

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ
АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
БАКИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

на правах рукописи

ЛЕЙЛА ЗАКИР КЫЗЫ ВЕЗИРОВА

**СИНТЕЗ И СВОЙСТВА СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ
АНСАМБЛЕЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЗАМЕЩЕННЫХ
ДИАЗАКРАУН ЭФИРОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ
ОКСИДА ЖЕЛЕЗА**

2306.01-Органическая химия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

**диссертации на соискание ученой степени
доктора философии по химии**

Баку-2018

Работа выполнена в НИИ «Геотехнологические проблемы нефти, газа и химия» при Азербайджанском Государственном Университете Нефти и Промышленности

Научный руководитель:

д.х.н.проф.
ва

Ульвия Алимаммед кызы Гасанова

Официальные оппоненты:

профессор

Ага Мамед оглы Мустафаев

доцент

Вагиф Самед оглы Гасанов

Ведущая организация:

Азербайджанский Технический
Университет- кафедра “Химия”

Защита состоится октября 2018 г. в часов на заседании Специализированного Совета Д.02.011 в Бакинском Государственном Университете, по адресу: AZ-1148, г.Баку, ул. З.Халилова 23.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке БГУ

Автореферат разослан сентября 2018 г.

Ученый секретарь

**диссертационного совета Д.02.011
профессор**

И.Г.Мамедов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В последние десятилетия наблюдается интенсивное развитие мультидисциплинарных областей знаний, которые находятся на стыке химии, физики, биологии и других пограничных с ними естественных наук. Краун-эфиры и азакраун-эфиры, подчиняющиеся законам супрамолекулярной химии, являются чрезвычайно интересными соединениями как с точки зрения теоретического так и практического интереса. В свою очередь стремительно развивающаяся область знаний, инструментом которой являются частицы, имеющие нанометровые размеры, имеет очень много общих черт с концепцией возникновения супрамолекулярных соединений. Сочетание двух перспективных и быстро развивающихся областей знаний, а именно – супрамолекулярной химии и нанотехнологии могут дать мощный импульс для создания новых материалов, имеющих большой потенциал в различных областях науки и техники, а также в биомедицинских приложениях.

Известно, что краун эфиры могут демонстрировать свойства естественных мембран-активных антибиотиков, благодаря ионофорным особенностям полости макроцикла, способного связывать катионы за счет ион-дипольных, диполь-дипольных нековалентных связей, что приводит к изменению проницаемости мембраны и нарушению мембранного потенциала клетки.

В настоящее время в литературе имеется не так много информации о способах синтеза азакраун соединений, содержащих сложные функциональные фрагменты, способные участвовать в конструировании супрамолекулярных ансамблей с наночастицами металлов, повышая, таким образом, как биологическую активность синтезируемых макроциклов и, одновременно с этим, служить стабилизаторами наночастиц.

Цель работы: Синтез функционально замещенных азакраун эфиров, а также получение супрамолекулярных ансамблей на основе полученных макроциклов и наночастиц магнетита, и исследование биологической активности полученных наноструктур.

Для достижения поставленной цели было необходимо решить следующие задачи:

- целенаправленный синтез функциональнозамещенных диазакраун эфиров, обладающих биологической активностью

- разработка методов и условий для получения супрамолекулярных ансамблей функциональнозамещенных диазакраун эфиров с наночастицами магнетита, образующихся за счет нековалентных взаимодействий.

- изучение строения и физико-химических характеристик полученных функциональнозамещенных диазакраун эфиров и супрамолекулярных ансамблей на их основе.

- исследование биологической активности полученных диазакраун эфиров и наноструктур на их основе.

- определение синергического эффекта наноструктурированных диазакраун эфиров в сочетании с используемыми антибиотиками.

Научная новизна. Впервые осуществлены синтезы супрамолекулярных ансамблей на основе синтезированных функциональнозамещенных диазакраун эфиров и наночастиц магнетита, образующихся за счет нековалентных взаимодействий. Было осуществлено установление взаимосвязи между их структурой и способностью образовывать супрамолекулярные ансамбли с наночастицами магнетита с помощью ЯМР, масс- и оптической спектроскопии. С помощью сканирующей электронной микроскопии СЭМ, атомно силовой микроскопии АСМ, а также рентгенструктурного дифракционного метода анализа были изучены морфология поверхности и размерность образующихся наночастиц. Результаты этих исследований позволили определить взаимосвязь между структурой синтезированных краунов и их способности связываться с наночастицами магнетита. Была установлена загрузка адсорбированных молекул функциональнозамещенных диазакраун эфиров на поверхности наночастиц магнетита методом оптической и атомно-адсорбционной спектроскопии. Показана принципиальная возможность модификации уже имеющихся антибактериальных средств и синергического эффекта при их сочетании с наноструктурированными диазакраун эфирами, открывающая путь к созданию материалов, имеющих практическое значение для преодоления микробной резистентности в антибактериальной терапии.

Практическая значимость работы. Разработаны простые эффективные методы синтеза функционально замещенных диазакраун эфиров на основе реакции конденсации салицилового альдегида и органических аминов с последующей макроциклизацией с эпихлоргидрином и 1,4-дибромбутеном-2. Получены устойчивые супрамолекулярные ансамбли на основе наночастиц магнетита, обладающих суперпарамагнитными свойствами, которые могут быть использованы для адресной

доставки лекарственных средств с помощью наложенного внешнего магнитного поля. Полученные соединения интересны для испытаний антибактериальной активности в отношении мультирезистентных штаммов Грам-положительных и Грам-отрицательных микроорганизмов.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 статей и 9 тезисов докладов, доложенных на республиканских и международных конференциях.

Апробация. Научные результаты работы докладывались на 9 международных конференциях «Nanotech France 2015» (Париж. Франция. 2015), I Всероссийской молодёжной школы-конференции (Москва. Россия. 2015), XI Всероссийской Научно-Технической конференции «Успехи синтеза и комплексообразования» (Москва. Россия. 2016), Научно-практической конференции “Хазарнефтгазятаг-2014” (Баку. Азербайджан. 2014), II научно-технической конференции «Проблемы металлургии и материаловедения» (Баку. Азербайджан. 2017), X Всеукраинская научная конференция студентов и аспирантов, (Украина, 2018), International Conference on Ternary and Multinary Compounds (USA, Colorado, 2018), Sociedad Mexicana de Materiales A.C. XXVII International Materials Research Congress, (2018).

Структура и объем работы. Диссертация объемом 145 страниц состоит из введения, обзора литературных данных, обсуждения результатов работы, экспериментальной части, выводов и приложения. Содержит 11 таблиц, и 59 рисунков. Библиография включает 185 наименований.

