 9. – P. 095005. https://doi.org/10.1088/2053-1591/aa8652

50. Bhushan M., Kumar Y., Periyasamy L., Viswanath A. K. Antibacterial applications of α -Fe₂O₃/Co₃O₄ nanocomposites and study of their structural, optical, magnetic and cytotoxic characteristics // Applied Nanoscience. – 2018. – V. 8, No 1. – P. 137-153. https://doi.org/10.1007/s13204-018-0656-5

51. Bhuvaneshwari M., Bairoliya S., Parashar A., Chandrasekaran N., Mukherjee A. Differential toxicity of Al₂O₃ particles on Gram-positive and Gram-negative sediment bacterial isolates from freshwater // Environmental Science and Pollution Research. – 2016. – V. 23, № 12. – P. 12095-12106. https://doi.org/10.1007/s11356-016-6407-9

52. Bocca B., Caimi S., Senofonte O., Alimonti A., Petrucci F. ICP-MS based methods to characterize nanoparticles of TiO(2) and ZnO in sunscreens with focus on regulatory and safety issues // Sci Total Environ. – 2018. – V. 630. – P. 922-930. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.166

53. Borroni E., Miola M., Ferraris S., Ricci G., Žužek Rožman K., Kostevšek N., Catizone A., Rimondini L., Prat M., Verné E., Follenzi A. Tumor targeting by lentiviral vectors combined with

magnetic nanoparticles in mice // Acta Biomater. – 2017. – V. 59. – P. 303-316. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.07.007

54. Bourgeat-Lami E., Espiard P., Guyot A., Gauthier C., David L., Vigier G. // Angewandte Makromolekulare Chemie. – 1996. – V. 242, № 1. – P. 105-122. https://doi.org/10.1002/apmc.1996.052420107

55. Brayner R., Ferrari-Iliou R., Brivois N., Djediat S., Benedetti M. F., Fiévet F. Toxicological Impact Studies Based on Escherichia coli Bacteria in Ultrafine ZnO Nanoparticles Colloidal Medium // Nano Letters. – 2006. – V. 6, № 4. – P. 866-870. https://doi.org/10.1021/nl052326h

Bucharskaya A. B. Khlebtsov N. G., Khlebtsov B. N., Maslyakova G. N., Navolokin N. A., Genin V. D., Genina E. A., Tuchin, V. V. Photothermal and photodynamic therapy of tumors with plasmonic nanoparticles: Challenges and prospects //Materials. – 2022. – T. 15. – №. 4. – C. 1606.

57. Carlton R. A., Lyman C. E., Roberts J. E. Accuracy and precision of quantitative energy-dispersive x-ray spectrometry in the environmental scanning electron microscope // Scanning. – 2004. – V. 26, № 4. – P. 167-174. https://doi.org/10.1002/sca.4950260404

58. Caza M., Kronstad J. W. Shared and distinct mechanisms of iron acquisition by bacterial and fungal pathogens of humans // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2013. – V. 3. – P. 80.

59. Chang S.-P., Chen K.-J. Zinc oxide nanoparticle photodetector // Journal of Nanomaterials. – 2012. – V. 2012.

60. Chatterjee S., Bandyopadhyay A., Sarkar K. Effect of iron oxide and gold nanoparticles on bacterial growth leading towards biological application // Journal of Nanobiotechnology. – 2011. – V.
9, № 1. – P. 34. https://doi.org/10.1186/1477-3155-9-34

61. Chauhan A., Verma R., Kumari S., Sharma A., Shandilya P., Li X., Batoo K. M., Imran A., Kulshrestha S., Kumar R. Photocatalytic dye degradation and antimicrobial activities of Pure and Agdoped ZnO using Cannabis sativa leaf extract // Scientific reports. – 2020. – V. 10, № 1. – P. 1-16.

62. Chen F., Clough A., Reinhard B. M., Grinstaff M. W., Jiang N., Koga T., Tsui O. K. C. Glass Transition Temperature of Polymer–Nanoparticle Composites: Effect of Polymer–Particle Interfacial Energy // Macromolecules. – 2013. – V. 46, № 11. – P. 4663-4669. https://doi.org/10.1021/ma4000368
63. Cheng S., Grest G. S. Dispersing Nanoparticles in a Polymer Film via Solvent Evaporation //

64. Choi E.-K., Lee H.-H., Kang M.-S., Kim B.-G., Lim H.-S., Kim S.-M., Kang I.-C. Potentiation of bacterial killing activity of zinc chloride by pyrrolidine dithiocarbamate // The Journal of Microbiology. – 2010. – V. 48, № 1. – P. 40-43. https://doi.org/10.1007/s12275-009-0049-2

ACS Macro Letters. - 2016. - V. 5, № 6. - P. 694-698. https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.6b00263

65. Choi H. K., Yoon J. Nanotechnology-Assisted Biosensors for the Detection of Viral Nucleic Acids: An Overview // Biosensors. – 2023. – V. 13, № 2. https://doi.org/10.3390/bios13020208

66. Chu T. P. M., Nguyen N. T., Vu T. L., Dao T. H., Dinh L. C., Nguyen H. L., Hoang T. H., Le T. S., Pham T. D. Synthesis, Characterization, and Modification of Alumina Nanoparticles for Cationic Dye Removal // Materials. – 2019. – V. 12, № 3. – P. 450.

67. Cioffi N., Torsi L., Ditaranto N., Tantillo G., Ghibelli L., Sabbatini L., Bleve-Zacheo T., D'Alessio M., Zambonin P. G., Traversa E. Copper Nanoparticle/Polymer Composites with Antifungal and Bacteriostatic Properties // Chemistry of Materials. – 2005. – V. 17, № 21. – P. 5255-5262. https://doi.org/10.1021/cm0505244

68. Clogston J. D., Patri A. K. Zeta Potential Measurement // Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery, 2011. – P. 63-70.

69. Collins A. Comparison of different methods of measuring 8-oxoguanine as a marker of oxidative DNA damage // Free radical research. – 2000. – V. 32, № 4. – P. 333-341.

70. Cormode D. P., Naha P. C., Fayad Z. A. Nanoparticle contrast agents for computed tomography: a focus on micelles // Contrast Media & Molecular Imaging. – 2014. – V. 9, № 1. – P. 37-52. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cmmi.1551

71. Crisponi G., Nurchi V. M., Bertolasi V., Remelli M., Faa G. Chelating agents for human diseases related to aluminium overload // Coordination Chemistry Reviews. – 2012. – V. 256, № 1. – P. 89-104. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.06.013

72. D'Autréaux B., Tucker N. P., Dixon R., Spiro S. A non-haem iron centre in the transcription factor NorR senses nitric oxide // Nature. – 2005. – V. 437, № 7059. – P. 769-772. https://doi.org/10.1038/nature03953

73. da Silva B. L., Caetano B. L., Chiari-Andréo B. G., Pietro R. C. L. R., Chiavacci L. A. Increased antibacterial activity of ZnO nanoparticles: Influence of size and surface modification // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2019. – V. 177. – P. 440-447.

74. Dadi R., Azouani R., Traore M., Mielcarek C., Kanaev A. Antibacterial activity of ZnO and CuO nanoparticles against gram positive and gram negative strains // Materials Science and Engineering: C. – 2019. – V. 104. – P. 109968. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109968

75. Daraee H., Eatemadi A., Abbasi E., Fekri Aval S., Kouhi M., Akbarzadeh A. Application of gold nanoparticles in biomedical and drug delivery // Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology. –
2014. – V. 44, № 1. – P. 410-422. https://doi.org/10.3109/21691401.2014.955107

76. Dash A., Cudworth II G. Therapeutic applications of implantable drug delivery systems // Journal of pharmacological and toxicological methods. -1998. - V. 40, No 1. - P. 1-12.

77. Demling A., Elter C., Heidenblut T., Bach F.-W., Hahn A., Schwestka-Polly R., Stiesch M., Heuer W. Reduction of biofilm on orthodontic brackets with the use of a polytetrafluoroethylene coating // The European Journal of Orthodontics. -2010. - V. 32, No 4. - P. 414-418.

78. Devendiran S., Priya A. K., Sastikumar D. Design of aluminium oxide (Al₂O₃) fiber optic gas sensor based on detection of refracted light in evanescent mode from the side-polished modified clad region // Sensors and Actuators B: Chemical. – 2022. – V. 361. – P. 131738. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.snb.2022.131738

79. Devi H. S., Boda M. A., Rubab S., Parveen S., Wani A. H., Shah M. A. Chapter Thirteen -Biosynthesis and antifungal activities of CuO and Al₂O₃ nanoparticles // Comprehensive Analytical Chemistry / Verma S. K., Das A. K.Elsevier, 2021. – P. 533-546.

80. Dey M., Singh R. K. Neurotoxic effects of aluminium exposure as a potential risk factor for Alzheimer's disease // Pharmacological Reports. – 2022.10.1007/s43440-022-00353-4. https://doi.org/10.1007/s43440-022-00353-4

Bl. Dhanumalayan E., Joshi G. M. Performance properties and applications of polytetrafluoroethylene (PTFE)—a review // Advanced Composites and Hybrid Materials. – 2018. – V.
 1. – P. 247-268.

82. Dimitrakellis P., Kaprou G. D., Papavieros G., Mastellos D. C., Constantoudis V., Tserepi A., Gogolides E. Enhanced antibacterial activity of ZnO-PMMA nanocomposites by selective plasma etching in atmospheric pressure // Micro and Nano Engineering. – 2021. – V. 13. https://doi.org/10.1016/j.mne.2021.100098

83. Divya M., Vaseeharan B., Abinaya M., Vijayakumar S., Govindarajan M., Alharbi N. S., Kadaikunnan S., Khaled J. M., Benelli G. Biopolymer gelatin-coated zinc oxide nanoparticles showed high antibacterial, antibiofilm and anti-angiogenic activity // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2018. – V. 178. – P. 211-218.

84. Dobrucka R., Długaszewska J. Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using Trifolium pratense flower extract // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2016. – V. 23, № 4. – P. 517-523. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.05.016

85. Dobrucka R., Dlugaszewska J., Kaczmarek M. Cytotoxic and antimicrobial effects of biosynthesized ZnO nanoparticles using of Chelidonium majus extract // Biomedical Microdevices. – 2018. – V. 20, № 1. – P. 1-13.

86. Dobson. Magnetic nanoparticles for gene and drug delivery // International Journal of Nanomedicine. – 2008.10.2147/ijn.s1608. https://doi.org/10.2147/ijn.s1608

Bolgaev S. I., Simakin A. V., Voronov V. V., Shafeev G. A., Bozon-Verduraz F. Nanoparticles produced by laser ablation of solids in liquid environment // Applied surface science. – 2002. – V. 186.
– №. 1-4. – P. 546-551.

Boron S., Gorbach S. L. Bacterial Infections: Overview // International Encyclopedia of Public Health, 2008. – P. 273-282.

89. Doskocz N., Affek K., Załęska-Radziwiłł M. Effects of aluminium oxide nanoparticles on bacterial growth // E3S Web of Conferences. – 2017. – V. 17. – P. 00019. https://doi.org/10.1051/e3sconf/20171700019

90. Dutta R. K., Nenavathu B. P., Gangishetty M. K., Reddy A. Studies on antibacterial activity of ZnO nanoparticles by ROS induced lipid peroxidation // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2012.
– V. 94. – P. 143-150.

91. Dwivedi S., Siddiqui M. A., Farshori N. N., Ahamed M., Musarrat J., Al-Khedhairy A. A. Synthesis, characterization and toxicological evaluation of iron oxide nanoparticles in human lung alveolar epithelial cells // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2014. – V. 122. – P. 209-215.

92. The Prokaryotes, A handbook on the Biology of Bacteria, Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass. / Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.-H., Stackebrandt E.: Springer, 2006.

93. Ehsan S., Sajjad M. Bioinspired Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticle and its Combined Efficacy with Different Antibiotics against Multidrug Resistant Bacteria // Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology. – 2017. – V. 08, № 02. – P. 159-175. https://doi.org/10.4236/jbnb.2017.82011

94. Eixenberger J. E., Anders C. B., Wada K., Reddy K. M., Brown R. J., Moreno-Ramirez J., Weltner A. E., Karthik C., Tenne D. A., Fologea D. Defect engineering of ZnO nanoparticles for bioimaging applications // ACS applied materials & interfaces. – 2019. – V. 11, № 28. – P. 24933-24944.
95. El Nahrawy A. M., Abou Hammad A. B., Abdel-Aziz M. S., Wassel A. R. Spectroscopic and Antimicrobial Activity of Hybrid Chitosan/Silica Membranes doped with Al₂O₃ Nanoparticles // Silicon. – 2019. – V. 11, № 3. – P. 1677-1685. https://doi.org/10.1007/s12633-018-9986-x

96. Elumalai K., Velmurugan S. Green synthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from the leaf extract of Azadirachta indica (L.) // Applied Surface Science. – 2015. – V. 345. – P. 329-336. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.03.176

97. Eslami H., Azimi Lisar H., Jafarzadeh Kashi T. S., Tahriri M., Ansari M., Rafiei T., Bastami F., Shahin-Shamsabadi A., Mashhadi Abbas F., Tayebi L. Poly(lactic-co-glycolic acid)(PLGA)/TiO₂ nanotube bioactive composite as a novel scaffold for bone tissue engineering: *In vitro* and _{in vivo} studies // Biologicals. – 2018. – V. 53. – P. 51-62. https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2018.02.004

98. Espinosa A., Di Corato R., Kolosnjaj-Tabi J., Flaud P., Pellegrino T., Wilhelm C. Duality of Iron Oxide Nanoparticles in Cancer Therapy: Amplification of Heating Efficiency by Magnetic Hyperthermia and Photothermal Bimodal Treatment // ACS Nano. – 2016. – V. 10, № 2. – P. 2436-46. https://doi.org/10.1021/acsnano.5b07249

99. Exley C., Clarkson E. Aluminium in human brain tissue from donors without neurodegenerative disease: A comparison with Alzheimer's disease, multiple sclerosis and autism // Scientific Reports. – 2020. – V. 10, № 1. – P. 7770. https://doi.org/10.1038/s41598-020-64734-6

Ezati F., Sepehr E., Ahmadi F. The efficiency of nano-TiO₂ and γ-Al₂O₃ in copper removal from aqueous solution by characterization and adsorption study // Scientific Reports. – 2021. – V. 11, № 1. – P. 18831. https://doi.org/10.1038/s41598-021-98051-3

101. Ezealigo U. S., Ezealigo B. N., Aisida S. O., Ezema F. I. Iron oxide nanoparticles in biological systems: Antibacterial and toxicology perspective // JCIS Open. – 2021. – V. 4. https://doi.org/10.1016/j.jciso.2021.100027

102. Fajardo C., Saccà M. L., Costa G., Nande M., Martin M. Impact of Ag and Al₂O₃ nanoparticles on soil organisms: In vitro and soil experiments // Science of The Total Environment. – 2014. – V. 473-474. – P. 254-261. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.043

103. Feng Q. L., Wu J., Chen G. Q., Cui F., Kim T., Kim J. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus // Journal of biomedical materials research. – 2000. – V. 52, № 4. – P. 662-668.

