

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



Шашков Денис Игоревич

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА  
ФОРМИРОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ПОВЕРХНОСТИ  
БИОРАЗЛАГАЕМЫХ МАТЕРИАЛОВ

Специальность 1.3.8 – Физика конденсированного состояния

ДИССЕРТАЦИЯ  
на соискание ученой степени  
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель  
доктор физико-математических наук,  
доцент С.С. Джимаков

Краснодар – 2023

## Содержание

Содержание.....	2
Введение.....	3
Глава 1 АНАЛИЗ СОВРЕМЕННОГО СОСТОЯНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ СИНТЕЗА И ПРИМЕНЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА .....	10
1.1 Анализ современного состояния исследований в области функциональных наноматериалов. ....	10
1.2 Методы синтеза наночастиц серебра. ....	16
1.3 Взаимодействие НЧ с .....	18
1.4 Заключение к главе 1 .....	20
Глава 2 ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ СИНТЕЗА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА МЕТОДОМ КАВИТАЦИОННО-ДИФфуЗИОННОГО ФОТОХИМИЧЕСКОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ.....	21
2.1 Разработка и создание модели для прогнозирования времени синтеза наночастиц серебра заданного размера в зависимости от интенсивности внешнего физического воздействия. ....	21
2.2 Результаты физико-математического моделирования при изменении интенсивности потока ультрафиолетового излучения. ....	25
2.4 Заключение к главе 2. ....	34
Глава 3 ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ПОВЕРХНОСТИ ОРГАНИЧЕСКИХ И НЕОРГАНИЧЕСКИХ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ВОЛОКОН. ....	35
3.1 Сорбционная активность наночастиц серебра в зависимости от их размеров и свойств поверхности материала.....	35
3.2 Оценка выраженности сорбционной активности наночастиц серебра на биоразлагаемых волокнах естественного и искусственного происхождения.....	48
3.3 Оценка выраженности сорбционной активности наночастиц серебра при циклическом изменении температуры на биоразлагаемых волокнах естественного и искусственного происхождения. ....	57
3.4 Заключение к главе 3. ....	77
Глава 4 ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕРИАЛОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА .....	79
4.1 Исследование влияния материала с наночастицами серебра на антибактериальную активность на примере бактерий <i>Escherichia coli</i> .....	79
4.2 Исследование влияния на процессы ранозаживления материалов с наночастицами серебра на поверхности. ....	90
4.3 Заключение к главе 4. ....	101
Основные результаты и выводы диссертационного исследования .....	104
Список цитируемой литературы.....	106

## Введение

В настоящее время важным направлением использования наночастиц серебра (AgНЧ) является их введение непосредственно в структуру поверхности биоразлагаемых материалов. Это связано с разработкой новых высокотехнологичных методов переработки искусственных и природных полимеров. В ряде случаев обработанные таким образом материалы проявили сильную антибактериальную активность в отношении патогенных грамотрицательных и грамположительных бактерий [1, 2].

Следует учитывать, что свойства наночастиц зависят от условий их синтеза, физико-химического состояния восстановителей и стабилизаторов. В результате синтезированные наночастицы серебра могут существенно различаться по размеру, седиментационной и агрегативной устойчивости и, как следствие, по антимикробной активности.

В ряде работ изучен процесс сорбции AgНЧ на поверхности биоразлагаемых материалов различного происхождения, который продемонстрировал существенные различия в сорбционной активности наночастиц в зависимости от структуры отдельных волокон. Повышенные антимикробные и цитотоксические свойства AgНЧ наблюдаются для более мелких наночастиц диаметром около 10 нм и менее (по сравнению с той же концентрацией AgНЧ с большим средним размером). Поскольку AgНЧ имеют большую суммарную площадь поверхности, ионы серебра ( $\text{Ag}^+$ ) могут быстрее высвободиться из них, и поэтому их концентрация в ране обычно выше. Мелкие AgНЧ обладают большей химической активностью и обеспечивают бактериостатический эффект. Проведены отдельные эксперименты, которые определяют, что скорость взаимодействия наночастиц серебра с органическими и неорганическими сильно зависит от их формы.

Перспективным направлением дальнейших исследований в этой области является создание методов, направленных на увеличение количества AgНЧ малого диаметра (от 1 нм до 10 нм [1]) на поверхности биоразлагаемых материалов после дополнительной обработки волокон сорбированными

наночастицами под действием физических факторов (воздействие температуры ниже 273 К и ультрафиолетового излучения). Согласно недавним исследованиям, циклическая заморозка может способствовать дополнительному образованию наночастиц серебра [3]. На основании этого необходимо провести комплекс исследований по влиянию циклического воздействия температуры и интенсивности потока ультрафиолетового излучения на процессы модификации сорбированных наночастиц и их динамическое равновесие на поверхности как синтетических, так и органических биоразлагаемых материалов.

**Цель диссертационной работы:** на основе экспериментальных и теоретических исследований установить влияние физических факторов (циклического воздействия температур в диапазоне от 295 К до 233 К, воздействия ультрафиолетового излучения в диапазоне (280...400) нм) на формирование и адсорбцию наночастиц серебра на поверхности органических и неорганических биоразлагаемых материалов.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи:**

1. Исследовать сорбционную активность наночастиц серебра на органических (волокна коллагена и шёлка) и неорганических (волокна гомополимера гликолевой кислоты, полипропилена, полиэфира этиленгликоля и терефталевой кислоты, полиамида и полиэфирные волокна с покрытием из фторполимеров) биоразлагаемых материалах.

2. Изучить влияние циклической заморозки при формировании однородных по размеру наноструктур, содержащих серебро, на поверхности органических и неорганических биоразлагаемых материалов.

3. Разработать и исследовать физико-математическую модель синтеза наночастиц серебра при воздействии ультрафиолетового излучения.

4. Рассмотреть влияние физических факторов (циклического воздействия температур в диапазоне от 295 К до 233 К, воздействие ультрафиолетового излучения в диапазоне (280...400) нм) на скорость

формирования и размеры наночастиц серебра с помощью построенной физико-математической модели.

5. Установить влияние синтезированных наночастиц серебра с учетом воздействия физических факторов (циклического воздействия температур, а также ультрафиолетового излучения) на функциональную активность гетерогенных систем.

**Научная новизна** диссертационной работы определяется основными результатами, приведенными ниже:

1. Разработана новая физико-математическая модель синтеза наночастиц серебра, учитывающая параметры компонент. С ее помощью продемонстрирована возможность выбора оптимальных параметров физических факторов, воздействующих на процесс синтеза (интенсивность потока ультрафиолетового излучения и концентрация исходных реагентов).

2. Впервые исследована сорбционная активность наночастиц серебра на органических и неорганических биоразлагаемых материалах. Было установлено, что циклическое воздействие температуры (в диапазоне от 295К до 233К) приводит к снижению размеров наночастиц на поверхности неорганических материалов (до 10 нм) и на поверхности органических материалов (до 5 нм). Механизмами реализации наблюдаемых эффектов являются: образование дополнительных межмолекулярных водородных связей и ван-дер-ваальсового взаимодействия, электростатического взаимодействия и различным поверхностным зарядом выбранных полимеров, ускорение окислительно-восстановительных реакций с участием ионов серебра, и образование на поверхности неорганических материалов карбонильных групп и кислорода сложноэфирных групп, способных взаимодействовать с AgНЧ.

3. Впервые установлено, что количество наночастиц малого размера (1...10) нм, адсорбирующихся на поверхности органических биоразлагаемых материалов ( $6,6 \pm 0,33$  частиц на  $\text{мкм}^2$ ) на 41 % больше, чем на поверхности неорганических биоразлагаемых материалов ( $3,9 \pm 0,2$  частиц на  $\text{мкм}^2$ ).

## **Практическая значимость работы**

Процесс формирования наночастиц серебра напрямую зависит как от исходной концентрации реагентов используемых при синтезе ( $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH}$ ), так и от интенсивности потока ультрафиолетового излучения в процессе синтеза. Также установлено, что на поверхности органических материалов сорбируется большее (на 41%) количество  $\text{AgНЧ}$  малого размера, чем на поверхности неорганических материалов. Дополнительное воздействие в виде многократной заморозки образцов позволяет значительно усилить этот процесс. Полученные материалы, содержащие  $\text{AgНЧ}$  на поверхности, оказывают воздействие на функциональную активность гетерогенных систем (в частности на грамотрицательные бактерии *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *E. coli*).

## **Положения, выносимые на защиту:**

1. Установлено, что количество наночастиц малого размера (1-10 нм), адсорбирующихся на поверхности органических материалов ( $6,6 \pm 0,33$  частиц на  $\text{мкм}^2$ ) больше на 41%, чем на поверхности неорганических материалов ( $3,9 \pm 0,2$  частиц на  $\text{мкм}^2$ ).

2. Установлено, что десятикратное циклическое воздействие температуры (в диапазоне от 295 К до 233 К) приводит к снижению размеров наночастиц, адсорбирующихся на поверхности биоразлагаемых неорганических материалов (увеличение числа частиц до 10 нм с  $5,5 \pm 0,28$  частиц на  $\text{мкм}^2$  до  $52,8 \pm 2,64$  частиц на  $\text{мкм}^2$ ) и на поверхности органических материалов (увеличение числа частиц до 10 нм с  $2,5 \pm 0,13$  частиц на  $\text{мкм}^2$  до  $57,5 \pm 2,88$  частиц на  $\text{мкм}^2$ ) за счет образования дополнительных межмолекулярных водородных связей и ван-дер-ваальсового взаимодействия, электростатического взаимодействия и различным поверхностным зарядом выбранных полимеров, ускорения окислительно-восстановительной реакции с участием ионов серебра, и наличием в составе карбонильных групп и кислорода сложноэфирной группы, способных взаимодействовать с  $\text{AgНЧ}$ .

3. Разработана физико-математическая модель синтеза наночастиц серебра, которая позволяет рассчитывать влияние интенсивности потока ультрафиолетового излучения на скорость синтеза наночастиц. Установлено, что при уменьшении интенсивности потока ультрафиолетового излучения с 5850 люкс до 548,43 (в 4 раза) люкс размер наночастиц не изменяется, при этом увеличивается общая длительность синтеза наночастиц серебра на 21 минуту, в связи с уменьшением числа восстанавливаемых атомов серебра.

4. С помощью физико-математической модели были выполнены расчеты процесса синтеза наночастиц при изменении интенсивности потока ультрафиолетового излучения (от 5850 люкс до 1460 люкс) и исходной концентрации аммиачного комплекса серебра ( $0,0589 \text{ м}^{-3}$ ;  $0,589 \text{ м}^{-3}$ ;  $5,89 \text{ м}^{-3}$ ;  $58,9 \text{ м}^{-3}$  и  $589 \text{ м}^{-3}$ ). Установлено, что при увеличении исходной концентрации аммиачного комплекса скорости образования димеров серебра повышается в 1,52 раза, изменение среднего размера наночастиц (до 80% частиц размером 40 нм), а также к слипанию мелких наночастиц в крупные агломераты. При уменьшении концентрации снижается средний размер наночастиц (до 50% наночастиц размером 5 нм), при этом возрастает время синтеза (до 66,7 часов).

5. Установлено увеличение на 41,6% эффекта воздействия синтезированных наночастиц серебра на функциональную активность гетерогенных систем (*P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *E. coli*) на волокнах из кетгута с адсорбированными наночастицами серебра по сравнению с раствором нитрата серебра.

#### **Личный вклад автора**

Вклад автора в постановку цели и задач исследования, интерпретацию результатов, является определяющим. Автором проведены эксперименты по синтезу наночастиц серебра в различных условиях (циклическое изменение температуры и воздействие ультрафиолетового излучения различной интенсивности светового потока); исследованы процессы сорбции и десорбции наночастиц серебра на поверхности биоразлагаемых неорганических и

органических материалов; разработана физико-математическая модель синтеза наночастиц серебра, учитывающая параметры компонент.

### **Степень достоверности**

Эксперименты проведены на поверенном оборудовании. Использованы стандартные методики исследований. Решение уравнений физико-математической модели произведено на основе стандартных численных методов, в частности методом Рунге-Кутты первого порядка. Для вычислений использовалась программа, разработанная авторским коллективом (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023664915). Электронную микроскопию синтезированных образцов AgНЧ выполняли на растровом электронном микроскопе JEOL JSM-7500F в режиме детектирования обратно отраженных и вторичных электронов.

### **Апробация работы**

Основные результаты диссертации были доложены автором на следующих конференциях и семинарах:

I Всероссийская конференция с международным участием «Физика и экология электромагнитных излучений» (Агой, 2017), Современные проблемы физики, биофизики и инфокоммуникационных технологий (Краснодар, 2020), Двадцать седьмая Всероссийская научная конференция студентов-физиков и молодых ученых ВНКСФ-27 (Екатеринбург, 2023), Фундаментальные исследования, инновационные технологии и передовые разработки в интересах долгосрочного развития Юга России (Ростов-на-Дону, 2023), Всероссийская научно-практическая конференция «Математические методы и модели в решении прикладных задач» (Краснодар, 2023), XXVIII международная конференция «Оптика и спектроскопия конденсированных сред» (Краснодар, 2023).

### **Публикации**



Результаты диссертационного исследования опубликованы в 12 научных изданиях, в том числе: в 7 статьях в рецензируемых российских и международных научных изданиях из списка ВАК и наукометрических библиографических баз Scopus и Web of Science.

### **Структура диссертации**

Диссертация содержит введение, четыре главы, заключение, список цитированной литературы. Содержание диссертации изложено на 137 страницах, включая 37 рисунков. Список цитируемой литературы представлен 318 источниками.

# Глава 1 АНАЛИЗ СОВРЕМЕННОГО СОСТОЯНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ СИНТЕЗА И ПРИМЕНЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

## 1.1 Анализ современного состояния исследований в области функциональных наноматериалов.

В последнее время наблюдается стремительное развитие областей науки связанных с наночастицами (НЧ). Достижения в этой области привлекает широкое внимание не только своими достижениями, но и возможными перспективами [4-6]. Одна из важных проблем современной медицины увеличение резистентности штаммов бактерий к воздействию на них антибиотиков, пестицидов и схожих с ними соединений. Поиск препаратов, способных контролировать резистентные штаммы становится важной задачей современной науки. Кроме того, существует немаловажный фактор транспорта лекарственного препарата внутрь клетки, многие антибиотики гидрофильны, что препятствует их проникновению сквозь клеточную мембрану, снижая их эффективность. Наночастицы серебра (AgНЧ) предоставляют возможность решить данные проблемы, они позволяют увеличить проницаемость и уменьшить вывод активного вещества из клетки повышая его воздействие на патоген. Объединение антибиотика с AgНЧ, проникновение в клетку и последующий распад позволяют бороться с внутриклеточной инфекцией. AgНЧ позволяют доставить препарат напрямую в очаг инфекции, снижая необходимую концентрацию и как следствие побочные эффекты. Подобный подход весьма эффективен для лечения туберкулёза. Разнообразие форм препаратов с наночастицами (биоразлагаемые полимерные наночастицы, полимерные мицеллы, нанокапсулы, наногели, фуллерены, углеродные нанотрубки, твердые липидные наночастицы, нанолипосомы, дендримеры, металлические наночастицы и квантовые точки) позволяет выбрать специфический метод для лечения конкретного заболевания. Само строение клетки и процессы происходящие в ней усиливают действие НЧ [7]. Наиболее известные НЧ обладающие антимикробной активностью являются металлами или

оксидами металлов, таких как серебро, золото, медь, титан, цинк и т. д. [8]. В ряде исследований была показана их эффективность в борьбе с патогенной микрофлорой [9].

