

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА



Хімічний факультет  
Кафедра фізичної хімії

Кваліфікаційна робота

Грица Тараса Васильовича

**МОДИФІКУВАННЯ ГЕМОСТАТИЧНИХ ПОРОШКІВ  
НА ОСНОВІ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ**

**НАНОЧАСТИНКАМИ Ag ТА Ag /Cu**

на здобуття освітнього ступеня «магістр»

спеціальність 102 «Хімія»

спеціалізація «Фізична хімія»

галузь знань 10 «Природничі науки»

Науковий керівник:

кандидат хімічних наук, доцент,

**Малишева М.Л.**

Допустити до захисту:

завідувач кафедри,

професор Фрицький І.О.

“\_10\_”\_ травня\_ 2021 р.

Київ – 2021

<b>ВСТУП</b> .....	3
<b>Актуальність роботи</b> .....	4
<b>РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b> .....	5
<b>1.1. Методи одержання НЧ срібла й міді</b> .....	5
<b>1.2. Явище поверхнево плазмонного резонансу у НЧ срібла і міді, його прояви в оптичних спектрах</b> .....	8
<b>1.3. Застосування нанодисперсного кремнезему</b> .....	9
<b>1.4. Вплив особливостей систем НЧ на оптичні властивості</b> .....	16
<b>1.6. Сучасні кровоспинні засоби</b> .....	21
<b>РОЗДІЛ II. Методика експерименту</b> .....	24
<b>2.1. Приготування вихідних розчинів.</b> .....	24
<b>3.1. Структура та оптичні властивості композитів на основі альгінату натрію, кремнезему і наночастинок Ag та Ag/Cu</b> .....	28
<b>3.2. Вивільнення йонів <math>Ag^+</math> <math>Cu^{2+}</math> з поверхні композитів на основі альгінату натрію, кремнезему і наночастинок Ag та Ag/Cu</b> .....	35
<b>3.3. Бактерицидні та гемостатичні властивості композитів на основі альгінату натрію, кремнезему і наночастинок Ag та Ag/Cu</b> .	37
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	43
<b>Список використаних джерел</b> .....	<b>Помилка! Закладку не визначено.</b>

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ, ПОЗНАЧЕНЬ ТА СИМВОЛІВ**

НЧ – наночастинки

НЧ Ag –наночастинки срібла

НЧС - наночастинки срібла

НЧ Cu – наночастинки міді

БМНЧ – біметалічні наночастинки

АН – альгінат натрію

A300 – марка нанодисперсного кремнезему

Ludox ТМ 30% - колоїд діоксиду кремнію

ПЕГ 300 - поліетиленгліколь

ДСН - додецилсульфат натрію

Pluronic (P123) - амфіфільний триблоксополімер

Origanii herba - екстракт рослини материнка

Chelidonii herba - екстракт рослини чистотіл

DDW - бідистилят (double distilled water )

ППР - Поверхнево-плазмонний резонанс

Аргов-С - марка наночастинки срібла

БАД - біологічно активні добавки

ВІЛ – вірус імунодефіциту людини

ГДК - гранично допустима концентрація

ЗД - метод зв'язаних диполів

Celox - кровозупинний засіб

КРОВОСПАС - хімічні гемостатичні засоби

QuikClot Combat Gauze LE - бинт, просочений гемостатиком (кровоспинний засіб)

ПШВВ - порушення повного внутрішнього відбиття

AgNp – наночастинка аргентуму (argentum nanoparticles)

## ВСТУП

### **Актуальність роботи.**

Проблема доступності та відносно великої вартості існуючих на ринку кровоспинних засобів вимагає пошуку нових гемостатичних матеріалів. В існуючих на ринку комерційних матеріалах як основні діючі речовини використовуються амінокапронова кислота, полівініловий спирт, окиснена целюлоза, колаген, желатин, фібриноген та інші [1]. Серед них особливо ефективними є гемостатичні матеріали, створені на основі природного полісахариду хітозану [2]. Використання іншого, більш дешевого і природно-доступного полісахариду - альгінату натрію є альтернативним шляхом, здатним понизити собівартість гемостатичних матеріалів, зробити їх виробництво більш масовим, а продукт більш доступним. Альгінат натрію - природний гідрофільний аніонний полісахарид, видобувається з бурих морських водоростей (*Phaeophyceae*) і широко застосовується у харчовій, біоінженерній та фармацевтичній галузях, легко розчинний у воді, на відміну від хітозану, тому є зручним для розробки простих екологічних методів створення кровоспинних матеріалів без застосування інших розчинників. Також актуальним напрямком є поєднання гемостатичних властивостей медичних матеріалів з бактерицидними властивостями. Резистентність до антимікробних препаратів, яка негативно впливає на результат лікування хворих, є актуальною проблемою яка потребує якнайшвидшого вирішення. Одним з шляхів одержання високоефективних бактерицидних матеріалів є створення матеріалів на основі наночастинок срібла, а для протигрибкової дії – наночастинок міді.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### *1.1. Методи одержання НЧ срібла й міді*

Сучасний інтенсивний розвиток багатьох галузей промисловості вимагає розроблення нових високоефективних матеріалів. Одними з таких є гемостатичні матеріали, в тому числі порошки, які відіграють важливу роль при спіканні (гемостазі) крові, загоюванні ран і зупинці кровотечі. Резистентність до антимікробних препаратів, яка негативно впливає на результат лікування хворих, є актуальною проблемою для всіх країн [3].

Експерти вважають, що є два варіанти вирішення проблеми резистентності Ag і Cu: інтенсифікація розробки нових препаратів із антимікробними властивостями та оптимізація заходів спрямованих на гальмування розповсюдження антибіотико-резистентності серед мікроорганізмів[4, 5].

Відомі різні методи створення наночастинок, наприклад, змелювання, піроліз, гідротермальний синтез. У механічному способі макроскопічні або мікрокопічні частинки засипають у млинок із твердими кульками кераміки й сточують до потрібних розмірів. Далі цей отриманий порошок потім відфільтровують, залишивши з нього наночастинки. У піролізі прекурсор у рідкій або газовій формі вприскують під високим тиском у сопло й спалюють. При цьому дисперсія, з якої наночастинки відбирають фільтруванням. Традиційно результатом піролізу є порошки з широким розподілом частинок за розміром. Щоб запобігти цьому і одержувати наночастинки заданого розміру використовують надзвукові форсунки.[6].

Енергії гарячої плазми вистачає для випаровування частинок мікронних розмірів. Дослідники описали, що використовують плазму з температурою близько 10000 К, здатну випарувати порошок. Наночастинки утворюються при охолодженні на виході з області плазми. Щоб їх отримати використовуються в основному плазмові факели постійного струму, дугові,

радіочастотні індукційні. Енергію, необхідну для випаровування, у плазмових реакторах дугового типу, отримують за рахунок дугового розряду, що утворюється між анодом та катодом. Наприклад, кремнезем у формі піску можна випарувати в дуговому розряді при атмосферному тиску, тонкі алюмінієві дротини - методом вибуху. Отриману суміш плазми та випарованого  $\text{SiO}_2$  можна швидко охолодити киснем, забезпечуючи якість утвореної силіки.

У радіочастотних індукційних факелах плазма отримує енергію від електромагнітного поля котушок. Вона не контактує з електродами, що дозволяє працювати з різними видами газів: інертних, відновників, окиснювачів та інших їдких речовин і не забруднює довкілля. Робоча частота зазвичай лежить в межах від 200 кГц до 40 МГц. Лабораторні установки мають потужність 30-50 кВт, тоді як промислові - до 1 МВт. Треба подавати на вхід малі краплі, щоб вони могли повністю випаруватися, через те, що час перебування крапельки речовини в плазмі дуже короткий. За допомогою радіочастотного методу науковці синтезували наночастинки різних матеріалів, наприклад, керамічних: оксидів, карбідів та нітридів титану й силіцію.

Конденсацію в інертному газі часто використовують для формування наночастинок металів з низькою температурою плавлення. Спочатку метал випаровують у вакуумі, далі охолоджують струменем газу. Швидко охолоджений він конденсується в крапельки нанометрових розмірів, струмінь газу захоплює їх. Потім їх можна осадити на підкладку або вивчати як є [6].

Якщо вести мову про добування наночастинок срібла і міді, які є об'єктом дослідження даної роботи, то деякі науковці з Інституту хімії поверхні ім. О.О. Чуйка поверхні синтезували колоїди НЧ Cu за допомогою тетрагідроборату натрію з водних розчинів сульфату чи ацетату міді у присутності йодиду калію при кімнатній температурі. До 100 мл водного розчину сульфату міді з концентрацією  $1 \cdot 10^{-3}$  М додавали 20 мл розчину  $\text{NaBH}_4$  з концентрацією  $3 \cdot 10^{-2}$  М. При дослідженні бактерицидної активності колої-

дів НЧ міді готували два розчини: НЧ Cu, одержані з розчину сульфату міді ( $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ) та НЧ Cu, одержані з розчину ацетату міді ( $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ) аналогічним способом. Колоїди наночастинок міді в оболонці іонів йоду синтезовано відновленням мідного купоросу розчині  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{KI}$  при кімнатній температурі у водному співвідношенні  $\text{Cu}:\text{I} = 1:1$ . Як додаткові стабілізатори використовували колоїд діоксиду кремнію (Ludox TM 30%), поліетиленгліколь (ПЕГ 300), додецилсульфат натрію (ДСН) та амфіфільний триблоксополімер Pluronic (P123). При додаванні  $\text{NaBH}_4$ , у розчин мідного купоросу при інтенсивному перемішуванні, мідь відновлюється, і утворюються центри росту наночастинок. Тетрагідроборат натрію широко застосовується для відновлення НЧ металів і сприяє формуванню наночастинок з відносно вузьким розподілом за розміром діаметром 2-10 нм. Подальший ріст чи стабілізація наночастинок металів визначаються використанням стабілізуючих оболонок, міцел тощо [7].

В останні роки широкої популярності набув метод одержання НЧ металів, названий «зелений синтез». Відомий метод синтезу наночастинок срібла з використанням рослинних екстрактів. Під час нього використовують колоїдний розчини  $\text{AgNO}_3$  з концентраціями 0,001 М як джерело металів, екстракти рослини материнка (*Origanum herba*), чистотіл (*Chelidonium herba*) як відновлювальні та стабілізуючі агенти. Наприклад, для приготування наночастинок відновленням екстрактом материнки було використано 20 г висушених рослин та 200 мл бідистиляту (double distilled water (DDW)) з температурою  $100^\circ\text{C}$ . Сухі маси рослин змішано з DDW в скляних склянках і залишено на 24 год. Після відстоювання готові екстракти відфільтровано за допомогою фільтрувального паперу з розмірами пор «medium». Частинки Ag синтезували відновленням  $\text{Ag}^+$  у водних екстрактах материнки. Жовто-коричневого забарвлення набули колоїдні розчини, що містять наночастинки срібла, які інтенсивно поглинають світло в інтервалі 380-430 нм [8].

Автори [9] з метою отримання наночастинок Cu, обмежили розміри реакційної суміші, де здійснюється синтез, інкапсулюванням реагентів, з яких, по факту, мали отримати бажаний продукт. Застосовували традиційні методи колоїдної хімії у водній фазі, які використовують властивість солі міді і олеїнової кислоти утворювати міцели, які потім піддавали термічному розкладанню. Наночастинки Cu сферичної форми з мінімальним розміром 1-2 нм, вкриті моношаром алкентіолату, готували з розчину  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  в присутності броміду тетра-н-октиламонію і н-гексантиолу з використанням  $\text{NaBH}_4$  і триетилборгідриду літію в якості відновників [10]. Хімічне відновлення іонів міді в змішаних зворотних міцелах з використанням поверхнево-активного компонента в системі вода-ізооктан було здійснено авторами у статті[11]. Властивості наночастинок визначаються умовами їх одержання, такими як природа та концентрації реагентів, доступ кисню повітря, тиск та температура.

### ***1.2. Явище поверхнево плазмонного резонансу у НЧ срібла і міді, його прояви в оптичних спектрах***

Поверхнево-плазмонний резонанс(ППР) – збудження поверхневого плазмону (квазічастинка, яка має здатність до плазмонних коливань, які являють собою коливання вільного електронного газу) на його резонансній частоті внутрішньою електромагнітною хвилею. Якщо дотримуватися умови повного внутрішнього відбиття (коли все світло, яке падає на поверхню, відбивається від неї) інтенсивність відбитого світла різко зменшиться при певному куті падіння і довжині хвилі падаючого світла, а електрони при цьому здійснять «колективний стрибок» за рахунок поглиненої енергії. При цьому в спектрі відбитого світла з'являються піки, яких не було в спектрі збуджуючого світла. Ці, так звані, колективні стрибки електронів щодо іонів металів на поверхні називають поверхневими плазмонами [12].

Вчені у науковій праці [13] визначали спектральне положення максимуму смуги поверхнево-плазмонного резонансного для металевих наночастинок за умовою Фреліха  $\epsilon_0 = -2\epsilon_m$  (де  $\epsilon_0$  і  $\epsilon_m$  - діелектричні проникності металевої частинки і навколишнього середовища, відповідно). Варто зазначити, що частинки є непоглинаючими. Збільшення товщини шару приводить до розширення смуги поглинання і її зрушення в довгохвильову область. Вчені на прикладі наночастинок Ag-Ni пояснили, що основними причинами змін смуги ППР (при переході до структур з великим вмістом металу) є посилення латеральних електродинамічних взаємодій між наночастинками при збільшенні їх концентрації [13, 14].