104. Fenton H. J. H. LXXIII.—Oxidation of tartaric acid in presence of iron // Journal of the Chemical Society, Transactions. – 1894. – V. 65, № 0. – P. 899-910. https://doi.org/10.1039/CT8946500899

105. Feynman R. Nanotechnology // Caltechs Eng. Sci. – 1960. – V. 23. – P. 22-36.

106. Fink R. C., Evans M. R., Porwollik S., Vazquez-Torres A., Jones-Carson J., Troxell B., Libby S. J., McClelland M., Hassan H. M. FNR is a global regulator of virulence and anaerobic metabolism in Salmonella enterica serovar Typhimurium (ATCC 14028s) // Journal of bacteriology. – 2007. – V. 189, № 6. – P. 2262-2273.

107. On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. influenzæ. / Fleming A.: Br J Exp Pathol, 1929.

108. Fracasso G., Ghigna P., Nodari L., Agnoli S., Badocco D., Pastore P., Nicolato E., Marzola P., Mihajlović D., Markovic M., Čolić M., Amendola V. Nanoaggregates of iron poly-oxo-clusters obtained by laser ablation in aqueous solution of phosphonates // Journal of Colloid and Interface Science. – 2018.
– V. 522. – P. 208-216. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcis.2018.03.065

109. Francis A. P., Babu G. J., Lavanya M., Vidhya K. S., Devasena T. Toxicity studies of aluminium oxide nanoparticles in cell lines // International Journal of Nanotechnology and Applications. – 2011. – V. 5. – P. 99-107.

110. Frassinetti S., Bronzetti G. L., Caltavuturo L., Cini M., Della Croce C. The role of zinc in life: a review // Journal of environmental pathology, toxicology and oncology. – 2006. – V. 25, № 3.

111. Freitas P. P., Cardoso F. A., Martins V. C., Martins S. A. M., Loureiro J., Amaral J., Chaves R. C., Cardoso S., Fonseca L. P., Sebastião A. M., Pannetier-Lecoeur M., Fermon C. Spintronic platforms for biomedical applications // Lab on a Chip. – 2012. – V. 12, № 3. – P. 546-557. https://doi.org/10.1039/C1LC20791A

112. Fu G., Vary P. S., Lin C.-T. Anatase TiO2 nanocomposites for antimicrobial coatings // The journal of physical chemistry B. – 2005. – V. 109, № 18. – P. 8889-8898.

113. Fu S., Sun Z., Huang P., Li Y., Hu N. Some basic aspects of polymer nanocomposites: A critical 2019. V. 1, P. review // Nano Materials Science. № 1. 2-30. _ _ https://doi.org/10.1016/j.nanoms.2019.02.006

114. Gabrielyan L., Hakobyan L., Hovhannisyan A., Trchounian A. Effects of iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles on Escherichia coli antibiotic-resistant strains // Journal of applied microbiology. – 2019.
– V. 126, № 4. – P. 1108-1116.

115. Gabrielyan L., Hovhannisyan A., Gevorgyan V., Ananyan M., Trchounian A. Antibacterial effects of iron oxide (Fe₃O₄) nanoparticles: distinguishing concentration-dependent effects with different bacterial cells growth and membrane-associated mechanisms // Applied microbiology and biotechnology. -2019. -V. 103, $N_{\rm P}$ 6. -P. 2773-2782.

116. Gabrielyan L., Badalyan H., Gevorgyan V., Trchounian A. Comparable antibacterial effects and action mechanisms of silver and iron oxide nanoparticles on Escherichia coli and Salmonella typhimurium // Scientific Reports. -2020. - V. 10, No 1. - P. 1-12.

117. García-Saucedo C., Field J. A., Otero-Gonzalez L., Sierra-Álvarez R. Low toxicity of HfO₂, SiO₂, Al₂O₃ and CeO₂ nanoparticles to the yeast, Saccharomyces cerevisiae // Journal of hazardous materials. -2011. - V. 192, No 3. - P. 1572-1579.

118. Gemeay A., El-Halwagy M. Immobilization Impact of Photocatalysts onto Graphene Oxide // Graphene Oxide-Applications and OpportunitiesIntechOpen, 2018.

119. Geoprincy G., Gandhi N., Renganathan S. Novel antibacterial effects of alumina nanoparticles on Bacillus cereus and Bacillus subtilis in comparison with antibiotics // Int J Pharm Pharm Sci. – 2012.
– V. 4. – P. 544-548.

120. Geppert M., Hohnholt M. C., Thiel K., Nürnberger S., Grunwald I., Rezwan K., Dringen R. Uptake of dimercaptosuccinate-coated magnetic iron oxide nanoparticles by cultured brain astrocytes // Nanotechnology. – 2011. – V. 22, No 14. – P. 145101. https://doi.org/10.1088/0957-4484/22/14/145101 121. Gerhardt L. C., Jell G. M. R., Boccaccini A. R. Titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles filled poly(d,l lactid acid) (PDLLA) matrix composites for bone tissue engineering // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2007. – V. 18, No 7. – P. 1287-1298. https://doi.org/10.1007/s10856-006-0062-5

122. Giessibl F. J. Advances in atomic force microscopy // Reviews of Modern Physics. – 2003. – V.
75, № 3. – P. 949-983. https://doi.org/10.1103/RevModPhys.75.949

123. Unraveling the Safety Profile of Nanoscale Particles and Materials - From Biomedical to Environmental Applications. / Gomes A. C., Sarria M. P., 2018.
124. Gong Y., Ji Y., Liu F., Li J., Cao Y. Cytotoxicity, oxidative stress and inflammation induced by ZnO nanoparticles in endothelial cells: interaction with palmitate or lipopolysaccharide // Journal of Applied Toxicology. -2017. - V. 37, No 8. - P. 895-901. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jat.3415 125. Goodyear C. Processes for the Fabrication of a Less Rigid, Flexible or Elastic Rubber // Dingler's Polytechnisches Journal. - 1856. - V. 139. - P. 376-386.

126. Grainger D. W. Connecting drug delivery reality to smart materials design // International journal of pharmaceutics. – 2013. – V. 454, № 1. – P. 521-524.

127. Graves Jr J. L., Tajkarimi M., Cunningham Q., Campbell A., Nonga H., Harrison S. H., Barrick J. E. Rapid evolution of silver nanoparticle resistance in Escherichia coli // Frontiers in genetics. – 2015.
– V. 6. – P. 42.

128. Groiss S., Selvaraj R., Varadavenkatesan T., Vinayagam R. Structural characterization, antibacterial and catalytic effect of iron oxide nanoparticles synthesised using the leaf extract of Cynometra ramiflora // Journal of Molecular Structure. – 2017. – V. 1128. – P. 572-578.

 Gudkov S. V., Grinberg M. A., Sukhov V., Vodeneev V. Effect of ionizing radiation on physiological and molecular processes in plants // Journal of Environmental Radioactivity. – 2019. – V.
 202. – P. 8-24.

130. Gudkov S. V., Shafeev G. A., Glinushkin A. P., Shkirin A. V., Barmina E. V., Rakov I. I., Simakin A. V., Kislov A. V., Astashev M. E., Vodeneev V. A., Kalinitchenko V. P. Production and Use of Selenium Nanoparticles as Fertilizers // ACS Omega. – 2020. – V. 5, № 28. – P. 17767-17774. https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02448

131. Gudkov S. V., Burmistrov D. E., Serov D. A., Rebezov M. B., Semenova A. A., Lisitsyn A. B.
A Mini Review of Antibacterial Properties of ZnO Nanoparticles // Frontiers in Physics. – 2021. – V. 9.
https://doi.org/10.3389/fphy.2021.641481

132. Guldris N., Argibay B., Gallo J., Iglesias-Rey R., Carbó-Argibay E., Kolen'ko Y. V., Campos F., Sobrino T., Salonen L. M., Bañobre-López M., Castillo J., Rivas J. Magnetite Nanoparticles for Stem Cell Labeling with High Efficiency and Long-Term in Vivo Tracking // Bioconjugate Chemistry. – 2017.
– V. 28, № 2. – P. 362-370. https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00522

133. Guo L.-M., Xu X.-M., Zhao D., Cai X.-G., Zhou B. Biosynthesis, characterization of PLGA coated folate-mediated multiple drug loaded copper oxide (CuO) nanoparticles and it's cytotoxicity on nasopharyngeal cancer cell lines // AMB Express. – 2020. – V. 10, № 1. https://doi.org/10.1186/s13568-020-01096-2

134. Gupta M. K., Martin J. R., Werfel T. A., Shen T., Page J. M., Duvall C. L. Cell Protective, ABC Triblock Polymer-Based Thermoresponsive Hydrogels with ROS-Triggered Degradation and Drug Release // Journal of the American Chemical Society. – 2014. – V. 136, № 42. – P. 14896-14902. https://doi.org/10.1021/ja507626y 135. Gurunathan S., Han J. W., Dayem A. A., Eppakayala V., Kim J.-H. Oxidative stress-mediated antibacterial activity of graphene oxide and reduced graphene oxide in Pseudomonas aeruginosa // International journal of nanomedicine. -2012. - V. 7. - P. 5901.

136. Gutteridge J. M. C., Quinlan G. J., Clark I., Halliwell B. Aluminium salts accelerate peroxidation of membrane lipids stimulated by iron salts // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism. – 1985. – V. 835, № 3. – P. 441-447. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0005-2760(85)90113-4

137. Haider A., Gupta K. C., Kang I.-K. PLGA/nHA hybrid nanofiber scaffold as a nanocargo carrier of insulin for accelerating bone tissue regeneration // Nanoscale Research Letters. – 2014. – V. 9, № 1. https://doi.org/10.1186/1556-276x-9-314

138. Haider A., Kwak S., Gupta K. C., Kang I.-K. Antibacterial activity and cytocompatibility of PLGA/CuO hybrid nanofiber scaffolds prepared by electrospinning // Journal of Nanomaterials. – 2015.
– V. 2015.

Hajipour M. J., Fromm K. M., Akbar Ashkarran A., Jimenez de Aberasturi D., Larramendi I. R.
d., Rojo T., Serpooshan V., Parak W. J., Mahmoudi M. Antibacterial properties of nanoparticles // Trends in Biotechnology. – 2012. – V. 30, № 10. – P. 499-511. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.06.004

140. Hanini A., Schmitt A., Kacem K., Chau F., Ammar S., Gavard J. Evaluation of iron oxide nanoparticle biocompatibility // Int J Nanomedicine. – 2011. – V. 6. – P. 787-94. https://doi.org/10.2147/ijn.s17574

141. Happy A., Soumya M., Venkat Kumar S., Rajeshkumar S. Mechanistic study on antibacterial action of zinc oxide nanoparticles synthesized using green route // Chemico-Biological Interactions. – 2018. – V. 286. – P. 60-70. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.03.008

Hassanpour P., Panahi Y., Ebrahimi-Kalan A., Akbarzadeh A., Davaran S., Nasibova A. N.,
Khalilov R., Kavetskyy T. Biomedical applications of aluminium oxide nanoparticles // Micro & Nano
Letters. – 2018. – V. 13, № 9. – P. 1227-1231.

143. Hatakeyama M., Kishi H., Kita Y., Imai K., Nishio K., Karasawa S., Masaike Y., Sakamoto S., Sandhu A., Tanimoto A. A two-step ligand exchange reaction generates highly water-dispersed magnetic nanoparticles for biomedical applications // Journal of Materials Chemistry. -2011. - V. 21, $N_{2} 16. - P. 5959-5966$.

144. Heath J. R. Nanotechnologies for biomedical science and translational medicine // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2015. – V. 112, № 47. – P. 14436-14443. https://doi.org/10.1073/pnas.1515202112

145. Heidary M., Zaker Bostanabad S., Amini S. M., Jafari A., Ghalami Nobar M., Ghodousi A., Kamalzadeh M., Darban-Sarokhalil D. The anti-mycobacterial activity of Ag, ZnO, and Ag-ZnO

nanoparticles against MDR-and XDR-Mycobacterium tuberculosis // Infection and Drug Resistance. – 2019. – P. 3425-3435.