НЧ металлов проявляют свои противомикробные свойства за счет образования активных форм кислорода (АФК), их физической структуры и высвобождения ионов металлов. Органические НЧ оказывают своё воздействие за счет контактного уничтожения через их катионные поверхности [10] или путем выпуска антибиотиков и других противомикробных агентов.

Свойства НЧ металлов можно применять как непосредственно так и в сочетании с другими материалами, такие как антибиотики, это позволяет повысить их совместимость и улучшить антимикробный эффект. Подобными свойствами обладают такие наночастицы как серебро, золото [11], диоксид кремния и т. д. Например НЧ золота обладают способностью проникать в клеточную стенку бактерий, что позволяет увеличить проницаемость клеточной мембраны для препарата. [12-15].

Ионы серебра ( $\text{Ag}^+$ ) также активно борются с бактериями в достаточной концентрации. Например, они способны препятствовать проникновению вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) в клетку-хозяина [16-20].

Считается, что несколько факторов влияют на антимикробные свойства  $\text{AgНЧ}$ , включая размер, условия окружающей среды (рН, ионная сила и т. д.) и покрывающий агент (стабилизатор НЧ).  $\text{AgНЧ}$  имеют огромную площадь поверхности и большую долю поверхностных атомов, доступных для воздействия микробов. Известно, что наноразмерные частицы оксида цинка действуют как антибактериальный агент в микро- и наноразмерных составах из-за увеличенной удельной площади поверхности с уменьшенным размером частиц, способствующий антимикробной активности [21].

Показано, что биологическая активность НЧ проявляется за счет электростатических взаимодействий между НЧ и клеточной мембраной бактерий [22], и это свойство усиливается при изменении заряда НЧ [23]. Бактериальная

клеточная мембрана защищает бактерию от внешних воздействий и позволяет бактерии сохранять размер и форму [24]. Следовательно клеточная мембрана играет важную роль в эффективности воздействия НЧ. НЧ золота конъюгированные с ванкомицином эффективно подавляют ванкомицинрезистентные энтерококки (VRE) и штаммы *E. coli* [25].

Клетки вступающие в контакт с AgНЧ/ZnНЧ, поглощают их ионы, подавляющие ряд жизненно важных функций бактерий. Например, вследствие подавления дыхательных ферментов, активизируется генерация активных форм кислорода (АФК) [26], что и приводит к гибели клеток. [27-29].

НЧ обладают свойством накапливаться на поверхности мембраны, что приводит к её повреждению и разрыву. Также НЧ влияют на сигнальную систему бактерии, это связано с изменением НЧ фосфотирозиновых мотивов бактериальных пептидов [30,31].

AgНЧ лучше воздействуют на грамотрицательные бактерии, по сравнению с грамположительными. Это связано с более тонким слоем пептидогликана у грамотрицательных бактерий, чем у грамположительных. В результате чего отрицательно заряженная мембрана легко захватывает ионы AgНЧ [32].

НЧ способны продуцировать N<sub>2</sub>O, способны подавлять устойчивые к антибиотикам [33], и чувствительные к антибиотикам бактерии: *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *S. pyogenes*, *E. coli* и *P. aeruginosa* [34]. Производя активные формы азота (АФА), а не АФК, они изменяют структуру клеточной стенки и бактериальные белки [35].

НЧ металлов эффективны в борьбе с образованием биопленок различных видов бактерий [36-38] эффективно уничтожают такие резистентные бактерии как золотистый стафилококк (MRSA) [39] при кожных инфекциях [40].

TiO<sub>2</sub>НЧ, вызывающие окислительный стресс патогена, продуцируя АФК, вызывая сайт-специфическое повреждение ДНК, сами по себе не взаимодействуют с клеткой [41]. TiO<sub>2</sub>НЧ, является полупроводником и при

облучении УФ создаёт разность потенциалов в следствии фотоэффекта. Приводит к повышению концентрации АФК и разрушению клеточной стенки [42].

Эти свойства наночастиц  $TiO_2$  делают их подходящим кандидатом для антимикробного применения, помимо других неорганических НЧ, таких как Ag, ZnO, CuO,  $TiO_2$  и т. д., AuНЧ не вызывают никакой антимикробной активности, связанной с АФК [43, 44].

Исследования показали, что антимикробная активность AuНЧ обусловлена либо присоединением НЧ к мембране бактериальной клетки с последующей модификацией мембранного потенциала и снижением уровня АТФ, либо ингибированием связывания тРНК с рибосомой [45].

Бактериальная клеточная стенка также играет решающую роль в диффузии НЧ внутри матрицы биопленки [46], поскольку точная концентрация НЧ, таких как серебро, может значительно уменьшить образование биопленки. Nano- $MgF_2$ , обладающий антимикробной активностью, также предотвращает образование биопленок в случае *S. aureus* и *E. coli* [47].

Установлено также, что магнитные наночастицы (МНЧ) в значительной степени проникают в биопленки с помощью внешних магнитных полей [48]. Также предполагается, что функционализация [49] или полимерное легирование [50] на поверхности неорганических НЧ может усилить антимикробную активность этих НЧ. Основные группы антибиотиков влияют на синтез клеточной стенки бактерий, трансляцию и репликацию ДНК [51].

Так как основа взаимодействия НЧ с клеткой заключается в воздействии на клеточную мембрану, сама клетка практически не взаимодействует с НЧ и её резистентность не развивается. Это позволяет использовать НЧ как основу для лечения патогенов с высокой резистентностью к определенным лекарственным препаратам.

Серебро, как противомикробный агент известно еще с древних времен [52], его противомикробные свойства применялись ещё до открытия самих бактерий. На стыке 19-20 вв. было проведено множество исследований по воздействию серебра и его производных (нитрат серебра, сульфадиазин серебра,

цеолит серебра, серебряный порошок, оксид серебра, хлорид серебра) на различные бактерии и вирусы [52]. Современная наука позволила увеличить эффективность этого воздействия, за счет снижения размера частиц используемого серебра до наноразмера. Существуют различные способы получения таких частиц [53], они показывают высокую эффективность как против бактерий, так и против вирусов и даже грибов [54]. Переход к наноразмеру привел к увеличению относительной площади наночастиц и, как следствие, к увеличению химической активности самого серебра [56-58]. Большая площадь поверхности НЧ увеличивает вероятность взаимодействия с патогеном, а малый размер позволяет обеспечить транспорт в любую часть организма [59]. Активность НЧ напрямую зависит от их размера [60], для НЧ, размер которых находится в диапазоне 10-100 нм, показана высокая противомикробная активность [61]. Ряд исследований на таких бактериях как: *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Listeria*, *Staphylococcus* и *Streptococcus* подтвердили эффективность НЧ [62, 63]. Эксперименты над патогенами резистентными к антибиотикам (*Pseudomonas aeruginosa*, ампициллин-резистентные *Escherichia coli*, эритромицин-резистентные *Streptococcus pyogenes*, метициллин-резистентные *Staphylococcus aureus* и ванкомицин-резистентные *Staphylococcus aureus*) показали, что НЧ эффективны и против них [60]. Наночастицы серебра называют новым поколением противомикробных препаратов [64]. AgНЧ нашли широкое применение в медицине, хотя механизмы воздействия таких частиц все еще изучаются [65, 66, 67].

Эксперименты показали, что AgНЧ также производят АФК и вызывают окислительный стресс клетки [68]. Показано воздействие AgНЧ на тиоловые группы жизненно важных ферментов и фосфорсодержащих основ клетки [69], что приводит к нарушению процесса репликации и дальнейшей гибели клетки [70]. AgНЧ влияют на клеточную сигнализацию и подавляют рост клетки [71]. Ионы серебра возникающие в процессе взаимодействия также оказывают негативный эффект на клетку [72]. Высвобождение отдельных атомов серебра из

самой наночастицы позволяет им проникать непосредственно в клетку. [73]. Сопутствующие повреждения клеточной стенки, еще более усугубляют этот процесс [70]. Особенностью AgНЧ является способность высвобождать не только ионы  $Ag^+$ , но и атомарное серебро  $Ag^0$  [74].

Таким образом основными способами воздействия на клетку AgНЧ: воздействие на дыхательную цепь митохондрий бактерий [77], разрушение бактериальной клеточной мембраны [75], подавление процесса репликации ДНК [76], высвобождение в клетке ионов  $Ag^+$  и продуцирование АФК [77], за счет малого размера и большой относительной площади поверхности способны легко приклепляться к клетке [78], а также проникать внутрь [74].

Как следствие AgНЧ способны препятствовать образованию биопленок бактерий [79] и подавлять уже сформированные [80]. Кроме антимикробных AgНЧ обладают и противовоспалительными свойствами [81], подавлять фактор некроза клеток [82] и способствовать заживлению ожоговых ран [83]. AgНЧ хорошо сочетаются с различными антибиотиками [84] усиливая их воздействие на патоген [85, 64].

Применение наночастиц серебра позволит изменить медицину в ближайшем будущем [86]. Однако серебро не только противомикробный препарат, но и важный элемент жизни организма [87], различная концентрация серебра может как стимулировать различные процессы, так и подавлять их. Есть данные, что серебро является иммуномодулятором [88].

В ряде исследований показана более высокая эффективность AgНЧ [89, 90] чем многие антибиотики, при этом не вырабатывается резистентность патогена к серебру, также AgНЧ не взаимодействует с другими препаратами [91]. Исследования в области применения серебряной воды продолжаются до сих пор [92]. Наиболее удобной формой применения наночастиц серебра оказался коллоидный раствор [92]. Один из примеров его применение - водоземulsionная краска с повышенной бактерицидной активностью, она позволяет значительно снизить количество бактерий в помещении, и эффективно подавлять

размножение новых, что позволяет найти широкое применение для обработки общественных мест.

## 1.2 Методы синтеза наночастиц серебра.

Для синтеза наночастиц используются соединения атомов II и VI или III и V групп таблицы Менделеева. В зависимости от задач метод позволяет подобрать наиболее оптимальный способ синтеза нужных частиц. Для медицины особо интересны НЧ серебра и золота [89-100].

Наночастицы могут быть синтезированы физическими, химическими [101, 102] и биологическими/зелеными методами синтеза [103-105]. И в том и другом подходе, либо исходное вещество измельчается до размера наночастиц либо из отдельных атомов собирают частицу [106].

Некоторые из биологических методов синтеза включали использование экстрактов растений (*Azadirachta indica* [107], алоэ вера [108], лепестков дамасской розы [109] и т. д.) и использование микробов, таких как бактерии (*Lactobacillus* [110], *Bacillus sp.* [111] и др.), грибы (*Aspergillus niger* [112]) и дрожжи (*S. cerevisiae* [113]). Свойства наночастиц обычно исследуются спектроскопией поглощения в УФ-видимой области, инфракрасной спектроскопией с преобразованием Фурье (FT-IR), методом рентгеновской дифракции (XRD), динамическим светорассеянием (DLS), атомно-силовой микроскопией (АСМ) и просвечивающей электронной микроскопией (ПЭМ) и т. д., для простого получения НЧ можно воспользоваться любым методом, но если необходимо получить заданные свойства приходится подбирать конкретный.

Проведены исследования для разработки НЧ для терапевтических применений [114, 115], в качестве агентов визуализации [116, 117] и систем доставки лекарств [118], и применении их свойств [119].

Метод химического восстановления весьма удобен для промышленного использования, серебро восстанавливают из нитрата серебра с преследующим формированием наночастиц. Недостатками такого метода является высокая токсичность и экологическая опасность данных реагентов.



Метод биологического восстановления экологичен и безопасен, в качестве восстановителя используются штаммы бактерий и грибов. Недостатком такого метода является медленный рост наночастиц и сложности с регулировкой их размера.

Метод физического восстановления заключается в воздействии внешнего физического фактора для восстановления серебра в атомарную форму:

- излучения УФ диапазона, позволяет эффективно синтезировать наночастицы и контролировать их размер.

- излучения микроволнового диапазона, новый метод теплового восстановления серебра.

Есть определенные НЧ, которые обладают антимикробной активностью и используются для лечения бактериальных инфекций. Эффективность НЧ, синтезированных разными методами, сильно различается.

Точный механизм антимикробного действия НЧ металлов и их токсичности до сих пор неясен. Поскольку обнаружено, что разные НЧ действуют по-разному, требуется дополнительная работа для описания токсических эффектов таких НЧ в живой системе. До конца не изучены процессы взаимодействия с НЧ внутри клетки. Не ясны механизмы транспорта и распределения в органеллах. Следовательно, необходимо искать новые методы синтеза и модификации НЧ, для увеличения их эффективности. Подобные методы до сих пор не разработаны, поскольку их связывающие фрагменты до сих пор неясны. Возможные способы действия функционализированных НЧ на бактерии также нуждаются в подробном изучении. Существуют определенные ограничения на рецептуры НП, функционализированных антибиотиками; примерно 0,20 мкг/мл функционализированных НЧ является пределом их эффективности [122].

Как обсуждалось в предыдущем разделе, НЧ оказались хорошим средством доставки лекарств и весьма эффективны при функционализации антибиотиком, но не изучалось, могут ли функционализированные НЧ и другие составы предотвращать образование биопленки на инертных субстратах. Также

необходимо решить трудную задачу нацеливания на НЧ, функционализированные антибиотиками, в непосредственной близости от очага бактериальной инфекции.

1.3 Взаимодействие НЧ на функциональную активность гетерогенных систем.

Среди всех НЧ благородных металлов наночастицы Ag привлекает внимание благодаря своим уникальным химическим свойствам, которые делают их отличными кандидатами для различных целей. Однако есть определенные научные исследования, в которых показано неблагоприятное воздействие Ag на человека, а также на окружающую среду. *In vitro* токсичность AgНЧ в клетках печени крыс показала, что воздействие AgНЧ даже в малых дозах приводило к окислительному стрессу и нарушению функции митохондрий [123], в том числе и для низких концентраций  $Ag^+$  [124].

Исследования *in vivo* пероральной токсичности наносеребра на крысах показали, что органом-мишенью наносеребра была печень, а также наблюдалась более высокая распространенность гиперплазии желчных протоков с некрозом, фиброзом и пигментацией или без них [125].

Некоторые исследования показали, что AgНЧ, хранящиеся в течение определенного периода времени, высвобождают ионы  $Ag^+$  и, таким образом, состаренное наносеребро оказывается более токсичным, чем новое наносеребро [95].

Однако данные таких исследований часто различаются, в некоторых случаях доказано отсутствие токсичности (например для оксида цинка) для организма [126], при этом обнаружены токсические эффекты ZnO НЧ внутри клетки приводящим к их гибели [127].