В роботі [15] дослідники демонстрували смугу поглинання ультрадисперсного срібла з максимумом в області 390 нм, яку пов'язують із збудженням поверхневих плазмонних коливань, що зумовлюють жовтувате забарвлення. Подібний характер поглинання є близьким до зразків наночастинок срібла, одержаних іншими методами, які демонструють характерну резонансну смугу при 400–410 нм. Також, припускається, що зсув максимуму в синю область може бути зумовлений дуже малим розміром наночастинок. Наявність в спектрах плеча в області 420–460 нм і його розширення при зменшенні концентрації прекурсору може вказувати на наявність двох груп розмірів, які складають основну масу частинок [16]. Отже, на вигляд спектру поглинання НЧ і положення смуг в ньому значно впливає розмір наночастинок металу.

### *1.3. Застосування нанодисперсного кремнезему*

Нанодисперсний кремнезем марки А300 з середнім розміром частинок 9 нм [17] має відносно велику адсорбційну ємність щодо води, отже його використання дозволяє швидко адсорбувати серед інших компонентів крові воду, що може бути сприятливим фактором для тромбоутворення в рані та зупинки кровотечі. Окрім адсорбції води А300 має здатність до адсорб-

ції токсичних речовин [18]. Ця його властивість є перспективною і для його використання для адсорбції речовин, що з брудом потрапляють до рани, що важливо, якщо поранення відбувається в ході бойових дій, в антисанітарних умовах тощо. Проте використання діоксиду кремнію бажано обмежити місцем тромбу у рані і уникати його потрапляння у кровоток людини задля уникнення взаємодії наночастинок кремнезему з мембранами здорових клітин еритроцитів і виникненням явища гемолізу [19]. Розв'язується ця задача створенням композиту альгілату натрію і А300, де наночастинок кремнезему знаходяться в матриці природнього полімеру і утримуються в його структурі, в той час як достатня їх поверхня лишається доступною для фізіологічних рідин крові. Відомою є здатність кремнезему спричиняти аглютинацію патогенних бактерій, проте він не проявляє бактерицидної дії [20]. Це спонукає до введення до композиту третього, бактерицидного агенту – наночастинок срібла, що мають біоцидні властивості в широкому діапазоні штамів бактерій. Дана робота присвячена дослідженню формування наночастинок срібла та композиту срібло/мідь в матриці А300 - альгілат натрію та вивченню їх властивостей. Останніми роками у якості альтернативного та найбільш перспективного з точки зору практичного використання на пряму пріоритет одержали роботи в галузі створення «наноклінік» — багаторівневих магнеточувливих нанокомпозитів, яким притаманний комплекс функцій, характерних для нанороботів, що включає розпізнавання специфічних мікробіологічних об'єктів в біологічних середовищах, цільову доставку лікарських препаратів в органи- або клітинні мішені, діагностику і терапію захворювань на клітинному або генному рівнях, адсорбцію продуктів розкладу клітин після дії терапевтичного препарату або гіпертермії, їх видалення з організму за допомогою магнітного поля і тому подібне.

Пористий кремнезем отримують різними методами. Сілохром отримують шляхом агрегування аеросилу, який, в свою чергу, отримують спалюванням силану ( $\text{SiH}_4$ ). Сілохром характеризується високою чистотою,

низькою механічною міцністю. Характерний розмір питомої поверхні 60-120 м<sup>2</sup>/г дозволяє застосовуватися в якості сорбенту в хроматографії, наповнювача гум, каталізі.

Силікагель отримують шляхом висушування гелю кремнієвої кислоти. У порівнянні з сілохромом має меншу чистоту, проте може мати надзвичайно розвинену поверхню від 300 м<sup>2</sup>/г до 700 м<sup>2</sup>/г.

Кремнієвий аерогель приблизно на 99,8% складається з повітря і може мати щільність до 1,9 кг/м<sup>3</sup> (всього в 1,5 рази більше щільності повітря).

Тонкодиспергований аморфний кремнезем використовується як інсектицид проти певних комах, взаємодіючи з ними фізичним способом, не включаючись будь-яким чином в біохімічні процеси. Кремнеземний аерогель, а саме органофільний, завдяки способу його приготування, при концентрації 0,05% гальмує активність довгоносика і точильника зернового в зерносховищах, володіє більш тривалим захисним дією в порівнянні з хімічними інсектицидами і при цьому нетоксичний для тварин і людини тому може зовнішньо використовуватись як гемостатичний елемент при травмах [21].

Ефективність поєднання властивостей кремнезему і наночастинок срібла широко описана в літературі [3]. Одним із ефективних методів створення композиту полягає в тому, що наночастилки срібла (НЧС) і нанодисперсний кремнезем поєднували шляхом механосорбційного покриття поверхні нанорозмірного кремнезему моношаром AgNO<sub>3</sub> у газовому дисперсійному середовищі з наступним термолізом солі, в результаті чого на поверхні нанодисперсного кремнезему утворюються НЧС розміром від 12 до 18 нм [3].

Роль сполук кремнію в біохімії життя до сих пір неясна. Можливо, це пов'язано з тим, що колоїдні частинки кремнезему не безпосередньо беруть участь в біохімічних процесах, а грають транспортну роль. За останніми даними, частки кремнезему з розміром до 5 нм здатні проходити через клітинну мембрану, при цьому транспортуючи на собі поживні речовини при

вході в клітину і видаляючи сорбовані токсичні речовини при виході з неї. Беручи до уваги все перераховане стає зрозумілою необхідність подальших досліджень присвячених вивченню наночастинок кремнезему, оскільки він доступний, економічно-дешевий, екологічний, біосумісний.

Протимікробні властивості срібла, експериментально підтвержені ще у XIX сторіччі, на сьогодні широко застосовують у багатьох галузях життя-забезпечення людини. Цей метал у якості консерванта використовують у технологічних процесах виробництва харчів і напоїв. Срібло входить до складу товарів широкого вжитку, зокрема шкарпеток, білизни, дезодорантів, гребінців, фарб, фільтрів для води та предметів медичного догляду (бинти, пластирі). З метою підвищення ефективності прання метал нашаровують на поверхню барабанів пральних машин [22]. Антимікробнадія срібла знайшла широке застосування в медицині. З відкриттям антибіотиків і сульфаніламідів інтерес до препаратів срібла дещо знизився. Проте постійне зростання алергічних ускладнень, фармакотоксичних ефектів, розвиток імунодепресивних станів, дисбактеріозу та грибкових інфекцій після тривалої терапії хіміотерапевтичними засобами, а також еволюція антибіотикорезистентних мікроорганізмів викликало поновлення інтересу до розробки та вивчення нових перспективних протимікробних лікарських засобів серед наноматеріалів, зокрема тих, що містять срібло [2].

Знезаражувальні властивості срібла є дуже актуальними для різних практичних застосувань, і їх причина вивчається і сьогодні. Антибіотики, застосовувані в медицині і біотехнології, харчової промисловості, у виробництві косметики і багатьох інших областях, часто, токсичні, їх дія призводить до інгібування синтезу білка в рибосомах здорових клітин [10]. Також вони є екологічно небезпечними в процесі виробництва і утилізації. Крім того, деякі бактерії, віруси і грибки проявляють виражену ригідність до традиційних антибіотиків, що робить їх малоефективними. Тому зараз йде активний пошук нових безмутагенних бактерицидних матеріалів. Для цього замість антибіотиків та інших антибактеріальних засобів (хлор і т.д.)

починають використовувати нанокластери металів. Отримані переконливі дані по бактерицидній впливу наносрібла на віруси, бактерії і мікроорганізми [23-27].

Дослідження показали, що НЧ срібла впливають на бактеріальну проникність мембран і прикріплення бактерій до поверхні клітинної мембрани. Виявлення в великих кількостях наночастинок всередині бактерій передбачає, що це найважливіший антибактеріальний механізм. Крім того, НЧ срібла взаємодіють з бактеріальними мембранними білками, внутрішньоклітинними білками, фосфатними залишками в ДНК, і втручаються в поділ клітин, що призводить до загибелі бактеріальної клітини. Таким чином, токсична дія НЧ срібла може бути використана з метою боротьби з різними захворюваннями, викликаними бактеріями, вірусами і грибами. Наприклад, після внутрішньочеревно введення НЧ срібла марки «Аргов-С» групі тварин хворих на перитоніт, ознак запального ураження очеревини виявлено не було [23]. Крім того, є дані про інгібування НЧ срібла ретровірусів, таких як ВІЛ [24], а також про практично повне придушення вірусу герпесу на ранніх стадіях після обробки шкірних покривів подібними НЧ [26].

Таким чином, одним з перспективних напрямків застосування НЧ срібла може виявитися їх використання в якості ліків нового покоління при лікуванні деяких інфекційних захворювань людини [28, 29]. З цієї причини в даний час НЧ срібла широко використовуються в медицині, фармакології, як гігієнічні та пакувальні засоби, входять до складу широко використовуваних біологічно активних добавок (БАД), служать для покриттів кондиціонерів, що запобігають розмноженню бактерій, для обробки фасадів будинків для захисту від гниття, в текстильних товарах народного споживання і знаходять деякі інші застосування. Виробляють навіть шкарпетки з НЧ срібла, які на думку виробника можуть лікувати і запобігати появі грибкових захворювань нігтів.

Таким чином, спектр застосування НЧ срібла дуже широкий, і супутньою проблемою є питання про токсичність і оцінку ризику таких НЧ для людини.

Відомим фактом є те, що НЧ виявляють більш виражену токсичну дію на прокаріотичні клітини [30], тобто на клітини бактерій і архей ніж на еукаріот (клітини ссавців і рослин, в яких є відокремлене від цитозолі ядро зі своєю мембраною). Тому і норми гранично допустима концентрація (ГДК) для клітин більш високоорганізованих організмів можуть бути значно вище. Незважаючи на те, що в науковій літературі практично відсутні дані про летальний кінець тварин, експонованих НЧ срібла, надмірне захоплення препаратами на основі колоїдного срібла є вельми небезпечним.

Наукова література багата даними про токсичну дію НЧ срібла на організми ссавців, отриманими як з експериментів *in vitro*, так і *ex vivo*. Хоча механізм токсичної дії на клітини еукаріотів, що приводить до клітинної смерті досі до кінця не відомий, проте вчені вважають, що все-таки їх токсичну дію пов'язано з індукуванням вільних радикалів, які призводять до окислювального стресу клітини. Було показано, що НЧ срібла мають токсичну дію на різні культури людських клітин. Так, наночастинки Ag надавали негативний вплив, як на кератиноцити шкіри, так і на фібропласти [31], проте фібропласти виявилися більш чутливими до НЧ срібла [32]. Вчені дослідили, що вплив навіть нецитотоксичних доз НЧ Ag (<0,5 мкг/мл) призводило до експресії генів і апоптозу людських гепатоцитів – клітин злоякісної пухлини печінки, що, може розглядатися як позитивний ефект [33]. Проте, дози НЧ срібла нижче цитотоксичних здатні мати шкідливий вплив і на мезенхімальні стовбурові клітини людини [34].

Вважається, що при вдиханні НЧ срібла, основною мішенню виявляється легенева тканина і, дійсно, від впливу наночастинок на легеневу тканину основний удар доводиться на альвеолярні макрофаги і епітеліальні клітини легенів [35, 36]. Здається, крім деструктивного впливу на легеневу тканину, НЧ срібла при вдиханні можуть негативно впливати і на нервову

тканину, легко проникаючи в неї при інтраназальному попаданні в організм, що, в свою чергу, може представляти серйозну небезпеку. Це підтверджується дослідженнями, в яких показано, що НЧ срібла можуть проникати в нервову тканину через нюховий нерв [37, 38] і приводити до пригнічення дофаміну [39], що свідчить про вплив на біохімічні процеси головного мозку. Не тільки інтраназальне введення НЧ, але навіть і пероральне введення може призводити до проникнення НЧ срібла в головний мозок і порушення когнітивних функцій. Крім того, використання НЧ срібла в складі контрацептивів і жіночих гігієнічних засобів може мати шкідливий вплив на репродуктивну систему. НЧ срібла можуть редукувати функцію мітохондрій, робити плазматичну мембрану проникною і індукувати апоптоз в зародковій лінії стовбурових клітин [40]. Також було продемонстровано, що значну роль в токсичності НЧ грає і стабілізуюча оболонка [41]. Так, НЧ вкриті оболонкою з сироватки бичачого альбуміну та полівінілпіролідону виявилися токсичними для тварин і клітинних культур, тоді як стабілізовані вуглецем НЧ не виявляли настільки вираженою токсичності. Дослідники вважають, що стабілізуюча оболонка знижує безпосередній контакт НЧ з клітинними органелами, при цьому альбумін і полівінілпіролідон самі по собі є токсичними. З іншого боку, в дослідженні [42] не виявлено відмінностей між ступенем біоаккумуляції в організмі черв'яків НЧ срібла однакового розміру, але покритих гідрофільною (полівінілпіролідон) і амфифільною (олеїнова кислота) оболонками. Тому, потрібне проведення більш ретельного вивчення ролі стабілізуючої оболонки під взаємодії НЧ з клітинами. Таку роль може виконувати біологічно-сумісний альгінат натрію.

Результати ряду експериментів *ex vivo* також демонструють наявність яскраво вираженого токсичної дії НЧ срібла [43-48]. Було показано, що їх токсичний ефект сильно залежить від концентрації і розміру НЧ. Так, високі концентрації (50-100 мкг/мл) НЧ срібла розміром 45 нм індукували вироблення оксиду азоту, викликали проліферацію клітин і розширення

судин у щурів, в той час як дія низьких концентрацій (1-10 мкг/мл) була прямо протилежною: НЧ приводили до звуження судин і знижували вироблення оксиду азоту, який може стимулювати проліферацію клітин.