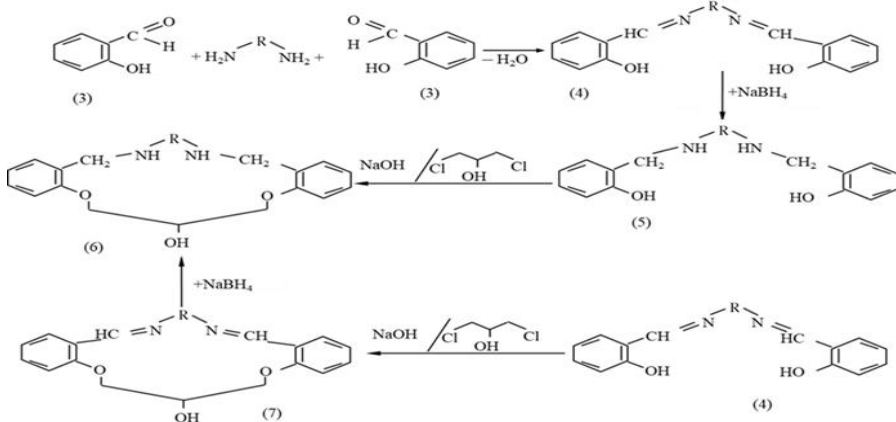
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Синтез и свойства краун-соединений, содержащих аминные и гидроксильную группу в макроциклическом кольце

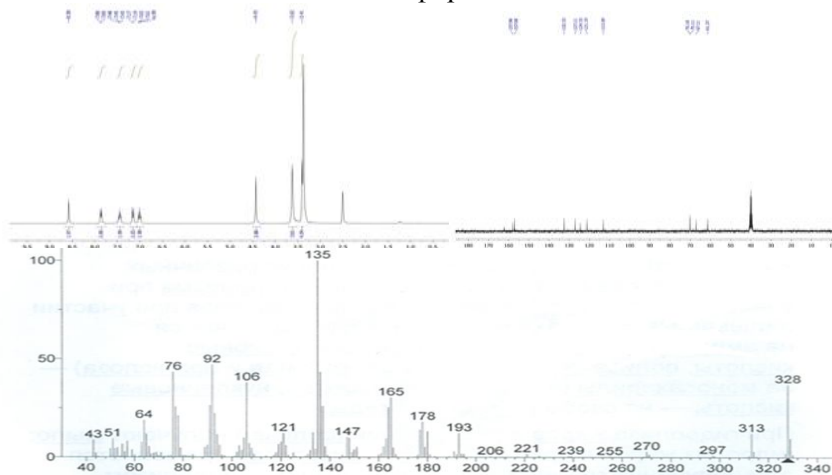
С целью усиления межмолекулярных взаимодействий синтезированы краун-соединения с аминными, кратными и гидроксильной группами в макроциклическом кольце, имеющие перспективы применения в нанотехнологии. Предполагается, что наличие двух аминных групп и одной гидроксильной группы в макроциклическом кольце позволяет краун-эфиру переходить из двухмерной (2Д) структуры в трёхмерную (3Д).

Синтез проводили согласно следующим методам. 1. **Реакцией конденсации салицилового альдегида с органическими диаминами** (этилендиамин, 1,3-диаминопропан, диэтилентриамин, триэтилтет-

рамин и 1,4,8,11-тетраазаундекан) и последующим замыканием полученного шиффового основания (предварительно восстановленного тетрагидроборатом натрия), 1,3-дихлор-2-пропанолом. При конденсации этого соединения диаминами с высоким выходом (65–70%), образуется кристаллическое соединение желтого цвета бис-фенол (4). Полученный насыщенный бис-фенол (5) превращается в макроциклическое краунсоединение (6) при последующем замыкании его фенолята реакцией с 1,3-дихлор-2-пропанолом в разбавленном растворе 1-бутанола.



Чистота и индивидуальность этих соединений устанавливали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинке «Silufol», элюент смесь этанола с диэтиловымэфиром.



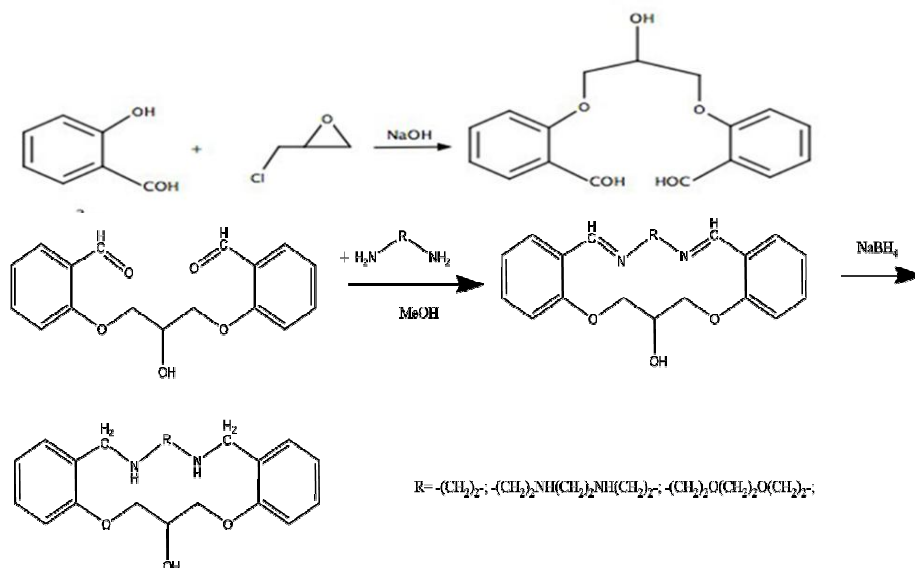
Масс- и ЯМР спектры гидроксилзамещенного диазакронового эфира

Строение соединений установлено на основании данных элементно-го анализа, методом масс- и ЯМР спектроскопии, а также изучением его ИК-спектра.

В ИК-спектре этих соединений обнаружены полосы поглощений при 1496 см^{-1} и 1499 см^{-1} характеризующие наличие двух вторичных аминных групп ($-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}_2\text{H}_4-$). Широкая полоса поглощений при $2994 - 2998\text{ см}^{-1}$ соответствует бензольным кольцам соединения. Полученный насыщенный бис-фенол превращается в макроциклическое краун-соединение при предварительном переводе его в фенолят и последующем замыкании его фенолята реакцией с 1,3-дихлор-2-пропанолом в разбавленном растворе 1-бутанола.