Поглощение крупных НЧ ZnO внутри клеток участвует в остановке клеточного цикла. Выделение ионов  $Zn^{+}$  из НЧ является решающим фактором токсичности НЧ ZnO по отношению к клетке. Установлено, что на растворимость и высвобождение этих ионов из НЧ влияет химическая форма этих частиц и

клеточная среда. Кроме того, небольшие и менее растворимые НЧ ZnO усиливают воспалительные процессы внутри клетки, высвобождая провоспалительные цитокины, такие как TNF- $\alpha$  [128].

Для НЧ важными факторами токсичности являются их размер и форма [129], чем меньше размер наночастиц серебра, тем сильнее проявляемые ими эффекты [130-133]. Покрытие наночастиц различными составами могут серьезно изменить свойства и взаимодействие с клеткой [134, 135, 136]. Поверхностный заряд может быть изменен в зависимости от используемого покрытия [137]. Также покрытие влияет на растворимость НЧ в среде [138]. При попадании НЧ в биологическую среду она сразу же обрастает белками (т.н. «белковой короной») Таким образом наночастицы нельзя рассматривать как отдельный объект, а как комплекс НЧ-белок [139]. Состав и толщина белковой короны зависят от формы наночастиц. При этом становится весьма сложно описывать процессы взаимодействия такого комплекса с клеткой [140]. Проведены исследования изменения свойств AgНЧ в зависимости от времени их растворения [141-144] и pH исследуемого раствора [145]. Растворение наночастиц серебра в водных растворах включает в себя два связанных процесса: 1) окисление с выделением активных форм кислорода; 2) протонно-опосредованное высвобождение растворенного серебра. Контроль данного процесса возможно осуществить путем добавления лиганда или созданием покрытия НЧ [143]. Однако часть ионов серебра остается на поверхности таких частиц [144]. На скорость растворения AgНЧ влияет размер наночастиц, чем меньше НЧ, тем быстрее они растворяются [143]. Также на растворение влияет исходная кристаллическая структура вещества, чем она больше, тем быстрее идет процесс [142, 144]. Скорость растворения зависит от типа покрытия поверхности и температуры [141]. Присутствие цистеина или бычьего сывороточного альбумина (БСА) усиливает растворение НЧ [146, 142]. Был проведен ряд исследований по растворимости AgНЧ в биологических жидкостях [147, 148, 149].

Однако все эти исследования не дают окончательный ответ о процессах взаимодействия и трансформации AgНЧ в организме. Возможные механизмы

цитотоксичности серебра: окислительный стресс [150], наличие ионов серебра [151-157], растворимость [154]. Кроме того, существуют исследования, показывающие, что наночастицы серебра могут влиять на клетки и более сложным способом [155]. Снижение токсичности серебра способствует их функционализация различными агентами, что улучшает их биосовместимость [156, 157, 158], для минимизации токсического действия НЧ, которые используются в противомикробных, противовирусных или противораковых средствах.

#### 1.4 Заключение к главе 1

Несмотря на то, что для синтеза AgНЧ разработан ряд современных методов, все еще существует потребность в коммерчески выгодном, экономичном, безвредном для окружающей среды и менее трудоемком пути синтеза, который можно было бы применять для крупномасштабного синтеза и с меньшим количеством примесей. Для изучения процессов воздействия НЧ на поверхности различных материалов применяется метод электронно-лучевой микроскопии. Чтобы понять механизмы антимикробного действия НЧ, такие как молекулярная стыковка, используются различные компьютерные программы, например, AutoDock, позволяющие рассчитать механизмы взаимодействия между реагентами. Также разрабатываются методы моделирования молекулярной динамики, для определения трехмерного движения атомов и молекул. Таким образом существует необходимость построения новых математических моделей для описания синтеза и взаимодействия наночастиц.

## Глава 2 ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ СИНТЕЗА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА МЕТОДОМ КАВИТАЦИОННО-ДИФфуЗИОННОГО ФОТОХИМИЧЕСКОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ

2.1 Разработка и создание модели для прогнозирования времени синтеза наночастиц серебра заданного размера в зависимости от интенсивности внешнего физического воздействия.

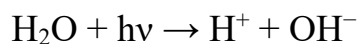
Для описания процесса синтеза наночастиц серебра была разработана физико-математическая модель [162], при этом был сделан ряд упрощений: температура постоянна, все параметры усреднены по пространству (зависимость от пространственных переменных не рассматривается).

Ниже описаны стадии процесса синтеза наночастиц серебра из аммиачного комплекса:

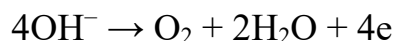
1. Под воздействием температуры молекула воды  $H_2O$  распадается с образованием двух ионов:



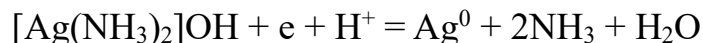
2. Квант ультрафиолетового (УФ) излучения  $h\nu$  поглощается молекулой воды  $H_2O$  с образованием двух ионов:



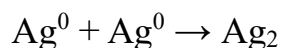
3. Четыре иона воды рекомбинируют, высвобождая свободные электроны:



4. Серебро восстанавливается в металлическую форму, поглощая электрон:



5. Сборка кластеров серебра. На второй стадии реализуется последовательная поатомная сборка кластеров серебра, начиная с двух и трехатомных структур (димеров и тримеров):



Для описания процесса синтеза были введены следующие коэффициенты:

$n_{H_2O}$  - концентрация воды (количество на единицу объема, соответствующее 100%-й концентрации);

$n_{H^+}$  - концентрация ионов  $H^+$  в воде;

$n_{OH^-}$  - концентрация ионов  $OH^-$  в воде;

$n_{hv}$  - концентрация УФ-квантов;

$n_{e^-}$  - концентрация электронов;

$n_{AgNH_3}$  - концентрация аммиачного комплекса  $[Ag(NH_3)_2]OH$ ;

$n_{Ag}$  - концентрация атомов серебра  $Ag$ ;

$n_{Ag_2}$  - концентрация димеров серебра  $Ag_2$ .

$K_D$  - константа диссоциации воды при заданной температуре;

$K_R$  - константа рекомбинации воды при заданной температуре;

$K_{hv}$  - константа диссоциации воды при поглощении фотона;

$K_{OH}$  - константа рекомбинации ионов  $OH^-$ ;

$K_{e^-}$  - константа поглощения электронов;

$K_{Ag_2}$  - константа образования димеров серебра  $Ag_2$ .

Значения констант приведены в табл.1, значения выражены в долях к общему объему реакционной смеси

Таблица 2.1 – Значения переменных, входящих в уравнения 1–12.

Обозначение параметра	Значение параметра в момент времени $t=0$
$n_{H_2O}$	0,999714118

$n_{H^+}$	1,79949E-10
$n_{OH^-}$	1,76459e-4
$n_{hv}$	0,01967166
$n_{e^-}$	0
$n_{AgNH_3}$	0,000105933
$n_{Ag}$	0
$n_{Ag_2}$	0
$K_D$	4,60976e-10
$K_r$	4,6092992e-4
$K_{hv}$	1,96
$K_{OH}$	0,962705
$K_{e^-}$	2,777778646
$K_{Ag_2}$	4,0101

На основе принципов химической кинетики построены дифференциальные уравнения, описывающие процесс синтеза наночастиц.

Уравнение для описания зависимости концентрации ионов  $H^+$  от времени:

$$\frac{\partial}{\partial t} n_{H^+}(t) = K_D n_{H_2O}(t) + K_{hv} n_{H_2O}(t) n_{hv}(t) - K_R n_{H^+}(t) n_{OH^-}(t) - K_e n_{AgNH_3}(t) n_e(t) n_{H^+}(t), \quad (1)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} n_{H^+} = K_D n_{H_2O} + K_{hv} n_{H_2O} n_{hv} - K_R n_{H^+} n_{OH^-} - K_e n_{AgNH_3} n_e n_{H^+}, \quad (2)$$

Уравнение для описания зависимости концентрации ионов  $OH^-$  от времени:

$$\frac{\partial}{\partial t} n_{OH^-}(t) = K_D n_{H_2O}(t) + K_{hv} n_{H_2O}(t) n_{hv}(t) - K_R n_{H^+}(t) n_{OH^-}(t) - 4K_{OH} n_{OH^-}^4(t), \quad (3)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} n_{OH^-} = K_D n_{H_2O} + K_{hv} n_{H_2O} n_{hv} - K_R n_{H^+} n_{OH^-} - 4K_{OH} n_{OH^-}^4, \quad (4)$$

Уравнение для описания зависимости концентрации электронов  $e^-$  от времени:

$$\frac{\partial}{\partial t} n_e(t) = 4K_{OH} n_{OH^-}^4(t) - K_e n_{AgNH_3}(t) n_e(t) n_{H^+}(t), \quad (5)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} n_e = 4K_{OH} n_{OH^-}^4 - K_e n_{AgNH_3} n_e n_{H^+}, \quad (6)$$

Уравнение для описания зависимости концентрации аммиачного комплекса  $[Ag(NH_3)_2]OH$  от времени:

$$\frac{\partial}{\partial t} n_{AgNH_3}(t) = -K_e n_{AgNH_3}(t) n_e(t) n_{H^+}(t), \quad (7)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} n_{AgNH_3} = -K_e n_{AgNH_3} n_e n_{H^+}, \quad (8)$$

Уравнение для описания зависимости концентрации атомов серебра  $Ag^0$  от времени:

$$\frac{\partial}{\partial t} n_{Ag^0}(t) = K_e n_{AgNH_3}(t) n_e(t) n_{H^+}(t) - 2K_{Ag_2} n_{Ag^0}^2(t), \quad (9)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} n_{Ag^0} = K_e n_{AgNH_3} n_e n_{H^+} - 2K_{Ag_2} n_{Ag^0}^2, \quad (10)$$

Уравнение для описания зависимости концентрации димеров  $Ag_2$  от времени:

$$\frac{\partial}{\partial t} n_{Ag_2}(t) = K_{Ag_2} n_{Ag^0}^2(t), \quad (11)$$

$$\frac{\partial}{\partial t} n_{Ag_2} = K_{Ag_2} n_{Ag^0}^2, \quad (12)$$

Задачи 1-12 была решена с помощью стандартных численных методов, в частности методом Рунге-Кутты первого порядка. Для вычислений использовалась программа, разработанная авторским коллективом (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ).



## 2.2 Результаты физико-математического моделирования при изменении интенсивности потока ультрафиолетового излучения.

С помощью физико-математической модели процесса кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления были получены графики зависимости концентрации аммиачного комплекса, атомарного серебра и димеров серебра от времени (рисунки 1-4) при различной интенсивности потока ультрафиолетового излучения. За единицу интенсивности потока УФ излучения взята величина 5850 люкс.

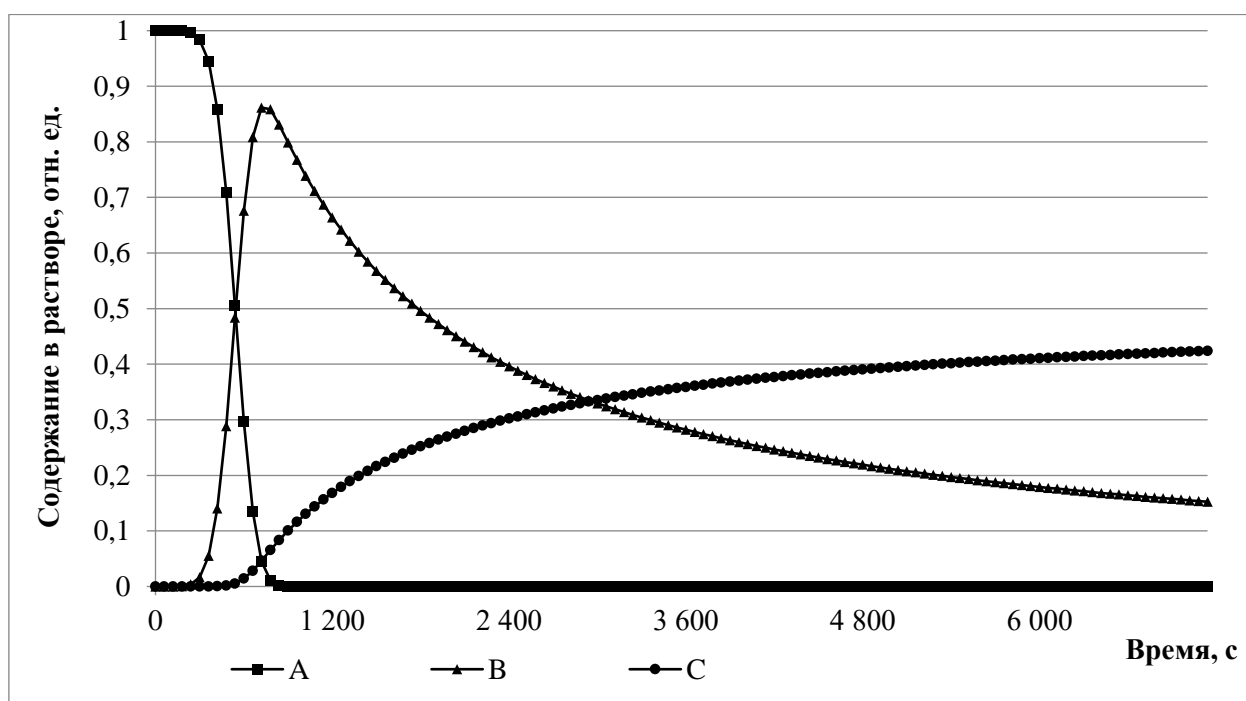


Рисунок 2.1 – График зависимости концентрации от времени при исходной интенсивности потока УФ

А – Зависимость концентрации аммиачного комплекса от времени

В – Зависимость концентрации атомарного серебра от времени

С – Зависимость концентрации димеров серебра от времени

При исходных параметрах процесс восстановления серебра происходит быстро (рис 2.1), концентрация аммиачного комплекса (А) падает до нуля в первые 15 минут синтеза, это означает, что все серебро в растворе перешло в

атомарную форму. Концентрация атомарного серебра (В) вначале резко возрастает (12 минута), до момента падения концентрации аммиачного комплекса до нуля, а затем плавно снижается в процессе формирования наночастиц. Концентрация димеров серебра (С) и, как следствие, наночастиц серебра практически не растет до момента насыщения раствора атомарным серебром. В дальнейшем при снижении концентрация атомарного серебра (В), процесс формирования наночастиц практически останавливается (51 минута).