Helbert W., Cavaillé J. Y., Dufresne A. Thermoplastic nanocomposites filled with wheat straw cellulose whiskers. Part I: Processing and mechanical behavior // Polymer Composites. – 1996. – V. 17, № 4. – P. 604-611. https://doi.org/10.1002/pc.10650

147. Hiremath A., Murthy A. A., Thipperudrappa S., K N B., Jones I. P. Nanoparticles Filled Polymer Nanocomposites: A Technological Review // Cogent Engineering. – 2021. – V. 8, № 1. https://doi.org/10.1080/23311916.2021.1991229

148. Hosseini S. F., Rezaei M., Zandi M., Farahmandghavi F. Development of bioactive fish gelatin/chitosan nanoparticles composite films with antimicrobial properties // Food Chemistry. – 2016. – V. 194. – P. 1266-1274. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.004

149. Houšková V., Štengl V., Bakardjieva S., Murafa N., Kalendová A., Opluštil F. Zinc Oxide Prepared by Homogeneous Hydrolysis with Thioacetamide, Its Destruction of Warfare Agents, and Photocatalytic Activity // The Journal of Physical Chemistry A. – 2007. – V. 111, № 20. – P. 4215-4221. https://doi.org/10.1021/jp070878d

150. Huang Y., Mao K., Zhang B., Zhao Y. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles conjugated with folic acid for dual target-specific drug delivery and MRI in cancer theranostics // Materials Science and Engineering: C. – 2017. – V. 70. – P. 763-771.

151. Imani S. M., Ladouceur L., Marshall T., Maclachlan R., Soleymani L., Didar T. F. Antimicrobial Nanomaterials and Coatings: Current Mechanisms and Future Perspectives to Control the Spread of Viruses Including SARS-CoV-2 // ACS Nano. – 2020. – V. 14, № 10. – P. 12341-12369. https://doi.org/10.1021/acsnano.0c05937

152. Ionin A. A., Ivanova A. K., Khmel'nitskii R. A., Klevkov Y. V., Kudryashov S. I., Levchenko A. O., Nastulyavichus A. A., Rudenko A. A., Saraeva I. N., Smirnov N. A., Zayarny D. A., Gonchukov S. A., Tolordava E. R. Antibacterial effect of the laser-generated Se nanocoatings on Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa biofilms // Laser Physics Letters. – 2018. – V. 15, № 1. https://doi.org/10.1088/1612-202X/aa897f

153. Irshad R., Tahir K., Li B., Ahmad A., R. Siddiqui A., Nazir S. Antibacterial activity of biochemically capped iron oxide nanoparticles: A view towards green chemistry // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2017. – V. 170. – P. 241-246. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.04.020

154. Ismail R. A., Sulaiman G. M., Abdulrahman S. A., Marzoog T. R. Antibacterial activity of magnetic iron oxide nanoparticles synthesized by laser ablation in liquid // Materials Science and Engineering: C. – 2015. – V. 53. – P. 286-297.

155. Jalal M., Ansari M. A., Shukla A. K., Ali S. G., Khan H. M., Pal R., Alam J., Cameotra S. S. Green synthesis and antifungal activity of Al₂O₃ NPs against fluconazole-resistant Candida spp isolated from a tertiary care hospital // RSC advances. – 2016. – V. 6, № 109. – P. 107577-107590.

156. Janaki A. C., Sailatha E., Gunasekaran S. Synthesis, characteristics and antimicrobial activity of ZnO nanoparticles // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2015. – V. 144. – P. 17-22.

157. Janani B., Al-Mohaimeed A. M., Raju L. L., Al Farraj D. A., Thomas A. M., Khan S. S. Synthesis and characterizations of hybrid PEG-Fe₃O₄ nanoparticles for the efficient adsorptive removal of dye and antibacterial, and antibiofilm applications // Journal of Environmental Health Science and Engineering. -2021. - V. 19, No 1. - P. 389-400.

158. Javanbakht T., Laurent S., Stanicki D., Wilkinson K. J. Relating the surface properties of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) to their bactericidal effect towards a biofilm of Streptococcus mutans // PLoS One. – 2016. – V. 11, N_{0} 4. – P. e0154445.

159. Failure analysis in biocomposites, fibre-reinforced composites and hybrid composites. / Jawaid M., Thariq M., Saba N.: Woodhead Publishing, 2018.

160. Jayaseelan C., Rahuman A. A., Kirthi A. V., Marimuthu S., Santhoshkumar T., Bagavan A., Gaurav K., Karthik L., Rao K. V. B. Novel microbial route to synthesize ZnO nanoparticles using Aeromonas hydrophila and their activity against pathogenic bacteria and fungi // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2012. – V. 90. – P. 78-84. https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.01.006

161. Jiang W., Mashayekhi H., Xing B. Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles // Environmental Pollution. – 2009. – V. 157, № 5. – P. 1619-1625. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.12.025

162. Jiao W. Q., Yue M. B., Wang Y. M., He M.-Y. Synthesis of morphology-controlled mesoporous transition aluminas derived from the decomposition of alumina hydrates // Microporous and Mesoporous Materials. - 2012. - V. 147, N° 1. - P. 167-177. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2011.06.012

163. Jin T., Sun D., Su J., Zhang H., Sue H. J. Antimicrobial efficacy of zinc oxide quantum dots against Listeria monocytogenes, Salmonella enteritidis, and Escherichia coli O157: H7 // Journal of food science. – 2009. – V. 74, № 1. – P. M46-M52.

164. Joe A., Park S.-H., Shim K.-D., Kim D.-J., Jhee K.-H., Lee H.-W., Heo C.-H., Kim H.-M., Jang E.-S. Antibacterial mechanism of ZnO nanoparticles under dark conditions // Journal of Industrial and Engineering Chemistry. – 2017. – V. 45. – P. 430-439.

165. Jwad K. H., Saleh T. H., Abd-Alhamza B. Preparation of Aluminum Oxide Nanoparticles by Laser Ablation and a Study of Their Applications as Antibacterial and Wounds Healing Agent // Nano Biomed. Eng. – 2019. – V. 11, № 3. – P. 313-319.

166. Kalidasan V., Liu X. L., Herng T. S., Yang Y., Ding J. Bovine Serum Albumin-Conjugated Ferrimagnetic Iron Oxide Nanoparticles to Enhance the Biocompatibility and Magnetic Hyperthermia Performance // Nano-Micro Letters. – 2016. – V. 8, № 1. – P. 80-93. https://doi.org/10.1007/s40820-015-0065-1

167. Kalneus V., Nemushchenko D., Larichkin V., Briutov A. Research of Physical and Mechanical Properties of Fly Ash Ceramics with SiO₂ and Al₂O₃ Nanoparticles as Functional Addition // Key Engineering Materials. – V. 887 – Trans Tech Publ, 2021. – P. 528-535.

168. Kamat S., Kumari M. Emergence of microbial resistance against nanoparticles: Mechanisms and strategies // Frontiers in Microbiology. – 2023. – V. 14. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1102615

169. Kang C., Fromm H. J. Identification of an Essential Second Metal Ion in the Reaction Mechanism of Escherichia coli Adenylosuccinate Synthetase (*) // Journal of Biological Chemistry. – 1995. – V.
270, № 26. – P. 15539-15544.

170. Kanoksil M., Jatapai A., Peacock S. J., Limmathurotsakul D. Correction: Epidemiology, Microbiology and Mortality Associated with Community-Acquired Bacteremia in Northeast Thailand: A Multicenter Surveillance Study // PLOS ONE. – 2013. – V. 8, № 10. – P. 10.1371/annotation/e199ebcc-0bc1-4be1-ad91-ad2a8c0c9382.

https://doi.org/10.1371/annotation/e199ebcc-0bc1-4be1-ad91-ad2a8c0c9382

171. Kansara K., Patel P., Shukla R. K., Pandya A., Shanker R., Kumar A., Dhawan A. Synthesis of biocompatible iron oxide nanoparticles as a drug delivery vehicle [Corrigendum] // International Journal of Nanomedicine. – 2018. – V. 13. – P. 4207-4208.

172. Kapoor D. N., Bhatia A., Kaur R., Sharma R., Kaur G., Dhawan S. PLGA: a unique polymer for drug delivery // Therapeutic Delivery. – 2015. – V. 6, № 1. – P. 41-58. https://doi.org/10.4155/tde.14.91
173. Kashef N., Huang Y.-Y., Hamblin M. R. Advances in antimicrobial photodynamic inactivation at the nanoscale // Nanophotonics. – 2017. – V. 6, № 5. – P. 853-879.

174. Kaushik A., Khan R., Solanki P. R., Pandey P., Alam J., Ahmad S., Malhotra B. D. Iron oxide nanoparticles–chitosan composite based glucose biosensor // Biosensors and Bioelectronics. – 2008. – V. 24, № 4. – P. 676-683. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.06.032

175. Kavitha T., Gopalan A. I., Lee K.-P., Park S.-Y. Glucose sensing, photocatalytic and antibacterial properties of graphene–ZnO nanoparticle hybrids // Carbon. – 2012. – V. 50, № 8. – P. 2994-3000.

176. Kayani Z. N., Abbas E., Saddiqe Z., Riaz S., Naseem S. Photocatalytic, antibacterial, optical and magnetic properties of Fe-doped ZnO nano-particles prepared by sol-gel // Materials Science in Semiconductor Processing. – 2018. – V. 88. – P. 109-119.

177. Kelley M., Current K., Dissanayake N., Obare S. Effect of Iron Oxide Nanoparticles and Amoxicillin on Bacterial Growth in the Presence of Dissolved Organic Carbon // Book Effect of Iron Oxide Nanoparticles and Amoxicillin on Bacterial Growth in the Presence of Dissolved Organic Carbon // EditorBiomdicines, 2017.

178. Kennedy L. C., Bickford L. R., Lewinski N. A., Coughlin A. J., Hu Y., Day E. S., West J. L., Drezek R. A. A New Era for Cancer Treatment: Gold-Nanoparticle-Mediated Thermal Therapies // Small. – 2011. – V. 7, № 2. – P. 169-183. https://doi.org/10.1002/smll.201000134

179. Khajeh Mehrizi M., Mashroteh H., Nabizadeh Moghadam Noghabi N. Effect of Chitosan, Aluminum Oxide and Silver Nanoparticles on Antibacterial, Deodorizing and Moisture Absorption Properties of Nonwoven Polyester Fabrics for Use in Medical Textiles // Medical Laboratory Journal. – 2016. – V. 10, N_{0} 4. – P. 46-52.

180. Khan M. F., Hameedullah M., Ansari A. H., Ahmad E., Lohani M., Khan R. H., Alam M. M., Khan W., Husain F. M., Ahmad I. Flower-shaped ZnO nanoparticles synthesized by a novel approach at near-room temperatures with antibacterial and antifungal properties // International journal of nanomedicine. -2014. - V. 9. - P. 853.

181. Khan M. F., Ansari A. H., Hameedullah M., Ahmad E., Husain F. M., Zia Q., Baig U., Zaheer M. R., Alam M. M., Khan A. M. Sol-gel synthesis of thorn-like ZnO nanoparticles endorsing mechanical stirring effect and their antimicrobial activities: Potential role as nano-antibiotics // Scientific reports. – 2016. - V. 6, No 1. - P. 1-12.

182. Khashan K. S., Sulaiman G. M., Mahdi R. Preparation of iron oxide nanoparticles-decorated carbon nanotube using laser ablation in liquid and their antimicrobial activity // Artif Cells Nanomed Biotechnol. – 2017. – V. 45, № 8. – P. 1699-1709. https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1282498

183. Kim M., Osone S., Kim T., Higashi H., Seto T. Synthesis of Nanoparticles by Laser Ablation: A Review // KONA Powder and Particle Journal. – 2017. – V. 34, № 0. – P. 80-90. https://doi.org/10.14356/kona.2017009

184. Khlebtsov, B. N., Tumskiy, R. S., Burov, A. M., Pylaev, T. E., Khlebtsov, N. G. Quantifying the numbers of gold nanoparticles in the test zone of lateral flow immunoassay strips //ACS Applied Nano Materials. $-2019. - T. 2. - N_{\odot}. 8. - C. 5020-5028.$

185. Khlebtsov B. N., Burov, A. M., Zakharevich, A. M., Khlebtsov, N. G. SERS and Indicator Paper Sensing of Hydrogen Peroxide Using Au@ Ag Nanorods //Sensors. – 2022. – V. 22, №. 9. – P. 3202.

186. Klaunig J. E., Kamendulis L. M., Hocevar B. A. Oxidative Stress and Oxidative Damage in Carcinogenesis // Toxicologic Pathology. – 2009. – V. 38, № 1. – P. 96-109. https://doi.org/10.1177/0192623309356453

187. Klose D., Siepmann F., Elkharraz K., Siepmann J. PLGA-based drug delivery systems: Importance of the type of drug and device geometry // International Journal of Pharmaceutics. – 2008. – V. 354, № 1-2. – P. 95-103. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.10.030

188. Klug A., Rhodes D. 'Zinc fingers': a novel protein motif for nucleic acid recognition // Trends in Biochemical Sciences. – 1987. – V. 12. – P. 464-469.

189. Kohanski M., Depristo M., Collins J. Article sublethal antibiotic treatment leads to multidrug //
Mol. Cell. – 2010. – V. 37. – P. 311-320.

190. Kolahalam L. A. Viswanath I. K., Diwakar B. S., Govindh B., Reddy V., Murthy Y. L. N. Review on nanomaterials: Synthesis and applications //Materials Today: Proceedings. – 2019. – V. 18. – P. 2182-2190.