2. Получение диазакраунов реакцией салицилового альдегида с эпихлоргидрином с дальнейшей конденсацией диальдегида с органическими диаминами

Для оптимизации методов получения гидроксил содержащих диазакраун эфиров были проведены встречные реакции синтеза реакцией салицилового альдегида с эпихлоргидрином с дальнейшей конденсацией диальдегида с органическими диаминами.



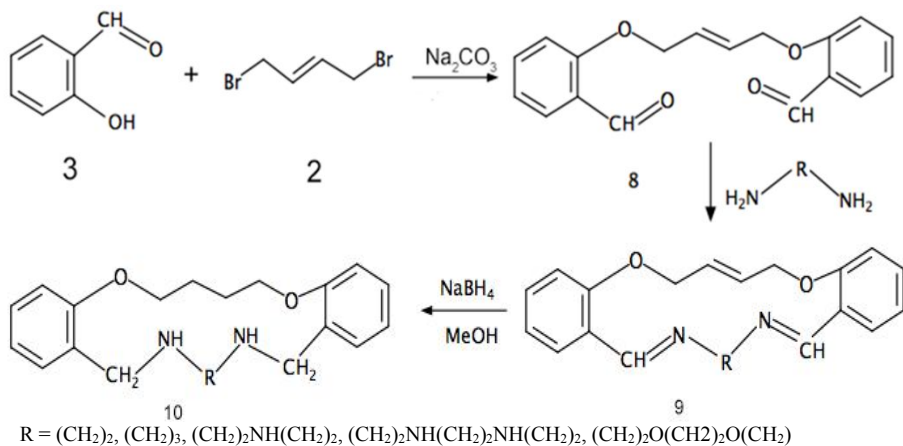
Согласно этой схеме реакцией салицилового альдегида (3) с эпихлоргидрином в присутствии NaOH был получен 1,3-бис(2-

формилфенокси)-2-пропанол. с предыдущей схемой поэтапного получения диазакраун эфиров, данная схема оказалась более удобной, так как здесь не требовалось выделять промежуточные продукты восстановления.

Строение полученных краун-соединений установлено на основании данных элементного анализа, методом масс- и ЯМР спектроскопии и изучением их ИК-спектров.

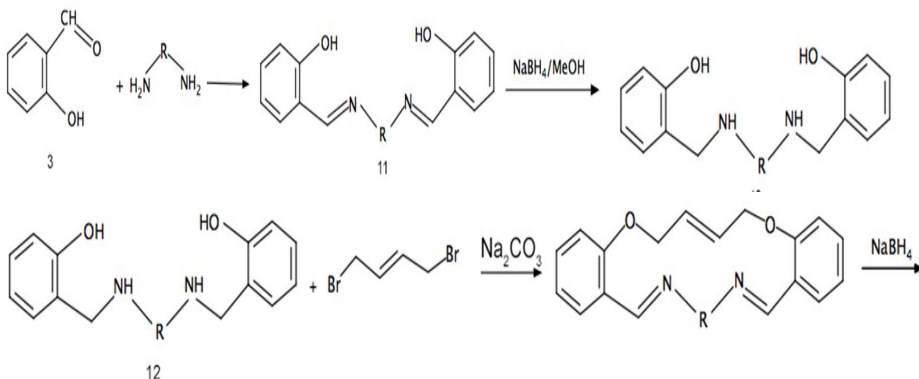
3. Исследование реакции макроциклизации салицилового альдегида с 1,4-дибромбутеном-2 с дальнейшей конденсацией с диамино соединениями

Нами были синтезированы новые дибензоазакраун эфиры реакцией макроциклизации салицилового альдегида с 1,4-дибромбутеном-2 с образованием 1,4-бис(2-формилфенокси)-бутен-2, который при дальнейшей конденсации с диамино соединениями, а именно этилен-диамином и триэтилтетрамином, и последующим восстановлением соответствующих производных бис-имины тетрагидроборатом натрия, приводило к образованию диазакраун эфиров.

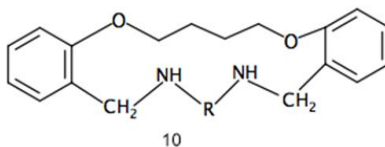


Альтернативный синтез был проведен также двух-стадийным способом, включающим на первой стадии - конденсацию салицилового альдегида с соответствующими диаминами, с последующим восстановлением производных бис-имины тетрагидроборатом натрия. Вторая стадия синтеза представляла собой реакцию замыкания кольца соответ-

вующего производного с 1,4-дибромбутеном-2, приводящее к образованию диазакраун эфира.



$R = (CH_2)_2, (CH_2)_3, (CH_2)_2NH(CH_2)_2,$
 $(CH_2)_2NH(CH_2)_2NH(CH_2)_2,$
 $(CH_2)_2O(CH_2)_2O(CH_2)_2$



Строение соединений установлено на основании данных элементного анализа, методом масс- и ЯМР спектроскопии, а также изучением его ИК-спектра.

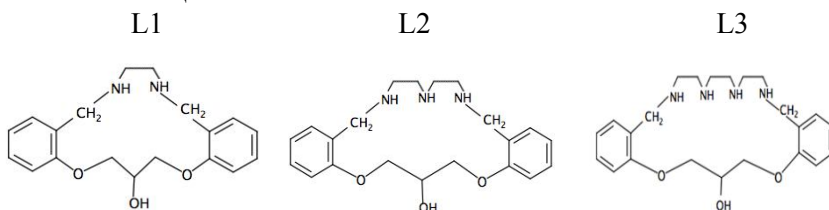
Было выявлено, что при проведении реакции макроциклизации в трех-компонентной системе в одну стадию наблюдался более высокий выход (30-35%), тогда как, альтернативный двухстадийный синтез был отмечен меньшим выходом целевого продукта (20-25%).

Полученные диазакраун соединения были тестированы на наличие антимикробной активности в отношении клинических резистентных грам-отрицательных *Klebsiella* spp., *Enterobacteriaceae* и грам-положительных *Staphylococcus aureus*. Было выявлено, что диазакраун эфиры проявляют значительный антимикробный эффект в отношении *Klebsiella* spp., тогда как в отношении *Staphylococcus aureus* эффект был значительно менее выраженным.

Комплексы переходных металлов с синтезированными диазакраун эфирами

Некоторые комплексы переходных металлов с синтезированными диазакраунэфирами были получены и охарактеризованы. Лиганды L1,

L3 и L4 имеют четыре, пять и шесть потенциальных координирующих атомов в кольцах соответственно.