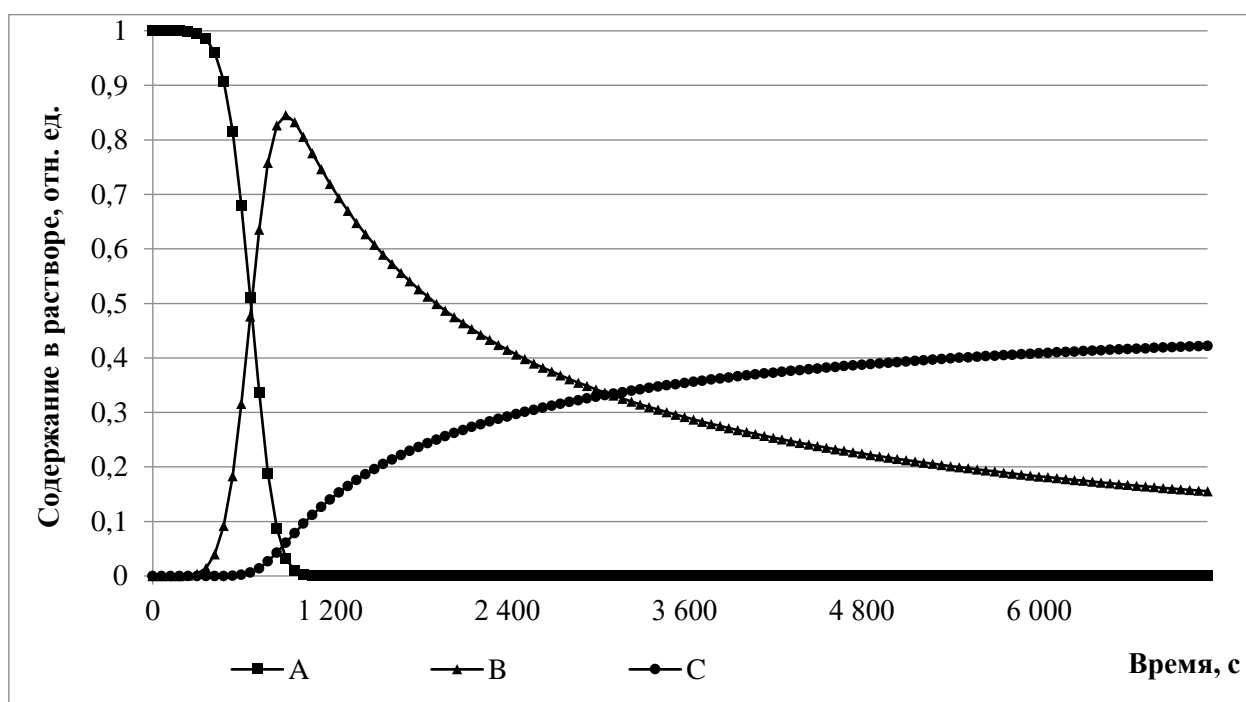


Рисунок 2.2 – График зависимости концентрации от времени при 0,75 интенсивности потока УФ

А – Зависимость концентрации аммиачного комплекса от времени

В – Зависимость концентрации атомарного серебра от времени

С – Зависимость концентрации димеров серебра от времени

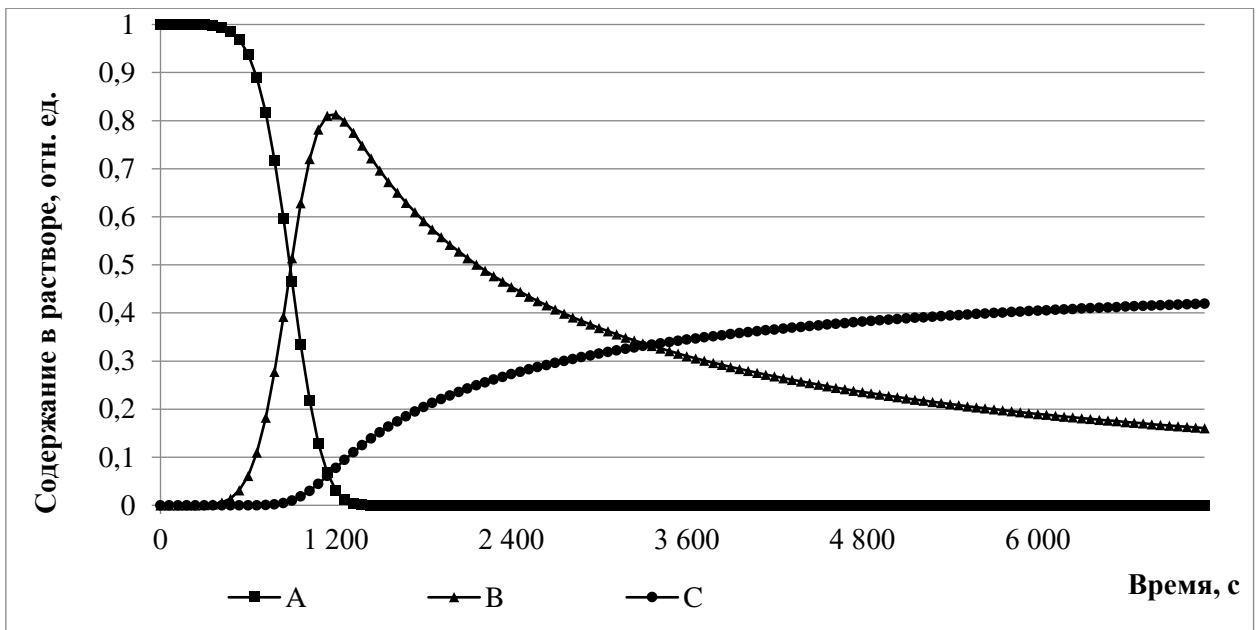


Рисунок 2.3 – График зависимости концентрации от времени при 0,5 интенсивности потока УФ

А – Зависимость концентрации аммиачного комплекса от времени

В – Зависимость концентрации атомарного серебра от времени

С – Зависимость концентрации димеров серебра от времени

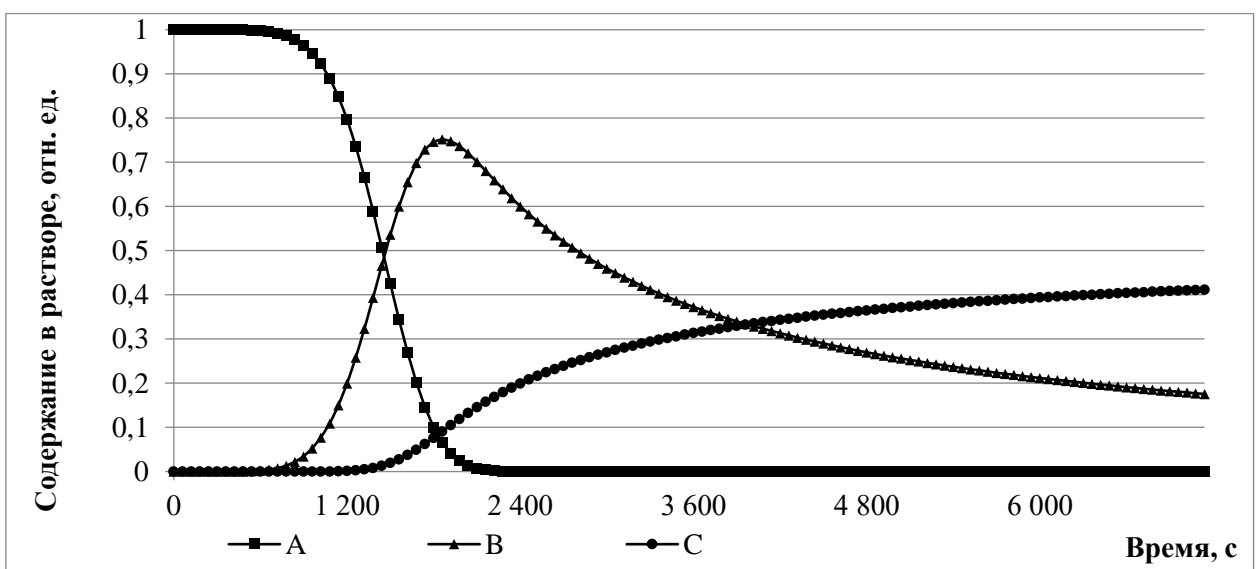


Рисунок 2.4 – График зависимости концентрации от времени при 0,25 интенсивности потока УФ

А – Зависимость концентрации аммиачного комплекса от времени

В – Зависимость концентрации атомарного серебра от времени

С – Зависимость концентрации димеров серебра от времени

Интенсивность потока УФ, обратно пропорциональна времени преобразования аммиачного комплекса в атомарное серебро рис (2.1-2.4), Снижение интенсивности потока УФ излучения в 4 раза приводит к возрастанию времени синтеза наночастиц на 21 минуту. Размер наночастиц зависит от кривизны графика С, и в данном случае не изменяется. 2.3 Результаты физико-математического моделирования при изменении исходных концентраций серебра в растворе.

С помощью описанной выше физико-математической модели процесса кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления были получены графики зависимости концентрации аммиачного комплекса, атомарного серебра и димеров серебра от времени (рисунки 2.5-2.9) при различной величине исходной концентрации аммиачного комплекса. Исходное значение концентрации частиц аммиачного комплекса 0.00105933 в долях от общего объема раствора.

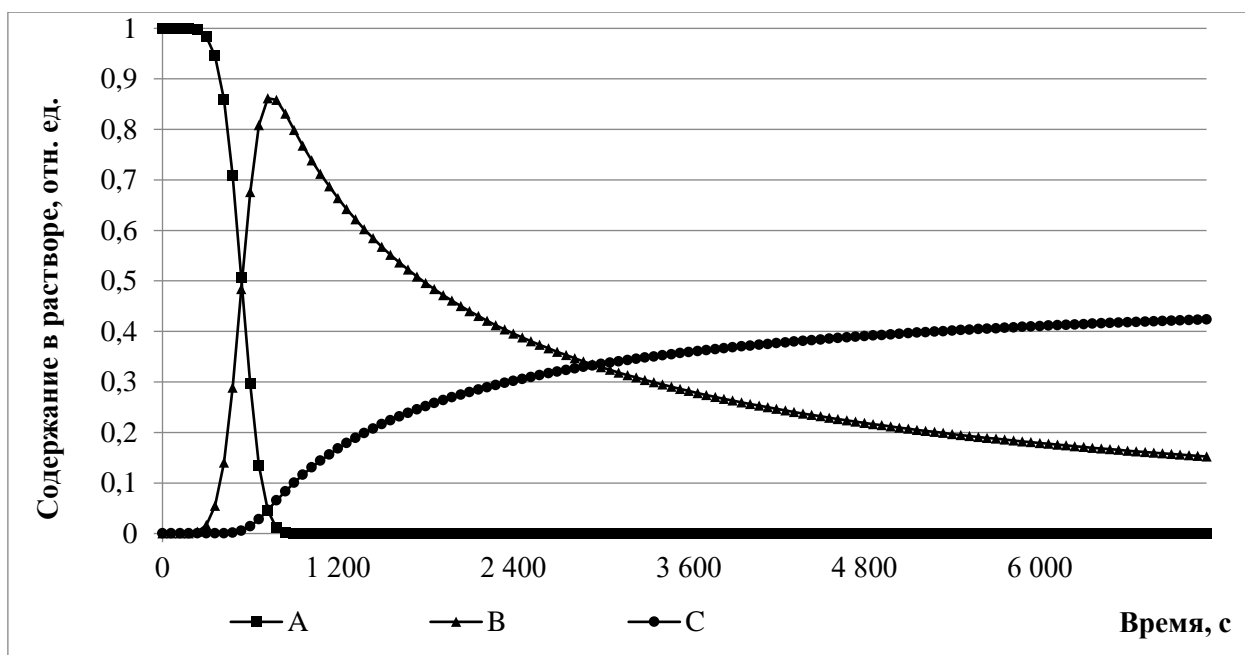


Рисунок 2.5 – График зависимости концентрации от времени при исходной концентрации

А – Зависимость концентрации аммиачного комплекса от времени

В – Зависимость концентрации атомарного серебра от времени

С – Зависимость концентрации димеров серебра от времени

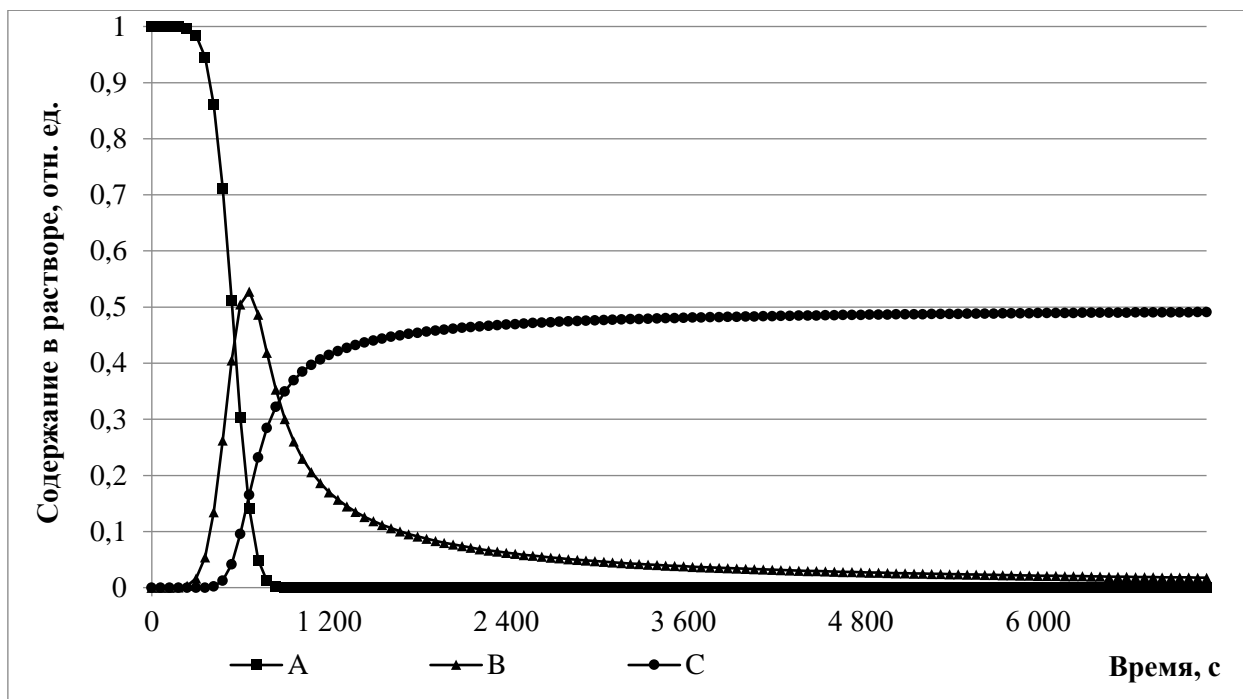


Рисунок 2.6 – График зависимости концентрации от времени при увеличении исходной концентрации в 10 раз.

А – Зависимость концентрации аммиачного комплекса от времени

В – Зависимость концентрации атомарного серебра от времени

С – Зависимость концентрации димеров серебра от времени

При исходной концентрации аммиачного комплекса (рис. 2.5) процесс восстановления серебра происходит быстро, концентрация аммиачного комплекса (А) падает до нуля в первые 15 минут синтеза, это означает, что все серебро в растворе перешло в атомарную форму. Концентрация атомарного серебра (В) вначале резко возрастает, до момента падения концентрации аммиачного комплекса до нуля, а затем плавно снижается в процессе формирования наночастиц. Концентрация димеров серебра (С) и, как следствие, наночастиц серебра практически не растет до момента насыщения раствора атомарным серебром. В дальнейшем при снижении концентрации атомарного серебра (В), процесс формирования наночастиц практически останавливается. В следствии увеличения концентрации в 10 раз процесс восстановления серебра происходит активнее, концентрация аммиачного комплекса (А) падает до нуля в первые 15 минут синтеза в обоих случаях, при

том, что концентрация возросла. Концентрация атомарного серебра (В) в обоих случаях ведет себя одинаково, однако максимальное значение снижено на 41,5%, что означает повышенную скорость перехода атомарного серебра в форму наночастиц. Концентрация димеров серебра (С) и, как следствие, наночастиц серебра практически не растет до момента насыщения раствора атомарным серебром. В дальнейшем при снижении концентрации атомарного серебра (В), процесс формирования наночастиц практически останавливается.