Срібло володіє фунгіцидними властивостями та проявляє свою ефективність при зараженні бактеріями, які стійкі до звичайних антибіотиків. Знищує понад 650 патогенних бактерій, має протівірусну активність.

Цікавим фактом є те, що токсична дія як іонів срібла, так і НЧ схоже не тільки тим, що обидві ці форми срібла здатні викликати апоптоз клітин, але і за механізмом впливу: в обох випадках відбувається генерація активних форм кисню, таких як, наприклад, вільні радикали. Мабуть, НЧ срібла можуть частково дисоціювати з утворенням іонів  $\text{Ag}^+$  в навколопросторі або навіть всередині самої клітини [49].

З огляду на вищесказане доцільно використовувати срібло переважно для зовнішнього використання, а внутрішньо у випадках, коли ризик для життя пацієнта переважає негативні наслідки використання препарату. Також, варто зазначити, що мідь ми використовуємо у нашому дослідженні, бо вона має яскраво виражені протигрибкові властивості.

#### ***1.4. Вплив особливостей систем НЧ на оптичні властивості***

Нанокompatитні плівки  $\text{SiO}_2\text{-Au}$ ,  $\text{SiO}_2\text{-Ag}$  проявляють незвичайні оптичні властивості, пов'язані із взаємодією між поверхневим плазмоном і прикладеним електромагнітним полем, наприклад високу нелінійно-оптичну чутливість а також можуть знайти застосування в якості бактерицидних покриттів. Тому актуальним є створення композитів на основі кремнезему, модифікованих наночастинками благородних металів. Інкорпорування моно- і БМНЧ в кремнеземну матрицю проводилося для отримання композитів, які використовувалися в мікробіологічних і каталітичних експериментах. Колоїдні системи є яскравим прикладом того, як фрагментаційні речовини з розмірами частинок нанометрового діапазону приводить до появи у

нього якісно нових фізичних властивостей. Найбільш яскравим прикладом кардинальної зміни властивостей речовин в умовах зменшення розмірів зразків є зміна оптичних характеристик малих металевих частинок. Характеристики частинок можуть дуже сильно відхилитися від поведінки матеріалу, з якого вони складаються. Такі частинки здатні поглинати електромагнітне випромінювання в тих спектральних діапазонах, де зразки тієї ж самої речовини взагалі не поглинають випромінювання. Ці особливості є причиною появи гами кольорів у колоїдному сріблі в рідинах або діелектричних матрицях при відсутності колірних відтінків у макрозразку. Аналогічні властивості виявляються у колоїдів золота, і у деяких інших благородних металів. Спектри поглинання малих металевих частинок в більшості випадків характеризують важливою особливістю - інтенсивною смугою, що лежить в УФ або видимому діапазоні спектра, відсутньою у макрозразках. Походження цієї смуги пов'язане з колективним рухом електронів в полі електромагнітної хвилі, обмеженому поверхнею, що, як відзначалося раніше, призводить до появи явища поверхневого плазмонного резонансу [48].

Опис руху електронів в частинці під дією сили осцилятора в рамках осциляторної моделі Лоренца говорить про наявність власної, резонансної частоти таких колективних коливань електронів в частинці. Відомо, що ре-

зонансна частота  $\omega_{pl} = \sqrt{\frac{Kt}{me}}$  визначається ефективною масою електронів  $m_e$  і коефіцієнтом пружності  $K_t$ , характеризує зв'язок електронів провідності з іонним острівцем. Треба сказати, що важливою перевагою срібла (так само як золота і міді) перед іншими металами є його ізольований плазмонний резонанс, який лежить в видимій області випромінювання, збоку від основної смуги поглинання.

Розмірна залежність частоти резонансного поглинання металевих наночастинок яскраво описана в [50-51]. Автори цих оглядів зазначили взаємну суперечливість багатьох теоретичних і експериментальних результатів. Також був зроблений новий підхід до опису оптичних властивостей колоїд-

дних систем [52-55]. У цих роботах викладені основи методу зв'язаних диполів (ЗД) в різних його варіантах. Метод ЗД базується на врахуванні фактора електродинамічної взаємодії часточок, що входять до складу колоїдних агрегатів. Відповідно з цією теорією, основною причиною розширення спектрів золів є агрегація частинок.

Коагуляція частинок в колоїдах супроводжується утворенням неупорядкованих колоїдних структур фрактального типу, в які об'єднується в процесі еволюції золю спочатку більшість ізольованих частинок. Це відбувається під дією сили вандерваальсівської тяжіння, а також протидіючі їй сили пружності деформованих полімерних адсорбційних шарів частинок і електростатичних сил, що виникають при перекритті подвійних електричних шарів частинок [56]. Причому ці взаємодії проявляються в умовах дії дисипативних сил в'язкого і дотичного тертя, а також гідродинамічної сили.

### ***1.5. Біметалічні наночастинки та їх властивості***

У своєму дослідженні ми проводили вимивання іонів срібла та міді з поверхні гемостатичних порошків. Метою нашої роботи є надати бактерицидних властивостей перспективним, економічним і екологічним гемостатичним порошкам за допомогою введення в них нанорозмірних часточок срібла і композиту срібло/мідь. Стійкість до антимікробних препаратів великої кількості штамів бактерій негативно впливає на лікування пацієнтів, тому актуальною проблемою є пошук біоцидних та гемостатичних препаратів з бактерицидними властивостями. Кількість і якість наночастинок Ag та композиту Ag/Cu не знижує гемостатичних властивостей комбінованих порошків, але надає їм бактерицидних властивостей. НЧ є, так званими, депо іонів”, тобто вони здатні до вивільнення активних іонів.

Біметалічні наночастинки (БМНЧ) благородних металів привертають

особливу увагу завдяки їх високим каталітичним, бактерицидним властивостям, цікавим оптичним і електрохімічним характеристикам, які відрізняються від властивостей монометалевих частинок [57-61]. Разом з тим явно недостатня увага приділено дослідженню БМНЧ в твердих матрицях і впливу підкладки на їх оптичні та інші властивості, зокрема, бактерицидні. Синтез та дослідження біметалічних наночастинок (БМНЧ) благородних металів є актуальним завдяки їх хімічній стабільності, оптичним властивостям, активності в різноманітних біологічних процесах та селективності в каталітичних реакціях. Вивченню фотоіндукованих процесів утворення та росту БМНЧ в розчинах, і, особливо, в твердотільних матрицях приділялось незаслужено мало уваги, в той час як цей шлях синтезу є надзвичайно перспективним та економічно вигідним. В літературі, незважаючи на велику кількість робіт, немає єдиної точки зору на зв'язок між методом синтезу БМНЧ і кінцевим продуктом з певною морфологією, типом, оптичними характеристиками, а також не з'ясований характер зв'язку між НЧ і твердою матрицею (наприклад  $\text{SiO}_2$ ). В залежності від методу синтезу і послідовності введення іонів золота і срібла в розчин можна отримати БМНЧ з різною морфологією (сплав і ядро-оболонка) [62]. При одночасному відновленні іонів  $\text{Ag}^+$  і  $\text{AuCl}_4^-$  в присутності стабілізатора цетилтриметиламонію броміду формується структура БМНЧ типу сплав, що характеризується однією смугою поглинання з максимумом, який залежить від співвідношення компонентів і знаходиться між максимумами поглинання монометалічних наночастинок. При утворенні БМНЧ типу ядро-оболонка спостерігається характерною бімодальною смугою поглинання. Із спектру поглинання для НЧ  $\text{Ag}$  ядро/ $\text{Au}$  оболонка дослідники у роботі [62] зробили висновок, що домінуючим є максимум поглинання для металу, який формує оболонку. Фотогенерація БМНЧ при послідовному введенні іонів в реактор – спочатку срібло, потім золото – призводить до утворення структур типу ядро-оболонка із срібним ядром і золотою оболонкою. В системі  $\text{Au}/\text{Cu}$  не можна зробити прямого висновку про формування БМНЧ типу “ядро-

оболонка”, тому що максимуми смуг ППР міді і золота знаходяться в одній спектральній області. В розчині гліцерину для системи Au/Cu спостерігається максимум поглинання при 541 нм. Можливо, при одночасному відновленні іонів міді та тетрахлораурат-іонів в гліцериновому розчині в присутності фотосенсибілізатора реакції SiO<sub>2</sub>/БФ під дією УФ-опромінення утворюється БМНЧ Au/Cu типу сплав. Про це свідчить максимум поглинання ( $\lambda_{\text{макс}}$ ) при 541 нм, що знаходиться між максимумами поглинання міді та золота [63].

З джерел відомо [64, 65], що зворотна мікроемульсія використовується для інкапсуляції монометалічних або біметалічних наночастинок оксиду ранніх перехідних металів у мікропористі оболонки кремнезему. Наночастинки оксиду металу, інкапсульовані діоксидом кремнію, вуглеціюються в атмосфері метан/водень при температурах вище 800°C, утворюючи наночастинки карбїду ранніх перехідних металів, інкапсульовані діоксидом кремнію. Це також запобігає надмірному накопиченню вуглецю на поверхні під час процесу вуглеціювання, тоді як оболонки кремнезему запобігають спіканню сусідніх наночастинок карбїду. Альтернативно, наночастинки оксиду металу з капсульованим діоксидом кремнію можна нітризувати в атмосфері аміаку при температурі вище 800°C, утворюючи наночастинки нітриду металевого нітриду ранніх перехідних металів, що містять кремній. Шляхом регулювання зворотних параметрів мікроемульсії, товщини оболонок кремнезему та умов карбонізації / азотування, наночастинки карбїду або нітриду перехідного металу можуть бути встановлені в різних розмірах, композиціях та кристалічних фазах. Після карбюрізації або азотування оболонку діоксиду кремнію видаляють, використовуючи водний розчин біфториду амонію кімнатної температури або 0,1-0,5 М розчин NaOH при 40-60 ° С. Хоча оболонки з діоксиду кремнію можна розплавити, ці розчини можна додавати в основу, таку як сажа, для отримання наночастинок карбїду або нітриду на основі ранніх перехідних металів. Якщо додати будь-яку підтримку з великою площею поверхні, то наночастинки можна

зберігати у вигляді нанодисперсії або центрифугувати для отримання нанопорошку. Утворення БМНЧ у вигляді структур ядро-оболонка спостерігається при послідовному фотовідновленні іонів в розчині [66].

### ***1.6. Сучасні кровоспинні засоби***

Перспективним і широко застосовуваним на ринку гемостатичних пов'язок є кровозупинний засіб Celox. Він розроблявся на основі хітозану, який дорожчий за альгінат натрію через неоднакову доступність та ширину сировинної бази. Для зупинки артеріальної кровотечі достатньо утримувати натиск протягом 3-5 хв, щоб пересвідчитись, що кровотеча під контролем. Гранули Celox обтікають форму рани, міцно притискаючись до джерела кровотечі навіть при ранах складних форм. Їх застосування економить до трьох хвилин часу в боротьбі з кровотечею в порівнянні з іншими гемостатичними пов'язками. Дослідження показують, що Celox: рятує життя, надійно зупиняє артеріальну кровотечу, згущує гіпотермічну кров. Варто зауважити, що він працює без ризику нанесення опіків [67].

Серед модифікацій гемостатичного засобу Celox виділяють декілька форм: гранули Celox-A™ та перев'язувальний матеріал Celox Gauze. Переваги Celox-A™ Applicator у тому, що він лікує сліпі(проникні) та наскрізні рани, підходить для вогнепальних, ножових поранень та вибухових травм, має високошвидкісну систему застосування у формі аплікатора. Аплікатор (пристрій для введення лікувального засобу) Celox-A™ - це система для введення лікувальних засобів, попередньо заповнений гранулами Celox, призначений для введення засобу у вузькі сліпі або наскрізні рани за кілька секунд безпосередньо в місці кровотечі.

У целокс-бинті використовуються гранули Celox, приклеєні на щільній марлі, тож марля швидко і легко заповнює рану, що кровоточить. Марля особливо ефективна при складних умовах, під час дощу, сильних вітрів чи при поганій видимості. Нещодавнє порівняльне дослідження показало, що

серед усіх представлених продуктів марля Celox Gauze показує найменші втрати крові, найвищий рівень зупинки крові та найбільші шанси на виживання пацієнтів. Celox Gauze – це ліки для кровотеч, які загрожують життя. Його використовували війська Великої Британії та інших країн, і тепер були схвалені Військовим комітетом США по догляду за пораненими в військових боях [68].

QuikClot Combat Gauze LE - бинт, просочений гемостатиком (кровоспинний засіб) для зупинки сильних кровотеч і проведення тугої тампонади. Основою гемостатичної дії QuikClot виступає каолін - природний мінерал, який при контакті з кров'ю викликає її швидке згортання і подальшу зупинку кровотечі навіть при пошкодженнях магістральних судин. Він має небілкову структуру і не викликає алергічних реакцій, як наприклад хітозан або тромбін, а також не викликає опіків, що виникали при використанні продуктів першого покоління. Висока ефективність зробили Quikclot Combat Gauze Z-Fold основним вибором збройних сил і поліції США, приватних військових компаній. (інтернет магазин Gorillas). Гемостатичні засоби Celox і Quikclot є сучасними і високоефективними, але дорогими що спонукає до пошуку більш дешевих аналогів [69].

