

ВЕТЕРИНАРИЯ и ЗООТЕХНИЯ

УДК 544.18

DOI:10.31677/2072-6724-2018-48-3-78-85

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФИЗИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА
ПРЕПАРАТА АРГОВИТ**

¹В.А. Бурмистров, кандидат химических наук,
²Н.Н. Шкиль, кандидат ветеринарных наук, ведущий
научный сотрудник
²С.П. Шкиль, кандидат биологических наук, старший
научный сотрудник

Ключевые слова: морфология, размер и эллиптичность наночастицы, серебро, спектральный анализ, агрегированное состояние частиц

¹ООО НПО «Вектор-вита», Новосибирск, Россия

²Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН,
Новосибирск, Россия

E-mail: nicola07@mail.ru

Реферат. Спектральный анализ наночастиц серебра методами электронной спектроскопии и малоуглового рассеяния показал стабильность их размеров, что достигается введением поливинилпирролидона, который препятствует значительному образованию их агломератов, вызывающих существенные изменения в терапевтических и физико-химических характеристиках вещества. Асимметричная форма электронного спектра показала незначительную агрегацию наночастиц с наличием полиморфных многогранных структур. Незначительная ширина линии спектрального анализа свидетельствует о малом диапазоне размеров частиц серебра. Полученные значения интенсивности поглощения в высокочастотной и низкочастотной областях исследуемого спектра указывают на незначительную долю частиц с размером 1–2 нм, а также агрегативных форм размером около 50 нм в концентрированном растворе. Оценка размера и формы наночастиц серебра, проведенная методом просвечивающей электронной микроскопии, показала наличие наночастиц сферической, треугольной и многогранной формы, что позволяет использовать их в качестве лекарственных препаратов с пероральным и парентеральным введением без риска провоцирования травматизма клеток и тканей животных и человека. Исследования методом просвечивающей электронной микроскопии позволили установить полиморфность наночастиц серебра, входящих в состав препарата арговит, а также их размер – $67,7 \pm 19,4$ нм со степенью эллиптичности $1,3 \pm 0,3$. Разбавление препарата арговит дистиллированной водой 1:10 вызывает снижение размера наночастиц до $36,0 \pm 12,7$ нм и их эллиптичности до $1,19 \pm 0,14$. Применение препарата будет обоснованно в фармакологии при условии проведения фармако-токсикологических исследований для оценки терапевтической эффективности и безопасности.

MORPHOLOGICAL AND PHYSICAL PARAMETERS OF ARGOVIT SILVER NANOPARTICLES

¹Burmistrov V.A., Candidate of Chemistry,

² Shkil N.N., Candidate of Veterinary Sc., Leading Research Fellow,

²Shkil S.P., Candidate of Biology, Senior Research Fellow

¹ООО Vector-Vita, Novosibirsk, Russia

²Siberian Federal Research Centre of Agricultural Biotechnology, Novosibirsk, Russia

Key words: morphology, size and ellipticity of nanoparticle, silver, spectral analysis, aggregative condition of nanoparticles.

Abstract. The authors conduct spectral analysis of silver nanoparticles by means of electronic spectroscopy and small-angle scattering. The research showed the stability of nanoparticles sizes, which is achieved by application of polyvinylpyrrolidone, which prevents significant formation of their agglomerates, causing significant changes in therapeutic and physico-chemical characteristics of the substance. Asymmetric form of the electronic spectrum showed slight aggregation of nanoparticles with polymorphic polyhedral structures. The slight width of the line of spectral analysis indicates small range of silver particle sizes. The data obtained on the absorption intensity in the high-frequency and low-frequency areas of the spectrum indicate lower number of particles with a size 1 ± 2 nm, and aggregative forms of about 50 nm in a concentrated solution. The assessment of the size and shape of silver nanoparticles was carried out by means of transmission electronic microscopy method. It showed spherical, triangular and polyhedral nanoparticles that could be used as medical drugs (oral or parenteral application) preventing damages for cells and tissues of animals and humans. The studies conducted by means of transmission electron microscopy method contributed to highlighting the polymorphism of silver nanoparticles that Argovit specimen contains, and their size which is 67.7 ± 19.4 nm with a ellipticity degree of 1.3 ± 0.3 . Dilution of Argovit specimen with 1:10 distilled water causes a reduction in nanoparticles size to 36.0 ± 12.7 nm and their ellipticity to 1.19 ± 0.14 . The application of the specimen will be effective in pharmacology, provided that pharmacological and toxicological studies are conducted to assess therapeutic effect and safety.