191. Kolen'ko Y. V., Bañobre-López M., Rodríguez-Abreu C., Carbó-Argibay E., Deepak F. L., Petrovykh D. Y., Cerqueira M. F. t., Kamali S., Kovnir K., Shtansky D. V. High-temperature magnetism as a probe for structural and compositional uniformity in ligand-capped magnetite nanoparticles // The Journal of Physical Chemistry C. – 2014. – V. 118, № 48. – P. 28322-28329.

192. Kolen'ko Y. V., Bañobre-López M., Rodríguez-Abreu C., Carbó-Argibay E., Sailsman A., Piñeiro-Redondo Y., Cerqueira M. F., Petrovykh D. Y., Kovnir K., Lebedev O. I., Rivas J. Large-Scale Synthesis of Colloidal Fe₃O₄ Nanoparticles Exhibiting High Heating Efficiency in Magnetic Hyperthermia // The Journal of Physical Chemistry C. – 2014. – V. 118, № 16. – P. 8691-8701. https://doi.org/10.1021/jp500816u

193. Król A., Pomastowski P., Rafińska K., Railean-Plugaru V., Buszewski B. Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism // Advances in colloid and interface science. – 2017. – V. 249. – P. 37-52.

194. Kumar A., Pandey A. K., Singh S. S., Shanker R., Dhawan A. Engineered ZnO and TiO₂ nanoparticles induce oxidative stress and DNA damage leading to reduced viability of Escherichia coli // Free Radical Biology and Medicine. – 2011. – V. 51, № 10. – P. 1872-1881. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.025

195. Kumar K. M., Mandal B. K., Naidu E. A., Sinha M., Kumar K. S., Reddy P. S. Synthesis and characterisation of flower shaped zinc oxide nanostructures and its antimicrobial activity // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2013. – V. 104. – P. 171-174.

196. Labouta H. I., Schneider M. Interaction of inorganic nanoparticles with the skin barrier: current status and critical review // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. – 2013. – V. 9, №
1. – P. 39-54. https://doi.org/10.1016/j.nano.2012.04.004

197. Laurent S., Forge D., Port M., Roch A., Robic C., Vander Elst L., Muller R. N. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications // Chemical reviews. -2008. - V. 108, No 6. -P. 2064-2110.

198. Lee C.-M., Jeong H.-J., Kim S.-L., Kim E.-M., Kim D. W., Lim S. T., Jang K. Y., Jeong Y. Y., Nah J.-W., Sohn M.-H. SPION-loaded chitosan–linoleic acid nanoparticles to target hepatocytes // International Journal of Pharmaceutics. – 2009. – V. 371, № 1. – P. 163-169. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.12.021

199. Lee J.-H., Lee E.-J., Kwon J.-S., Hwang C.-J., Kim K.-N. Cytotoxicity Comparison of the Nanoparticles Deposited on Latex Rubber Bands between the Original and Stretched State // Journal of Nanomaterials. – 2014. – V. 2014. – P. 1-12. https://doi.org/10.1155/2014/567827

200. Lee N., Choi Y., Lee Y., Park M., Moon W. K., Choi S. H., Hyeon T. Water-Dispersible Ferrimagnetic Iron Oxide Nanocubes with Extremely High r2 Relaxivity for Highly Sensitive in Vivo MRI 2012. V. 12, № 6. of Tumors // Nano Letters. _ _ Ρ. 3127-3131. https://doi.org/10.1021/nl3010308

201. Leung Y., Chan C., Ng A., Chan H., Chiang M., Djurišić A., Ng Y., Jim W., Guo M., Leung F. Antibacterial activity of ZnO nanoparticles with a modified surface under ambient illumination // Nanotechnology. – 2012. – V. 23, № 47. – P. 475703.

202. Leung Y. H., Ng A. M., Xu X., Shen Z., Gethings L. A., Wong M. T., Chan C. M., Guo M. Y., Ng Y. H., Djurišić A. B. Mechanisms of antibacterial activity of MgO: non-ROS mediated toxicity of MgO nanoparticles towards Escherichia coli // Small. – 2014. – V. 10, № 6. – P. 1171-1183.

203. Li D., Shen M., Xia J., Shi X. Recent developments of cancer nanomedicines based on ultrasmall iron oxide nanoparticles and nanoclusters // Nanomedicine. – 2021. – V. 16, № 8. – P. 609-612.

204. Li W.-R., Xie X.-B., Shi Q.-S., Zeng H.-Y., Ou-Yang Y.-S., Chen Y.-B. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on Escherichia coli // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2010. – V. 85, № 4. – P. 1115-1122. https://doi.org/10.1007/s00253-009-2159-5

205. Li W., Wei W., Wu X., Zhao Y., Dai H. The antibacterial and antibiofilm activities of mesoporous hollow Fe 3 O 4 nanoparticles in an alternating magnetic field // Biomaterials Science. – 2020. – V. 8, № 16. – P. 4492-4507.

206. Li Y., Yang D., Wang S., Li C., Xue B., Yang L., Shen Z., Jin M., Wang J., Qiu Z. The detailed bactericidal process of ferric oxide nanoparticles on E. coli // Molecules. – 2018. – V. 23, № 3. – P. 606.

207. Lin W., Stayton I., Huang Y.-w., Zhou X.-D., Ma Y. Cytotoxicity and cell membrane depolarization induced by aluminum oxide nanoparticles in human lung epithelial cells A549 // Toxicological and Environmental Chemistry. – 2008. – V. 90, № 5. – P. 983-996.

208. Ling D., Lee N., Hyeon T. Chemical synthesis and assembly of uniformly sized iron oxide nanoparticles for medical applications // Accounts of chemical research. -2015. - V. 48, No 5. - P. 1276-1285.

209. Lingaraju K., Raja Naika H., Manjunath K., Basavaraj R. B., Nagabhushana H., Nagaraju G., Suresh D. Biogenic synthesis of zinc oxide nanoparticles using Ruta graveolens (L.) and their antibacterial and antioxidant activities // Applied Nanoscience. – 2015. – V. 6, № 5. – P. 703-710. https://doi.org/10.1007/s13204-015-0487-6

210. Liu H., Zhang W., Fang Y., Yang H., Tian L., Li K., Lai W., Bian L., Lin B., Liu X., Xi Z. Neurotoxicity of aluminum oxide nanoparticles and their mechanistic role in dopaminergic neuron injury involving p53-related pathways // Journal of Hazardous Materials. – 2020. – V. 392. – P. 122312. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122312

211. Liu J., Xu J., Zhou J., Zhang Y., Guo D., Wang Z. Fe(3)O(4)-based PLGA nanoparticles as MR contrast agents for the detection of thrombosis // Int J Nanomedicine. – 2017. – V. 12. – P. 1113-1126. https://doi.org/10.2147/ijn.s123228

212. Liu J., Wang Y., Ma J., Peng Y., Wang A. A review on bidirectional analogies between the photocatalysis and antibacterial properties of ZnO // Journal of Alloys and Compounds. – 2019. – V. 783. – P. 898-918.

213. Liu Y.-j., He L.-l. Mustapha. A.; Li, H. and Lin, M. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157: H7 // J Appl Microbiol. – 2009. – V. 107, № 4. – P. 1193-201.

214. Londono S. C., Hartnett H. E., Williams L. B. Antibacterial Activity of Aluminum in Clay from the Colombian Amazon // Environ Sci Technol. – 2017. – V. 51, № 4. – P. 2401-2408. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04670

215. Loparev A. V., Ignat'ev P. S., Indukaev K. V., Osipov P. A., Mazalov I. N., Kozyrev A. V. A high-speed modulation interference microscope for biomedical studies // Measurement Techniques. –
2010. – V. 52, № 11. – P. 1229-1235. https://doi.org/10.1007/s11018-010-9426-9

216. Lozhkomoev A. S., Pervikov A. V., Kazantsev S. O., Sharipova A. F., Rodkevich N. G., Toropkov N. E., Suliz K. V., Svarovskaya N. V., Kondranova A. M., Lerner M. I. Synthesis of Fe/Fe₃O₄ core-shell nanoparticles by electrical explosion of the iron wire in an oxygen-containing atmosphere // Journal of Nanoparticle Research. -2021. - V. 23, No 3. - P. 73. https://doi.org/10.1007/s11051-021-05180-x

217. Lu A.-H., Salabas E. L., Schüth F. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application // Angewandte Chemie International Edition. – 2007. – V. 46, № 8.
– P. 1222-1244. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/anie.200602866

218. Luo T., Wei X., Huang X., Huang L., Yang F. Tribological properties of Al₂O₃ nanoparticles as lubricating oil additives // Ceramics International. – 2014. – V. 40, № 5. – P. 7143-7149. https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2013.12.050

219. Maity D., Ding J., Xue J.-M. Synthesis of magnetite nanoparticles by thermal decomposition: time, temperature, surfactant and solvent effects // Functional Materials Letters. – 2008. – V. 1, № 03. – P. 189-193.

220. Makadia H. K., Siegel S. J. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier // Polymers. – 2011. – V. 3, № 3. – P. 1377-1397. https://doi.org/10.3390/polym3031377

221. Manikandan V., Jayanthi P., Priyadharsan A., Vijayaprathap E., Anbarasan P. M., Velmurugan P. Green synthesis of pH-responsive Al₂O₃ nanoparticles: Application to rapid removal of nitrate ions with enhanced antibacterial activity // Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. – 2019. – V. 371. – P. 205-215. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2018.11.009

222. Manogar P., Esther Morvinyabesh J., Ramesh P., Dayana Jeyaleela G., Amalan V., Ajarem J. S., Allam A. A., Seong Khim J., Vijayakumar N. Biosynthesis and antimicrobial activity of aluminium oxide nanoparticles using Lyngbya majuscula extract // Materials Letters. – 2022. – V. 311. – P. 131569. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.131569

223. Manohara Reddy Y. V., Shin J. H., Hwang J., Kweon D.-H., Choi C.-H., Park K., Kim S.-K., Madhavi G., Yi H., Park J. P. Fine-tuning of MXene-nickel oxide-reduced graphene oxide nanocomposite bioelectrode: Sensor for the detection of influenza virus and viral protein // Biosensors and Bioelectronics. – 2022. – V. 214. https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114511

224. Manyasree D., Kiranmayi P., Kumar R. Synthesis, characterization and antibacterial activity of iron oxide nanoparticles // Indo Am J Pharm Res. – 2016. – V. 6. – P. 65-76.

225. Manyasree D., Kiranmayi P., Kumar R. Synthesis, characterization and antibacterial activity of aluminium oxide nanoparticles // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. – 2018. – V. 10, № 1. – P. 32-35.

Manzoor U., Siddique S., Ahmed R., Noreen Z., Bokhari H., Ahmad I. Antibacterial, structural and optical characterization of mechano-chemically prepared ZnO nanoparticles // PLoS One. – 2016. – V. 11, № 5. – P. e0154704.

227. Maret W. Metals on the move: zinc ions in cellular regulation and in the coordination dynamics of zinc proteins // Biometals. -2011. - V. 24, No 3. - P. 411-418.

228. Maret W. Inhibitory zinc sites in enzymes // BioMetals. – 2013. – V. 26, № 2. – P. 197-204. https://doi.org/10.1007/s10534-013-9613-7 229. Margabandhu M., Sendhilnathan S., Maragathavalli S., Karthikeyan V., Annadurai B. Synthesis characterization and antibacterial activity of iron oxide nanoparticles // Glob. J. Bio Sci. Biotechnol. – 2015. – V. 4, N_{0} 4. – P. 335-341.

230. Markides H., Rotherham M., El Haj A. J. Biocompatibility and Toxicity of Magnetic Nanoparticles in Regenerative Medicine // Journal of Nanomaterials. – 2012. – V. 2012. – P. 614094. https://doi.org/10.1155/2012/614094

231. Martins C., Sousa F., Araújo F., Sarmento B. Functionalizing PLGA and PLGA Derivatives for Drug Delivery and Tissue Regeneration Applications // Advanced Healthcare Materials. – 2018. – V. 7, № 1. https://doi.org/10.1002/adhm.201701035

232. Mehmood S., Rehman M. A., Ismail H., Mirza B., Bhatti A. S. Significance of postgrowth processing of ZnO nanostructures on antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria // International journal of nanomedicine. -2015. - V. 10. - P. 4521.

233. Mesaros A., Vasile B. S., Toloman D., Pop O. L., Marinca T., Unguresan M., Perhaita I., Filip M., Iordache F. Towards understanding the enhancement of antibacterial activity in manganese doped ZnO nanoparticles // Applied Surface Science. – 2019. – V. 471. – P. 960-972.

234. Michalet X., Pinaud F. F., Bentolila L. A., Tsay J. M., Doose S., Li J. J., Sundaresan G., Wu A., Gambhir S., Weiss S. Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics // science. – 2005. – V. 307, № 5709. – P. 538-544.

235. Mirshafa A., Nazari M., Jahani D., Shaki F. Size-Dependent Neurotoxicity of Aluminum Oxide Particles: a Comparison Between Nano- and Micrometer Size on the Basis of Mitochondrial Oxidative Damage // Biological Trace Element Research. – 2018. – V. 183, № 2. – P. 261-269. https://doi.org/10.1007/s12011-017-1142-8

236. Mishra P. K., Mishra H., Ekielski A., Talegaonkar S., Vaidya B. Zinc oxide nanoparticles: a promising nanomaterial for biomedical applications // Drug Discov Today. – 2017. – V. 22, № 12. – P. 1825-1834. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.08.006

237. Mohamad S. N. S., Mahmed N., Halin D. S. C., Razak K. A., Norizan M. N., Mohamad I. S. Synthesis of alumina nanoparticles by sol-gel method and their applications in the removal of copper ions (Cu^{2+}) from the solution // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – V. 701 – IOP Publishing, 2019. – P. 012034.