Українськими вченими було розроблено гемостатичний засіб “Кровоспас”, призначений для зупинки масових кровотеч. Він є зручним у використанні і швидко фіксується на рану, має рентгеноконтрасні властивості, що дозволяє виявити засіб, що залишився у рані. «КРОВОСПАС» дає змогу зменшити час, необхідний для тампонування рани, а також забезпечує надійність цього процесу й легкість вилучення засобу з рани. Засоби не втрачають герметичності пакування, стерильності та своїх властивостей при зберіганні, транспортуванні, використанні в жорстких кліматичних умовах (при температурі повітря від –40 до +50 та вологості понад 95%). І найважливішою властивістю для військових, є те, що вони абсолютно безпечними, не потребують підготовчих процедур перед застосуванням, перевірок щодо індивідуальної сумісності, подальшого спеціального медичного

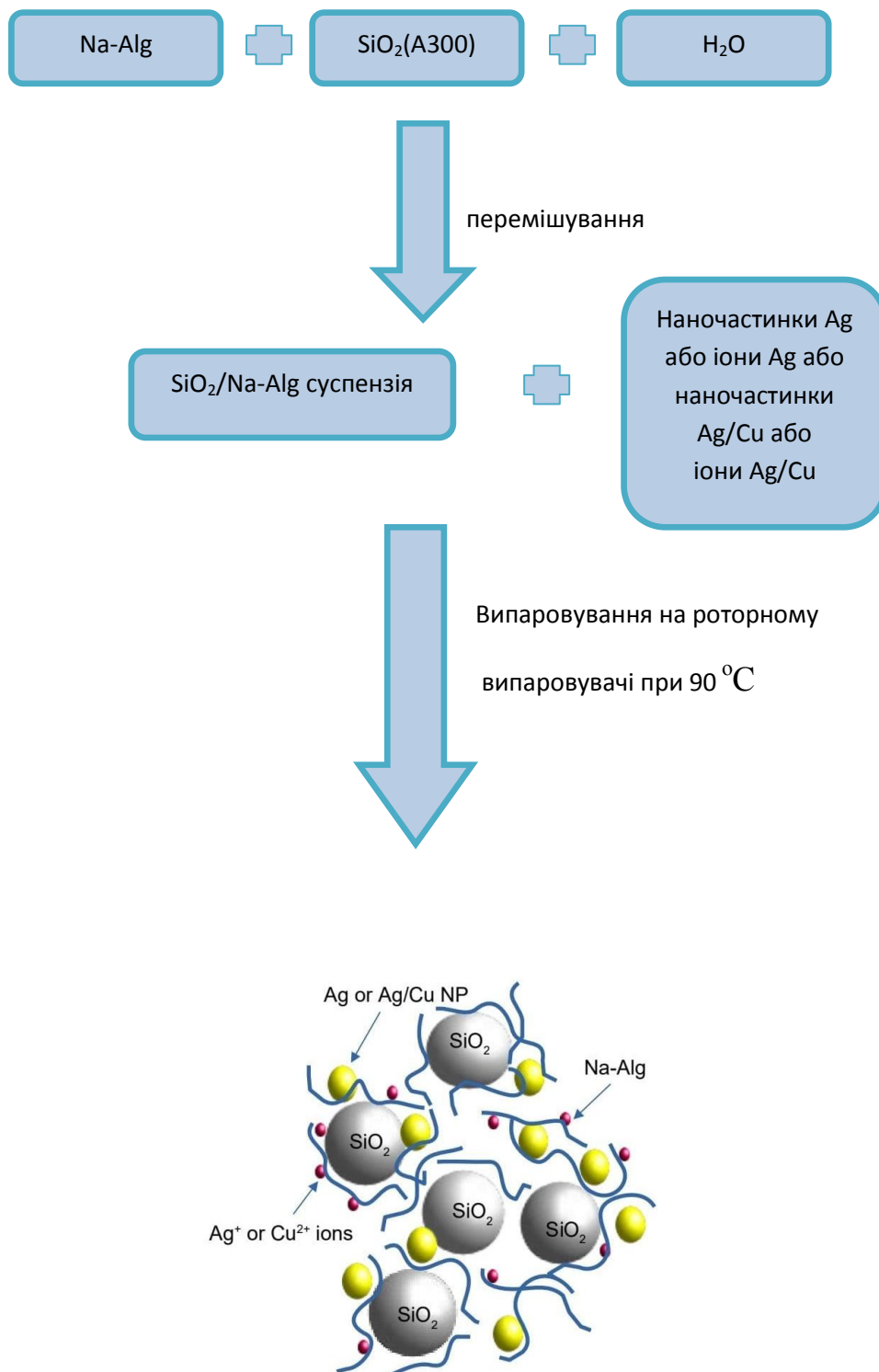
нагляду на етапах польового бою, тактичної евакуації та транспортування у пересувних польових шпиталях. Завдяки використанню інноваційних технологій для забезпечення гемостазу хімічні гемостатичні засоби «КРО-ВОСПАС» мають значні переваги над кровоспинним засобом «CELOX» і за деякими характеристиками переважають навіть найкращий польовий бинт третього покоління «QuikClot Combat». І хоч його роздрібна вартість є нижчою порівняно з Celox і Quikclot вона все ще є високою, що спонукає до продовження пошуку альтернативних, вискоєфективних гемостатиків [70].

## РОЗДІЛ II. Методика експерименту

### *2.1. Приготування вихідних розчинів.*

Порошки одержували додаванням до водної суспензії альгінату натрію і дисперсного кремнезему колоїду наночастинок срібла. Приготування суспензії відбувалося у 2 етапи:

- 1) до 250 мл дистильованої води, додавали 0,5 г альгінату натрію і перемішували до його повного набухання і розчинення;
- 2) до утвореного розчину додавали 5 г дисперсного кремнезему А300 і продовжували перемішувати до утворення в'язкої суспензії.
- 3) Додавання до суспензії колоїду наночастинок срібла або розчину нітрату срібла. Колоїди наночастинок срібла одержували відновленням нітрату срібла ( $\text{AgNO}_3$ ) тетрагідроборатом натрію ( $\text{NaBH}_4$ ), який було обрано як високоефективний (потенціал відносно водневого електрода  $E = -1.76 \text{ В}$ ), дешевий відновник, зручний для застосування у водно-органічних середовищах. До 100 мл водного розчину нітрату срібла заданої концентрації (від  $1 \cdot 10^{-6}$  до  $1 \cdot 10^{-1}$  моль/л) додавали 20 мл водного розчину  $\text{NaBH}_4$  з концентрацією  $3 \cdot 10^{-2} \text{ М}$  та інтенсивно перемішували. Після набуття колоїдом стійкого жовтого кольору (появи в УФ-видимому спектрі смуги поверхневого плазмонного резонансу при  $\lambda = 385 \text{ нм}$ ) колоїд при інтенсивному перемішуванні додавали до суспензії. Аналогічно, але без застосування відновника, були одержані порошки з вмістом іонів  $\text{Ag}^+$  замість наночастинок.
- 4) з утвореної суміші випаровували воду на роторному випаровувачі при температурі  $90 \text{ }^\circ\text{C}$ . Співвідношення А300 до альгінату натрію у кожній композиції було незмінним і становило 10 % мас., при якому, як було визначено, композит є найбільш гемостатично активним.



**Рис.1.** Одержання порошків А300+АН з наночастинками Ag та порошків А300+АН з йонами  $\text{Ag}^+$  і наночастинки Ag/Cu й іони Ag/Cu.

Аналогічним способом було одержано порошки A300 + АН з вмістом наночастинок або йонів Ag/Cu. Концентрація срібла в системах з БМНЧ була аналогічною до монометалічних систем, молярна концентрація міді становила співвідношення Ag : Cu = 1 : 1.

Спектри поглинання колоїдів реєстрували за допомогою спектрофотометра Perkin-Elmer Lambda 35, а спектри дифузного відбиття порошків — за допомогою приставки Labsphere RSA – PR- 20 в діапазоні довжин хвиль 200-1000 нм.

Рентгенограми порошків реєструвалися за допомогою дифрактометра DRON-4-07 (CuK) в геометрії Брега-Брентано.

ІЧ-спектри порошків реєстрували на спектрометрі Nicolet NEXUS FTIR в області частот 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  у режимі порушеного повного внутрішнього відбиття – ППВВ. Досліджувані порошки змішувались з висушеним КВг у масовому співвідношенні 2:1 відповідно.

Для визначення впливу одержаних порошків на бактерії та мікроміцети, використовували класичний мікробіологічний метод. Чашки Петрі були заповнені відповідним агаром тестових культур для бактерій і Сабуро для грибів. Потім невеликі порції порошків поміщали на охолоджений агар тест-культури бактерій (106 КУО), дріжджі роду *Candida* (105 КУО) та грибокотворюючі гриби - мікроміцети (105 КРУ) і ретельно розтирали шпателем Дригальського на поверхні агару. Після висихання чашки Петрі культивували в умовах термостату: для бактерій при 37 $^{\circ}$ С протягом 24 годин, для грибів роду *Candida* при 36 $^{\circ}$ С протягом 48 годин, для мікроміцетів при 28 $^{\circ}$ С протягом 3-5 днів.

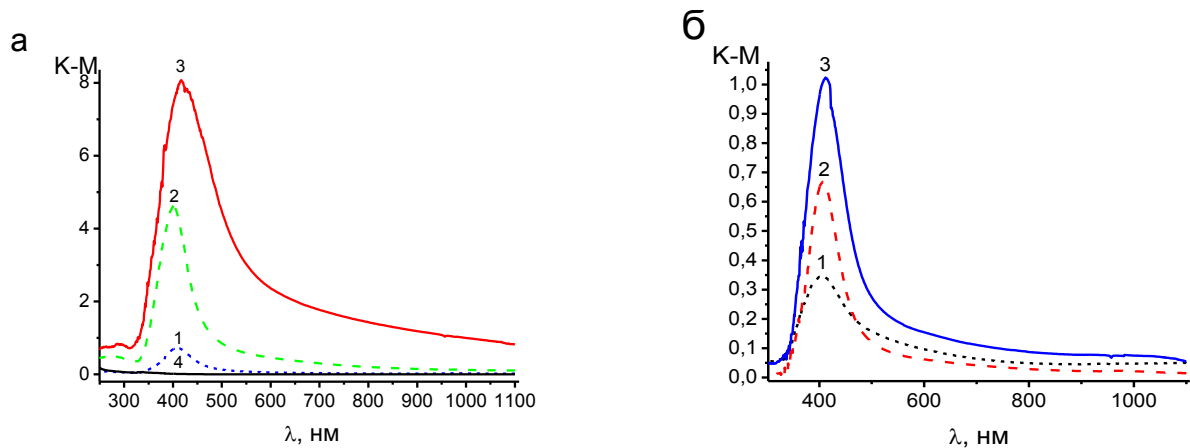
Гемостатичні властивості порошків вивчали на моделі паренхіматозної кровотечі з печінки білих щурів-самців масою 300–400 г, материнської лінії Вістар. Щурів доглядали в умовах віварію згідно зі стандартними умовами та вимогами, які відповідають принципам Європейської конвенції (Страсбург,

1986) та Гельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації про гуманне поводження з тваринами (1996). Тварини були поділені на групи, по 10 щурів у кожній, в контрольній групі гемостатики не використовувались. Операцію проводили під загальною анестезією, яку виконували за допомогою розчину тіопенталу натрію в дозі 6 мг/100 г. Після верхньосерединної лапаротомії в рану виводили ліву долю печінки, від якої відтинали крайню нижню частину розміром 2,5×0,5 см. Розтин призводили до рясної кровотечі. Ефективність застосування досліджуваних матеріалів оцінювали за показником крововтрати, який визначали зважуванням шматочків гемостатика (в контрольній групі використовували шматки медичної марлі масою близько 0,5 г) до та після контакту з раною кожні 3 хв. Моментом повної зупинки крові вважали цілковите припинення витоку крові після видалення з рани зразку гемостатичного матеріалу (марлі в контролі).

## РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

### 3.1. Структура та оптичні властивості композитів на основі альгіна-ту натрію, кремнезему і наночастинок Ag та Ag/Cu

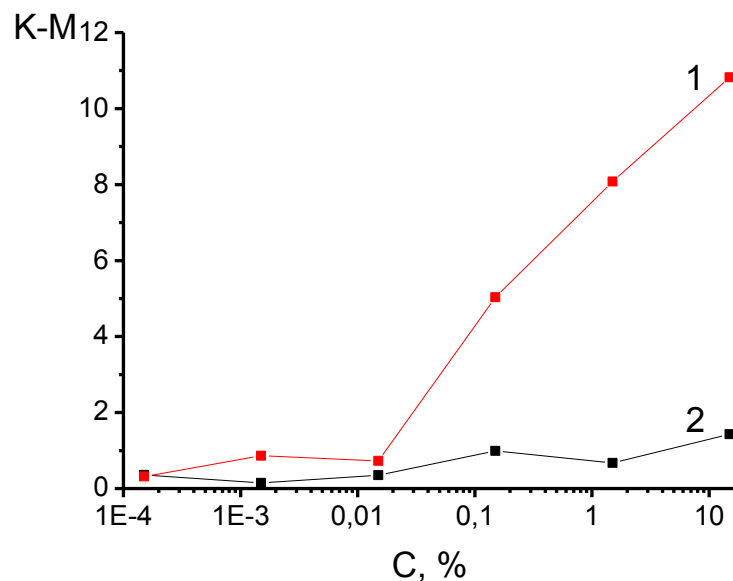
Для вивчення оптимального способу нанесення наночастинок срібла як бактерицидного агента в порошки нанодисперсного кремнезему з альгінатом натрію було одержано дві серії зразків які відрізняються тим що в одній з них до суспензії А300+АН вводили готові наночастинки металу (відновлені тетраборатом натрію), а в іншій – до аналогічної суспензії вводили розчин солі срібла ( $\text{AgNO}_3$ ). Висушені порошки з НЧАg мали жовтий колір завдяки наявності смуги поверхнево-плазмонного резонансу НЧ срібла ( $\lambda \approx 400$  нм) у оптичному спектрі (Рис.2 а).