Описанный процесс полностью согласуется с полученными ранее экспериментальными результатами.

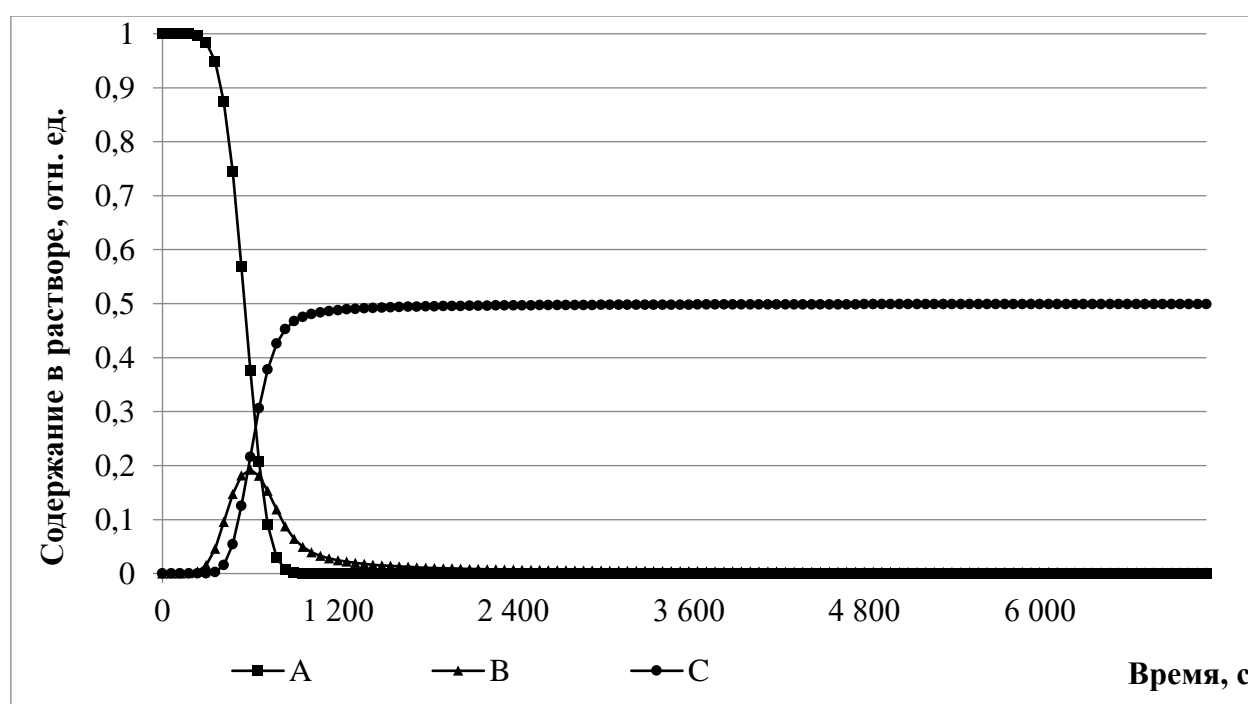


Рисунок 2.7 – График зависимости концентрации от времени при увеличении исходной концентрации в 100 раз.

А – Зависимость концентрации аммиачного комплекса от времени

В – Зависимость концентрации атомарного серебра от времени

С – Зависимость концентрации димеров серебра от времени

Дальнейшее увеличение концентрации аммиачного комплекса практически не влияет на время восстановления серебра, график аммиачного комплекса (А) снижается до нуля за одинаковое время (рис. 2.7). Изменение концентрации атомарного серебра (В) значительно меняется, уменьшаясь в

4,48 раза. В то же время скорость образования димеров серебра (С) возрастает в 1,52 раза.

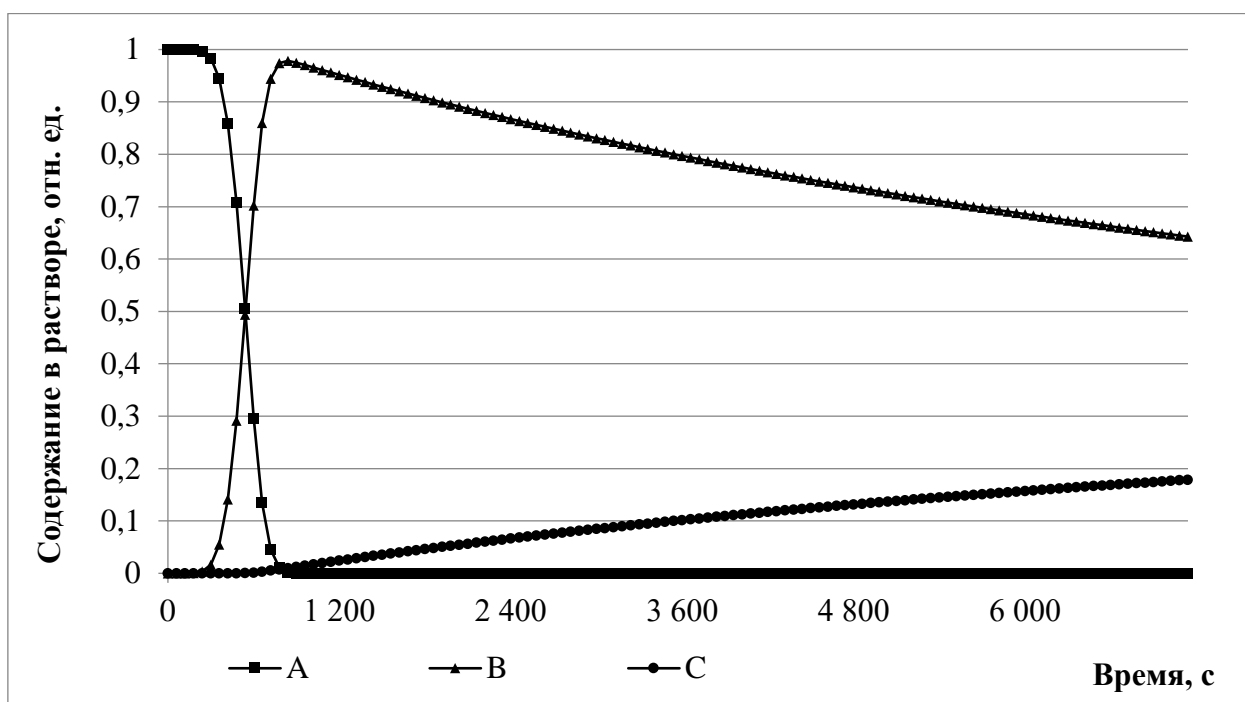


Рисунок 2.8 – График зависимости концентрации от времени при уменьшении исходной концентрации в 10 раз.

А – Зависимость концентрации аммиачного комплекса от времени

В – Зависимость концентрации атомарного серебра от времени

С – Зависимость концентрации димеров серебра от времени

Снижение концентрации аммиачного комплекса приводит к снижению скорости восстановления серебра (рис. 2.8), при уменьшении исходной концентрации в 10 раз, концентрация аммиачного комплекса (А) падает до нуля в первые 15 минут синтеза в обоих случаях, при том, что концентрация уменьшилась в 10 раз. Концентрация атомарного серебра (В) начинает падать линейно, что означает резкое уменьшение скорости формирования наночастиц. Концентрация димеров серебра (С) и, как следствие, наночастиц растет крайне медленно, чем исходный график. В дальнейшем при снижении концентрация атомарного серебра (В), процесс формирования наночастиц практически останавливается.

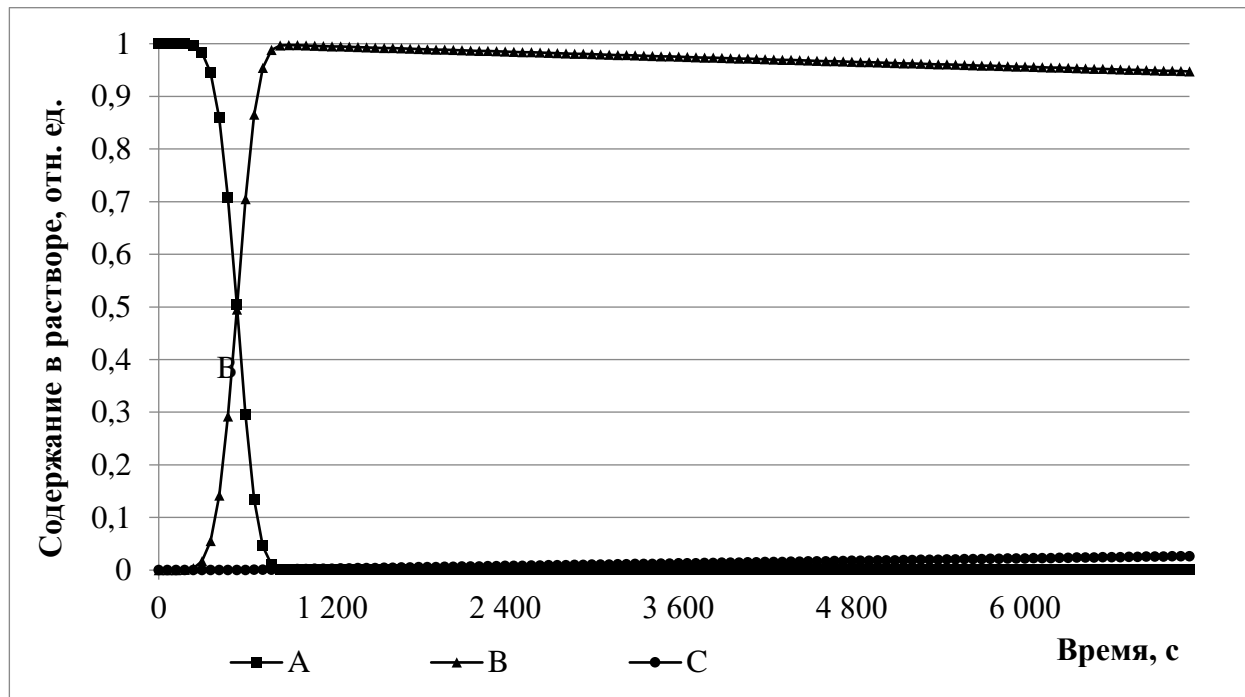


Рисунок 2.9 – График зависимости концентрации от времени при уменьшении исходной концентрации в 100 раз.

А – Зависимость концентрации аммиачного комплекса от времени

В – Зависимость концентрации атомарного серебра от времени

С – Зависимость концентрации димеров серебра от времени

Дальнейшее уменьшение концентрации аммиачного комплекса (рис. 2.9) приводит к ещё большему уменьшению скорости формирования наночастиц. График зависимости димеров серебра (С) становится практически Из вышесказанного следует, что исходная концентрация аммиачного комплекса оказывает различное воздействие на процесс формирования наночастиц серебра. Повышение концентрации вызывает увеличение вероятности взаимодействия частиц и как следствие скорость формирования синтезируемых частиц. Снижение концентрации приводит к резкому увеличению времени синтеза наночастиц серебра.



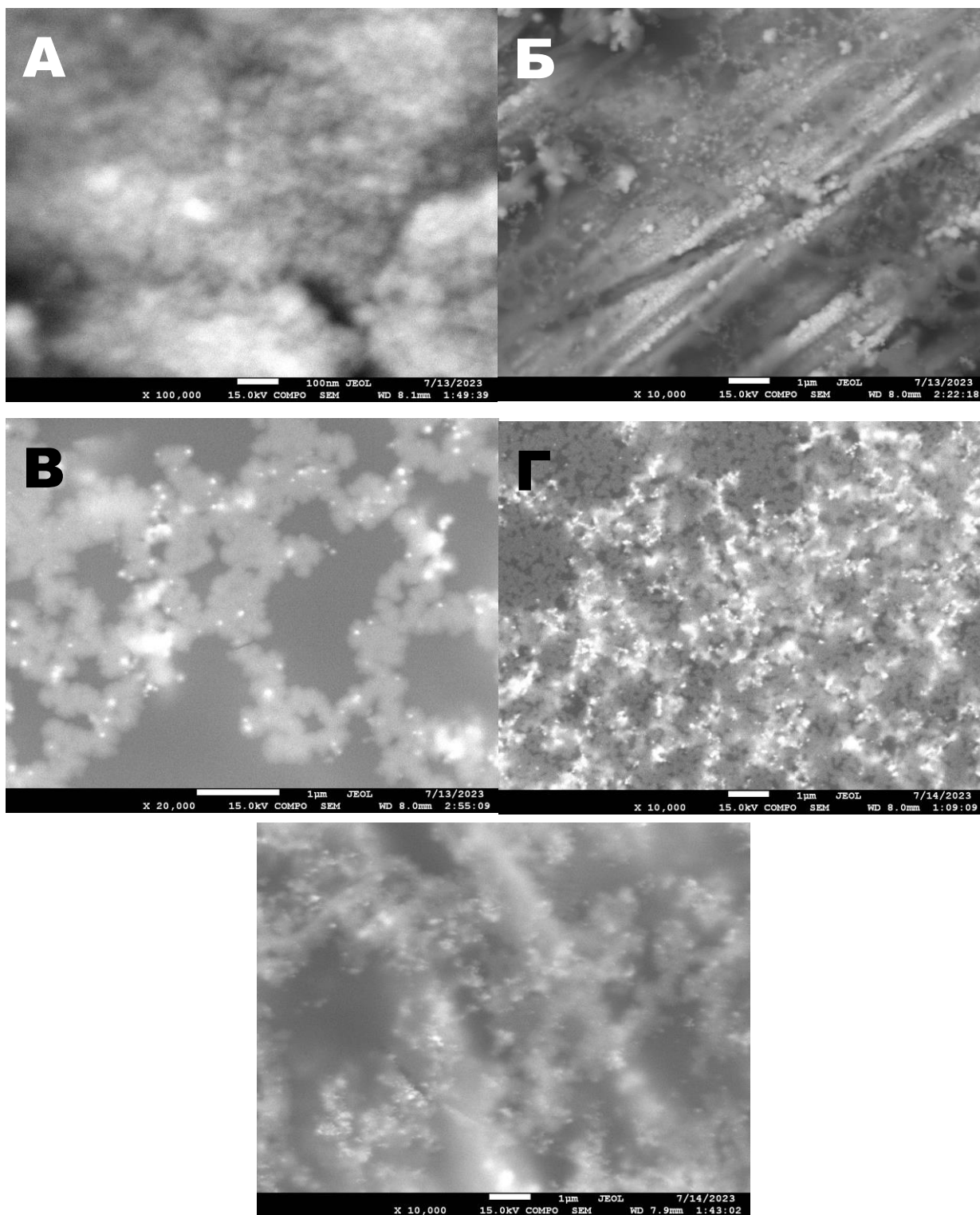


Рисунок 2.10 – Электронная микрофотография наночастиц серебра в процессе синтеза, режим «СОМРО». А – 10 минут; Б – 20 минут; В – 30 минут; Г - 40 минут; Д – 50 минут.