Основным направлением нанотехнологий является получение наночастиц с определёнными свойствами, которые могут быть использованы в различных областях науки, техники, медицины, катализа, сельского хозяйства и ветеринарии [1]. Одним из наиболее востребованных качеств препаратов, используемых в медицине и ветеринарии, остаётся создание лекарственных препаратов направленного действия, обеспечивающих снижение дозы при повышении эффективности. Исследования по изучению использования носителей лекарственных веществ в виде наночастиц, размер которых варьирует от 10 до 1000 нм, предъявляют к ним ряд требований, таких как наличие макромолекулярного биodeградирующего и биосовместимого материала, в который активно внедрено лекарственное вещество [2, 3].

Однако их производство связано с рядом проблем, основной из которых является определение размера, концентрации наночастиц, структуры и равномерное их распределение по всему объёму матрицы, что в значительной мере зависит от условий и метода получения наноструктур. Установлено, что методы получения наночастиц нельзя отделять от методов их стабилизации, поэтому одним из перспективных методов получения нанопрепаратов со стабильными свойствами является введение наночастиц в матрицы различных типов. Подобный подход позволяет решить проблему устойчивости агрегативных состояний наночастиц, а следовательно, повысить адекватность оценки их физико-химических характеристик [4–6].

Для оценки физических свойств и химического состава нанопрепаратов не существует

единого стандарта ввиду разнообразия методов и особенностей материалов, из которых их получают. Для определения концентрации, формы, строения, размеров, степени и характера агломераций, а также строения поверхностных структур наночастиц используют методы сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения атомно-силовой и туннельной микроскопии. Изучение образующих пленки наночастиц и их формы ведется методом флукуационно-поляризационной микроскопии, позволяющей оценить степень оптической анизотропии поглощения. Наиболее часто для исследования физико-химических характеристик наночастиц металлов используют методы адсорбционной, ситовой, гидродинамической, газовой хроматографии, позволяющие оценить размер и форму наночастиц, а также изучить процесс их взаимодействия с матрицей. Для определения магнитных свойств наночастиц используется метод массбауэровской спектроскопии. Методом электрофореза изучают электрические характеристики наночастиц, определяют их электрофоретическую подвижность, распределение по зарядам и размерам, а также оценивают изменения химического состава систем) [7–9].

Цель наших исследований – изучение морфологических и физических характеристик наночастиц серебра препарата арговит, используемого в ветеринарии.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Препарат арговит представляет собой жидкость темно-коричневого цвета зеленовато-сероватого оттенка с содержанием 12–14 мг/мл кластерного (коллоидного) наносеребра в концентрированном растворе (1,2–1,4%). Арговит содержит поливинилпирролидон – 187 мг, коллоидное серебро – 13 мг, воду – до 1 мл. Для исследования использовали образец препарата в концентрированном виде и разбавленном дистиллированной водой в соотношении 1: 10. Оценку размера и формы наночастиц серебра проводили с использованием просвечивающего электронного микроскопа JEM-100CX (Jeol, Япония). Оценку распределения наночастиц по размеру и степени их агрегации проводили в ООО НПО «Вектор-вита» методом электронной спектроскопии на спектрометре Belec Vario Lab и методом малоуглового рассеяния на приборе Hecus S3-MICRO.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование раствора арговита методом малоуглового рассеивания (рис. 1) показывает, что основная масса наночастиц серебра имеет узкий спектр распределения по размерам – около 20 Å (2 нм).