238. Mohapatra M., Anand S. Synthesis and applications of nano-structured iron oxides/hydroxides– a review // International Journal of Engineering, Science and Technology. – 2010. – V. 2, № 8.

239. Morones J. R., Elechiguerra J. L., Camacho A., Holt K., Kouri J. B., Ramírez J. T., Yacaman M.
J. The bactericidal effect of silver nanoparticles // Nanotechnology. – 2005. – V. 16, № 10. – P. 2346.

240. Mousavi S. M., Hashemi S. A., Zarei M., Bahrani S., Savardashtaki A., Esmaeili H., Lai C. W., Mazraedoost S., Abassi M., Ramavandi B. Data on cytotoxic and antibacterial activity of synthesized Fe₃O₄ nanoparticles using Malva sylvestris // Data in brief. – 2020. – V. 28. – P. 104929.

241. Mu D., Mu X., Xu Z., Du Z., Chen G. Removing Bacillus subtilis from fermentation broth using alumina nanoparticles // Bioresource Technology. – 2015. – V. 197. – P. 508-511. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.109

Mukha I. P., Eremenko A. M., Smirnova N. P., Mikhienkova A. I., Korchak G. I., Gorchev V. 242. F., Chunikhin A. Y. Antimicrobial activity of stable silver nanoparticles of a certain size // Applied Microbiology. 2013. _ V. 49. № 2. P. 199-206. Biochemistry and _ https://doi.org/10.1134/S0003683813020117

243. Mukherjee A., Sadiq I. M., Prathna T., Chandrasekaran N. Antimicrobial activity of aluminium oxide nanoparticles for potential clinical applications // Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. -2011. - V. 1. - P. 245-251.

Muzammil S., Khurshid M., Nawaz I., Siddique M. H., Zubair M., Nisar M. A., Imran M., Hayat
S. Aluminium oxide nanoparticles inhibit EPS production, adhesion and biofilm formation by multidrug
resistant Acinetobacter baumannii // Biofouling. – 2020. – V. 36, № 4. – P. 492-504.

245. Naeimi H., Nazifi Z. S., Amininezhad S. M. Preparation of Fe3O4 encapsulated-silica sulfonic acid nanoparticles and study of their in vitro antimicrobial activity // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2015. – V. 149. – P. 180-188.

246. Nagajyothi P., An T. M., Sreekanth T., Lee J.-i., Lee D. J., Lee K. Green route biosynthesis: Characterization and catalytic activity of ZnO nanoparticles // Materials Letters. – 2013. – V. 108. – P. 160-163.

247. Nagajyothi P. C., Cha S. J., Yang I. J., Sreekanth T. V. M., Kim K. J., Shin H. M. Antioxidant and anti-inflammatory activities of zinc oxide nanoparticles synthesized using Polygala tenuifolia root extract // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2015. – V. 146. – P. 10-17. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.02.008

248. Nagy A., Harrison A., Sabbani S., Munson Jr R. S., Dutta P. K., Waldman W. J. Silver nanoparticles embedded in zeolite membranes: release of silver ions and mechanism of antibacterial action // International journal of nanomedicine. -2011. - V. 6. - P. 1833.

249. Nair S., Sasidharan A., Divya Rani V., Menon D., Nair S., Manzoor K., Raina S. Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. -2009. - V. 20, No 1. - P. 235-241.

250. Namazova-Baranova L. S., Baranov A. A. Antibiotic Resistance in Modern World // Pediatric pharmacology. – 2017. – V. 14, № 5. – P. 341-354. https://doi.org/10.15690/pf.v14i5.1782

251. Nasrollahzadeh M., Issaabadi Z., Sajadi S. M. Green synthesis of Cu/Al2O3 nanoparticles as efficient and recyclable catalyst for reduction of 2,4-dinitrophenylhydrazine, Methylene blue and Congo V. red // Composites Part B: Engineering. 2019. _ 166. P. 112-119. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.11.113

252. Nastulyavichus A., Kudryashov S., Smirnov N., Saraeva I., Rudenko A., Tolordava E., Ionin A.,
Romanova Y., Zayarny D. Antibacterial coatings of Se and Si nanoparticles // Applied Surface Science.
2019. – V. 469. – P. 220-225. https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.11.011

253. Nastulyavichus A., Kudryashov S., Tolordava E., Rudenko A., Kirilenko D., Gonchukov S., Ionin A., Yushina Y. Generation of silver nanoparticles from thin films and their antibacterial properties // Laser Physics Letters. – 2022. – V. 19, № 7. https://doi.org/10.1088/1612-202X/ac7137

254. Nastulyavichus A. A., Smirnov N. A., Kudryashov S. I., Ionin A. A., Saraeva I. N., Busleev N. I., Rudenko A. A., Khmel'nitskii R. A., Zayarnyi D. A. Formation of nanoparticles from thin silver films irradiated by laser pulses in air // Quantum Electronics. – 2018. – V. 48, № 3. – P. 251-254. https://doi.org/10.1070/qel16600

255. Nastulyavichus A. A., Kudryashov S. I., Saraeva I. N., Smirnov N. A., Rudenko A. A., Tolordava E. R., Zayarny D. A., Gonchukov S. A., Ionin A. A. Nanostructured steel for antibacterial applications
// Laser Physics Letters. – 2020. – V. 17, № 1. https://doi.org/10.1088/1612-202X/ab4fe7

256. Navale G., Thripuranthaka M., Late D., Shinde S. Antimicrobial Activity of ZnO Nanoparticles against Pathogenic Bacteria and Fungi // JSM Nanotechnology and Nanomedicine. – 2015. – V. 3, № 1. – P. 1033. https://doi.org/10.47739/2334-1815/1033

257. Nehra P., Chauhan R., Garg N., Verma K. Antibacterial and antifungal activity of chitosan coated iron oxide nanoparticles // British journal of biomedical science. – 2018. – V. 75, № 1. – P. 13-18.

258. Nel A., Xia T., Madler L., Lin N. Ti is an abundant element in soil and appears in a variety of forms including primary and secondary minerals as well as organically bound and amorphous compounds // Science. – 2006. – V. 311. – P. 622-627.

259. Nguyen-Tri P., Nguyen T. A., Carriere P., Ngo Xuan C. Nanocomposite Coatings: Preparation, Characterization, Properties, and Applications // International Journal of Corrosion. – 2018. – V. 2018.
– P. 1-19. https://doi.org/10.1155/2018/4749501

260. Niethammer P., Grabher C., Look A. T., Mitchison T. J. A tissue-scale gradient of hydrogen peroxide mediates rapid wound detection in zebrafish // Nature. – 2009. – V. 459, № 7249. – P. 996-999. https://doi.org/10.1038/nature08119

261. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited // Microbiology and molecular biology reviews. – 2003. – V. 67, № 4. – P. 593-656.

262. Nikolova M. P., Chavali M. S. Metal Oxide Nanoparticles as Biomedical Materials // Biomimetics. – 2020. – V. 5, № 2. https://doi.org/10.3390/biomimetics5020027 263. Niño-Martínez N., Salas Orozco M. F., Martínez-Castañón G.-A., Torres Méndez F., Ruiz F. Molecular mechanisms of bacterial resistance to metal and metal oxide nanoparticles // International journal of molecular sciences. – 2019. – V. 20, № 11. – P. 2808.

264. Nirmala R., Kang H.-S., Park H.-M., Navamathavan R., Jeong I. S., Kim H. Y. Silver-Loaded Biomimetic Hydroxyapatite Grafted Poly(<I>ε</I>-caprolactone) Composite Nanofibers: A Cytotoxicity Study // Journal of Biomedical Nanotechnology. – 2012. – V. 8, № 1. – P. 125-132. https://doi.org/10.1166/jbn.2012.1359

265. Okada A., Fukushima Y., Kawasumi M., Inagaki S., Usuki A., Sugiyama S., Kurauchi T., Kamigaito O. Composite material and process for manufacturing same // Book Composite material and process for manufacturing same / EditorGoogle Patents, 1988.

266. Oluyomi S., Faoziyat A. Evaluation of metal nanoparticles for drug delivery systems // The Journal of Biomedical Research. – 2015. – V. 29, № 2. https://doi.org/10.7555/jbr.28.20130096

267. Omelchenko A., Sobol E., Simakin A., Serkov A., Sukhov I., Shafeev G. Biofunctional magnetic 'core-shell'nanoparticles generated by laser ablation of iron in liquid // Laser Physics. -2015. - V. 25, $N_{2} 2. - P. 025607.$

268. Omelyanchik A., Levada K., Pshenichnikov S., Abdolrahim M., Baricic M., Kapitunova A., Galieva A., Sukhikh S., Astakhova L., Antipov S., Fabiano B., Peddis D., Rodionova V. Green Synthesis of Co-Zn Spinel Ferrite Nanoparticles: Magnetic and Intrinsic Antimicrobial Properties // Materials. – 2020. – V. 13, № 21. https://doi.org/10.3390/ma13215014

269. Paek S.-H., Lee S.-H., Cho J.-H., Kim Y.-S. Development of Rapid One-Step Immunochromatographic Assay // Methods. – 2000. – V. 22, № 1. – P. 53-60. https://doi.org/10.1006/meth.2000.1036

270. Paglia G. Determination of the structure of y-alumina using empirical and first principle calculations combined with supporting experiments; Curtin University, 2004.

Pakrashi S., Dalai S., Ritika, Sneha B., Chandrasekaran N., Mukherjee A. A temporal study on 271. fate of Al₂O₃ nanoparticles in a fresh water microcosm at environmentally relevant low concentrations 84. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2012. V. P. 70-77. // _ _ https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.06.015

272. Pakrashi S., Kumar D., Iswarya V., Bhuvaneshwari M., Chandrasekaran N., Mukherjee A. A comparative ecotoxicity analysis of α - and γ -phase aluminium oxide nanoparticles towards a freshwater bacterial isolate Bacillus licheniformis // Bioprocess and Biosystems Engineering. – 2014. – V. 37, No 12. – P. 2415-2423. https://doi.org/10.1007/s00449-014-1218-1

273. Pallela P. N. V. K., Ummey S., Ruddaraju L. K., Gadi S., Cherukuri C. S., Barla S., Pammi S. Antibacterial efficacy of green synthesized α -Fe₂O₃ nanoparticles using Sida cordifolia plant extract // Heliyon. – 2019. – V. 5, No 11. – P. e02765.

274. Pandey S., Mishra S. B. Sol-gel derived organic-inorganic hybrid materials: synthesis, characterizations and applications // Journal of sol-gel science and technology. – 2011. – V. 59, № 1. – P. 73-94.

275. Pant H. R., Pant B., Sharma R. K., Amarjargal A., Kim H. J., Park C. H., Tijing L. D., Kim C. S. Antibacterial and photocatalytic properties of Ag/TiO₂/ZnO nano-flowers prepared by facile one-pot hydrothermal process // Ceramics International. – 2013. – V. 39, № 2. – P. 1503-1510.

276. Parks M., Messmer T. Characteristics of electronic cigarette users and their smoking cessation outcomes // Cancer. – 2015. – V. 121. – P. 800.

277. Parrow N. L., Fleming R. E., Minnick M. F. Sequestration and scavenging of iron in infection // Infection and immunity. – 2013. – V. 81, № 10. – P. 3503-3514.

278. Patel H., Joshi J. Green and chemical approach for synthesis of Ag₂O nanoparticles and their antimicrobial activity //Journal of Sol-Gel Science and Technology. – 2023. – C. 1-13.

279. Patra J. K., Ali M. S., Oh I.-G., Baek K.-H. Proteasome inhibitory, antioxidant, and synergistic antibacterial and anticandidal activity of green biosynthesized magnetic Fe₃O₄ nanoparticles using the aqueous extract of corn (Zea mays L.) ear leaves // Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology. – 2017. – V. 45, No 2. – P. 349-356.

Paulpandi M., Thangam R., Kavithaa K., Sumathi S., Sankaran M., Mohan P. S., Gunasekaran P., Kannan S. Pyrimido quinolin derivative: A potential inhibitor for pandemic influenza A (H1N1) viral growth and its replication // journal of pharmacy research. – 2013. – V. 6, № 5. – P. 532-537.

281. Pelaz B., del Pino P., Maffre P., Hartmann R., Gallego M., Rivera-Fernández S., de la Fuente J.
M., Nienhaus G. U., Parak W. J. Surface Functionalization of Nanoparticles with Polyethylene Glycol: Effects on Protein Adsorption and Cellular Uptake // ACS Nano. – 2015. – V. 9, № 7. – P. 6996-7008. https://doi.org/10.1021/acsnano.5b01326

282. Peng X., Wickham J., Alivisatos A. Kinetics of II-VI and III-V colloidal semiconductor nanocrystal growth: "focusing" of size distributions // Journal of the American Chemical Society. – 1998.
– V. 120, № 21. – P. 5343-5344.

283. Pham A. N., Xing G., Miller C. J., Waite T. D. Fenton-like copper redox chemistry revisited: Hydrogen peroxide and superoxide mediation of copper-catalyzed oxidant production // Journal of Catalysis. – 2013. – V. 301. – P. 54-64. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcat.2013.01.025

284. Pleskova S. N., Gorshkova E. N., Novikov V. V., Solioz, M. Treatment by serum up-conversion nanoparticles in the fluoride matrix changes the mechanism of cell death and the elasticity of the membrane //Micron. -2016. - V. 90. - P. 23-32.