Из рисунка 2.10 видно, что на микрофотографиях первых 20 минут (А, Б) НЧ не наблюдается, на чиная с 30 минут (В) наблюдается рост наночастиц.

На микрофотографиях 40 и 50 минут (Г, Д) видны уже сформированные наночастицы. Это полностью соответствует модельным расчётам.

#### 2.4 Заключение к главе 2.

Таким образом, для описания процесса синтеза наночастиц серебра методом кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления была разработана и апробирована физико-математическая модель.

Представленная модель позволяет получить временные зависимости концентрации исходных, промежуточных и конечных продуктов реакции. Позволяет прогнозировать процесс синтеза в зависимости от исходной концентрации аммиачного комплекса серебра. Позволяет проследить влияние ультрафиолетового излучения на процесс синтеза наночастиц и подбирать наилучшие условия синтеза наночастиц серебра.

Разработанная физико-математическая модель позволит исследовать и улучшить процесс синтеза наночастиц серебра, применяемых для придания шовным материалам антисептических свойств, в том числе в отношении возбудителей бактериальных инфекций [164]. Кроме того, перспективным направлением применения подобных наночастиц может являться разработка раневых покрытий на основе волокон из различных материалов, обработанных раствором, содержащим наночастицы серебра, полученные методом кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления [165]. При синтезе наночастиц данным методом более половины наночастиц имеют диаметр до 5 нм [166], что будет способствовать разрушению биопленок, сформированных на поверхности инфицированных ран.

### **Глава 3 ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ПОВЕРХНОСТИ ОРГАНИЧЕСКИХ И НЕОРГАНИЧЕСКИХ БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ВОЛОКОН.**

3.1 Сорбционная активность наночастиц серебра в зависимости от их размеров и свойств поверхности материала.

Наночастицы серебра (AgНЧ) находят все большее применение в современной науке и технике, в том числе для биомедицинских целей, что объясняется их особенными, обусловленными размерами, физико-химическими свойствами и биологическими функциями, включающими высокую антимикробную активность и отсутствие токсичности для макроорганизма. Наноматериалы, базирующиеся на использовании AgНЧ [167-169], являются также эффективной системой для доставки лекарственных препаратов, увеличения микробицидных свойств шовных и перевязочных расходных средств, повышения жизнеспособности децеллюляризованного матрикса и длительности функционирования специальных покрытий у имплантов. Широкий диапазон антимикробной активности, проявляемой AgНЧ, связан прежде всего с размером и целым рядом других физико-химических параметров (форма, концентрация, поверхностный заряд и коллоидное состояние) [170]. Помимо этого, существенное влияние на биологическую активность готовых материалов с наночастицами оказывают и непосредственно носители (например, волокна естественного и искусственного происхождения), сорбирующие AgНЧ определенного размера, формы и коллоидного состояния, позволяющие в целом значительно модифицировать их суммарную результативность действия. Вместе с тем и сами наночастицы обеспечивают дополнительные механические, оптические, химические и биологические качества материалам-носителям, которые приобретают особые преимущества при использовании их в биомедицинской практике [171]. Не вызывает сомнения актуальность использования AgНЧ в комплексе с естественными или искусственными полимерами, в том числе N-

изопропилакриламидой и целлюлозой [172]. При этом выраженное стабилизирующее воздействие на синтез AgНЧ оказывала их инкубация с желатином, увеличивающим в последующем противомикробную активность.

В ряде литературных источников показана целесообразность получения пищевой пленки на основе искусственных полимеров с иммобилизованными наночастицами серебра [173]. Применение последней объясняется уменьшением возможности десорбции лапонита серебра, иммобилизованного на кватернизованном хитозане, позволяющем также снизить и собственную токсичность пищевой пленки. Кроме того, известны способы модификации естественных волокон шерсти, структурные белки которой выступали в качестве окислительно-восстановительной биоматрицы, путем сборки наночастиц серебра *in situ* [174], что в перспективе, позволит получать одежду, обладающую антибактериальными свойствами без утраты таковых в процессе стирки.

Помимо этого, каталитическая активность наночастиц серебра с гранецентрированной кубической геометрией, сорбированных на специальных носителях может быть использована при деградации антропогенных загрязнителей [175], что позволит включать их в состав фильтров для очистки питьевой воды, в том числе, использовать антиоксидантные и антибактериальные свойства AgНЧ. Поэтому особое значение приобретает возможность пролонгированной стабилизации наночастиц на поверхности носителя, позволяющая ограничить их попадание в питьевую воду. Подобные разработки потенциально могут быть применимы и в составе фильтров для очистки сточных вод, при необходимости быстрой инактивации высоких концентраций загрязнителя в короткие сроки, путем каталитической деградации последнего.

Учитывая вышеизложенное, практическое использование AgНЧ естественным образом предусматривает целесообразность проведения оценки их сорбционной и десорбционной активности на поверхности как искусственных полимерных нитей, так и волокон естественного

происхождения. При этом необходимо отметить, что в зависимости от сроков хранения свойства препаратов наночастиц могут меняться в зависимости от условий хранения, длительности и разбавления исходного раствора [176].

Проведена оценка сорбционной активности синтезированных путем кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления наночастиц серебра с различной длительностью экспозиции в составе гелевых композиций с желатином на волокнах естественного и искусственного происхождения.

При выполнении исследования использовали оборудование «Центра коллективного пользования диагностики структур и свойств наноматериалов» ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет (г. Краснодар). Проведена оценка сорбционной активности AgНЧ в свежеприготовленной гелевой композиции на основе желатина (гелевая композиция 1), такой же по составу гелевой композиции, но после 36 месяцев хранения (гелевая композиция 2), а также наночастиц серебра в составе официального препарата сравнения Аргогель (препарат сравнения А), в отношении волокон как естественного (шелк), так и искусственного (шовный материал фторекс, представляющий собой хирургические синтетические полиэфирные нити с покрытием из полиэтилентерефталата) происхождения. Методом электронной микроскопии через 1 час и 24 часа экспозиции оценивалась сорбционная активность, размер и количество наночастиц в каждом из образцов.

Препарат сравнения А использовали в рекомендуемой производителем концентрации. Синтез водного раствора для получения гелевых композиций 1 и 2 осуществляли методом кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления, предусматривающим восстановление ионов серебра в присутствии лиганда поливинилпирролидона при совместном комплексном воздействии ультрафиолетового излучения с длиной волны 280-400 нм и ультразвуковых волн частотой 1,7 МГц в условиях непрерывного перемешивания в течение 1 часа [177]. Затем полученный раствор разбавляли до концентрации AgНЧ 5 мкг/мл, нагревали до 60 °С и вносили желатин до 0,9%. Гелевую композицию 2 после получения дополнительно хранили в

темноте в условиях доступа кислорода воздуха при температуре 5 °С в течение 36 месяцев. Сорбционную активность оценивали путем экспозиции отрезков волокон длиной 1 см в выбранном препарате в течение 1 часа и 24 часов, с последующим выполнением перед электронной микроскопией лиофильной сушки данных отрезков волокон.

Электронную микроскопию полученных образцов выполняли на растровом электронном микроскопе JEOL JSM-7500F в режиме детектирования обратно отраженных и вторичных электронов с ускоряющим напряжением до 10 кВ и увеличением до 30.000 раз. При интерпретации полученных результатов оценивали размеры и количество наночастиц серебра на поверхности образца. Размер AgНЧ оценивали относительно стандартного маркера длиной 100 нм. Сорбционную активность рассчитывали, как соотношение относительной площади AgНЧ к общей площади снимка.

Согласно полученным в результате исследования данным при оценке сорбционной активности AgНЧ на волокне искусственного происхождения фторекс были отмечены описанные далее особенности взаимодействия наночастиц с волокном искусственного происхождения. При экспозиции этого волокна в препарате сравнения А в течение 1 часа степень адсорбции составила 1%, распределение AgНЧ по размеру представлено на рисунке 3.1.

Согласно представленной микрофотографии (рис. 3.1А) степень сорбционной активности препарата сравнения А на искусственном фторполимерном волокне невысока (1%), обращает на себя внимание, что большая часть (69%) AgНЧ имеет размер в диапазоне от 1 до 5 нм (рис. 3.1В), что позволяет предполагать у них высокую каталитическую и антибактериальную активность за счет большой удельной поверхности.

Через 24 часа экспозиции фторполимерного волокна в препарате сравнения А степень адсорбции AgНЧ сохранилась на прежнем уровне (рис. 3.1Б), однако были отмечены изменения в размере адсорбированных на поверхности волокна AgНЧ.

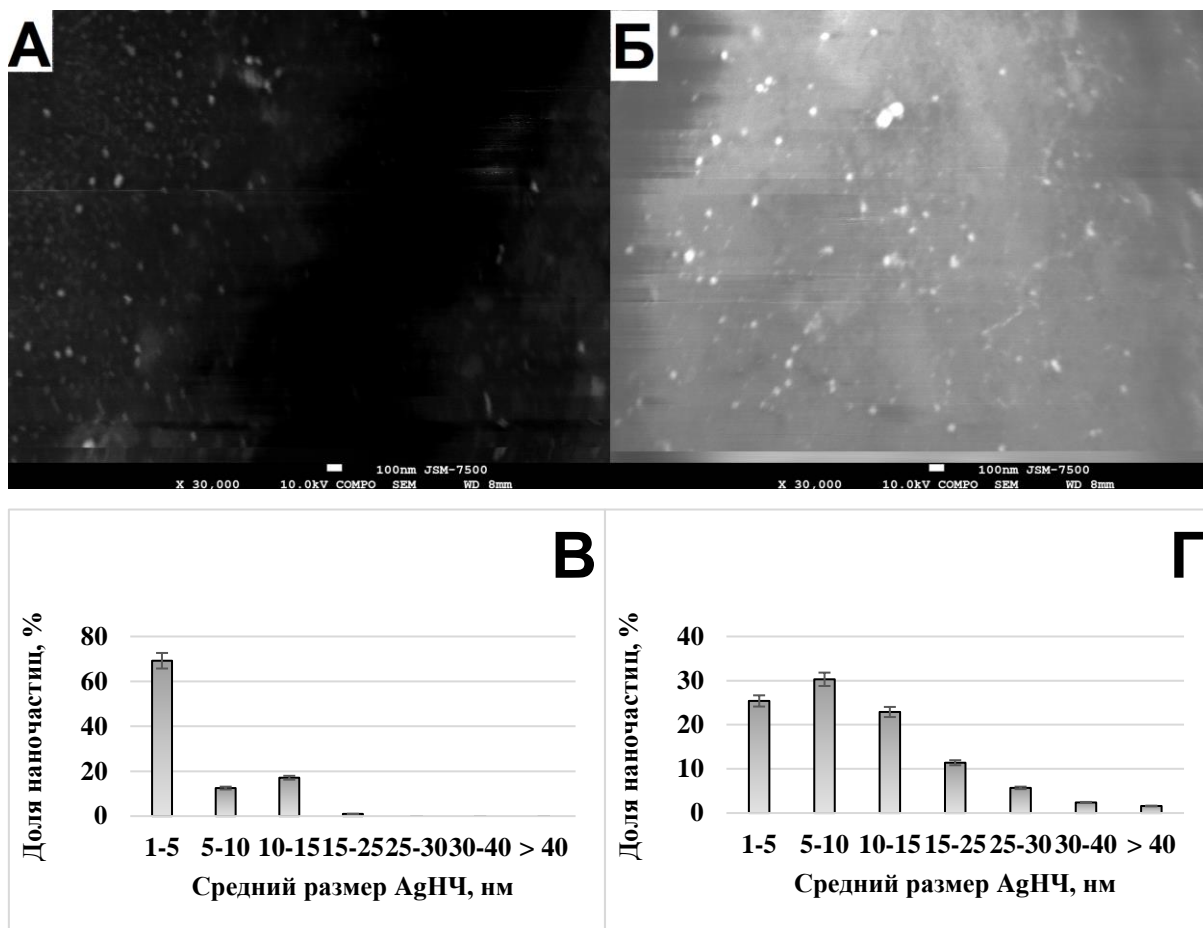


Рисунок 3.1 – Электронная микрофотография волокна фторекс, экспозиция в препарате сравнения А, увеличение 30.000 раз, режим «СОМРО», экспозиция 1 час (А) и 24 часа (Б), распределение AgНЧ по размерам, полученное при анализе изображений (В) и (Г)

Как видно из представленной микрофотографии, наибольшее количество AgНЧ через 24 часа находились в промежутке от 1 до 10 нм (рис. 1Г). Необходимо отметить, что помимо увеличения размера адсорбированных AgНЧ, нами было зарегистрировано уменьшение общего их числа примерно на 37%. Наблюдаемые изменения могут свидетельствовать о достаточно активном процессе агрегации наночастиц с увеличением их размера, что неизбежно сопровождается снижением их микробицидной и каталитической активности, при этом выраженного процесса десорбции ранее адсорбированных AgНЧ не установлено, поскольку соотношение их

относительной площади к общей площади снимка на двух образцах за последующие 23 часа экспозиции не изменилось.

Оценка сорбционной активности гелевой композиции 1 на волокне фторекс через 1 час экспозиции выявила невысокую сорбционную активность в пределах 1%, рисунок 3.2.