Их комплексы с переходными металлами (Co, Ni, Fe) были получены путем добавления соответствующего лиганда к соответствующему хлориду металла или перхлорату в метаноле.

Тест культуры	Концентрация (МГ)	CoL ₁ Cl ₂ 3H ₂ O		NiL ₃ Cl ₂ 3H ₂ O	
		Ингибирующая зона (мм)		Ингибирующая зона (мм)	
St. Aureus	5	24	25	-	-
	2.5	-	-	-	-
E. coli	5	-	-	-	-
	2.5	-	-	-	-

Таблица 1. Антимикробная активность комплексов в отношении Грам-отрицательных *E.coli* и Грам-положительных *Staphylococcus aureus*.

Соединения были тестированы на наличие антимикробной активности в отношении Грам-отрицательных *E.coli* и Грам-положительных *Staphylococcus aureus* (Таблица 1).

ИК-исследование комплексов показывает, что при образовании комплексов атомы азота макроциклического кольца координируются с ионами металлов. Атомы кислорода кольца также принимают участие в координировании с ионами металлов.

Функционализация наночастиц магнетита гидроксил содержащими диазкраун эфирами, иммигрирующими свойства натуральных сидерофоров и исследование их антибактериальных свойств.

Функционализацией наночастиц магнетита, полученного в свою очередь методом соосаждения солей Fe⁺² и Fe⁺³, были синтезированы наноструктуры Fe₃O₄ с МЦ (МЦ@Fe₃O₄). Чистота и кристалличность наноструктур МЦ@Fe₃O₄ были исследованы методом порошкового

рентгеноструктурного анализа РСА. Данные РСА образцов МЦ@Fe₃O₄ представлены на рисунке 1. Все РСА пики образцов прекрасно визуализированы и относятся к наночастицам Fe₃O₄ с кубической структурой (DBD-карты ICDD (PDF-2 / Release 2011 RDB)). В спектре РСА расширение пиков свидетельствует за образование нанокристаллов.

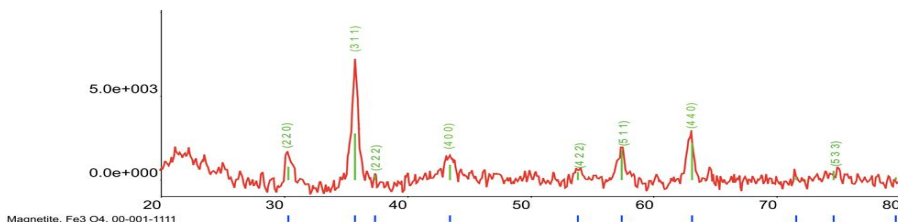


Рисунок 1. РСА спектр наноструктурированного образца МЦ@Fe₃O₄

Средний размер кристаллитов вычисляли с помощью формулы Шерера, исходя из пика (311), размер составил 14.8 нм для наночастиц образца МЦ@Fe₃O₄.

Как видно из FTIR спектра, адсорбция краун соединения на поверхности наночастиц магнетита осуществляется через NH, OH и кислородов макроциклического кольца, за счет нековалентных взаимодействий (Рисунок 2).

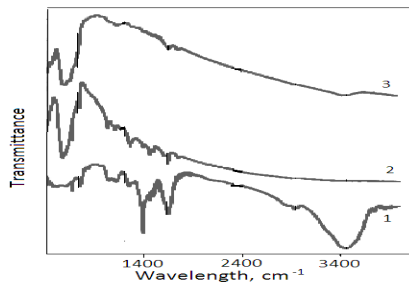


Рисунок 2. ИК Фурье спектр (1) чистый МЦ, (2) МЦ@Fe₃O₄, (3) чистый Fe₃O₄

Таким образом результаты спектроскопического исследования свидетельствуют о многоцентровых хелатных связях макроцикла с поверхностью наночастиц магнетита.

Строение и морфологию поверхностей полученных нано-ансамблей анализировали с помощью сканирующей электронной микроскопии СЭМ, электрон дисперсионной спектроскопии ЭДС. Было установлено, что полученные наноструктуры обладают гомогенной структурой и размер наночастиц варьирует в интервале 8-15 нм, что прекрасно коррелирует с результатами дифракционного рентгеноструктурного анализа.

Точечный анализ ЭДС, рисунок 3(б), демонстрирует наличие Fe и O как основных элементов входящих в состав образца (Рисунок 3).

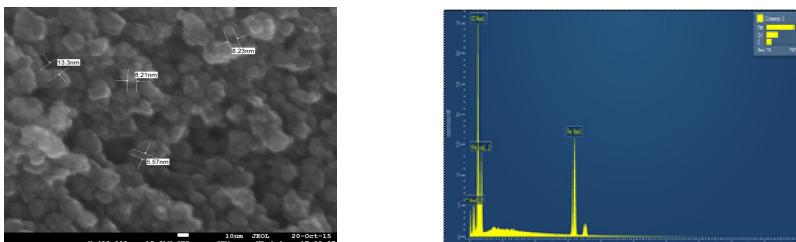


Рисунок 3. а) СЭМ изображение МЦ@Fe₃O₄ б) ЭДС МЦ@Fe₃O₄

Было установлено, что синтезированный макроцикл имеет пик поглощения высокой интенсивности в УФ области, наблюдаемый при 275 нм. Благодаря этому факту стало возможным количественно определить загрузку адсорбированного краун эфира на наночастицах магнетита. УФ спектры стандартных растворов краун соединений были сняты при 275 нм в следующем диапазоне концентраций 0.15-1.2 μg/mL (рисунок 4). Количественный анализ адсорбированного краун эфира на поверхности наночастиц был проведен спектроскопическим методом на основании закона Ламберт-Бугер-Бера. Кроме того, загрузку краун эфира мы определяли методом атомно-адсорбционной спектроскопии (ААС). Метод ААС позволил количественно определить содержание железа в образце полученных наноструктур.