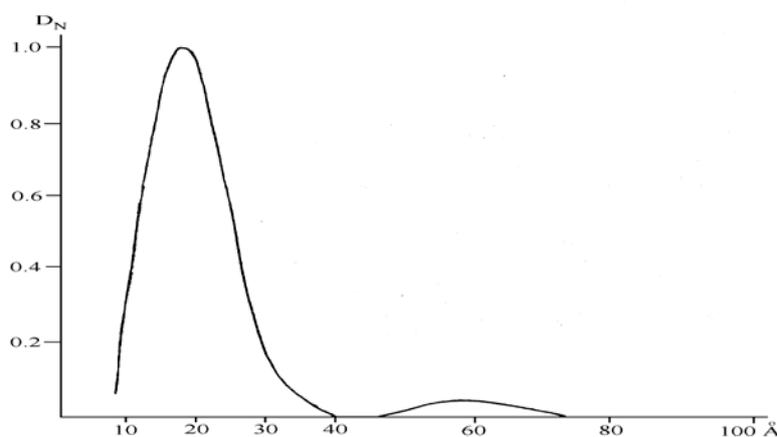


Рис. 1. Распределение наночастиц серебра по размерам по данным метода малоуглового рассеивания
Distribution of silver nanoparticles on the sizes according to the method of small-angle dispersion

Для определения стабильности их размеров проведены исследования, показывающие обоснованность введения в состав полимера

поливинилпирролидона, который не допускает агломерирования частиц на полимерном сорбенте – носителе оксида магния (рис. 2).

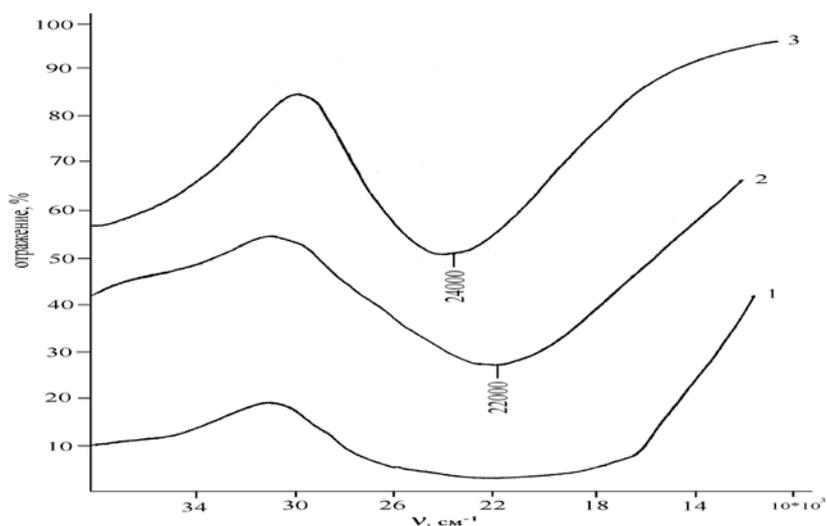


Рис. 2. Электронные спектры диффузного отражения: 1 – исходный раствор арговита; 2 – нанесенный на оксид магния; 3 – разбавленный дистиллированной водой 1:10
Electronic spectrum of diffused reflection: 1 – initial solution of Argovit 2 – spread on MgO ; 3 – thinned by deionized water 1:10

Применение в качестве носителя матрицы с низкой удельной поверхностью ($\sim 10 \text{ м}^2/\text{г}$), используемой для провокации агломерации наночастиц, не приводит к образованию крупных металлических частиц серебра, чему препятствует полимер поливинилпирролидон, что подтверждается разницей спектров (кривые 1 и 2 на рис. 2).

Асимметричная форма электронного спектра показывает незначительную агрега-

цию наночастиц с наличием полиморфных многогранных структур. Незначительная ширина линии спектрального анализа свидетельствует о малом диапазоне размеров частиц серебра. Основным отличием спектральных кривых, соответствующих разбавленным растворам, от концентрированного является наличие в последнем дополнительного поглощения в низкочастотной области (кривые 1–3 и кривая 4, рис. 3).