**Рис. 2.** Спектри дифузного відбиття порошоків А300+АН з наночастинками Ag (а) та порошоків А300+АН з йонами  $\text{Ag}^+$  (б) з концентраціями 0,02% (криві 1), 0,2% (криві 2) та 2% (криві 3) та альгінату натрію (крива 4).

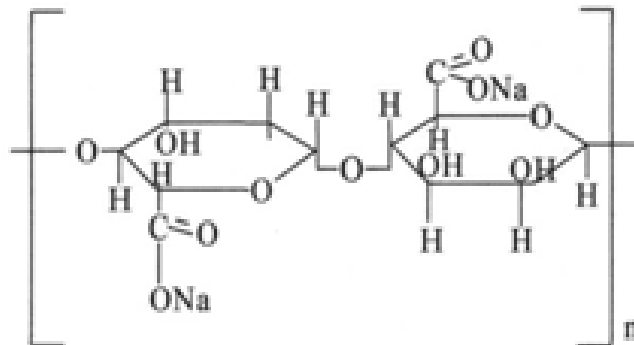
Суспензії з вмістом іонів Ag мали матовий білий колір до висушування і при нагріванні в процесі сушки набували жовтого кольору, що говорить про відновлення їх з утворенням металічних наночастинок в процесі нагрівання. Оптичні спектри таких порошоків наведено на рисунку 2б.

Спонтанне відновлення іонів срібла в процесі нагрівання протікає малоінтенсивно, величина максимуму функції Кубелкі-Мунка для смуги ППР лежить в межах значень від 0,2 до 2,3, (рис. 3). Для порошоків, одержаних введенням готових наночастинок аналогічні значення сягають від 0,4 до 10,8. Це є непрямим свідченням того що введення готових наночастинок сприяє їх більшій концентрації на поверхні і в об'ємі композиційних порошоків на основі нанодисперсного кремнезему та альгінату натрію в той час як при введенні іонів  $Ag^+$  в суспензію суттєва їх кількість лишається не відновленою або не формує наночастинок.



**Рис. 3.** Інтенсивність смуги поверхнево-плазмонного резонансу наночастинок срібла в координатах функції Кубелкі-Мунка залежно від концентрації срібла у розчині, доданому до суспензії А300 + АН. 1 – порошки, одержані додаванням наночастинок Ag; 2 – порошки, одержані додаванням іонів  $Ag^+$ .

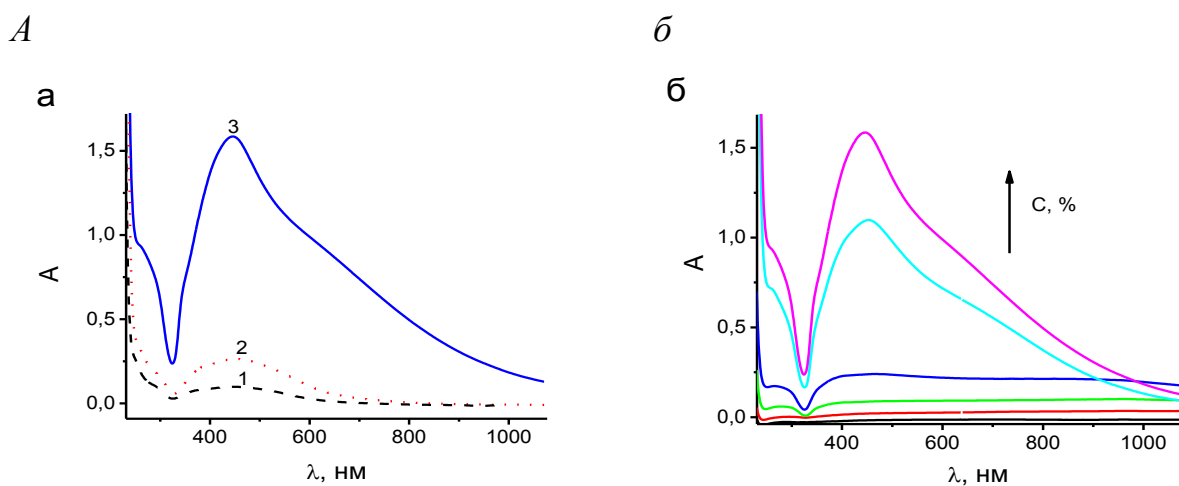
Сприяє відновленню йонів срібла  $\text{Ag}^+$  до  $\text{Ag}^0$  при нагріванні суспензії наявність глікозидних залишків в структурі молекули альгінату натрію (рис. 4). Схожі процеси відбуваються при одержанні наночастинок  $\text{Ag}$  або  $\text{Ag}/\text{Cu}$  на поверхні бавовни при її термообробці з присутністю йонів відповідних металів [71]. Завдяки наявності  $\text{OH}$ -груп альгінат натрію окрім відновлювальних властивостей проявляє протекторні властивості по відношенню до наночастинок металів [72, 73] на відміну від нанодисперсного кремнезему. З рисунку 2 видно що більшість йонів срібла що потрапили до суспензії не відновлюються, а взаємодіють з молекулою полімеру, утворюючи альгінат срібла. Тому інтенсивність смуги ППР при всіх однакових умовах і концентраціях для НЧ, відновлених АН менша ніж така для НЧ, відновлених боргідром натрію.



**Рис. 4.** Ланцюг молекули альгінату натрію.

Слабка відновлювальна здатність АН порівняно з  $\text{NaBH}_4$  призводить до того що в присутності альгінату натрію утворюються наночастинки срібла з широким розподілом за розміром [74, 75]. Та сам процес хоч і віднесений до

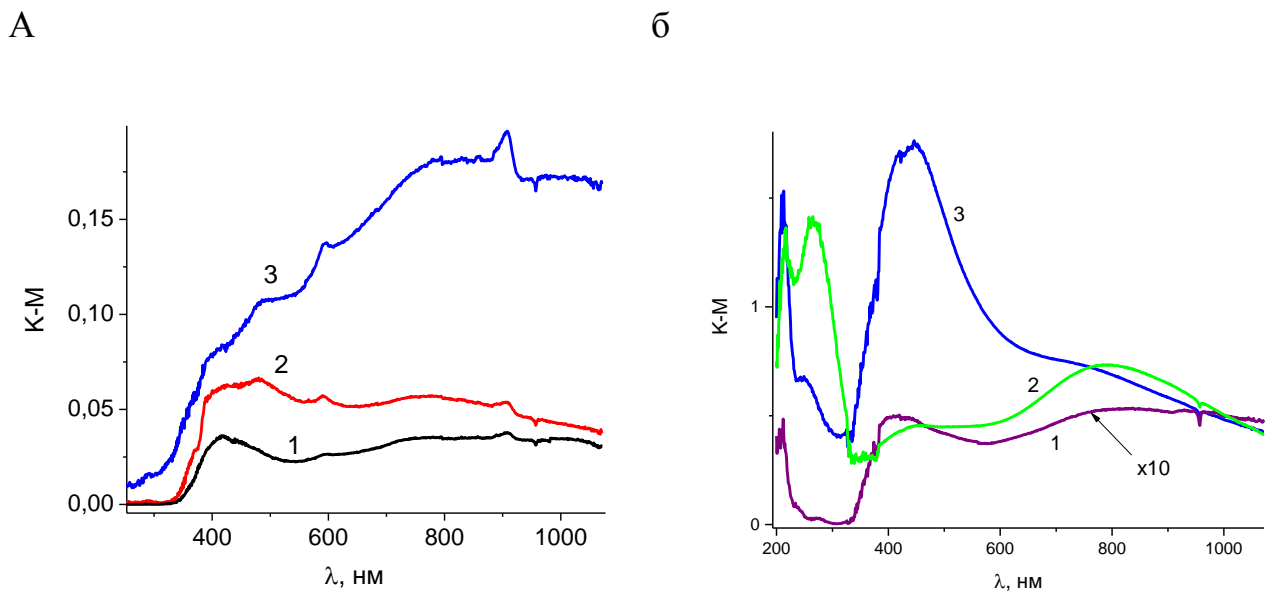
“зеленого синтезу”, є довготривалим. На рисунку 5а наведено спектри НЧ срібла у водному розчині АН (8,5 % мас), зареєстровані через 3 год, 8 год та 3 діб від моменту приготування. Така поведінка відновлення срібла спостерігається до ряду концентрацій Аг по відношенню до АН де останній виступає в ролі відновника — від 0,008 до 8,5 % мас (рис. 5б). Проте застосування АН в комплексі з нанодисперсним кремнеземом дозволяє одержувати стабільні НЧ срібла з вузьким розподілом за розміром.



**Рис. 5.** *а* - Спектри НЧ срібла у водному розчині АН, зареєстровані через 3 год (1), 8 год (2) та 3 доби (3) від моменту приготування; *б* - спектри НЧ срібла у водному розчині АН в діапазоні концентрацій від 0,008 до 8,5 % мас.

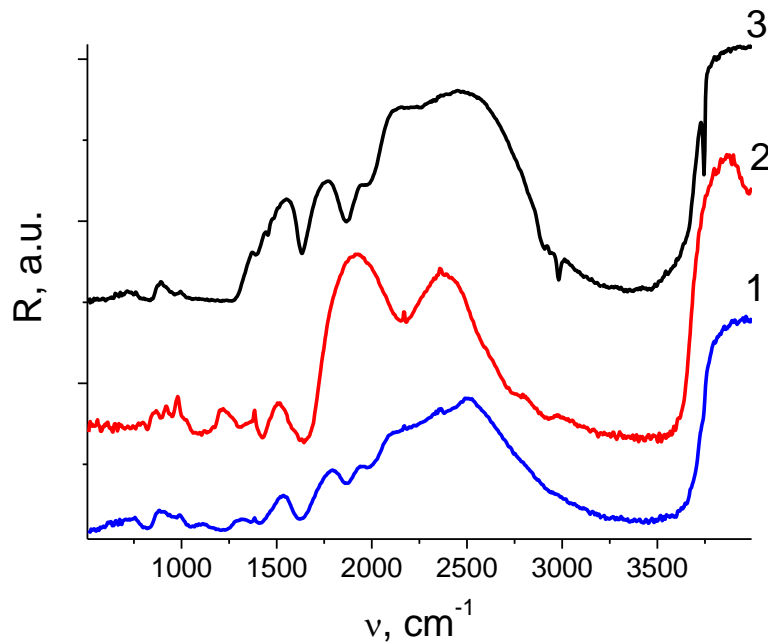
Спектри дифузного відбиття порошків А300+АН з наночастинками Аг/Сu (рис. 6) мають також складну будову. В них присутні як смуга ППР срібла (418 нм), смуга ППР міді (590 нм) так і широка безструктурна смуга в області 760 нм що належить йонам  $\text{Cu}^{2+}$ . Спектри дифузного відбиття порошків А300+АН з йонами Аг/Сu мають також смугу ППР срібла (400 нм) з широким плечем в довгохвильовій області (800 нм) що може бути спричинене не лише поглинанням йонами міді у складі інших сполук, а і агломерацією НЧ срібла [76]. Також уширення смуги ППР срібла в бік довжин хвиль положення смуги ППР міді (рис.6б) може бути обумовлене утворенням БМНЧ

типу сплав. В той час як присутність двох смуг ППР срібла і міді в спектрах поглинання (рис.6а) може свідчити про наявність обох окремих типів НЧ, НЧ типу ядро-оболонка або система «янус» (коли одна наночастинка складається з двох півсфер з різних металів).



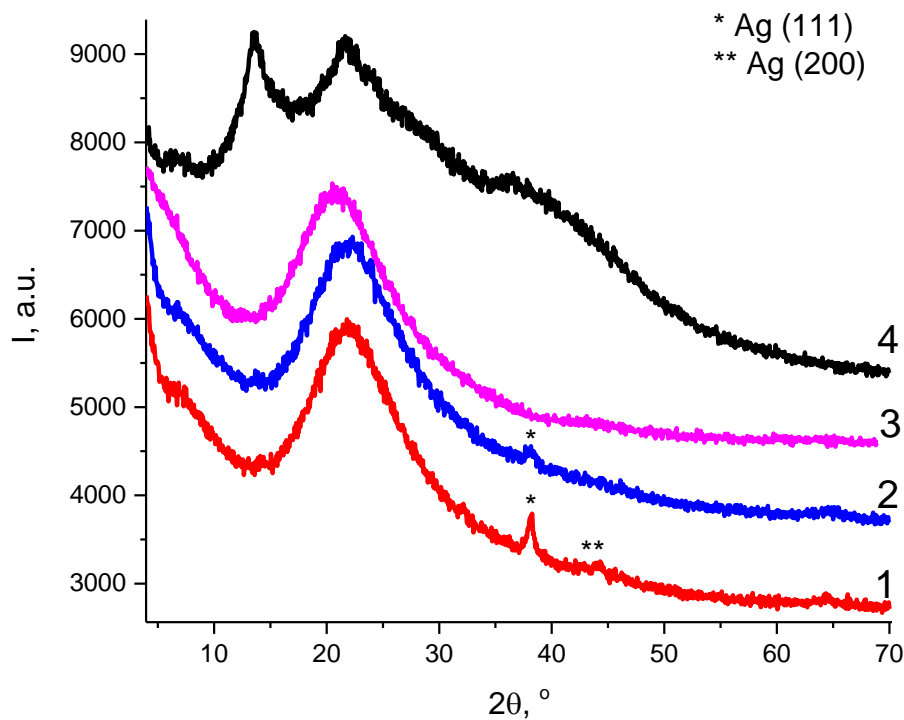
**Рис. 6.** Спектри дифузного відбиття порошків А300+АН з наночастинками Ag/Cu (а) та порошків А300+АН з йонами  $Ag^+/Cu^{2+}$  (б) з концентраціями 0,02% (криві 1), 0,2% (криві 2) та 2% (криві 3).