285. Iron and its unique role in Earth evolution. / Pilchin A. N.: UNAM, 2006.

286. Poh T. Y., Ali N. A. t. B. M., Mac Aogáin M., Kathawala M. H., Setyawati M. I., Ng K. W., Chotirmall S. H. Inhaled nanomaterials and the respiratory microbiome: clinical, immunological and

toxicological perspectives // Particle and Fibre Toxicology. – 2018. – V. 15, № 1. https://doi.org/10.1186/s12989-018-0282-0

287. Prabhu Y., Rao K. V., Kumari B. S., Kumar V. S. S., Pavani T. Synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles and its antibacterial application // International Nano Letters. – 2015. – V. 5, № 2. – P. 85-92.

288. Prachi A. M., Mushtaq A., Patel R., Singh N., Negi D., Rawat S. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Rubia cordifolia root extract against different bacterial pathogens // Indo Am. J. Pharm. Res. – 2017. – V. 7, № 09. – P. 759-765.

289. Pradhan A. A., Ismat Shah S., Pakstis L. Synthesis and Characterization of Metal Nanoparticles and the Formation of Metal-Polymer Nanocomposites // MRS Proceedings. – 2011. – V. 740. https://doi.org/10.1557/proc-740-i6.10

290. Prashanth P., Raveendra R., Hari Krishna R., Ananda S., Bhagya N., Nagabhushana B., Lingaraju K., Raja Naika H. Synthesis, characterizations, antibacterial and photoluminescence studies of solution combustion-derived α-Al₂O₃ nanoparticles // Journal of Asian Ceramic Societies. – 2015. – V. 3, № 3. – P. 345-351.

291. Praticò D., Uryu K., Sung S., Tang S., Trojanowski J. Q., Lee V. M. Y. Aluminum modulates brain amyloidosis through oxidative stress in APP transgenic mice // The FASEB Journal. – 2002. – V. 16, № 9. – P. 1138-1140.

292. Preethi S., Abarna K., Nithyasri M., Kishore P., Deepika K., Ranjithkumar R., Bhuvaneshwari V., Bharathi D. Synthesis and characterization of chitosan/zinc oxide nanocomposite for antibacterial activity onto cotton fabrics and dye degradation applications // International Journal of Biological Macromolecules. – 2020. – V. 164. – P. 2779-2787. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.047

293. Pucci C., Degl'Innocenti A., Belenli Gümüş M., Ciofani G. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles for magnetic hyperthermia: recent advancements, molecular effects, and future directions in the omics era // Biomaterials Science. – 2022. – V. 10, № 9. – P. 2103-2121. https://doi.org/10.1039/d1bm01963e

294. Qi K., Xing X., Zada A., Li M., Wang Q., Liu S.-y., Lin H., Wang G. Transition metal doped ZnO nanoparticles with enhanced photocatalytic and antibacterial performances: Experimental and DFT studies // Ceramics International. – 2020. – V. 46, № 2. – P. 1494-1502. https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.09.116

295. Radziun E., Dudkiewicz Wilczyńska J., Książek I., Nowak K., Anuszewska E. L., Kunicki A., Olszyna A., Ząbkowski T. Assessment of the cytotoxicity of aluminium oxide nanoparticles on selected mammalian cells // Toxicology in Vitro. – 2011. – V. 25, № 8. – P. 1694-1700. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.07.010 296. Raj K., Kaur P., Gupta G. D., Singh S. Metals associated neurodegeneration in Parkinson's disease: Insight to physiological, pathological mechanisms and management // Neuroscience Letters. – 2021. – V. 753. – P. 135873. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135873

297. Raja A., Ashokkumar S., Pavithra Marthandam R., Jayachandiran J., Khatiwada C. P., Kaviyarasu K., Ganapathi Raman R., Swaminathan M. Eco-friendly preparation of zinc oxide nanoparticles using Tabernaemontana divaricata and its photocatalytic and antimicrobial activity // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2018. – V. 181. – P. 53-58. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.02.011

298. Ramakrishnan S., Rajakarthihan S. Antimicrobial study on gamma-irradiated polyaniline– aluminum oxide (PANI–Al₂O₃) nanoparticles // International Nano Letters. – 2020. – V. 10, № 2. – P. 97-110.

299. Ramalingam B., Parandhaman T., Das S. K. Antibacterial effects of biosynthesized silver nanoparticles on surface ultrastructure and nanomechanical properties of gram-negative bacteria viz. Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa // ACS applied materials & interfaces. – 2016. – V. 8, № 7. – P. 4963-4976.

300. Ramezani M. R., Naderi-Manesh H., Rafieepour H.-A. Cytotoxicity assessment of a gold nanoparticle-chitosan nanocomposite as an effi cient support for cell immobilization: comparison with chitosan hydrogel and chitosan-gelatin // Biocell. – 2014. – V. 38, $N_{\rm P}$ 1. – P. 11.

Ranjbar M., Dehghan Noudeh G., Hashemipour M.-A., Mohamadzadeh I. A systematic study 301. and effect of PLA/Al₂O₃ nanoscaffolds as dental resins: mechanochemical properties // Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology. 2019. V. 47, № 1. P. 201-209. _ _ https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1548472

302. Rasmussen J. W., Martinez E., Louka P., Wingett D. G. Zinc oxide nanoparticles for selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications // Expert Opinion on Drug Delivery. – 2010. – V. 7, № 9. – P. 1063-1077. https://doi.org/10.1517/17425247.2010.502560

303. Rekha K., Nirmala M., Nair M. G., Anukaliani A. Structural, optical, photocatalytic and antibacterial activity of zinc oxide and manganese doped zinc oxide nanoparticles // Physica B: Condensed Matter. – 2010. – V. 405, № 15. – P. 3180-3185. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.physb.2010.04.042

304. Reyes-López S. Y. ZrO₂–ZnO Nanoparticles as Antibacterial Agents // Instituto de Ciencias Biomédicas. – 2019.

305. Reynaud E., Gauthier C., Perez J. Nanophases in polymers // Revue de Métallurgie. – 2017. – V.
96, № 2. – P. 169-176. https://doi.org/10.1051/metal/199996020169

306. Riaz S., Bashir M., Naseem S. Iron oxide nanoparticles prepared by modified co-precipitation method // IEEE transactions on magnetics. – 2013. – V. 50, № 1. – P. 1-4.

307. Rochat T., Nicolas P., Delumeau O., Rabatinová A., Korelusova J., Leduc A., Bessieres P., Dervyn E., Krásný L., Noirot P. Genome-wide identification of genes directly regulated by the pleiotropic transcription factor Spx in Bacillus subtilis // Nucleic acids research. – 2012. – V. 40, N_{2} 19. – P. 9571-9583.

Rodriguez-Quinones A. S. R. A. F 2003 Bacterial iron homeostasis // FEMS Microbiol Rev – V.
 27. – P. 215237.

309. Rouault T. A. Iron-sulfur proteins hiding in plain sight // Nature chemical biology. – 2015. – V.
11, № 7. – P. 442-445.

310. Rufus A., Sreeju N., Philip D. Synthesis of biogenic hematite (α -Fe₂O₃) nanoparticles for antibacterial and nanofluid applications // RSC advances. – 2016. – V. 6, No 96. – P. 94206-94217.

311. Rungraeng N., Cho Y.-C., Yoon S. H., Jun S. Carbon nanotube-polytetrafluoroethylene nanocomposite coating for milk fouling reduction in plate heat exchanger // Journal of Food Engineering. $-2012. - V. 111, N_{\odot} 2. - P. 218-224.$

312. Ryabchikova E. Advances in Nanomaterials in Biomedicine // Nanomaterials. – 2021. – V. 11,
№ 1. https://doi.org/10.3390/nano11010118

313. Sadiq I. M., Chowdhury B., Chandrasekaran N., Mukherjee A. Antimicrobial sensitivity of Escherichia coli to alumina nanoparticles // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. – 2009. – V. 5, № 3. – P. 282-286. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.01.002

314. Sadiq I. M., Pakrashi S., Chandrasekaran N., Mukherjee A. Studies on toxicity of aluminum oxide (Al₂O₃) nanoparticles to microalgae species: Scenedesmus sp. and Chlorella sp // Journal of Nanoparticle Research. – 2011. – V. 13, № 8. – P. 3287-3299. https://doi.org/10.1007/s11051-011-0243-0

315. Saha R. K., Debanath M. K., Paul B., Medhi S., Saikia E. Antibacterial and nonlinear dynamical analysis of flower and hexagon-shaped ZnO microstructures // Scientific Reports. – 2020. – V. 10, № 1. – P. 2598. https://doi.org/10.1038/s41598-020-59534-x

316. Salem A. A. N. A Green and Facile Approach for Synthesis of Magnetite Nanoparticles // Nanoscience and Nanotechnology. – 2012. – V. 2. – P. 208-213.

317. Saliani M., Jalal R., Goharshadi E. K. Effects of pH and temperature on antibacterial activity of zinc oxide nanofluid against Escherichia coli O157: H7 and Staphylococcus aureus // Jundishapur journal of microbiology. – 2015. – V. 8, № 2.

318. Saliani M., Honarbakhsh A., Zhiani R., Movahedifar S. M., Motavalizadehkakhky A. Effects of GO/Al₂O₃ and Al₂O₃ Nanoparticles on Concrete Durability against High Temperature, Freeze-Thaw Cycles, and Acidic Environments // Advances in Civil Engineering. – 2021. – V. 2021.

319. Sanchez-Moreno P., Ortega-Vinuesa J. L., Peula-Garcia J. M., Marchal J. A., Boulaiz H. Smart
Drug-Delivery Systems for Cancer Nanotherapy // Current Drug Targets. – 2018. – V. 19, № 4. – P.
339-359. https://doi.org/10.2174/1389450117666160527142544

320. Saqib S., Munis M. F. H., Zaman W., Ullah F., Shah S. N., Ayaz A., Farooq M., Bahadur S. Synthesis, characterization and use of iron oxide nano particles for antibacterial activity // Microscopy Research and Technique. – 2019. – V. 82, № 4. – P. 415-420. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jemt.23182

321. Sathishkumar G., Logeshwaran V., Sarathbabu S., Jha P. K., Jeyaraj M., Rajkuberan C., Senthilkumar N., Sivaramakrishnan S. Green synthesis of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles using Couroupita guianensis Aubl. fruit extract for their antibacterial and cytotoxicity activities // Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology. -2018. - V. 46, No 3. - P. 589-598.

322. Scheiner K. C., Maas-Bakker R. F., van Steenbergen M. J., Schwendeman S. P., Hennink W. E., Kok R. J. Post-loading of proangiogenic growth factors in PLGA microspheres // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. – 2021. – V. 158. – P. 1-10. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2020.10.022

323. Schins R. P., Knaapen A. M. Genotoxicity of poorly soluble particles // Inhalation toxicology. –
2007. – V. 19, № sup1. – P. 189-198.

324. Schwartz C. J., Giel J. L., Patschkowski T., Luther C., Ruzicka F. J., Beinert H., Kiley P. J. IscR, an Fe-S cluster-containing transcription factor, represses expression of Escherichia coli genes encoding Fe-S cluster assembly proteins // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2001. – V. 98, № 26. – P. 14895-14900.

325. Sehit E., Altintas Z. Significance of nanomaterials in electrochemical glucose sensors: An updated review (2016-2020) // Biosensors and Bioelectronics. – 2020. – V. 159. https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112165

326. Senthil M., Ramesh C. Biogenic synthesis of Fe₃O₄ nanoparticles using tridax procumbens leaf extract and its antibacterial activity on pseudomonas aeruginosa // Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures (DJNB). – 2012. – V. 7, № 4.

327. Senthilkumar N., Nandhakumar E., Priya P., Soni D., Vimalan M., Vetha Potheher I. Synthesis of ZnO nanoparticles using leaf extract of Tectona grandis (L.) and their anti-bacterial, anti-arthritic, anti-oxidant and in vitro cytotoxicity activities // New Journal of Chemistry. – 2017. – V. 41, № 18. – P. 10347-10356. https://doi.org/10.1039/c7nj02664a

328. Serenko O. A., Roldughin V. I., Askadskii A. A., Serkova E. S., Strashnov P. V., Shifrina Z. B. The effect of size and concentration of nanoparticles on the glass transition temperature of polymer nanocomposites // RSC Adv. – 2017. – V. 7, № 79. – P. 50113-50120. https://doi.org/10.1039/c7ra08152a 329. Shalumon K., Anulekha K., Nair S. V., Nair S., Chennazhi K., Jayakumar R. Sodium alginate/poly (vinyl alcohol)/nano ZnO composite nanofibers for antibacterial wound dressings // International journal of biological macromolecules. – 2011. – V. 49, № 3. – P. 247-254.

330. Sharifzadeh E., Cheraghi K. Temperature-affected mechanical properties of polymer nanocomposites from glassy-state to glass transition temperature // Mechanics of Materials. – 2021. – V. 160. https://doi.org/10.1016/j.mechmat.2021.103990

331. Sharma D., Rajput J., Kaith B. S., Kaur M., Sharma S. Synthesis of ZnO nanoparticles and study of their antibacterial and antifungal properties // Thin Solid Films. – 2010. – V. 519, № 3. – P. 1224-1229. https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.08.073

332. Sharma P., Jha A., Dubey R., Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. J Bot: 217037 //. – 2012.

Shen S., Kong F., Guo X., Wu L., Shen H., Xie M., Wang X., Jin Y., Ge Y. CMCTS stabilized 333. Fe3O4 particles with extremely low toxicity as highly efficient near-infrared photothermal agents for in vivo tumor ablation // Nanoscale. _ 2013. – V. 5, № 17. _ P. 8056-8066. https://doi.org/10.1039/C3NR01447A

334. Shin E. Antimicrobials and Antimicrobial Resistant Superbacteria // The Ewha Medical Journal.
- 2017. - V. 40, № 3. https://doi.org/10.12771/emj.2017.40.3.99

335. Shokri N., Javar H. A. Comparison of calcium phosphate and zinc oxide nanoparticles as dermal penetration enhancers for albumin // Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2015. – V. 77, № 6. https://doi.org/10.4103/0250-474x.174989

336. Shrivastava S., Dash D. Applying Nanotechnology to Human Health: Revolution in Biomedical Sciences // Journal of Nanotechnology. – 2009. – V. 2009. – P. 1-14. https://doi.org/10.1155/2009/184702

337. Siddiquah A., Hashmi S. S., Mushtaq S., Renouard S., Blondeau J. P., Abbasi R., Hano C., Abbasi B. H. Exploiting in vitro potential and characterization of surface modified Zinc oxide nanoparticles of Isodon rugosus extract: Their clinical potential towards HepG2 cell line and human pathogenic bacteria // EXCLI journal. – 2018. – V. 17. – P. 671.