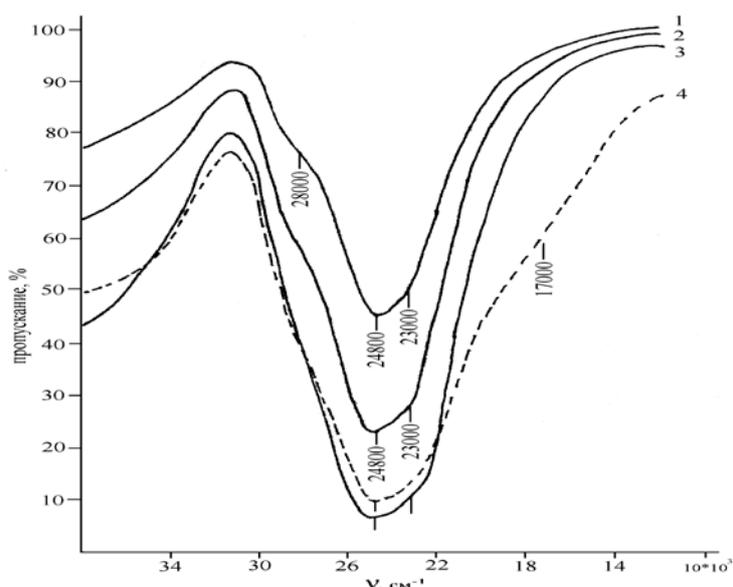


Рис. 3. Электронные спектры пропускания водного раствора наночастиц серебра с различной концентрацией (% масс): 1 – 0,00185; 2 – 0,037; 3 – 0,065; 4 – 1,5 (в тонком слое)
Electronic spectrum of water absorption of silver nanoparticles with different concentration (% mass).
1 – 0,00185; 2 – 0,037; 3 – 0,065; 4 – 1,5 (in the thin layer)

Ранее проведённые исследования [10, 11] позволили установить взаимосвязь между спектральными данными. Кривые № 1–3 соответствуют поглощению наночастиц серебра размером 4–5 нм. Показатель 28000 см^{-1} в образце исследования 0,00185%-го водного раствора препарата арговит свидетельствует о присутствии в нём частиц размером менее 1–2 нм. Поглощение в низкочастотной области со значением 17000 см^{-1} в спектре концентрированного 1,5% -го раствора наночастиц серебра (кривая 4) свидетельствует об агрегации его частиц. Полученные значения интенсивности поглощения как в высокочастотной, так и в низкочастотной областях исследуемого спектра указывают на незначительную долю частиц с размером 1–2 нм, а также агре-

гативных форм размером около 50 нм в концентрированном растворе.

Основным требованием, выдвигаемым при создании наночастиц, применяемых в ветеринарной фармакологии, пищевой промышленности, а также в других сферах, предусматривающих их использование внутри живого организма, является их вид, который не должен иметь веретенообразную или ланцетовидную форму с острыми концами, травмирующими клетки и ткани [12].

Изучение образцов наночастиц серебра препарата арговит выявило наличие контрастных частиц сферической, треугольной, многогранной формы с характерным для наночастиц серебра видом – чётким контуром, высокой электронной плотностью (рис. 4).