На рисунку 7 представлені ІЧ-спектри кремнезему А300, альгілату натрію та композиту А300+АН+Ag НЧ. Широка смуга в області  $3500\text{ cm}^{-1}$  належить коливанням ОН-груп. Дві широкі смуги  $2720$  та  $2920\text{ cm}^{-1}$  належать С – Н коливанням  $CH_2$  груп. Стабільність композитів А300+АН+Ag НЧ щодо утримання наночастинок срібла досягається взаємодією  $CH_2$ -груп з Ag. На рисунку 6 спостерігається зменшення інтенсивності СН-коливань в області  $2722$  і  $2906\text{ cm}^{-1}$ .



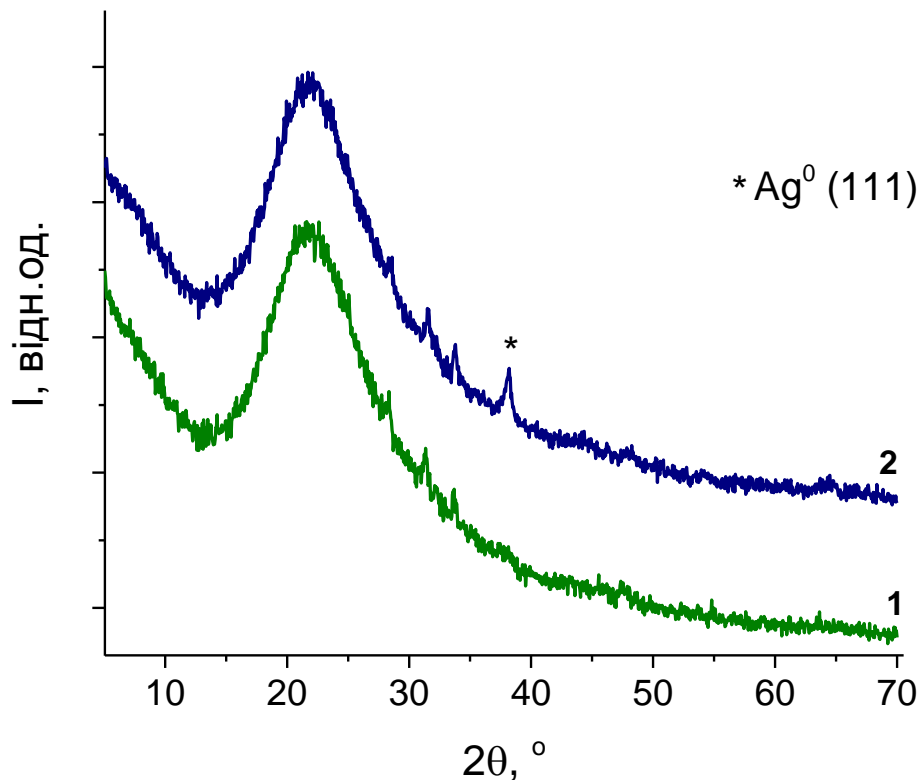
**Рис. 7.** ІЧ-спектри А300 + АН + AgНЧ (2,3 %) (1), альгінату Na (2) та кремнезему А300 (3).

На рисунку 8 представлені дифрактограми порошків: А300 + АН+ іони Ag, А300+АН+Ag НЧ, А300 та АН. Піки в дифрактограмі 4 спричинені тим що АН має певну кристалічність завдяки сильній міжмолекулярній взаємодії що забезпечується водневими зв'язками [77]. Два дифракційні піки із значеннями  $2\theta = 13,6^\circ$  і  $21,6^\circ$  належать до (110) - площини полігілуронату і (200) - площини поліманнуронату. Третя широка смуга в області  $36,3^\circ$  є аморфним гало. Нанодисперсний кремнезем А300 демонструє єдиний широкий дифракційний пік що підтверджує аморфну природу діоксиду кремнію. Дифрактограми порошків А300 + АН+НЧ Ag та А300 + АН+ іони Ag (концентрація доданого розчину нітрату срібла до суспензій  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л) мають дифракційні піки  $38,4^\circ$  і  $44,1^\circ$  що відповідають положенням піків (111) і (200) гранецентрованого кубічного металевого срібла. Це є свідченням висококристалічної природи наночастинок. Обрахований за формулою Шерера розмір наночастинок Ag становить 9 і 12 нм для зразків з додаванням йонів та готових наночастинок відповідно.



**Рис. 8.** Рентгенограми порошків: А300 + АН+йони Ag (2,3 %) (1), А300+АН+Ag НЧ (2,3 %) (2), А300 (3) та АН (4).

Структура порошків з вмістом БМНЧ подібна до тих що містили моно-НЧ срібла наявністю фази металічного срібла (рис. 9) у вигляді наночастинок. БМНЧ Ag/Cu у стані сплаву найчастіше рентгеноаморфні, отже, наймовірніше структура порошків А300 + АН + НЧ Ag/Cu є складною (може містити окремі монометалічні НЧ срібла, може містити НЧ типу ядро-оболонка тощо). У випадку додавання готових НЧ у суспензію А300 + АН спостерігається чіткий пік  $38,4^\circ$  що відповідає грані  $\text{Ag}^0(111)$ . А300 + АН + йони Ag/Cu може містити БМНЧ типу сплав, або НЧ срібла поряд з сполуками міді. Рефлекси з  $2\theta = 28$ ,  $2\theta = 31$  і  $2\theta = 33$  в обох дифрактограмах рисунку 9 належать фазі долерофаніту  $\text{Cu}_2\text{O}(\text{SO}_4)$ , що зумовлене використанням сульфату міді у якості вихідної солі.



**Рис. 9.** Рентгенограми порошків: А300 + АН+йони Ag/Cu (1,5 %) (1), А300+АН+ НЧ Ag/Cu (1,5 %) (2).

### ***3.2. Вивільнення іонів $Ag^+$ $Cu^{2+}$ з поверхні композитів на основі альгі- нату натрію, кремнезему і наночастинок Ag та Ag/Cu***

Здатність НЧ срібла вивільняти відповідні йони з поверхні забезпечує їх високу бактерицидну активність, в якій наночастинка виступає у ролі “депо йонів” [78,79]. Надмірна кількість стабілізатора може сповільнити або повністю заблокувати цей процес що негативно відобразиться на біоцидних властивостях матеріалу [80,81]. З іншого боку, надмірна кількість вільних йонів може бути токсичною для здорових клітин. Тому для створення бактерицидних матеріалів важливо зберегти баланс між інтенсивністю виділення йонів срібла наночастинками та здатністю стабілізатора блокувати їх. В таб-

лиці 1 наведено відносну кількість йонів срібла, десорбованих у воду протягом 4 годин, віднесену до їх початкової кількості.

При малих концентраціях срібла десорбція не перевищує межі чутливості методу, тому для концентрації срібла менших за 0,02% десорбції йонів  $\text{Ag}^+$  не спостерігалось. Таким чином, існує порогова концентрація срібла по відношенню до АН, менше якої вводити його не доцільно через блокування вивільнення йонів з поверхні НЧ срібла та тих, що були адсорбовані АН, що пригнічує біоцидні властивості одержаних порошків.

**Таблиця 1.** Відносна кількість атомів срібла, що десорбуються з поверхні порошків у воду.

Концентрація Ag по відношенню до А300, % моль	Частка вивільнених атомів Ag з поверхні порошку, мол %	
	А300 + АН+НЧ Ag	А300 + АН+йони Ag
23	18	24
2,3	1	1
0,23	-	<1
0,02	-	-
0,002	-	-
0,0002	-	-

Відносна кількість вивільнених (десорбованих) йонів срібла дає підстави припустити що достатні бактерицидні властивості будуть мати порошки з концентрацією срібла від 2,3%.

Відносна кількість атомів срібла що десорбуються у воду для порошків з вмістом БМНЧ менша ніж для аналогічних зразків з вмістом моно-

наночастинок срібла (таблиця 2), хоча порогова концентрації їх виділення однакові.

**Таблиця 2.** Відносна кількість атомів срібла і міді, що десорбуються з поверхні порошків у воду.

Концентрація Ag та Cu по відношенню до А300, % моль	Частка вивільнених атомів з поверхні порошку А300 + АН+НЧ Ag/Cu, мол %	
	Ag	Cu
23	2	5
2,3	<1	<1

Як буде показано далі, бактерицидна активність порошків з вмістом БМНЧ є незначно нижчою, ніж для порошків з вмістом моно-НЧ Ag, зона затримки росту зменшується, проте не пропорційно до різниці у вивільненні йонів з поверхні порошків у водне середовище.

### **3.3. Бактерицидні та гемостатичні властивості композитів на основі альгілату натрію, кремнезему і наночастинок Ag та Ag/Cu**

Бактерицидні властивості порошків було досліджено на штаммах грам-негативних бактерій: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, грам-позитивних бактерій *Staphylococcus aureus* і грибів *Candida albicans* (таблиця 3). Дані таблиці 3. корелюють з результатами дослідження десорбції йонів срібла у воду та підтверджують припущення що біоцидну дію наночастинок спричиняють йони, вивільнені їх поверхнею в той час як сама наночастинка виступає в ролі їх «депо».

**Таблиця 3.** Зона затримки росту бактерій та грибів в залежності від концентрації срібла в порошках А300 + АН + НЧAg.

Культура бактерій	Концентрація Ag по відношенню до А300, %					
	МОЛЬ					
	23	2,3	0,23	0,02	0,002	0,0002
<i>E.coli</i>	17	10	0	0	0	0
<i>K.pneumoniae</i>	15	7	0	0	0	0
<i>P.aeruginosa</i>	18	12	11	0	0	0
<i>S.aureus</i>	20	12	0	0	0	0
<i>C.albicans</i>	11	7	0	0	0	0

Бактерицидна активність порошків з вмістом БМНЧ є незначно нижчою, ніж для порошків з вмістом моно-НЧ Ag, зона затримки росту зменшується, проте не пропорційно до різниці у вивільненні йонів з поверхні порошків у водне середовище. Це може бути спричинено як синергічним ефектом завдяки взаємодії срібла й міді, так і утворенням сполук на основі АН та вказаних металів що також мають бактерицидні властивості.



**Рис. 10.** Різниця у зоні затримки росту для порошка А300 + АН з вмістом моно-НЧ Ag (5) і БМНЧ Ag/Cu (4).

Завдяки наявності срібла бактерицидна активність порошків супроводжується й гемолітичною активністю (здатністю руйнувати клітин еритроцитів) (таблиця 4). Тому для таких композитів рекомендоване лише зовнішнє застосування досліджуваних порошків як кровоспинних та бактерицидних засобів.

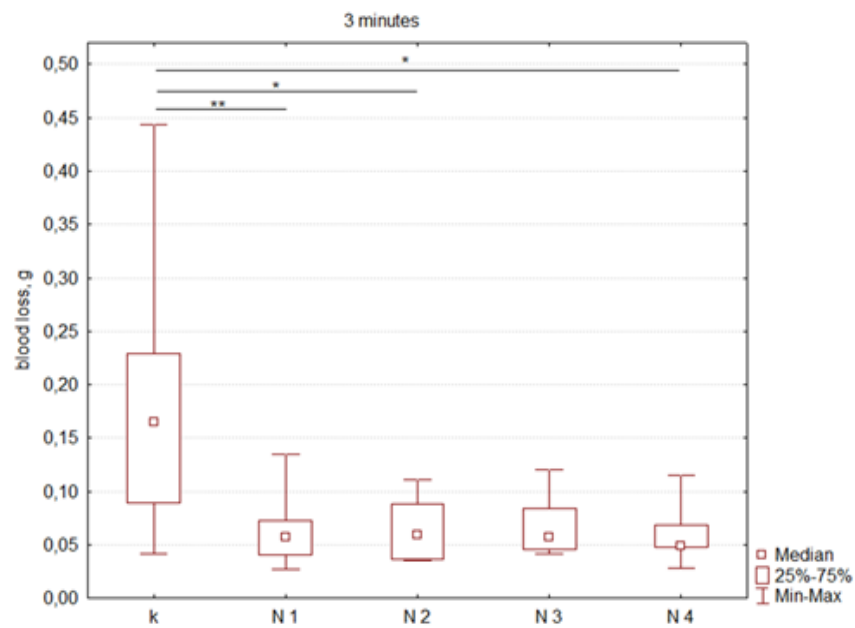
**Таблиця 4.** Гемолітична активність порошків А300 + АН + НЧАg.