338. Siddique S., Hussain Z., Shahid S., Yasmin F. Preparation, characterization and antibacterial activity of ZnO nanoparticles on broad spectrum of microorganisms //. – 2013.

339. Sihem L., Hanine D., Faiza B. Antibacterial Activity of α -Fe₂O₃ and α -Fe₂O₃@ Ag nanoparticles prepared by Urtica leaf extract // Nanotechnologies in Russia. – 2020. – V. 15, No 2. – P. 198-203.

340. Sikora P., Augustyniak A., Cendrowski K., Nawrotek P., Mijowska E. Antimicrobial Activity of Al₂O₃, CuO, Fe₃O₄, and ZnO Nanoparticles in Scope of Their Further Application in Cement-Based Building Materials // Nanomaterials. -2018. - V. 8, No 4. - P. 212.

341. Simon-Deckers A., Loo S. Mayne L'hermite M, Herlin-Boime N, Menguy N, Reynaud C, Gouget B, Carriere M (2009) Size-, composition-and shape-dependent toxicological impact of metal oxide nanoparticles and car-bon nanotubes toward bacteria // Environ Sci Technol – V. 43, № 21. – P. 8423-8429.

342. Singh N., Jenkins G., Asadi R., Doak S. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). Nano Rev 1: 5358 // Book Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). Nano Rev 1: 5358 / Editor, 2010.

343. Sirelkhatim A., Mahmud S., Seeni A., Kaus N. H. M., Ann L. C., Bakhori S. K. M., Hasan H., Mohamad D. Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism // Nanomicro letters. – 2015. – V. 7, № 3. – P. 219-242.

344. Slavin Y. N., Asnis J., Häfeli U. O., Bach H. Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity // Journal of nanobiotechnology. – 2017. – V. 15, № 1. – P. 1-20.

345. Smirnov N. A., Kudryashov S. I., Nastulyavichus A. A., Rudenko A. A., Saraeva I. N., Tolordava E. R., Gonchukov S. A., Romanova Y. M., Ionin A. A., Zayarny D. A. Antibacterial properties of silicon nanoparticles // Laser Physics Letters. – 2018. – V. 15, № 10. https://doi.org/10.1088/1612-202X/aad853
346. Smith M., Sheehan P., Perry L., O'connor K., Csonka L., Applegate B., Whitman L. Quantifying the magnetic advantage in magnetotaxis // Biophysical journal. – 2006. – V. 91, № 3. – P. 1098-1107.

347. Soenen S. J. H., Himmelreich U., Nuytten N., De Cuyper M. Cytotoxic effects of iron oxide nanoparticles and implications for safety in cell labelling // Biomaterials. – 2011. – V. 32, № 1. – P. 195-205. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.08.075

348. Sousa C., Sequeira D., Kolen'ko Y. V., Pinto I. M., Petrovykh D. Y. Analytical protocols for separation and electron microscopy of nanoparticles interacting with bacterial cells // Analytical chemistry. -2015. - V. 87, No 9. - P. 4641-4648.

349. Souza R. C. d., Haberbeck L. U., Riella H. G., Ribeiro D. H., Carciofi B. A. Antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles synthesized by solochemical process // Brazilian Journal of Chemical Engineering. – 2019. – V. 36. – P. 885-893.

350. Sportelli M., Izzi M., Volpe A., Clemente M., Picca R., Ancona A., Lugarà P., Palazzo G., Cioffi N. The Pros and Cons of the Use of Laser Ablation Synthesis for the Production of Silver Nano-Antimicrobials // Antibiotics. – 2018. – V. 7, № 3. https://doi.org/10.3390/antibiotics7030067

351. Stanić V., Tanasković S. B. Antibacterial activity of metal oxide nanoparticles // NanotoxicityElsevier, 2020. – P. 241-274.

352. Suliman A. E., Tang Y., Xu L. Preparation of ZnO nanoparticles and nanosheets and their application to dye-sensitized solar cells // Solar Energy Materials and Solar Cells. – 2007. – V. 91, № 18. – P. 1658-1662.

353. Sun Q., Li J., Le T. Zinc oxide nanoparticle as a novel class of antifungal agents: current advances and future perspectives // Journal of agricultural and food chemistry. – 2018. – V. 66, № 43. – P. 11209-11220.

354. Sun S., Zhang Y., Zeng D., Zhang S., Zhang F., Yu W. PLGA film/Titanium nanotubues as a sustained growth factor releasing system for dental implants // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. – 2018. – V. 29, № 9. https://doi.org/10.1007/s10856-018-6138-1

355. Suryavanshi P., Pandit R., Gade A., Derita M., Zachino S., Rai M. Colletotrichum sp.- mediated synthesis of sulphur and aluminium oxide nanoparticles and its in vitro activity against selected food-borne pathogens // LWT - Food Science and Technology. – 2017. – V. 81. – P. 188-194. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.038

356. Sutradhar P., Debnath N., Saha M. Microwave-assisted rapid synthesis of alumina nanoparticles using tea, coffee and triphala extracts // Advances in Manufacturing. – 2013. – V. 1, № 4. – P. 357-361. https://doi.org/10.1007/s40436-013-0043-0

357. Tamanaha C. R., Mulvaney S. P., Rife J. C., Whitman L. J. Magnetic labeling, detection, and system integration // Biosens Bioelectron. – 2008. – V. 24, № 1. – P. 1-13. https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.02.009

358. Terentyuk G. S., Maslyakova G. N., Suleymanova L. V., Khlebtsov N. G., Khlebtsov B. N., Akchurin G. G., Maksimova I. L., Tuchin V. V. Laser-induced tissue hyperthermia mediated by gold nanoparticles: toward cancer phototherapy //Journal of biomedical optics. $-2009. - V. 14. - N_{\odot}. 2. - P.$ 021016-021016-9.

359. Thomas R., Park I.-K., Jeong Y. Y. Magnetic Iron Oxide Nanoparticles for Multimodal Imaging and Therapy of Cancer // International Journal of Molecular Sciences. – 2013. – V. 14, № 8. – P. 15910-15930.

360. Tiwari V., Mishra N., Gadani K., Solanki P. S., Shah N. A., Tiwari M. Mechanism of Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanoparticle Against Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii // Frontiers in Microbiology. – 2018. – V. 9. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01218

361. Tkachenko A. Stress responses of bacterial cells as mechanism of development of antibiotic tolerance // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2018. – V. 54, № 2. – P. 108-127.

362. Torabi M., Aquino S. L., Harisinghani M. G. Current concepts in lymph node imaging // Journal of nuclear medicine. – 2004. – V. 45, № 9. – P. 1509-1518.

363. Torchilin V. P. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers // Nature reviews Drug discovery. – 2005. – V. 4, № 2. – P. 145-160.

364. Toropova Y. G., Zelinskaya I. A., Gorshkova M. N., Motorina D. S., Korolev D. V., Velikonivtsev F. S., Gareev K. G. Albumin covering maintains endothelial function upon magnetic iron

oxide nanoparticles intravenous injection in rats // Journal of Biomedical Materials Research Part A. – 2021. – V. 109, № 10. – P. 2017-2026.

365. Torres F., Nazhat S., Sheikhmdfadzullah S., Maquet V., Boccaccini A. Mechanical properties and bioactivity of porous PLGA/TiO₂ nanoparticle-filled composites for tissue engineering scaffolds // Composites Science and Technology. – 2007. – V. 67, № 6. – P. 1139-1147. https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2006.05.018

366. Torres Martin de Rosales R., Tavaré R., Paul R. L., Jauregui-Osoro M., Protti A., Glaria A., Varma G., Szanda I., Blower P. J. Synthesis of 64CuII–Bis(dithiocarbamatebisphosphonate) and Its Conjugation with Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles: In Vivo Evaluation as Dual-Modality PET–MRI Agent // Angewandte Chemie International Edition. – 2011. – V. 50, № 24. – P. 5509-5513. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/anie.201007894

367. Tran N., Mir A., Mallik D., Sinha A., Nayar S., Webster T. J. Bactericidal effect of iron oxide nanoparticles on Staphylococcus aureus // International journal of nanomedicine. – 2010. – V. 5. – P. 277.

368. Trivedi D., Trivedi M. K., Branton A., Nayak G., Jana S. Letters in Applied NanoBioScience //.
369. Tyurikova I. A., Alexandrov S. E., Tyurikov K. S., Kirilenko D. A., Speshilova A. B., Shakhmin A. L. Fast and Controllable Synthesis of Core–Shell Fe₃O₄–C Nanoparticles by Aerosol CVD // ACS Omega. – 2020. – V. 5, № 14. – P. 8146-8150. https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00392

370. Uebe R., Schüler D. Magnetosome biogenesis in magnetotactic bacteria // Nature Reviews Microbiology. – 2016. – V. 14, № 10. – P. 621-637.

371. Upadhyay S., Parekh K., Pandey B. Influence of crystallite size on the magnetic properties of Fe3O4 nanoparticles // Journal of Alloys and Compounds. – 2016. – V. 678. – P. 478-485.

372. Urban-Chmiel R., Marek A., Stępień-Pyśniak D., Wieczorek K., Dec M., Nowaczek A., Osek J. Antibiotic Resistance in Bacteria—A Review // Antibiotics. – 2022. – V. 11, № 8. https://doi.org/10.3390/antibiotics11081079

Valdiglesias V., Fernández-Bertólez N., Kiliç G., Costa C., Costa S., Fraga S., Bessa M. J., 373. Pásaro E., Teixeira J. P., Laffon B. Are iron oxide nanoparticles safe? Current knowledge and future perspectives // J Trace Elem Med Biol. 2016. V. 38. P. 53-63. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.03.017

374. Varlamova E. G., Goltyaev M. V., Simakin A. V., Gudkov S. V., Turovsky E. A. Comparative Analysis of the Cytotoxic Effect of a Complex of Selenium Nanoparticles Doped with Sorafenib, "Naked" Selenium Nanoparticles, and Sorafenib on Human Hepatocyte Carcinoma HepG2 Cells // International Journal of Molecular Sciences. _ 2022. _ V. 23. № 12. https://doi.org/10.3390/ijms23126641

375. Vasantharaj S., Sathiyavimal S., Senthilkumar P., LewisOscar F., Pugazhendhi A. Biosynthesis of iron oxide nanoparticles using leaf extract of Ruellia tuberosa: Antimicrobial properties and their applications in photocatalytic degradation // Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. – 2019. – V. 192. – P. 74-82. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.025

376. Vavaev E. S., Novoselova M., Shchelkunov N. M., German S., Komlev A. S., Mokrousov M. D., Zelepukin I. V., Burov A. M., Khlebtsov B. N., Lyubin E. V., Deyev S., Fedyanin A. A., Gorin D. A. CaCO₃ nanoparticles coated with alternating layers of poly-l-arginine hydrochloride and Fe₃O₄ nanoparticles as navigable drug carriers and hyperthermia agents //ACS Applied Nano Materials. – 2022. – T. 5. – No. 2. – C. 2994-3006.

377. Velusamy P., Chia-Hung S., Shritama A., Kumar G. V., Jeyanthi V., Pandian K. Synthesis of oleic acid coated iron oxide nanoparticles and its role in anti-biofilm activity against clinical isolates of bacterial pathogens // Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. – 2016. – V. 59. – P. 450-456.

378. Vilas-Boas V., Espiña B., Kolen'ko Y. V., Bañobre-López M., Brito M., Martins V., Duarte J.
A., Petrovykh D. Y., Freitas P., Carvalho F. Effectiveness and Safety of a Nontargeted Boost for a CXCR4-Targeted Magnetic Hyperthermia Treatment of Cancer Cells // ACS Omega. – 2019. – V. 4, №
1. – P. 1931-1940. https://doi.org/10.1021/acsomega.8b02199

379. Vilas-Boas V., Carvalho F., Espiña B. Magnetic Hyperthermia for Cancer Treatment: Main Parameters Affecting the Outcome of In Vitro and In Vivo Studies // Molecules. – 2020. – V. 25, № 12. – P. 2874.

380. Vyas S., Shukla A., Shivhare S., Upadhyay N. Facile synthesis and characterization of polyaniline (PANI)–Aluminium oxide (Al₂O₃) nanocomposites by using chemical oxidative polymerization // AIP Conference Proceedings. – V. 2369 –AIP Publishing LLC, 2021. – P. 020192.

381. Wang L., Hu C., Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future // International Journal of Nanomedicine. – 2017. – V. Volume 12. – P. 1227-1249. https://doi.org/10.2147/ijn.s121956

Wang Q., Zhang Z., Zhang L., Liu Y., Xie L., Ge S., Yu J. Photoswitchable CRISPR/Cas12a-Amplified and Co₃O₄@Au Nanoemitter Based Triple-Amplified Diagnostic Electrochemiluminescence Biosensor for Detection of miRNA-141 // ACS Applied Materials & Interfaces. – 2022. – V. 14, № 29. – P. 32960-32969. https://doi.org/10.1021/acsami.2c08823

383. Wang Y., Song S., Liu J., Liu D., Zhang H. ZnO-functionalized upconverting nanotheranostic agent: multi-modality imaging-guided chemotherapy with on-demand drug release triggered by pH // Angewandte Chemie International Edition. – 2015. – V. 54, № 2. – P. 536-540.