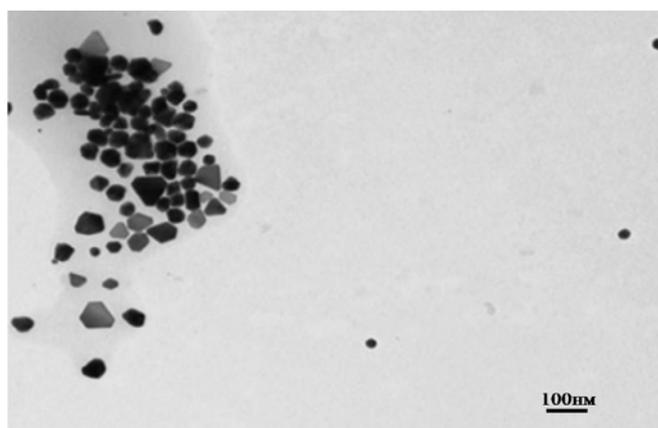
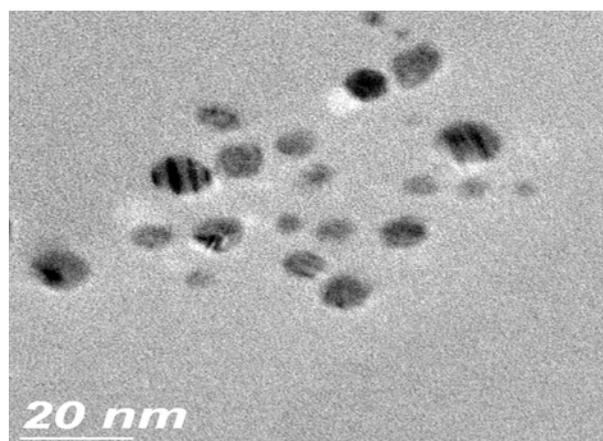


Рис. 4. Типичные формы наночастиц серебра в растворе арговита
Typical forms of silver nanoparticles in Argovit solution

Измерение 263 наночастиц концентрированного препарата арговит с использованием просвечивающего электронного микроскопа JEM-100CX позволило установить, что их размер варьирует от 20 до 139,3 нм при среднем значении $67,7 \pm 19,4$ нм (рис. 5).

Анализ 263 наночастиц серебра позволил установить также среднюю степень эллиптичности, которая составила $1,3 \pm 0,3$.

При растворении препарата в дистиллированной воде 1:10 установлено, что средний диаметр 468 наночастиц серебра составил $36,0 \pm 12,7$ нм, при этом диапазон значений варьировал от 2,3 до 101,3 нм (рис. 6).

В разбавленном 1:10 препарате арговит отмечено снижение степени эллиптичности

наночастиц относительно концентрированного образца, при этом среднее значение составило $1,19 \pm 0,14$.

Препарат арговит в концентрированной форме содержит частицы серебра нанометрового диапазона. Средний размер наночастиц, а точнее, агрегатов наночастиц серебра, в этих препаратах различается, и в значительной мере это различие обусловлено его концентрацией. Таким образом, в растворе арговита существует и поддерживается определенное динамическое равновесие между наночастицами серебра и их агрегатами, зависящее от концентрации наносеребра. При разведении препарата 1:10 средний размер частиц снижается с $67,7 \pm 19,4$ до $36,0 \pm 12,7$ нм, а степень

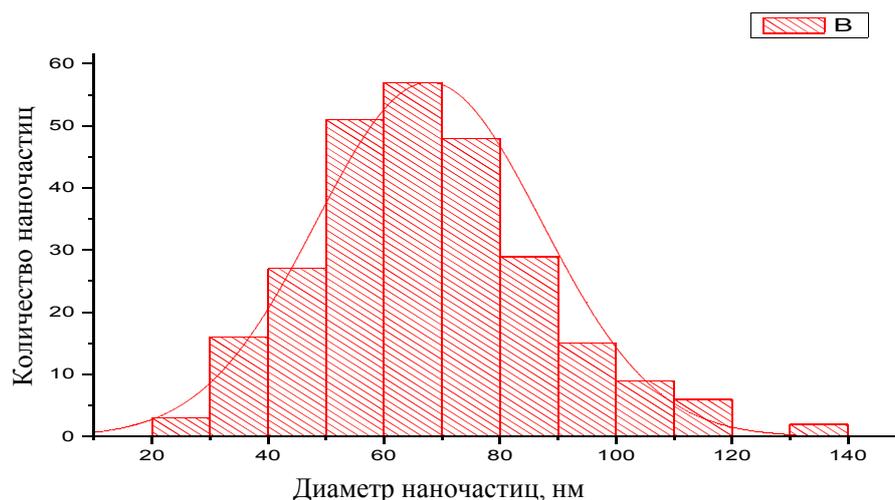


Рис. 5. Гистограмма распределения по диаметру наночастиц серебра концентрированного препарата арговит
Distribution of silver nanoparticles of concentrated Argovit on the diameter