Концентрація Ag по відношенню до А300, % моль	Наявність зруйнованих еритроцитів у кров'яному агарі
15	+
1,5	+
0,15	+
0,02	-
0,002	-
0,0002	-

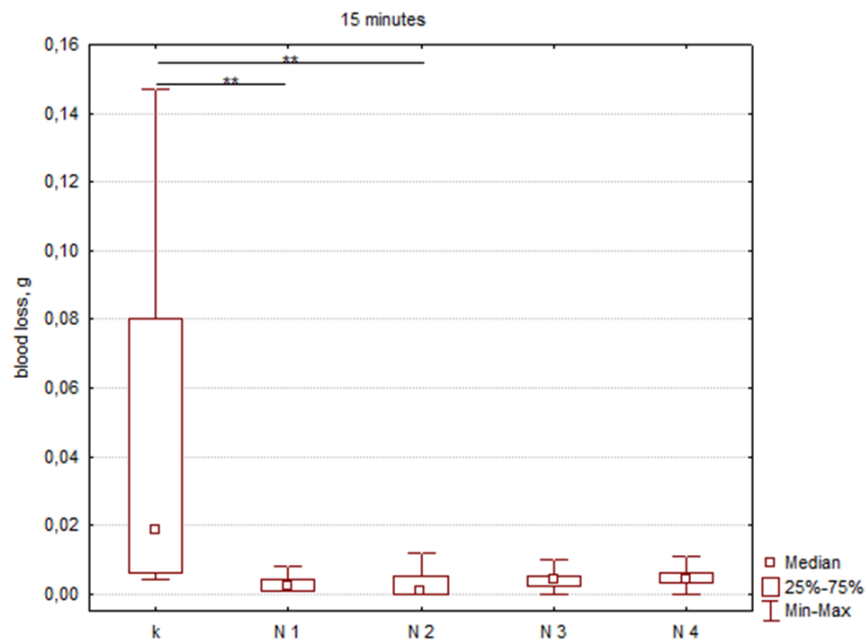
Вивчення гемостатичної активності одержаних порошків проводили за допомогою дослідження їх впливу на інтенсивність паренхіматозної кровотечі щурів. Гемостатичні агенти - це матеріали, які швидко зупиняють кровотечу, посилюючи один або кілька гемостатичних механізмів. Ці механізми включають концентрацію і пряму активацію факторів згортання через прокоагулянти або взаємодію з еритроцитами і тромбоцитами [82]. Усі досліджувані нами новостворені матеріали показали високу ефективність у зупинці печінкової кровотечі: маса втраченої за 15 хв досліду крові зменшилася на 72,3% -76,6% (рис.10). Потрібно було лише 3 хв часу для індукції максимальної коагуляції, що досягла 65,6% - 69,3%. На нашу думку, такий ефект може бути результатом високих водопоглинальних

властивостей альгінату натрію, підсилених адсорбційними якостями кремнезему А-300. Останній має від'ємний поверхневий заряд, що сприяє адсорбції з подальшою активацією білків плазми, які беруть участь в реакціях коагуляції крові. Місцева швидка адсорбція рідких компонентів крові сприяє її згущенню і зменшенню кровотечі. В контрольній групі за 15 хв експерименту маса втраченої крові дорівнювала  $0,47 \pm 0,1$  г. На відміну від контрольних показників, у групах II, III, IV та V (композити нанодисперсного кремнезему з НЧ Ag, йонами  $Ag^+$ , НЧ Ag/Cu та йонами  $Ag^+/Cu^{2+}$ ) крововтрата за той самий відрізок часу становила  $0,11 \pm 0,01$  г ( $p < 0,01$ ),  $0,13 \pm 0,02$  г ( $p < 0,01$ ),  $0,13 \pm 0,02$  г ( $p < 0,01$ ) і  $0,11 \pm 0,01$  г ( $p < 0,01$ ) відповідно. Тобто, порівняно з показниками контрольної групи, втрата крові за дослід у групах II, III, IV та V вірогідно зменшилася на 76,6%, 72,3%, 72,3% та 76,6% відповідно. Вірогідної ж різниці між показниками дослідних груп виявлено не було (рис. 11). Дослідження динаміки крововтрат показало, що за перші 3 хв кровотечі маса крові під впливом зразка А-300+Альгінат Натрію + AgNp порошок зменшилася на 68,3%,  $p < 0,01$  ( $0,060 \pm 0,010$  г), зразків А-300+Альгінат Натрію + Ag/Cu ions порошок та А-300+Альгінат Натрію + Ag/Cu Np порошок – на 65,6%,  $p < 0,05$  ( $0,065 \pm 0,010$  г) і 69,3%,  $p < 0,05$  ( $0,058 \pm 0,008$  г) відповідно щодо контрольних значень ( $0,189 \pm 0,038$  г).

а



б



**Рис. 11.** Ефект різних дослідних зразків з гемостатичною дією на кровотрату у відрізки часу 1-3 хв (А) та 12-15 хв (Б) експерименту з печінковою кровотечею у щурів. \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$  щодо контрольних значень.

Проведені дослідження гемостатичної (коагуляційної) активності свідчать про те що одержані порошки мають гемостатичну активність яка не за-

лежить від кількості срібла або міді у зразку, а визначається лише співвідношенням А300/АН. Таким чином введення НЧ металів не змінює гемостазу в композитах А300+АН, проте надає їм бактерицидних властивостей.

## ВИСНОВКИ

1. Композит на основі альгінату натрію, нанорозмірного оксиду кремнію марки А300 та наночастинок срібла і біметалічних наночастинок срібла і міді є ефективним гемостатиком з бактерицидною дією. Альгінат Na проявляє відновлюючу і стабілізуючу дію на наночастинки, а кремнезем запобігає агломерації НЧ срібла в одержаному композиті і має водопоглинальні властивості.
2. Композит на основі альгінату натрію, модифікований БМНЧ і йонамисрібла і міді має складний фазовий склад, поруч з наночастинками металів формується фаза долерофаніту. Нанорозмірне срібло утворюється незалежно від того готові НЧ чи йони введено до складу зразку, але НЧ міді присутні лише й випадку введення готових НЧ.
3. Кількість вивільнених (де сорбованих у воду) йонів срібла у зразків, в які вводили йони срібла та його наночастинки, незначно відрізняється, але впливає на наявність бактерицидних властивостей композита. Для композитів з вмістом біметалічної композиції у вигляді НЧ і йонів кількість десорбованого срібла менша (в 9 разів) в порівнянні з аналогічними зразками з вмістом моно-НЧ срібла впливає на бактерицидну активність композитів. Біоцидну активність проявляють зразки з вмістом срібла від 2,3% мас.
4. При контакті з кров'ю усі досліджувані зразки викликали максимальну коагуляцію крові впродовж 3-хвилинного відрізка часу. Це дослідження демонструє можливість включення декількох механізмів дії в гемостатичному агенті. Використання природних полімерів, таких як альгінат натрію, пред-

ставляє собою рентабельний підхід до виробництва біологічно сумісного гідрогелю, який може бути легко завантажений антимікробними наночастинками з лікувальними властивостями. Порівняно із синтетичними, натуральні полімерами є більш дешевими та екологічно безпечними.

## **Список використаної літератури**

- 1) Теория и практика местного лечения гнойных ран / Е.П. Безуглая, С.Г. Белов, В.Г. Гунько и др./ Под ред. Б.М. Даценко. – Киев: Здоров'я, 1995. –384 с.
- 2) Zou P (2016) Relational Practice in Nursing: A Case Analysis. // *Nursing and Health Care* 102: 9-13.
- 3) Дорошенко А.І., Зайченко Г.В. Дослідження протимікробної дії композиту нанодисперсного кремнезему та полігексаметиленгуанідину гідрохлориду.
- 4) Aliev, G. Silver nanoparticles as alternate strategies for drug delivery to Alzheimer brain. / G. Aliev, J. Daza, A. Lipsitt // *Alzheimers Dement.* – 2009. –V. 5. P. 324.
- 5) Tackling Drug-resistant Infections Globally: Final report and Recommendations. The review on Antimicrobial Resistance. Chaired by J. O'Neill. May 2016.
- 6) Усман М., Зовалаты М., Шамели К. и др. Синтез, характеристика, и антимикробные свойства наночастиц меди. (2013) *Int J Nanomed* 8: 4467-4479.
- 7) Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Дорошенко А. І., Риженко І. М., Клименко О. В. перспективи розробки іноваційного нанокompозиту з сорбційними та протимікробними властивостями // *вісник проблем біології і медицини* – 2019 – вип. 1, том 1 (148) с. 37-40.
- 8) В.Погребенник, В. Яковлева . Синтез наночастинок срібла за допомогою екстрактів рослин.
- 9) Stark, W. J. Aerosol flame reactors for manufacture of nanoparticles / W. J. Stark, S. E. Pratsinis // *Powder Technol.* – 2002. – Vol. 126. – P. 103–108.

- 10) Synthesis of Cu nanoparticles prepared by using thermal decomposition of Cu-oleate complex / Y. H. Kim [et al.] // *Mol. Cryst. Liquid Cryst.* – 2006. – Vol. 445. – P. 231–238.
- 11) Chen, S. Alkanethiolate-protected copper nanoparticles: spectroscopy, electrochemistry, and solid-state morphological evolution / S. Chen, L.. Sommers // *J. Phys. Chem. B.* – 2001. – Vol. 105. – P. 8816–8820.
- 12) Глосарій термінів з хімії // Й. Опейда, О. Швайка. Ін-т фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Донецький національний університет. — Донецьк: Вебер, 2008. — 758 с.
- 13) Борен К. Поглощение и рассеяние света малыми частицами / К. Борен, Д. Хафмен. М.: Мир, 1986. 660 с.
- 14) Zamkovets A.D. Optical Properties of Thin-Film Metal-Dielectric Nanocomposites / A.D. Zamkovets, S.M. Kachan, A.N. Ponyavina // *Physics and Chemistry of Solid State.* 2003. Vol. 4, № 4. P. 628-632.
- 15) M. I. Melnyk, I. V. Ivanova, D. O. Dryn, Yu. I. Prylutskyu, V. V. Hurmach, M. Platonov, L. T. Al. Kury, U. Ritter, A. I. Soloviev, and A. V. Zholos, *Nanomed.: NBM*, 19: 1 (2019).
- 16) U. Ritter, Yu. I. Prylutskyu, M. P. Evstigneev, N. A. Davidenko, V. V. Cherepanov, A. I. Senenko, O. A. Marchenko, and A. G. Naumovets, *Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct.*, 23, No. 6: 530 (2015).
- 17) Є. П. Воронін, І. С. Чекман, А. В. Руденко, Л. В. Носач, Л. М. Властивості нанорозмірного кремнезему як медичного сорбенту // *Інтегративна Антропологія* № 1 (29) 2017 С.44-48.
- 18) Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Дорошенко А. І., Риженко І. М., Клименко О. В. Перспективи розробки іноваційного нанокompозиту з сорбційними та протимікробними властивостями // *Вісник проблем біології і медицини* – 2019 – Вип. 1, том 1 (148) С. 37-40.

- 19) И.И.Геращенко Мембранотропные свойства наноразмерного кремнезема // Поверхность. 2009. Вып. 1 (16). С. 288 – 306.
- 20) И.И. Геращенко, Е.И. Штатко, О.И. Бондарчук, Н.А. Чуйко // Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния. – К.: Наук. думка, 2003. – С.168–179.
- 21) Айлер Р. Химия кремнезема. М: Мир 1982. Ч. 1, 2. 1127 с. Ligrinr О. A photochemical processes for water treatment / О. Legrinr, E. Oliveros, A. Braun // Chem. Rev. – 1993. V. 93. – P. 671 – 698.
- 22) Chen X. Nanosilver: A nanoparticle in medical application / X. Chen, H.J. Schluesener // Toxicol Lett. – 2008. – Vol. 176, №1. – P. 1–12  
Einaga H. Improvement of catalyst durability by deposition of Rh on TiO<sub>2</sub> in photooxidation of aromatic compounds / H. Einaga, T. Ieusuki, S. Futamura // Environ. Sci. technol. 2004. – V. 38. – P. 285 -289.
- 23) Хадарцев, А.А. Экспериментальное исследование антибактериальной активности наночастиц серебра на модели перитонита и менингоэнцефалита in vivo [Электронный ресурс] / А.А. Хадарцев, Т.И. Субботина, Е.И. Савин, Т.Е. Честнова, П.А. Хренов, Ю.П. Бузулуков, А.А. Анциферова // Вестник новых медицинских технологий. – 2014. – №. 1. – Режим доступа: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4793.pdf>.
- 24) Kim, J. S. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. / J. S. Kim, E. Kuk, K. N. Yu, J.-H. Kim, S. J. Park, H. J. Lee, S. H. Kim, Y. K. Park, Y. H. Park, Ch.-Y. Hwang, Y.-K. Kim, Y.-S. Lee, D. H. Jeong, M.-H. Cho // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine. – 2007. – V. 3. – P. 95.
- 25) Jones, S.A. Controlling wound bioburden with a novel silver-containing Hydrofiber dressing. / S.A. Jones, P.G. Bowler, M. Walker, D. Parsons // Wound Repair Regen. – 2004. – V. 12. – P. 228.