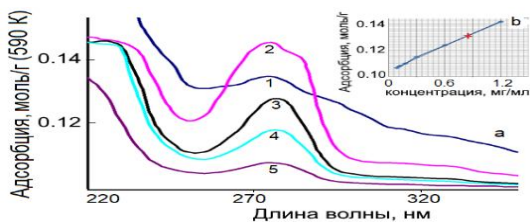


Рис.4. УФ спектры МС@Fe₃O₄ 1) найденное количество краун эфира 0.087 μg/ml; концентрации стандартных растворов краун эфира 2) 1.2 μg/ml 3) 0.6 μg/ml 4) 0.3 μg/ml 5) 0.15 μg/ml;

Предполагалось, что полученные наноструктуры проявляют биологическую активность в связи с ионофорными свойствами, присущими краун эфирам, поэтому их тестировали в отношении грам - положительного Staphylococcus aureus и грам - отрицательных штаммов Escherichia coli и Klebsiella spp. Кроме того, наличие атомов азота в макроциклическом кольце обуславливало возможность связывания

краун эфира с наночастицами магнетита, что в свою очередь создавало предпосылки для того, чтобы полученные наноструктуры $MC@Fe_3O_4$ могли имитировать свойства природных сидерофоров. Результаты микродиффузионного метода продемонстрировали что диаметр зоны ингибирования краун эфира на *Staphylococcus aureus*, составил 14 мм. При исследовании биологической активности в отношении грам-отрицательных штаммов *Escherichia coli* и *Klebsiella spp* было выявлено, что исследуемый диазакраун эфир не проявил биологической активности, в противоположность его воздействию на грамположительный *Staphylococcus aureus*. При этом удивительным являлся тот факт, что синтезированные наноструктуры $MC@Fe_3O_4$, проявили себя активными в отношении грам - отрицательных микроорганизмов, тогда как в отношении грам - положительного *Staphylococcus aureus* не наблюдалось активности. Микродиффузионным методом было выявлено, что при воздействии синтезированных наноструктур $MC@Fe_3O_4$, диаметры зон ингибирования составляли 28 мм в отношении *Escherichia coli* и 22 мм в отношении *Klebsiella spp*. (Таблица 2). Антибактериальный эффект чистого краун эфира в отношении *Staphylococcus aureus* объясняется ионофорными свойствами крауна, заключающимися в нарушении мембранного потенциала бактериальной клетки. В то же время, отсутствие антимикробного эффекта $MC@Fe_3O_4$ в отношении *Staphylococcus aureus*, вероятно связано с тем, что при хелатировании магнетитом краун эфира, наночастицы блокируют активные группы молекулы краун эфира, ответственные за ионофорный эффект. Относительно биологической активности синтезированных наноструктур в отношении грам - отрицательных *Escherichia coli* и *Klebsiella spp.*, мы предполагаем что здесь механизм их действия совершенно различен. Как известно, грам отрицательные бактерии обладают так называемой сидерофорной системой, которая ответственна за поддержание и снабжение бактериальной клетки ионами железа. Следует отметить, что закачка ионов железа из внеклеточной среды осуществляется за счет секретлируемых бактериальной клеткой железо-хелатируемых низкомолекулярных соединений - сидерофоров. Эти сидерофоры проникают во внутриклеточное перипластическое пространство через специальные для проникновения ионов железа пориновые каналы. Мы полагаем, что гидроксизамещенные диазакраун эфиры обладают схожими свойствами с природными сидерофорами в их способности хелатирования железа. Кроме того, отсутствие биологической активности диазакраун эфира объясняется

тем, что молекула крауна не может пройти через толстую мембрану грамм - отрицательной бактерии.

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella spp.</i>
Краун эфир	-	14 мм	-
MC@Fe ₃ O ₄	28 мм	-	22 мм

Таблица 2. Диаметр зоны ингибирования, продуцируемый диазакраун эфиром и МЦ@Fe₃O₄, в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella spp.*

Однако при хелатировании с наночастицами магнетита, молекулы крауна начинают имитировать свойства природных сидерофоров и скорее всего, в связи с более выраженным антибактериальным эффектом, является для бактериальной клетки более предпочтительным железохелатирующим агентом, чем свободный от железа секретируемый бактериальной клеткой сидерофор.

По нашему мнению, сумма всех вышеперечисленных факторов вносит свой вклад в выраженный антимикробный эффект МЦ@Fe₃O₄ в отношении грам - отрицательных микробов.

Затем дополнительно методом микроразведений на основе полученных результатов было установлено, что минимальная ингибирующая концентрация (МИК) наноструктур МЦ@Fe₃O₄ в отношении *Klebsiella spp.* была равна 0.5 µg/mL, тогда как в отношении *Staphylococcus aureus* минимальная ингибирующая концентрация чистого гидроксилзамещенного крауна составила 1 µg/mL.

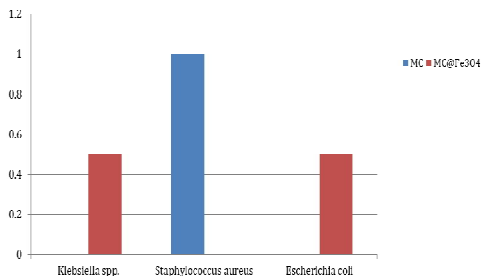


Рисунок 5. Графическое изображение минимальной ингибирующей концентрации (µg/mL) наночастиц МЦ@Fe₃O₄ и несвязанного макрогетероцикла МЦ в отношении *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus aureus* и

Escherichia coli

В случае с *Escherichia coli*, минимальная ингибирующая концентрация наночастиц МЦ@Fe₃O₄ составила 0.5 µg/mL (Рис. 5).

Более того, было установлено, что наночастицы МЦ@Fe₃O₄ проявляют ингибирующую активность на развитие биопленки, продуцируемой *Klebsiella spp.* (рис 6)

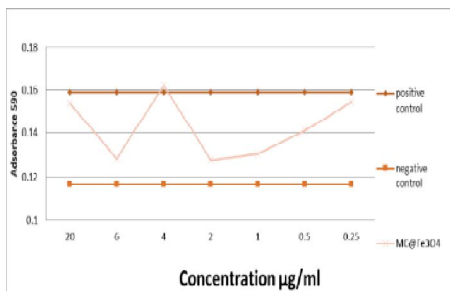


Рисунок 6. Графическое изображение развития биопленки продуцируемой *Klebsiella spp.* в присутствии наночастиц МЦ@Fe₃O₄

Резюмируя результаты наших исследований мы предполагаем, что синтез новых супрамолекулярных ансамблей, создание гибридных нано ансамблей на основе наночастиц Fe₃O₄, сочетанием различных биологически активных молекул в них могут иметь большой потенциал для создания новых эффективных антимикробных препаратов.

Для решения поставленной задачи получали гибридные наноструктуры на основе различных антибиотиков, наночастиц магнетита и синтезированных диазакраун эфиров МЦ@Fe₃O₄@CTRIX и МЦ@Fe₃O₄@CTAX. Чистоту и кристаллические свойства МЦ@Fe₃O₄@CTRIX и МЦ@Fe₃O₄@CTAX исследовали рентгеноструктурным анализом.