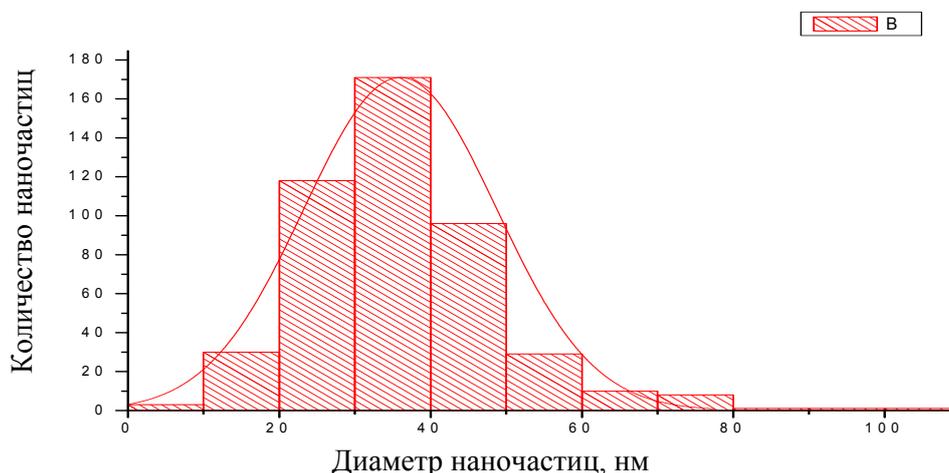


Рис. 6. Гистограмма распределения по диаметру наночастиц серебра разбавленного раствора препарата арговит
Distribution of silver nanoparticles of diluted Argovit on the diameter

эллиптичности с $1,3 \pm 0,3$ до $1,19 \pm 0,14$, что обуславливает необходимость проведения исследований по изучению терапевтических и токсикологических свойств препарата в зависимости от степени его концентрации в ветеринарии.

ВЫВОДЫ

1. Результаты изучения наночастиц методами электронной спектроскопии и малоуглового рассеяния показали обоснованность

введения поливинилпирролидона, который препятствует образованию их агломератов.

2. Оценка размера и формы наночастиц серебра, проведённая методом просвечивающей электронной микроскопии, позволила установить наличие наночастиц сферической, треугольной, многогранной формы, что позволяет использовать препарат с их участием в ветеринарии.

3. Исследования методом просвечивающей электронной микроскопии позволили установить полиморфность наночастиц се-