Warren E. A., Payne C. K. Cellular binding of nanoparticles disrupts the membrane potential //
RSC advances. - 2015. - V. 5, № 18. - P. 13660-13666.

385. Waters E. A., Wickline S. A. Contrast agents for MRI // Basic Research in Cardiology. – 2008.
- V. 103, № 2. – P. 114-121. https://doi.org/10.1007/s00395-008-0711-6

386. Wei Y., Zhao M., Yang F., Mao Y., Xie H., Zhou Q. Iron overload by superparamagnetic iron oxide nanoparticles is a high risk factor in cirrhosis by a systems toxicology assessment // Scientific reports. -2016. - V. 6, No 1. - P. 1-11.

387. Weickmann H., Tiller J. C., Thomann R., Mülhaupt R. Metallized Organoclays as New Intermediates for Aqueous Nanohybrid Dispersions, Nanohybrid Catalysts and Antimicrobial Polymer Hybrid Nanocomposites // Macromolecular Materials and Engineering. – 2005. – V. 290, № 9. – P. 875-883. https://doi.org/10.1002/mame.200500153

388. Wierzbinski K. R., Szymanski T., Rozwadowska N., Rybka J. D., Zimna A., Zalewski T., Nowicka-Bauer K., Malcher A., Nowaczyk M., Krupinski M., Fiedorowicz M., Bogorodzki P., Grieb P., Giersig M., Kurpisz M. K. Potential use of superparamagnetic iron oxide nanoparticles for in vitro and in vivo bioimaging of human myoblasts // Scientific Reports. – 2018. – V. 8, № 1. https://doi.org/10.1038/s41598-018-22018-0

389. Wu C., Xu F., Wang H., Liu H., Yan F., Ma C. Manufacturing Technologies of Polymer Composites—A Review // Polymers. – 2023. – V. 15, № 3. https://doi.org/10.3390/polym15030712

390. Wu F., Ge J., Qin Y., Li Z., Li Q. Research progress in applying nanomaterials in the field of functional textiles // Characterization and Application of Nanomaterials. – 2022. – V. 5, № 1. – P. 52-58.

Wu W., Wu Z., Yu T., Jiang C., Kim W. S. Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications // Sci Technol Adv Mater. – 2015. – V. 16, № 2. – P. 023501. https://doi.org/10.1088/1468-6996/16/2/023501

392. Xia T., Kovochich M., Brant J., Hotze M., Sempf J., Oberley T., Sioutas C., Yeh J. I., Wiesner M. R., Nel A. E. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm // Nano letters. – 2006. – V. 6, № 8. – P. 1794-1807.

393. Xie J., Xu C., Kohler N., Hou Y., Sun S. Controlled PEGylation of Monodisperse Fe₃O₄
Nanoparticles for Reduced Non-Specific Uptake by Macrophage Cells // Advanced Materials. – 2007.
– V. 19, № 20. – P. 3163-3166. https://doi.org/10.1002/adma.200701975

394. Xie J., Chen K., Huang J., Lee S., Wang J., Gao J., Li X., Chen X. PET/NIRF/MRI triple functional iron oxide nanoparticles // Biomaterials. – 2010. – V. 31, № 11. – P. 3016-22. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.01.010

395. Xie Y., He Y., Irwin P. L., Jin T., Shi X. Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against Campylobacter jejuni // Appl Environ Microbiol. – 2011. – V. 77, № 7. – P. 2325-31. https://doi.org/10.1128/aem.02149-10

Xu G., Blum F. D. Surfactant-enhanced free radical polymerization of styrene in emulsion gels
// Polymer. – 2008. – V. 49, № 15. – P. 3233-3238. https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.05.019

397. Xu J.-K., Zhang F.-F., Sun J.-J., Sheng J., Wang F., Sun M. Bio and nanomaterials based on Fe3O4 // Molecules. – 2014. – V. 19, № 12. – P. 21506-21528.

398. Xue Y., Gao Y., Meng F., Luo L. Recent progress of nanotechnology-based theranostic systems in cancer treatments // Cancer Biology and Medicine. – 2021. – V. 18, № 2. – P. 336-351. https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2020.0510

399. Yakdoumi F. Z., Hadj-Hamou A. S. Effectiveness assessment of TiO₂-Al₂O₃ nano-mixture as a filler material for improvement of packaging performance of PLA nanocomposite films // Journal of Polymer Engineering. – 2020. – V. 40, № 10. – P. 848-858.

400. Yang X., Hou J., Tian Y., Zhao J., Sun Q., Zhou S. Antibacterial surfaces: Strategies and applications // Science China Technological Sciences. – 2022. – V. 65, № 5. – P. 1000-1010. https://doi.org/10.1007/s11431-021-1962-x

401. Yarjanli Z., Ghaedi K., Esmaeili A., Rahgozar S., Zarrabi A. Iron oxide nanoparticles may damage to the neural tissue through iron accumulation, oxidative stress, and protein aggregation // BMC neuroscience. -2017. - V. 18, No 1. - P. 1-12.

402. Yiu H. H. P., Pickard M. R., Olariu C. I., Williams S. R., Chari D. M., Rosseinsky M. J. Fe₃O₄-PEI-RITC Magnetic Nanoparticles with Imaging and Gene Transfer Capability: Development of a Tool for Neural Cell Transplantation Therapies // Pharmaceutical Research. – 2012. – V. 29, № 5. – P. 1328-1343. https://doi.org/10.1007/s11095-011-0632-1

403. Yousefi M., Dadashpour M., Hejazi M., Hasanzadeh M., Behnam B., de la Guardia M., Shadjou N., Mokhtarzadeh A. Anti-bacterial activity of graphene oxide as a new weapon nanomaterial to combat multidrug-resistance bacteria // Materials Science and Engineering: C. – 2017. – V. 74. – P. 568-581.

404. Yu J., Zhang W., Li Y., Wang G., Yang L., Jin J., Chen Q., Huang M. Synthesis, characterization, antimicrobial activity and mechanism of a novel hydroxyapatite whisker/nano zinc oxide biomaterial // Biomedical Materials. – 2014. – V. 10, № 1. – P. 015001.

405. Yu S., Perálvarez-Marín A., Minelli C., Faraudo J., Roig A., Laromaine A. Albumin-coated SPIONs: An experimental and theoretical evaluation of protein conformation, binding affinity and competition with serum proteins // Nanoscale. – 2016. – V. 8, № 30. – P. 14393-14405.

406. Yu T., Slone J., Liu W., Barnes R., Opresko P. L., Wark L., Mai S., Horvath S., Huang T. Premature aging is associated with higher levels of 8-oxoguanine and increased DNA damage in the Polg mutator mouse // Aging Cell. – 2022. – V. 21, N_{0} 9. – P. e13669.

407. Yusof N. A. A., Zain N. M., Pauzi N. Synthesis of ZnO nanoparticles with chitosan as stabilizing agent and their antibacterial properties against Gram-positive and Gram-negative bacteria // International journal of biological macromolecules. – 2019. – V. 124. – P. 1132-1136.

408. Zahra A. L. T., Tammemi Z. Nanoparticles of Alumina (Al2O3): An Overview and Their Applications in Medical Surgery // Nanomedicine. – 2021. – V. 4. – P. 1.

409. Zaporojtchenko V., Podschun R., Schürmann U., Kulkarni A., Faupel F. Physico-chemical and antimicrobial properties of co-sputtered Ag–Au/PTFE nanocomposite coatings // Nanotechnology. – 2006. – V. 17, № 19. – P. 4904.

410. Zare M., Namratha K., Byrappa K., Surendra D., Yallappa S., Hungund B. Surfactant assisted solvothermal synthesis of ZnO nanoparticles and study of their antimicrobial and antioxidant properties // Journal of materials science & technology. -2018. - V. 34, Nº 6. - P. 1035-1043.

411. Zare M., Namratha K., Alghamdi S., Mohammad Y. H. E., Hezam A., Zare M., Drmosh Q. A., Byrappa K., Chandrashekar B. N., Ramakrishna S., Zhang X. Novel Green Biomimetic Approach for Synthesis of ZnO-Ag Nanocomposite; Antimicrobial Activity against Food-borne Pathogen, Biocompatibility and Solar Photocatalysis // Scientific Reports. – 2019. – V. 9, № 1. https://doi.org/10.1038/s41598-019-44309-w

412. Zarrindokht E.-K. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on Gram-positive and Gramnegative bacteria // African Journal of Microbiology Research. – 2012. – V. 5, № 18. https://doi.org/10.5897/ajmr10.159

413. Zatta P., Kiss T., Suwalsky M., Berthon G. Aluminium (III) as a promoter of cellular oxidation // Coordination Chemistry Reviews. – 2002. – V. 228, № 2. – P. 271-284. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0010-8545(02)00074-7

414. Zezin A., Danelyan G., Emel'yanov A., Zharikov A., Prozorova G., Zezina E., Korzhova S., Fadeeva T. y., Abramchuk S., Shmakova N., Pozdnyakov A. Synthesis of antibacterial polymer metal hybrids in irradiated poly-1-vinyl-1,2,4-triazole complexes with silver ions: pH tuning of nanoparticle sizes // Applied Organometallic Chemistry. – 2022. – V. 36, № 4. https://doi.org/10.1002/aoc.6581

415. Zhang J. Silver-coated zinc oxide nanoantibacterial synthesis and antibacterial activity characterization // Proceedings of 2011 International Conference on Electronics and Optoelectronics. – V. 3 –IEEE, 2011. – P. V3-94-V3-98.

416. Zhang L., Jiang Y., Ding Y., Daskalakis N., Jeuken L., Povey M., O'neill A. J., York D. W. Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against E. coli // Journal of Nanoparticle Research. – 2010. – V. 12, № 5. – P. 1625-1636.

417. Zhang S., Wang L., Liang X., Vorstius J., Keatch R., Corner G., Nabi G., Davidson F., Gadd G.
M., Zhao Q. Enhanced antibacterial and antiadhesive activities of silver-PTFE nanocomposite coating for urinary catheters // ACS Biomaterials Science & Engineering. – 2019. – V. 5, № 6. – P. 2804-2814.
418. Zhang Y., Kohler N., Zhang M. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake // Biomaterials. – 2002. – V. 23, № 7. – P. 1553-1561. https://doi.org/10.1016/s0142-9612(01)00267-8

419. Zhong L., Liu H., Samal M., Yun K. Synthesis of ZnO nanoparticles-decorated spindle-shaped graphene oxide for application in synergistic antibacterial activity // J Photochem Photobiol B. – 2018.
– V. 183. – P. 293-301. https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.04.048

420. Zuo L., Zhou T., Pannell B., Ziegler A., Best T. M. Biological and physiological role of reactive oxygen species–the good, the bad and the ugly // Acta physiologica. – 2015. – V. 214, № 3. – P. 329-348.

421. Гарасько Е., Шиляев Р., Алексеева О., Чуловская С., Багровская Н., Парфенюк В. Антибактериальные свойства полимерных композитов с наноразмерными частицами меди // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2009. – Т. 14, № 2. – С. 21-25.

422. Гуменюк Н., Грушин С. Применение композитных материалов в судостроении // Современные наукоемкие технологии. – 2013. № 8-1. – С. 116-117.

423. Игнатьев П. С., Индукаев К. В., Осипов П. А., Сергеев И. К. Лазерная интерференционная микроскопия для нанобиотехнологий // Медицинская техника. – 2013. – Т. 1, № 277. – С. 27.

424. Официальный портал Всемирной организации Здравоохранения. 09.12.2020. URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death (дата обращения 23.06.2022)

425. Пущаровский Д. Железо и его соединения в ядре Земли: новые данные и идеи // Геохимия. – 2019. – Т. 64, № 9. – С. 936-947.

426. Чуловская А. Л., Гарасько Е. В., Кравченко Т. П. Композиционный материал на основе полипропилена с биоцидными свойствами // Успехи в химии и химической технологии. – 2013. – Т. 27, № 3 (143). – С. 115-118.

427. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 22.11.2019. URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELE MENT_ID=13122 (дата обращения 22.10.2022)

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор диссертационной работы выражает искреннюю благодарность научному руководителю, доктору биологических наук, профессору РАН, профессору <u>Гудкову Сергею Владимировичу</u>, за чуткое и внимательное научное руководство и наставничество на всём протяжении проведения диссертационной работы, активную моральную поддержку и мотивацию, а также ценные знания и опыт, перенимаемые диссертантом в процессе подготовки диссертационной работы.

Автор благодарит команду коллектива Центра биофотоники ИОФ РАН, члены которого оказывали помощь в организации и проведении экспериментов, в том числе: к.ф-м.н. Симакина Александра Владимировича, к.б.н. Иванова Владимира Евгеньевича, д.ф-м.н. Чаусова Дениса Николаевича, Уварова Олега Венедиктовича, а также к.б.н. Толордаву Этери Ромеовну — за успешное и плодотворное сотрудничество.

Отдельную благодарность автор выражает научному сотруднику Центра биофотоники ИОФ РАН, к.б.н. <u>Серову Дмитрию Александровичу</u> — за крайне ценные рекомендации при написании диссертационной работы, поддержку, неоднократную помощь в обработке и визуальном оформлении экспериментальных результатов, при работе с научной литературой, а также ценные навыки при работе с микрофотографиями.