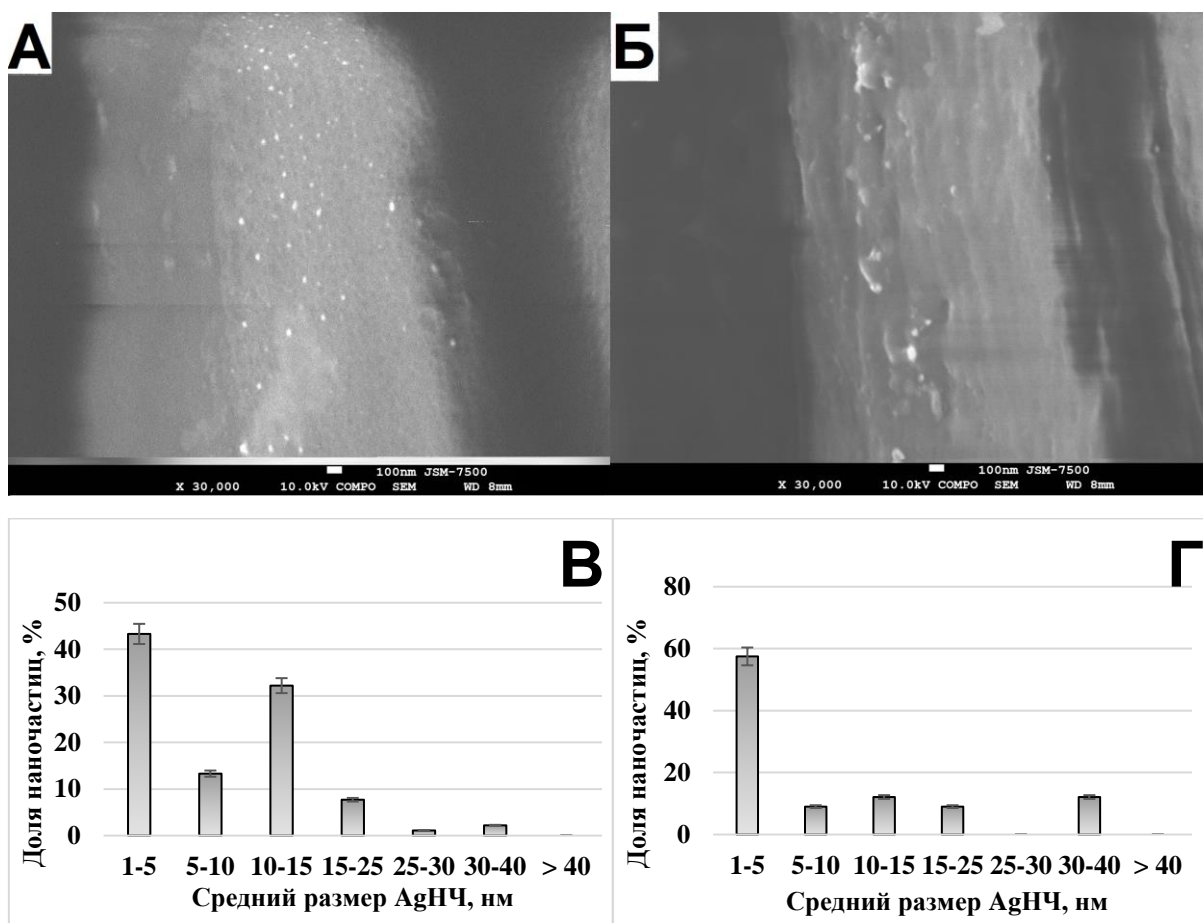


Рисунок 3.2 – Электронная микрофотография волокна фторекс, экспозиция в гелевой композиции 1, увеличение 30.000 раз, режим «COMPO», экспозиция 1 час (А) и 24 часа (Б), распределение AgНЧ по размерам, полученное при анализе изображений (В) и (Г)

Как видно из представленной микрофотографии (рис. 3.2А), практически половина AgНЧ (44%) имеет размер в диапазоне от 1 до 5 нм. Также сравнительно велико и количество наночастиц, составляющее 47% в



сравнении с официальным препаратом А. Это может свидетельствовать о существенной активности наночастиц, получаемых методом кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления и сорбируемых на искусственной нити с предварительной стабилизацией AgНЧ с желатином. После экспозиции этой гелевой композиции в течение 24 часов было установлено, что степень сорбционной активности не изменялась, но было выявлено уменьшение количества AgНЧ на поверхности искусственного волокна в диапазоне от 5 до 30 нм (рис. 3.2В), с увеличением размеров AgНЧ за счет возрастания их количества в диапазоне от 30 до 40 нм. Кроме того, отмечено снижение количества адсорбированных на искусственной нити AgНЧ практически в 3 раза. Подобные изменения могут свидетельствовать об активном процессе десорбции, причем более выраженном в пределах размерного диапазона от 5 до 30 нм, что, по-видимому, объясняется большей поверхностной энергией наночастиц серебра размером от 1 до 5 нм по сравнению с размером от 30 до 40 нм, что имеет основное значение для процессов адсорбции и десорбции.

Оценка сорбционной активности AgНЧ в составе гелевой композиции 2 на искусственном волокне фторекс в течение 1 часа выявила адсорбцию в 1%, что представлено на рисунке 3.3.

При оценке размера наночастиц определено, что AgНЧ от 1 до 5 нм отсутствуют на микрофотографии, а наибольшее количество наночастиц находятся в пределах от 5 до 10 нм и от 15 до 25 нм (рис. 3.3А). Подобное распределение может свидетельствовать о меньшей, по сравнению с предыдущими препаратами каталитической и антибактериальной активности сорбированных AgНЧ, также об этом свидетельствует тот факт, что количество сорбированных наночастиц также значительно меньше и составляет 24% в сравнении с препаратом А и 52% в сравнении с гелевой композицией 1 ( $p < 0,05$ ).

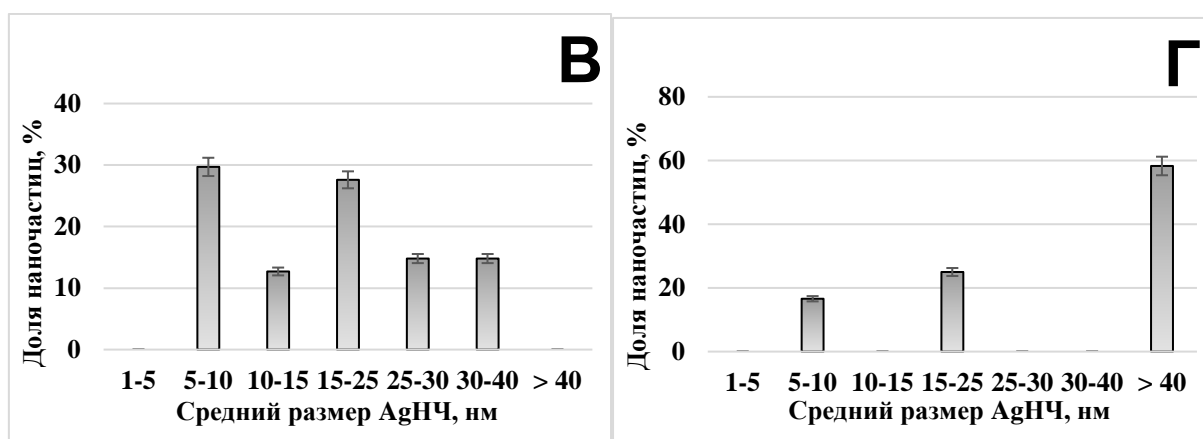
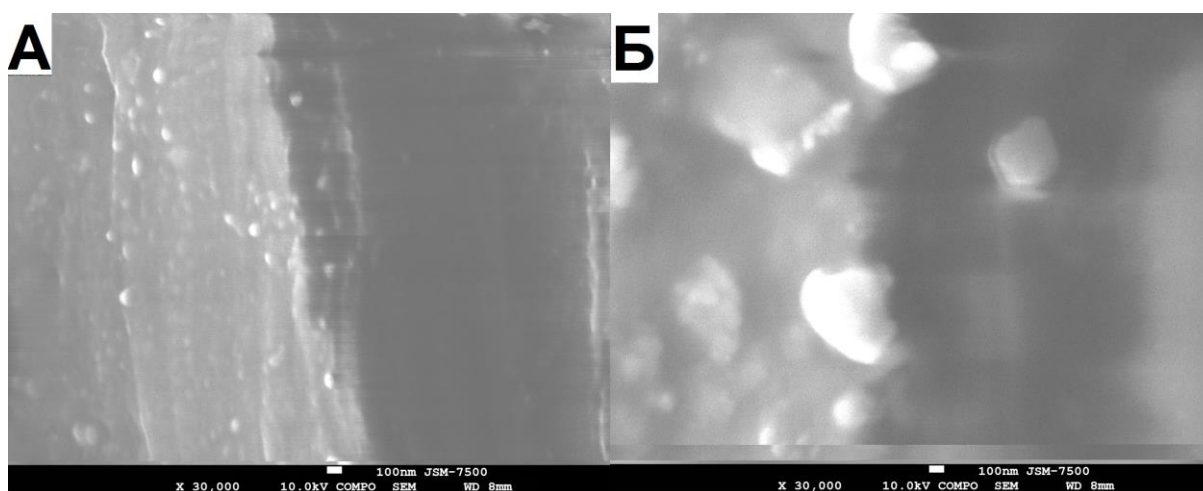


Рисунок 3.3 – Электронная микрофотография волокна фторекс, экспозиция в гелевой композиции 2, увеличение 30.000 раз, режим «COMPO», экспозиция 1 час (А) и 24 часа (Б), распределение AgНЧ по размерам, полученное при анализе изображений (В) и (Г)

Через 24 часа степень адсорбции AgНЧ существенно выросла, достигнув 14% по отношению к общей площади микрофотографии (рис. 3.3В). В то же время, одновременно мы наблюдали существенно увеличение размера наночастиц (рис. 3.3Г). В течение 24 часов наибольшее количество наночастиц имели размеры свыше 40 нм, хотя необходимо отметить, что ранее отмеченные пики в диапазоне от 5 до 10 нм и от 15 до 25 нм сохранялись. Также нами было отмечено на микрофотографии снижение количества AgНЧ практически вдвое (на 49 %, рис. 3.3В). Подобные изменения свидетельствуют о высокой активности процесса агрегации AgНЧ, сопровождающейся, вероятно, общим

снижением их функциональной активности за счет значительного снижения их удельной поверхности.

На основании проведенного исследования можно говорить о невысокой степени абсорбции AgНЧ на искусственных волокнах, при этом с течением времени отмечается частичная десорбция наночастиц, сопровождающаяся их агрегацией, во многом зависящей от метода получения AgНЧ. Все это в целом снижает эффективность использования искусственных волокон в практических целях при процессах, характеризующихся высокой степенью внешнего механического, физического или химического воздействия на волокно с AgНЧ, например, при их использовании в качестве компонентов очистных устройств.

При оценке сорбционной активности AgНЧ на волокне естественного происхождения (шелк), были получены следующие результаты: при экспозиции указанного волокна в препарате сравнения А в течение 1 часа степень абсорбции наночастиц серебра достигала 3% (рис. 3.4А).

Помимо существенного, по сравнению с искусственным волокном, сорбционной активности нами было отмечено большое количество AgНЧ ( $n > 700$ ) и значительная (до 75%, рис. 3.4В) их доля размерном диапазоне от 1 до 5 нм, что позволяет предположить высокую каталитическую и микробицидную активность наночастиц данного препарата на волокне естественного происхождения.

При экспозиции в течение 24 часов адсорбция AgНЧ существенно возросла, достигнув 22% от общей площади микрофотографии (рис. 3.4Б). Также отмечено снижение общего количества AgНЧ (до 132 на микрофотографии), что свидетельствует о достаточно активном процессе десорбции их с поверхности волокна, и увеличение их размера, очевидно, вследствие агрегации, что подтверждается увеличением количества наночастиц в размерном диапазоне от 5 до 15 нм и снижением их числа в пределах от 1 до 5 нм (рис. 3.4Г). Но, несмотря на наблюдаемые изменения,

количество наночастиц наиболее функционально активной группы от 1 до 5 нм остается сравнительно высоким (свыше 50% от общего их числа).

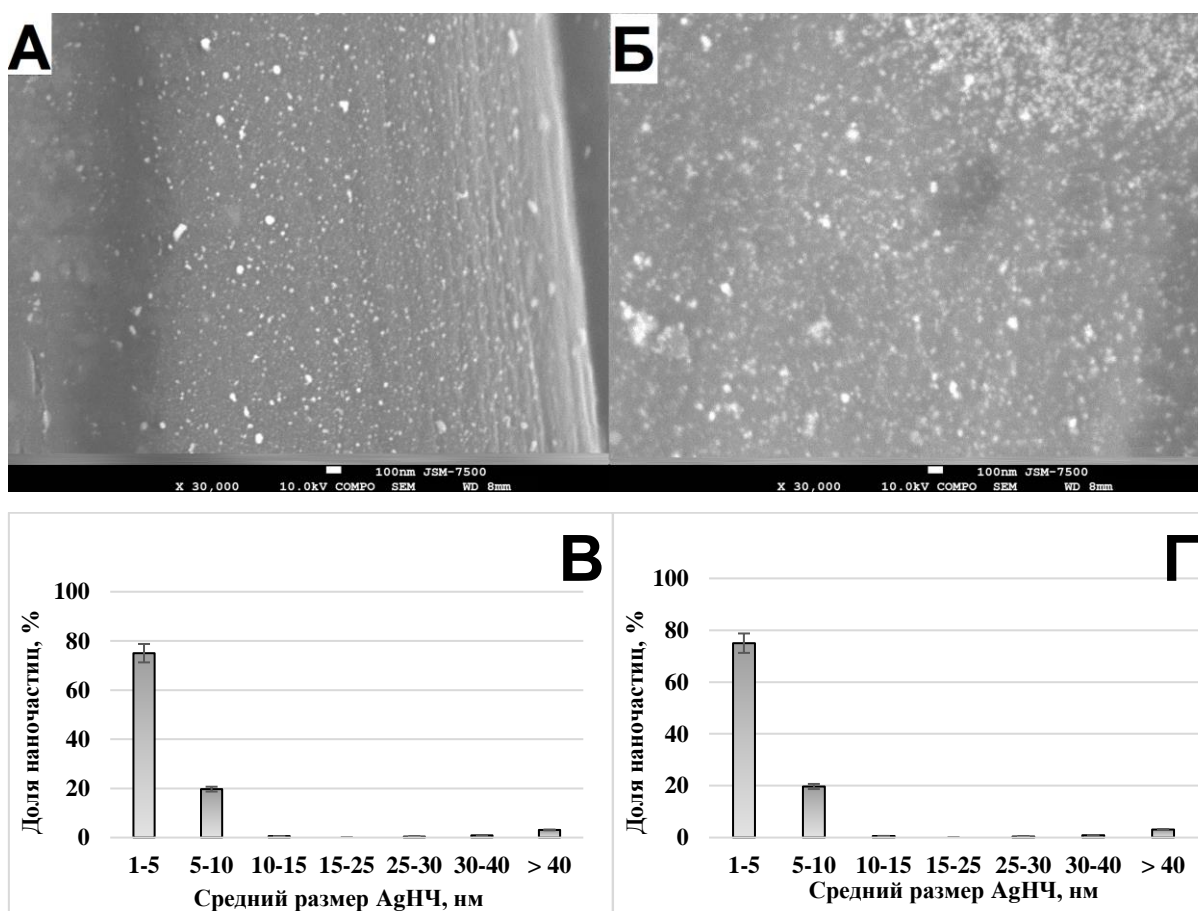


Рисунок 3.4 – Электронная микрофотография шелкового волокна, экспозиция в препарате сравнения А, увеличение 30.000 раз, режим «СОМРО», экспозиция 1 час (А) и 24 часа (Б), распределение AgНЧ по размерам, полученное при анализе изображений (В) и (Г)

Оценка степени адсорбции наночастиц на шелковом волокне у гелевой композиции 1 в течение 1 часа выявила невысокую степень адсорбции до 1% (рис. 3.5А). Необходимо отметить небольшое количество абсорбированных AgНЧ (n=40), а также сравнительно большое количество наночастиц серебра размером в промежутке от 1 до 5 нм (свыше 32%, рис. 3.5В). Также обращает на себя внимание большое количество наночастиц размером в диапазоне от 15 до 25 нм (30%). Такое распределение характеризует невысокую сорбционную активность данных AgНЧ на шелковом волокне, хотя в то же время, отражает

достаточно высокую потенциальную функциональную активность сорбированных наночастиц серебра.