ребра препарата арговит, а также их размер – тиллированной водой 1:10 вызывает снижение размера наночастиц до $36,0 \pm 12,7$ нм и их эллиптичности до $1,3 \pm 0,3$. Разведение препарата арговит дис- эллиптичности до $1,19 \pm 0,14$.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Covalent linkage of apolipoprotein e to albumin nanoparticles strongly enhances drug transport into the brain* / K. Michaelis, M. M. Hoffmann, S. Dreis [et al.] // *J. Pharmacol. Exp.* – 2006. – Vol. 317, N 3. – P. 1246–1253.
2. *Molecular nanomagnets and magnetic nanoparticles: the EMR contribution to a common approach* / M. Fittipaldi, L. Sorace, A. L. Barra [et al.] // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2009. – Vol. 11, N 31. – P. 6555–6568.
3. *Якубовский М. В.* Паразитарные зоонозы: монография / под ред. М. В. Якубовского [и др.]. – Минск: Наша Идея, 2012. – С. 126–135.
4. *Гусев А. И.* Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. – М.: Физматлит, 2007. – 416 с.
5. *Цао Годжун, Ван Ин.* Наноструктуры и наноматериалы. Синтез, свойства и применение: пер. с англ. – 2-е изд. – М.: Науч. мир, 2012. – 520 с.
6. *Mohammed F. A., Chen L., Kalaichelyan P.* Inactivation of microbial infectiousness by silver nanoparticles coated condom: a new approach to inhibit HIV and HSV-transmitted infection // *Int. J. Nanomedicine.* – 2012. – N 7. – P. 5007–5018.
7. *Хартман У.* Очарование нанотехнологии: пер. с нем. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008. – 173 с.
8. *Особенности формирования нанобиоконпозитов серебра и золота с антимикробной активностью* / Г. П. Александрова, Л. А. Грищенко, Т. В. Фадеева [и др.] // *Нанотехника.* – 2010. – № 23. – С. 34–42.
9. *Барбин Н. М., Чирков А. А.* Применение препаратов на основе наночастиц серебра для предотвращения микробиологического заражения продуктов питания // *Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI в.: материалы VII Междунар. науч.-техн. конф.* – 2015. – С. 132 - 133.
10. *Петров Ю. И.* Физика малых частиц. – М.: Наука, 1982. – С. 359.
11. *Silver Clusters and Nanoparticles: Preparation in Water-in-Oil Microemulsions and Some Physical Properties Neorgan* / L. A. Pavlyukhina, T. O. Zaikova, G. V. Odegova [et al.] // *Inorg. Mater.* – 1998. – Vol. 34 (3). – P. 159–164.
12. *Концепция токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов: постановление гл. санитар. врача МЗ Правительства РФ № 79 от 30.10.2007.* [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.zakonprost.ru/content/base/part/542878>.

REFERENCES

1. Michaelis K., Hoffmann M. M., Dreis S. *J. Pharmacol. Exp.*, 2006, No. 3 (317), pp. 1246–1253.
2. Fittipaldi M., Sorace L., Barra A. L. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2009, No. 31 (11), pp. 6555–6568.
3. Yakubovskij M. V. *Parazitarnye zoonozy* (Parazitarnye zoonozy), Minsk: Nasha Ideya, 2012, pp. 126–135.
4. Gusev A. I. *Nanomaterialy, nanostruktury, nenotekhnologii* (Nanomaterialy, nanostruktury, nenotekhnologii), Moscow, Fizmatlit, 2007, 416 p.
5. Cao Godzhun, Van In. *Nanostruktury i nanomaterialy. Sintez, svojstva i primeneniye* (Nanostructures and nanomaterials. Synthesis, properties and application), Moscow, Nauch. mir, 2012, 520 p.

6. Mohammed F.A., Chen L., Kalaichelyan P. *Int. J. Nanomedicine*, 2012, No. 7, pp. 5007–5018.
7. Hartman U. *Ocharovanie nanotekhnologii* (Ocharovanie nanotekhnologii), Moscow, BINOM, Laboratoriya znaniy, 2008, 173 p.
8. Aleksandrova G.P., Grishchenko L.A., Fadeeva T.V. *Nanotekhnika*, 2010, No. 23, pp. 34–42. (In Russ.)
9. Barbin N.M., CHirkov A.A. *Nizkotemperaturnye i pishchevye tekhnologii v XXI v.* (Low-temperature and food technologies in the 21st century), Proceeding of the VII International Scientific Technologies Conference, 2015, pp. 132–133. (In Russ.)
10. Petrov YU.I. *Fizika malyh chastic* (Fizika malyh chastic), Moscow, Nauka, 1982, 359 p.
11. Pavlyukhina L.A., Zaikova T.O., Odegova G.V. *Inorg. Mater.*, 1998, No. 3 (34), pp. 159–164.
12. *Koncepciya toksikologicheskikh issledovaniy, metodologii ocenki riska, metodov identifikacii i kolichestvennogo opredeleniya nanomaterialov* (The concept of toxicological studies, risk assessment methodologies, methods of identification and quantification of nanomaterials), postanovlenie gl. sanitarn. vracha MZ Pravitel'stva RF № 79 ot 30.10.2007, Available at: <http://www.zakonprost.ru/content/base/part/542878>