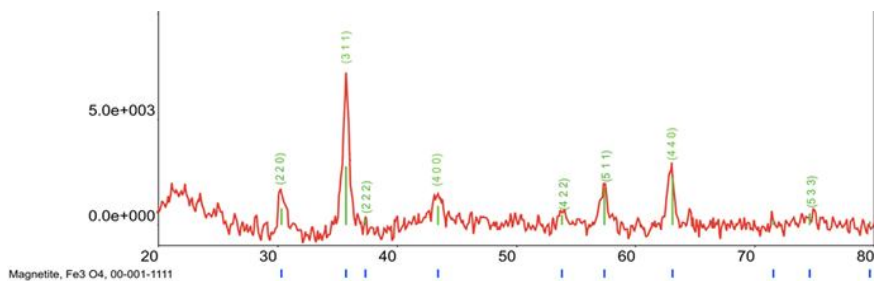


Рис 7. РСА спектр наноструктурированного образца МЦ@Fe₃O₄@CTAX

Для определения «координационные участки», которые вовлечены в хелатирование с поверхностью наночастиц магнетита в

МЦ@Fe₃O₄@СТАХ и МЦ@Fe₃O₄@СТРИХ анализировали (рис. 8) Фурье ИК-спектры.

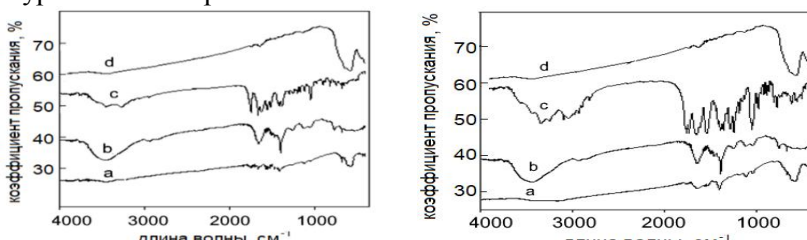


Рисунок.8. FTIR спектры образцов: МЦ@Fe₃O₄@СТРИХ (кривая- а), чистый МЦ крауна (кривая b), чистый ceftriaxone (кривая c), чистый Fe₃O₄ (кривая d).

Морфологический анализ полученных гибридных наноструктур МЦ@Fe₃O₄@СТАХ и МЦ@Fe₃O₄@СТРИХ проводили с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).(рисунок 9)

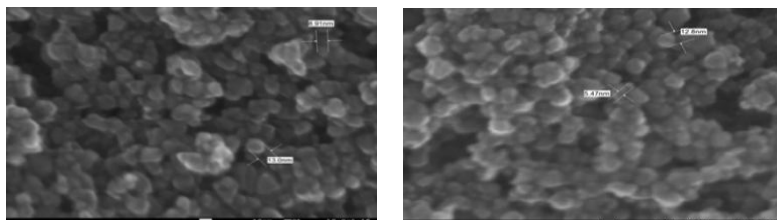


Рисунок.9. СЭМ изображение МЦ@Fe₃O₄@СТАХ и МЦ@Fe₃O₄@СТРИХ

Анализ микробиологической активности образцов МЦ@Fe₃O₄@СТАХ и МЦ@Fe₃O₄@СТРИХ проводили на двух разных штаммах бактерий: Staphylococcus aureus и Escherichia coli. Выбор был основан на результатах наших предыдущих исследований.

	Cefotaxime	Ceftriaxone	Fe ₃ O ₄ @СТАХ	Fe ₃ O ₄ @СТРИХ	МЦ@Fe ₃ O ₄ @СТАХ	МЦ@Fe ₃ O ₄ @СТРИХ
Диаметр (мм)	13	11	0	0	11	11
МИК (µg/mL)	6	6	-	-	6	6

Таблица 3. Диаметры зон ингибирования и МИК, вызванные применением синтезированных наноструктур и несвязанных антибиотиков в отношении *Staphylococcus aureus*

	Cefotaxime	Ceftriaxone	Fe ₃ O ₄ @CTAX	Fe ₃ O ₄ @CTRIX	МЦ@Fe ₃ O ₄ @CTAX	МЦ@Fe ₃ O ₄ @CTRIX
Диаметр (мм)	9	7	22	34	29	34
МИК (µg/mL)	6	6	1	0.5	0,5	0.25

Таблица 4. Диаметры зон ингибирования и МИК, вызванные применением синтезированных наноструктур и несвязанных антибиотиков в отношении *Escherichia coli*

Диаметр зоны ингибирования наноконъюгантов Fe₃O₄@CTAX составляет 22 мм, что также заметно больше, чем у чистого цефотаксима. МЦ@Fe₃O₄@CTAX и МЦ@Fe₃O₄@CTRIX образовывали зоны ингибирования диаметром 29 и 34 мм, соответственно (таблица 4). Чистый цефтриаксон и цефотаксим вызывали зону ингибирования с диаметром 9 и 7 мм соответственно. Из указанного следует, что синтезируемые диазакраун эфиры имитируют свойства естественных сидерофоров и усиливают связывание его с железом, помогает антибиотику избежать имеющийся механизм сопротивления бактерий. Таким образом, подготовленные наноструктуры играют роль так называемого «троянского коня», который обманывает систему безопасности микробных клеток и способствует перетаскиванию нано - антибиотика в микробную клетку.

Исследовали также биологическую активность (рисунок 7) полученных образцов Fe₃O₄@CTRIX и Fe₃O₄@CTAX в отношении биопленок штаммов.

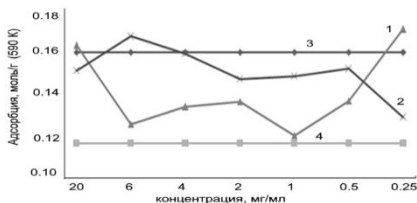


Рисунок 7. Графическое изображение развития биопленки продуцируемой *Klebsiella spp.*

Таким образом, нано-структурирование цефотаксима и цефтриаксона значительно усиливает антимикробный эффект даже на устойчи-

вые клинические штаммы *Escherichia coli*. При этом значительно уменьшается концентрация используемых антимикробных препаратов.

ВЫВОДЫ

1. С целью усиления межмолекулярных взаимодействий синтезированы диаза краун-соединения с кратными связями, аминными и гидроксильной группами в макроциклическом кольце, имеющие перспективы применения в нанотехнологии. Наличие двух аминных групп и одной гидроксильной группы в макроциклическом кольце позволяет синтезированным краун соединениям переходить из двухмерной (2Д) структуры в трёхмерную (3Д). Строение полученных соединений установлено методами ЯМР, масс, ИК спектроскопического и хроматографического анализов и встречным синтезом.