- 26) Hu, R.L. Inhibition effect of silver nanoparticles on herpes simplex virus 2 / R.L. Hu, S.R. Li, F.J. Kong, R.J. Hou, X.L. Guan, F. Guo // *Genetics and Molecular Research*. – 2014. –V. 13. – P. 7022.
- 27) Elechiguerra, J.L. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1 / J.L. Elechiguerra, J. Burt, J.R. Morones, A. Camacho-Bragado, X. Gao, H.H. Lara, M.J. Yacaman // *J. Nanobiotechnol.* – 2005. - V 3. – P. 6.
- 28) Galdiero, S. Silver Nanoparticles as Potential Antiviral Agents / S. Galdiero, A. Falanga, M. Vitiello, M. Cantisani, V. Marra, M. Galdiero // *Molecules*. – 2011. – V.16. – P. 8894.
- 29) Khandelwal, N. Application of silver nanoparticles in viral inhibition: a new hope for antivirals / N. Khandelwal, G. Kaur, N. Kumar, A. Tiwari // *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. – 2014. – V. 9. – N. 1. – P. 175.
- 30) Абаева, Л.Ф. Наночастицы и нанотехнологии в медицине сегодня и завтра / Л.Ф. Абаева, В.И. Шумский, Е.Н. Петрицкая, Д.А. Рогаткин, П.Н. Любченко // *Альманах клинической медицины*. – 2015. – № 22. – С. 10. 136 136 33. Poon, V.K. In vitro cytotoxicity of silver: implication for clinical wound care. / V.K. Poon, A. Burd // *Burns*. – 2004. – V. 30. –P. 140.
- 31) Arora, S. Cellular responses induced by silver nanoparticles: in vitro studies. / S. Arora, J. Jain, J.M. Rajwade, K.M. Paknikar // *Toxicol. Lett.* – 2008. – V. 179. – P. 93.
- 32) Kawata, K. In vitro toxicity of silver nanoparticles at noncytotoxic doses to HepG2 human hepatoma cells. / K. Kawata, M. Osawa, S. Okabe // *Environ Sci Technol*. 2009. – V. 43. –P. 6046.
- 33) Greulich, C. Studies on the biocompatibility and the interaction of silver nanoparticles with human mesenchymal stem cells (hMSCs) / C. Greulich, S. Kittler, M. Epple, G. Muhr, M. Koller // *Langenbecks Arch Surg*. – 2009. –V. 394. –P. 495.

- 34) Soto, K. Cytotoxic effects of aggregated nanomaterials / K. Soto, K.M. Garza, L.E. Murr // *Acta Biomater.* – 2007. –V. 3. –P. 351.
- 35) Carlson, C. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species / C. Carlson, S. Hussain, A. Schrand, L.K. Braydich-Stolle , K.L. Hess , R.L. Jones , J.J. Schlager // *J Phys Chem B.* – 2008. – V.112. – P. 13608.
- 36) Oberdorster, G. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. / G. Oberdorster, Z. Sharp, V. Atudorei, A. Elder , R. Gelein , W. Kreyling , C. Cox // *Inhal. Toxicol.* – 2004. – V. 16. – P. 437.
- 37) Elder, A. Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system. / A. Elder, R. Gelein, V. Silva, T. Feikert , L. Opanashuk , J. Carter , R. Potter , A. Maynard , Y. Ito ,J. Finkelstein , G. Oberdörster // *Environ Health Perspect.* – 2006. – V. 114. – P 1172.
- 38) Hussain, S.M. The interaction of manganese nanoparticles with PC-12 cells induces dopamine depletion. / S.M. Hussain, A.K. Javorina, A.M. Schrand, H.M. Duhart, S.F. Ali, J.J. Schlager // *Toxicol Sci.* – 2006. – V. 92. – P. 456.
- 39) Ahamed, M. DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells. / M. Ahamed, M. Karns, M. Goodson, J. Rowe, S.M. Hussain, J.J. Schlager, Y.L. Hong // *Toxicol Appl Pharmacol.* – 2008. – N. 233. – P. 404.
- 40) Shoults-Wilson, W.A. Effect of silver nanoparticle surface coating on bioaccumulation and reproductive toxicity in earthworms (*Eisenia fetida*) [Электронный ресурс] / W.A. ShoultsWilson, B.C. Reinsch, O.V. Tsyusko, P.M. Bertsch, G.V. Lowry, J.M. Unrine. // *Nanotoxicology.* 2010.
- 41) Braydich-Stolle, L. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. / L. Braydich-Stolle, S. Hussain, J.J. Schlager, M.C. Hofmann // *Toxicol, Sci.* – 2005. –V. 88. – P. 412.

- 42) Aliev, G. Silver nanoparticles as alternate strategies for drug delivery to Alzheimer brain. / G. Aliev, J. Daza, A. Lipsitt // *Alzheimers Dement.* – 2009. –V. 5. P. 324.
- 43) Francisco, J., et. al. "The role of propagating and localized surface plasmons for sers enhancement in periodic nanostructures." *Plasmonics* 7 (2012): 143-150.
- 44) Хлебцов, Н. Г. "Оптика и биофотоника наночастиц с плазмонным резонансом." *Квантовая электроника* 38.6 (2008): 504-529.
- 45) Карпов, С. В., и В. В. Слабко. Оптические и фотофизические свойства фрактально структурированных золей металлов. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2003. 265 с.
- 46) M. I. Melnyk, I. V. Ivanova, D. O. Dryn, Yu. I. Prylutskyu, V. V. Hurmach, M. Platonov, L. T. Al. Kury, U. Ritter, A. I. Soloviev, and A. V. Zholos, *Nanomed.: NBM*, 19: 1 (2019).
- 47) U. Ritter, Yu. I. Prylutskyu, M. P. Evstigneev, N. A. Davidenko, V. V. Cherepanov, A. I. Senenko, O. A. Marchenko, and A. G. Naumovets, *Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct.*, 23, No. 6: 530 (2015).
- 48) С.Карпов, Ж. Фотоника №2 /32/ 2012 karpov@iph.krasn.ru.
- 49) Braydich-Stolle, L. In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells. / L. Braydich-Stolle, S. Hussain, J.J. Schlager, M.C. Hofmann // *Toxicol, Sci.* – 2005. –V. 88. – P. 412.
- 50) Kreibig U., Vollmer M. *Optical Properties of Metal Clusters.* – Berlin: Springer-Verlag, 1995.
- 51) Нагаев Э.Л. – *УФН*, 1992, т. 162, № 9, с. 49.
- 52) Purcell E.M., Pennypacker C.R. – *Astrophys. J.*, 1973, v.186, № 2, с. 705.
- 53) Шалаев В.М., Штокман М.И. – *ЖЭТФ*, 1987, т.92, №2, с.509.
- 54) Markel V.A., Shalaev V.M., Stechel E.V. et al. –*Phys. Rev. B.*, 1996-1, v.53, №5, p.2425.

- 55) Маркель В.А., Муратов Л.С., Штокман М.И. – ЖЭТФ, 1990, т.92, с.81.
- 56) Карпов С.В., Исаев И.Л., Гаврилюк А.П. и др. – Коллоидный журнал, 2009, т.71, №3, с. 314.
- 57) Hodak J.H., Henglein A., Hartland G.V. Photophysics of nanometer sized metal particles: electron-phonon coupling and coherent excitation of breathing vibrational modes // J. Phys. Chem. – 2000. – V. 104. – P. 9954 – 9965.
- 58) Photochemical deposition of SERS active silver nanoparticles on silicagel and their application as catalysts for the reduction of aromatic nitro compounds / S. Kundu, M. Mandal, S.K. Ghosh, T. Pal. // J. Colloid Interface Sci. – 2004. – V. 272. – P. 134 – 144.
- 59) Prashant V. Kamat. Photophysical, photochemical and photocatalytic aspects of metal nanoparticles // J. Phys. Chem. B. – 2002. – V. 106. – P. 7729 – 7744.
- 60) Immunoassay using the probe-labeled Au/Ag core-shell nanoparticles based on surface-enhanced Raman scattering / X. Ji, Sh. Xu, L. Wang, M. Liu, K. Pan, H. Yuan, L. Ma, W. Xu, J. Li, Y. Bai, T. Li // Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. –2005. – V. 257, No 258. – P. 171 – 175.
- 61) Devarajan S., Vimalan B., Sampath S. Phase transfer of Au–Ag alloy nanoparticles from aqueous medium to an organic solvent: effect of aging of surfactant on the formation of Ag-rich alloy compositions // J. Colloid Interface Sci. – 2004. – V. 278. – P. 126 – 132.
- 62) Optical spectra and morphology of photochemically produced Ag/Au bimetallic clusters / H. Yashan, A. Eremenko, N. Smirnova, G. Krylova, W. Huang, C. Tabor // NATO Science for Peace and Security Series – C: Environmental Security. “Sol-Gel Methods for Materials Processing. Focusing on Materials for Pollution Control,

- Water Purification, and Soil Remediation”. / P. Innocenzi, Yu. Zub, V. Kessler (Eds.) – 2008. – P. 473 – 480.
- 63) Фотохимическое получение и характеристика биметаллических наночастиц на основе элементов I В группы / Г.Р. Яшан, Г.В. Крылова, Н.П. Смирнова, А.М. Еременко // Тезисы докладов Международного симпозиума “Нанофотоника”. – Ужгород, Україна, 28 сентября–03 октября, 2008. – С. 6.
- 64) Oyama, S. T. The Chemistry of Transition Metal Carbides and Nitrides. Blackie. (1996).
- 65) Michalsky, R., Zhang, Y. -J., Medford, A. J., Peterson, A. A. Departures from the Adsorption Energy Scaling Relations for Metal Carbide Catalysts. *J. Phys. Chem. C*. 118, (24), 13026-13034 (2014).
- 66) Спектральні характеристики біметалічних кластерів Ag/Au (ядро-оболонка та сплав), одержаних фотохімічним та хімічним шляхами / Г. Яшан, Ю. Муха, Г. Крилова, Н. Смирнова, А. Єременко // Всеукраїнська міжнародна конференція молодих вчених “Наноматеріали в хімії, біології та медицині”. Київ, Україна, 15-17 травня, 2007. – С. 137-138.
- 67) [https://www.youtube.com/watch?v=GNcnCRY\\_IUg&index=10&list=PLEomxS8ruj0\\_dNdXHo1aoMK1RIPvwIIV2](https://www.youtube.com/watch?v=GNcnCRY_IUg&index=10&list=PLEomxS8ruj0_dNdXHo1aoMK1RIPvwIIV2)
- 68) <https://www.youtube.com/watch?v=r1Shn308X04#t=196>
- 69) <http://ru.wikipedia.org/wiki/Хитозан>
- 70) <https://www.youtube.com/watch?v=LCSf5Asa8rc#t=42>
- 71) Antibacterial and antimycotic activity of cotton fabrics, impregnated with silver and binary silver/copper nanoparticles / A.M. Eremenko, I.S. Petrik, N.P. Smirnova, A.V. Rudenko, Y.S. Marikvas // *Nanoscale Research Letters* – 2016. - V.11. - P.28-37 DOI: 10.1186/s11671-016-1240-0.
- 72) Green synthesis of sodium alginate-silver nanoparticles and their antibacterial activity / Y. Shao, C. Wu, T. Wu, S. Chen, T. Ding, X. Ye,

- Y. Hu // International Journal of Biological Macromolecules - 2018. - V. 111. - P. 1281-1292
- 73) Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Sodium Alginate and Lignosulphonic Acid Blends / A. Thakur and G. Reddy // IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering – 2017. - V. 225. - P.012170 doi:10.1088/1757-899X/225/1/012170.
- 74) Ultrasound-assisted in the synthesis of silver nanoparticles using sodium alginate mediated by green method / M. Faried, K. Shamel, M. Miyake, Z. Zakaria, H. Hara, N. B. Ahmad Khayrudin, M. Etemadi // Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures — 2016. - V. 11, №. 2. - p. 547 — 552.
- 75) Silver Nanoparticles-Composing Alginate/Gelatine Hydrogel Improves Wound Healing In Vivo / F.R. Diniz, R.C.A. P. Maia, L.R. Andrade, L.N. Andrade, M.V. Chaud, C.F. da Silva, C.B. Correa, R.L.C. de Albuquerque Junior, L.P. da Costa, S.R. Shin, S. Hassan, E. Sanchez-Lopez, E.B. Souto and P. Severino // Nanomaterials — 2020. -V.10. - P. 390.
- 76) Карпов С. Оптические эффекты в металлических нанокolloидах / Карпов С. // Фотоника. -2012. – Т.32, №2. – С.40-51.
- 77) Sodium alginate stabilized silver nanoparticles–silica nanohybrid and their antibacterial Characteristics / S. Pandey, J. Ramontja // International Journal of Biological Macromolecules <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.033>.
- 78) Surface / Y. Long, L. Hu, X. Yan, X. Zhao, Q. Zhou, Yong Cai and G. Jiang // Int J Nanomedicine. - 2017. - V.12. - P. 3193–3206. doi: 10.2147/IJN.S132327 PMID: PMC5402892 PMID: 28458540.
- 79) Generation of Metal Nanoparticles from Silver and Copper Objects: Nanoparticle Dynamics on Surfaces and Potential Sources of Nanoparticles in the Environment / R. Glover , J. Miller and J. Hutchison //ACS Nano — 2011. -V. 5, № 11. - P. 8950–8957.

- 80) Synthesis and stabilization of Cu nanoparticles in aqueous solutions and their bactericidal activity / I.S. Petrik, A.M. Eremenko, N.P. Smirnova, G.I. Korchak, A.I. Mikhiyenko // Хімія, фізика та технологія поверхні. - 2014. - V. 5, № 1. - С. 74-81.
- 81) Peculiarities of copper and silver nanoparticles stabilization by cysteine in aqueous colloidal systems / I.S. Petrik, A.M. Eremenko, N.P. Smirnova, A.I. Marinin, V.V. Olishevsky // Хімія, фізика та технологія поверхні. - 2015. - V. 6, № 3. - С. 364-371.
- 82) Behrens AM, Sikorski MJ, Kofinas P. Hemostatic strategies for traumatic and surgical bleeding. J Biomed Mater Res A. 2014;102:4182–4194.