2. Была осуществлена разработка методов и условий для получения супрамолекулярных ансамблей функционально-замещенных диазакраун эфиров с наночастицами магнетита, образующихся за счет нековалентных взаимодействий по принципу самосборки и предорганизации. Изучение строения, морфологии и физико-химических характеристик полученных супрамолекулярных ансамблей было проведено с использованием современных методов СЭМ, РСА, ЭДС, УФ и ААС.

3. Была установлена количественная загрузка адсорбированных молекул функциональнозамещенных диазакраун эфиров на поверхности наночастиц магнетита методом оптической и атомно-адсорбционной спектроскопии.

4. При исследовании биологической активности полученных функциональнозамещенных диазакраун эфиров и магнетит содержащих наноструктур в отношении, грам - положительных и грам - отрицательных микроорганизмов было выявлено, что они проявили значительный антибактериальный эффект и понизили минимальную ингибирующую концентрацию в отношении грам - положительного *Staphylococcus aureus*, в то время как магнетит связанный краун продемонстрировал выраженную активность и значительно понизил минимальную ингибирующую концентрацию в отношении грам-отрицательных микроорганизмов *Klebsiella spp.* и *Escherichia coli*, и

что еще интереснее проявил способность ингибировать рост и развитие биопленки практически во всех концентрациях.

5. Были получены гибридные наноструктуры на основе цефалоспориновых антибиотиков, наночастиц магнетита и синтезированных диазакраун эфиров, образующиеся за счет нековалентных взаимодействий по принципу самосборки и предорганизации. Изучение строения, морфологии и физико-химических характеристик полученных гибридных наноструктур было проведено с использованием современных методов СЭМ, РСА, ЭДС, УФ и ААС.

6. Определение синергического эффекта наноструктурированных диазакраун эфиров в сочетании с используемыми антибиотиками, позволило заключить, что наноструктуры $MC@Fe_3O_4@CTRIX$ и $MC@Fe_3O_4@CTAX$ могут служить моделью для разработки новых альтернативных стратегий, применяя так называемый принцип «тройного коня» для улучшения бактерицидного эффекта уже используемых и новых разработанных антибактериальных препаратов.

7. Было установлено, что благодаря синергическому эффекту синтезированных краун эфиров, иммитирующих свойства сидерофоров, и цефалоспориновых антибиотиков, объединенных в наноструктуры на основе наночастиц магнетита, это значительно уменьшает МИК антимикробных препаратов, создает возможность снизить дозировку принимаемых лекарств, сохраняя высокий терапевтический эффект, при меньших побочных эффектах.

8. Показана принципиальная возможность модификации уже имеющихся антибактериальных средств и синергического эффекта при их сочетании с наноструктурированными диазакраун эфирами, открывающая путь к созданию материалов, имеющих практическое значение для преодоления микробной резистентности в антибактериальной терапии.

Основные результаты и содержание диссертации изложены в следующих печатных работах:

1. Шабанов А.Л., Гахраманова З.О., Везирова Л.З., Гасанова У.А., Асадов М.М. Синтез и свойства новых краун-соединений, содержащих аминные и гидроксильные группы в макроциклическом кольце / Энциклопедия инженера-химика, 2014, № 10, с. 23-26

2. Рамазанова Э.Э., Шабанов А.Л., Гасанова У.А., Гахраманова З.О., Краун-соединения с аминными и гидроксильными группами в макроциклическом кольце и исследование их свойств / “Xəzərneftqazuyataq-2014”, Elmi-təcrübi konfrans, Bakı, 2014, с. 181-189
3. Shabanov A.L., Gakhramanova Z.O., Vezirova L.Z., Maharramov A.M., Ramazanov M.A., Hasanova U.A., Hajiyeva F.V. Stabilization metal nanoparticles by crown compounds with amine and hidroxy groups in macrocyclic ring and studing their properties / Nanotech France 2015. International Conference & Exhibition, Paris-France, 2015, p. 147
4. Şabanov Ə.L., Həsənova Ü.Ə., Qəhəmanova Z.O., Məlikov H.X., Həsənova M.M., Vəzirova L.Z., Yüksək seçiciliyə malik olan Dəmir/Seolit, Nikel/Seolit katalitik nanokompozit sistemlərin hazırlanması və onların paranitrofenolun birbaşa hidrogenləşməsi prosesində tətbiqi // Elmi əsərlər, 2015. c. XVI, s. 410-416
5. Hasanova U.A., Ramazanov M.A., Maharramov A.M., Gakhramanova Z., Hajiyeva S.F., Vezirova L., Eyvazova G.M., Hajiyeva F.V., Huseynova P., Agamaliyev Z., The functionalization of magnetite nanoparticles by hydroxyl substituted diazacrown ether, able to mimic natural siderophores and investigation of their antimicrobial activity // Journal of Inclusion phenomena and Macrocyclic Chemistry, 2016. v. 86, p. 19-25
6. Hasanova U., Ramazanov M., Maharramov A., Gakhramanova Z., Hajiyeva S., Eyvazova Q., Vezirova L., Hajiyeva F., Hasanova M., Guliyeva N. Synthesis of Macrocycle (MC) – Mimics the Properties of Natural Siderophores and Preparation the Nanostructures on the Basis of MC and Magnetite Nanoparticles // Chemical Engineering Transactions, 2016, v. 47, p. 109-114
7. Везирова Л.З., Гасанова У.А., Гахраманова З.О., Исследование реакции синтеза диазакраун эфиров на основе салицилового альдегида с диаминами / Успехи синтеза и комплексообразования : тезисы докладов I Всероссийской молодёжной школы-конференции, Москва, 2016, с. 102
8. Гасанова У.А., Гахраманова З.О., Везирова Л.З., Имобилизование наноккомпозитные системы на цеолите как катализаторы процесса гидрования нефтепродуктов / XI Всероссийская Научно-Техническая Конференция. Актуальные проблемы развития нефтегазового комплекса России, Москва, 2016, с. 207
9. Hasanova U.A., Maharramov A.M., Gakhramanova Z.O., Hajiyeva S.F. The Syntesis of the nanoensamble on the basis of diazacrown either with magnetite nanoparticles / Metalurgiya və metalşünaslığın problemləri

mövzusunda 2-ci beynəlxalq elmi - texniki konfrans, Bakı, 2017, s. 129-133

10. Vezirova L.Z., The synthesis of the nanoensemble on the basis of diazacrown ether with magnetite nanoparticles and their properties // Journal of Low Dimensional Systems, v. 2, 2018, p. 48-54

11. Vezirova L.Z., Formation of biologically active structures of functionally substituted diazocrown ethers containing Fe-nanoparticles / X Всеукраинская научная конференция студентов и аспирантов, Украина, 2018, с. 91-92

12. Vezirova L.Z., U.A.Hasanova, Биологически активные свойства формированных наноструктур, включающих макроциклы краун эфира и наночастицы магнетита / Министерство образования азербайджанской республики., Сумгаитский государственный университет, 2018, с. 161-163

13. Vezirova L.Z., U.A.Hasanova, Z.O.Gakhramanova, Synthesis of nanostructures on the basis of diazacrown ether (mc) and magnetite nanoparticles loaded by cephalosporin antibiotics // Azərbaycan kimya jurnalı, с.3, 2018, s. 28-35

14. Vezirova L.Z., Synthesis of new hydroxyl containing diazacrown ether with amide and iron nanoparticles / Sociedad Mexicana de Materiales A.C. XXVII International Materials Research Congress, 2018

15. Vezirova L.Z., Formation of diazacrown ether, containing iron nanoparticles and investigation of their antimicrobial activity / Sociedad Mexicana de Materiales A.C. XXVII International Materials Research Congress, 2018 p.34

16. Vezirova L.Z., Formation of biologically active structures of functionally substituted diazocrown ethers containing Fe-nanoparticles /X Всеукраинская научная конференция студентов и аспирантов "Химические Каразинские чтения 2018", Украина, 2018, стр. 91-92

17. Vezirova L.Z., Hasanova U.A., Ramzanova E.E., Asadov M.M., New multicomponent biologically active materials including functionally substituted diazacrown ethers and supramolecular assemblies based on the iron oxide nanoparticles / 21st International Conference on Ternary and Multinary Compounds, USA, 2018, p. 22-23

Leyla Zakir qızı Vəzirova

Funksionaləvəzli diazakraun efirlərin və dəmir oksid nanohissəcikləri saxlayan supramolekulyar ansamblların sintezi və onların xassələri

Xülasə

Effektiv və səmərəli metodlar ilə diaza kraun birləşmələr sintez olundu. Sintez olunmuş kraun birləşmələrin strukturları İQ, NMR, kütlə spektroskopiyaya metodları ilə müəyyən olundu. Həlqəsində müxtəlif funksional qrupların mövcud olması kraun birləşmələrini metal ionları ilə suramolekulyar komplekslər yaratmağa daha da mütəhərrik edir. Makrotsiklik həlqədə OH qrupunun olması birləşmənin 2D formadan 3D formasına keçməsi hesabına kompleks əmələ gətərmə qabiliyyətini dəfələrlə artırırıldığı müəyyən oldu. Diazakraun efirləri qram-mənfi mikroorqanizmlərdən olan Escherichia coli və Klebsiella spp ştammlarına qarşı əhəmiyyətli antimikrob təsir göstərmədiyini halda makrotsiklik həlqənin ionofor xassələri hesabına qram-müsbət (G+) ştamms Staphylococcus aureus - a qarşı bioaktivlik müşahidə edilir.

İk dəfə olaraq qeyri kovalent rabitələr hesabına və özünüqurma və özünütəşkiletmə qanunlarına dayanaraq kraun birləşmələrinin və maqnetit əsasında supromolekulyar ansambllar sintez olundu. Müəyyən olundu ki, MS@Fe₃O₄ (8-15 nm) nümunələri G- Escherichia coli və Klebsiella spp kimi mikroorqanizmlərə aktivlik göstərir. G+ ştamms olan Staphylococcus aureus a qarşı aktivlik müşahidə edilmir. Sintez olunmuş diazakraun efirlərin, maqnetit nanohissəciklərin (6-13 nm) və sefalosporin antibiotiklərin (cefotaxim - CTAX, seftriakson - CTRIX) iştirakı ilə yeni hibrid nanostrukturlar formalaşdırılmışdır. MS@Fe₃O₄@CTAX və MS@Fe₃O₄@CTRIX antibiotiklərin minimal inhibəedici konsentrasiyanı və dozasını əhəmiyyətli dərəcədə azaldılar.

Synthesis and properties of supramolecular assemblies containing functionally substituted diazacrown ethers and iron oxide nanoparticles

Abstract

Realised synthesis of diazacrown ethers with using the effective methods. New dibenzoazacrown ethers with functionally substitutable hydroxyl and amine groups in the macrocyclic (MC) ring were synthesized. Methods for preparation of complexes of transition metals with organic functional ligands based on diazacrown ethers having four, five and six coordinating atoms in the rings. The synthesized new diazacrown ethers due to hydroxyl and amine groups increase the degree of intermolecular interactions and transit from a two-dimensional structure into a three-dimensional structure, which has increased biological activity.

Diazacrown ethers do not show a significant antimicrobial effect on living cells, namely Gram-negative (G-) clinical strains of microorganisms *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. With respect to the Gram-positive (G+) strain of *Staphylococcus aureus*, the effect was pronounced. The synthesized azacrown ethers and supramolecular systems containing magnetite nanoparticles (Fe_3O_4 NPs) $\text{MC}@\text{Fe}_3\text{O}_4$ NP due to noncovalent interactions exhibit increased biological properties. The the $\text{MC}@\text{Fe}_3\text{O}_4$ NP (8-15 nm) samples showed themselves to be active against G-strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp, where as activity was not observed for G+ strains of *Staphylococcus aureus*. Nanostructures exhibited a strong biological effect on the G-strains of *Klebsiella*spp and *Escherichia coli*. New hybrid nanostructures with the participation of synthesized diazacrown ethers, magnetite nanoparticles (6-13 nm) and cephalosporin antibiotics (cefotaxime-CTAX, ceftriaxone-CTRIX) have been obtained. The formed hybrid $\text{MC}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CTAX}$ and $\text{MC}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{CTRIX}$ nanostructures significantly reduce the minimum inhibitory concentration of antibiotics and reduce their dosage.

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI TƏHSİL NAZİRLİYİ
BAKİ DÖVLƏT UNİVERSİTETİ

Əlyazma hüququnda

Leyla Zakir qızı Vəzirova

Funksionaləvəzli diazakraun efirlərin və dəmir oksid nanohissəcikləri saxlayan supramolekulyar ansambların sintezi və onların xassələri

İxtisas 2306.01 – Üzvi kimya

kimya üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi
almaq üçün təqdim edilmiş dissertasiyanın

AVTOREFERATI

Bakı 2018