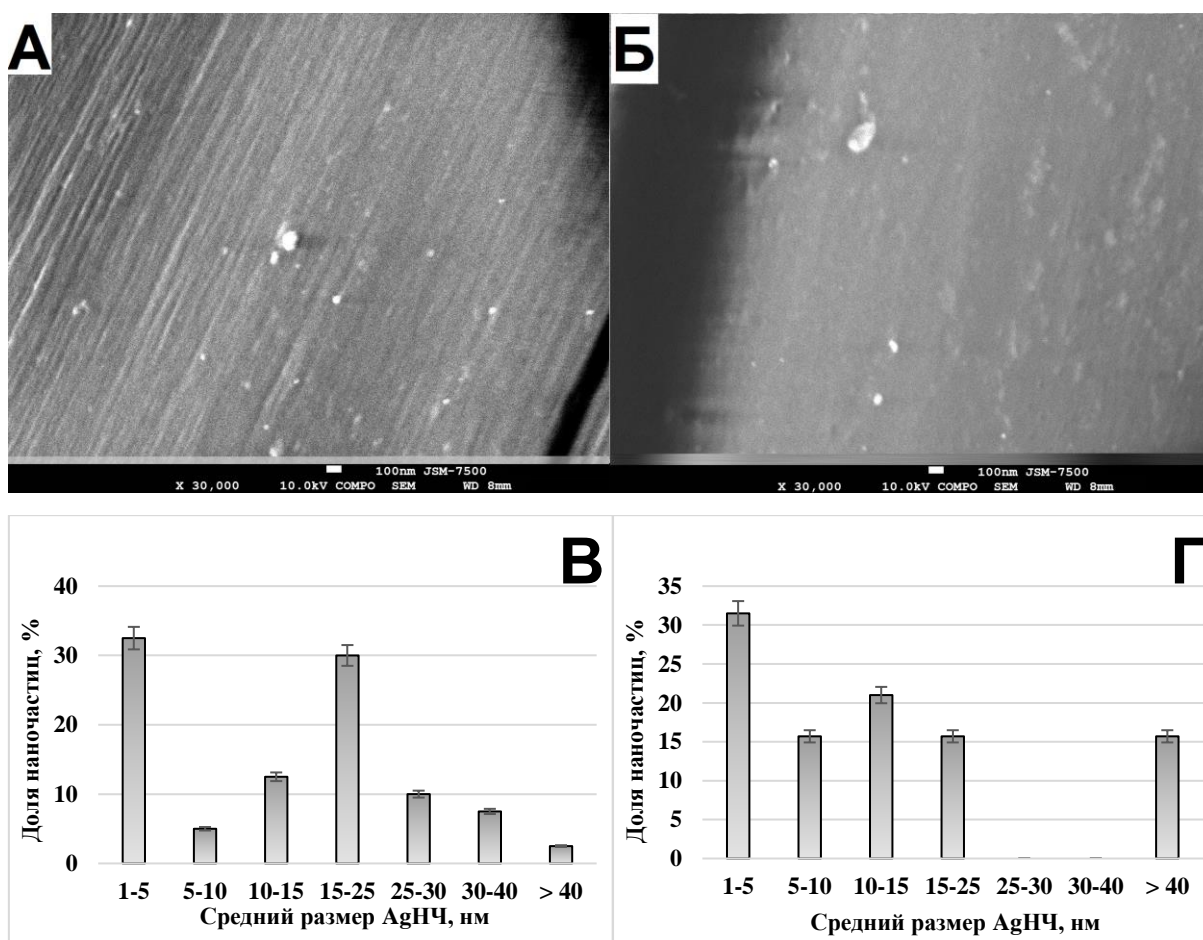


Рисунок 3.5 – Электронная микрофотография шелкового волокна, экспозиция в гелевой композиции 1, увеличение 30.000 раз, режим «COMPO», экспозиция 1 час (А) и 24 часа (Б), распределение AgНЧ по размерам, полученное при анализе изображений (В) и (Г)

На рисунке 3.5Б установлено увеличение количества крупных наночастиц свыше 40 нм, что свидетельствует об активных процессах агрегации. В то же время доля наночастиц размером в диапазоне от 1 до 5 нм снижается незначительно (рис. 3.5 Г), а количество AgНЧ в диапазоне от 5 до 10 нм даже возрастает на 10,7%. В совокупности это свидетельствует, наряду с уменьшением количества сорбированных наночастиц (с 40 до 19 на рис. 3.5А и рис. 3.5Б), как о возможной продолжающейся сорбции наночастиц в

размерном промежутке от 1 до 10 нм, так и о преимущественной десорбции и агрегации более крупных AgНЧ. Известно, что на такие процессы как адсорбция, десорбция и распределение наночастиц серебра по поверхности волокна, прежде всего, влияет их поверхностная энергия, которая у наночастиц от 1 до 5 нм значительно выше по сравнению с энергией AgНЧ размером от 5 до 30 нм.

При оценке результатов электронной микроскопии, полученных после экспозиции гелевой композиции 2 на шелковом волокне в течение 1 часа мы выявили незначительную сорбционную активность в пределах 1% (рис. 3.6А).

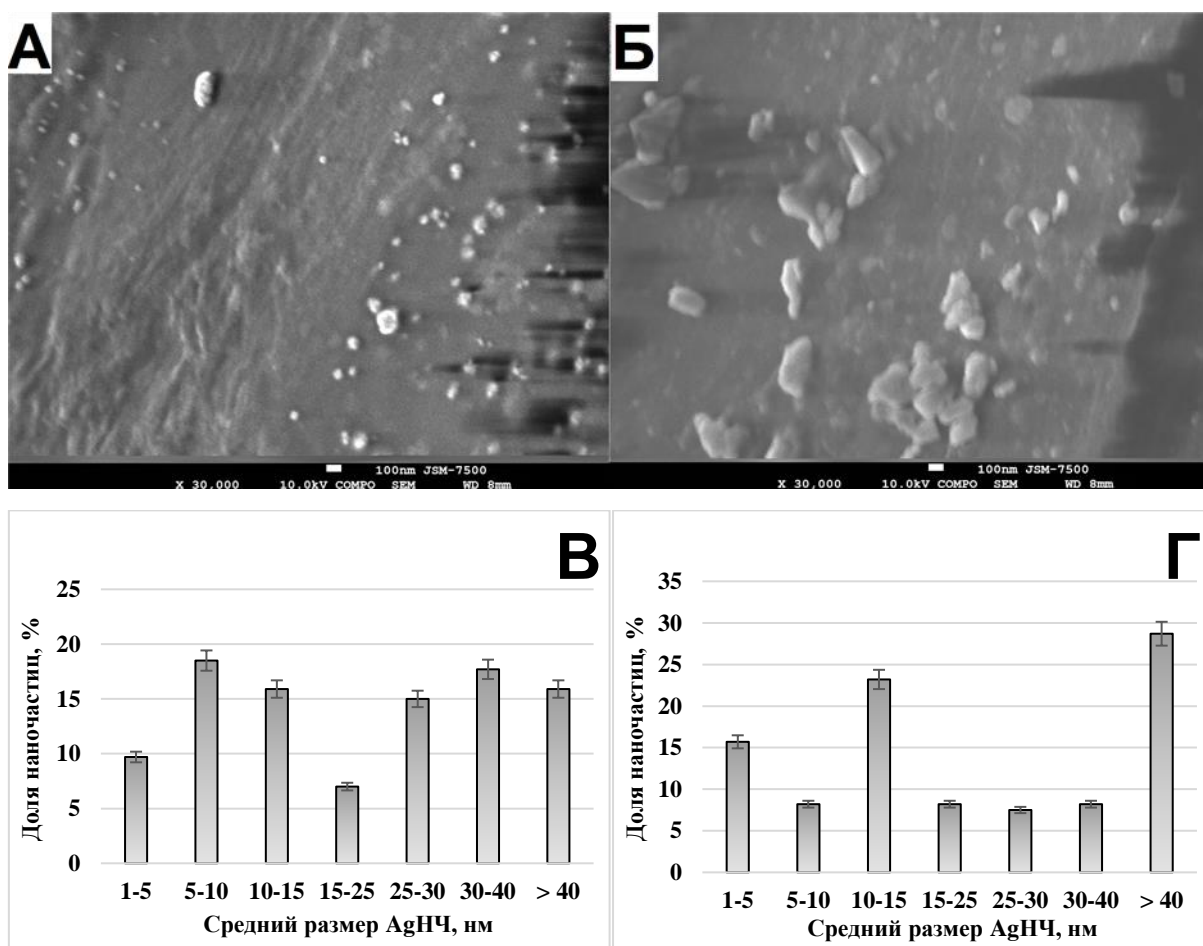


Рисунок 3.6 – Электронная микрофотография шелкового волокна, экспозиция в гелевой композиции 2, увеличение 30.000 раз, режим «COMPO», экспозиция 1 час (А) и 24 часа (Б), распределение AgНЧ по размерам, полученное при анализе изображений (В) и (Г)

На представленной микрофотографии видно, что наибольшее количество наночастиц имели размеры, укладываемые в промежутки от 5 до 10 нм и от 30 до 40 нм, причем в приблизительно равном количестве, составляющем 18,5% и 17,7% соответственно (рис. 3.6В). Все это свидетельствует о меньшем, по сравнению с препаратом сравнения А, функциональном потенциале данных AgНЧ, хотя наличие наночастиц в размерном диапазоне от 1 до 5 нм в достаточно большом количестве (9,7%) свидетельствует о значительно большей (на порядок, рис. 3.3В) потенциальной функциональной активности данных наночастиц на шелковом волокне по сравнению с использованием искусственного волокна на основе фторполимеров.

Через 24 часа экспозиции гелевой композиции 2 на шелковом волокне отмечено повышение сорбционной активности наночастиц до 5% от общей площади микрофотографии (рис. 3.6Б). Судя по рисунку 6Б кажется очевидной высокая степень активности процесса агрегации, что подтверждается повышением доли AgНЧ размером в промежутке свыше 40 нм (до 28,7%). В тоже время тщательный анализ также позволяет выявить увеличение доли наночастиц в наиболее функциональном по размерам промежутке от 1 до 5 нм (до 15,7%) и существенное повышение (до 23,2%) количества AgНЧ в промежутке от 10 до 15 нм (рис. 3.4Г). В целом в совокупности с увеличением числа адсорбированных наночастиц (со 113 после 1 часа экспозиции до 146 после 24 часов), можно предположить, что наравне с достаточно активным процессом агрегации, не наблюдалось характерной для прочих сравниваемых комбинаций «волокно-AgНЧ» десорбции наночастиц серебра, а напротив, продолжался процесс адсорбции этих наночастиц, что подтверждается увеличением их количества в диапазоне от 1 до 5 нм., что может быть связано с более высокой поверхностной энергией наночастиц серебра этого размера.

Все перечисленное позволяет говорить о наличии перспективы использования данных наночастиц серебра совместно с естественными волокнами, например, шелком. Полученные AgНЧ в комбинации с

гелирующим агентом желатином могут быть применены в медицине или ветеринарии для придания антибактериальных свойств шовному материалу, включающему шелковые нити. Например, была доказана возможность использования наночастиц серебра в составе раневых повязок для подавления жизнедеятельности раневой инфекции в виде композиционной пленки серицина и агара, который, как и желатин, обладает высокой гидрофильностью, что обеспечивает получение пленки, обладающей долговременной антибактериальной активностью [178]. Кроме того, сорбционная активность естественного или искусственного волокна по отношению к наночастицам серебра зависит от ряда факторов, прежде всего их размера, способа получения AgНЧ, свойств гелирующего агента. При этом шелк, представляющий собой волокно естественного происхождения, обладает значительно большей способностью сорбировать наночастицы серебра по сравнению с волокном искусственного происхождения (фторексом). Также следует отметить, что при длительной экспозиции волокон в изучаемых композициях на фоне десорбции сравнительно крупных (от 5 до 30 нм) наночастиц серебра выявлена высокая активность процесса их агрегации, что может снижать микробицидную и каталитическую активность AgНЧ.

3.2 Оценка выраженности сорбционной активности наночастиц серебра на биоразлагаемых волокнах естественного и искусственного происхождения.

Разработка новых методов получения наночастиц серебра остается одним из перспективных направлений развития различных направлений науки. Одним из перспективных направлений применения наночастиц серебра является медицинское применение [179, 180], как обладающие антивирусной и иммуномоделирующей активностью, в том числе при респираторной патологии ткани [181, 182]. Описанный эффект достигается как за счет фиксации AgНЧ к гликопротеинам вируса, благодаря чему блокируется проникновение вирусных частиц непосредственно в клетку, так и путем



активации нейтрофилов в легочной ткани. Антимикробная активность и цитотоксичность наночастиц серебра сильно варьируется в зависимости от физико-химических свойств полимера, используемого в качестве их носителя [183, 184]. Например, были получены данные об эффективности комплексного использования наночастиц серебра в процессе обработки волокон полиамида 6.6, что позволяло увеличить антибактериальную активность полученных образцов в отношении некоторых штаммов *S. aureus* и *E. coli*. [185]. При этом в одном из исследований было показано, что электромагнитное излучение деци- и нанометрового диапазона усиливает прикрепление наночастиц серебра на поверхности ультратонких полипропиленовых волокон, препятствуя агломерации AgНЧ и обеспечивая их стабилизацию на поверхности за счет формирования надмолекулярных структур, значительно повышающих в итоге микробицидную активность пленки [186]. Более того, при обработке биodeградируемого шовного материала наночастицами серебра, он не только сохраняет антибактериальную активность последних, но и ускоряет заживление ран, что дополнительно демонстрирует актуальность исследования сорбционной активности AgНЧ на поверхности ряда полимерных структур [185, 187], принимая во внимание определенные сложности за контролем течения раневого процесса при использовании отдельных видов перевязочного материала [188, 189].

Учитывая вышеизложенное, были проведены исследования взаимодействия AgНЧ, содержащих в качестве лиганда поливинилпирролидон, с биodeградируемыми полимерами, в том числе синтетическим, на основе полиамида 6.6 и естественного происхождения, состоящего преимущественно из коллагеновых волокон.

В ходе работы применяли наночастицы серебра официального средства «Аргогель», а также получали *ex tempore* AgНЧ для гелевой композиции А на основе желатина [190]. Концентрация препарата Аргогель в эксперименте соответствовала рекомендациям производителя. Гелевую композицию А изготавливали на основе водного раствора AgНЧ, полученного методом

кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления. Данный метод предполагает восстановление ионов серебра совместно с лигандом (поливинилпирролидон). При этом условием получения AgНЧ, обладающих необходимыми физико-химическими свойствами, являлось использование комплексного воздействия ультразвуковых волн (частота излучения 1,7 МГц) и ультрафиолетового излучения (длина волны 280-400 нм) при непрерывном перемешивании Ag-содержащего раствора в течение 1 часа. Далее полученный таким образом водный раствор был разбавлен дистиллированной водой до концентрации AgНЧ 5 мкг/мл, после чего при одновременном подогреве до 60 °С был добавлен раствор желатина (конечное содержание 0,9% [180]).

Для оценки полученных результатов использовали технические устройства и оборудование научно-образовательного центра «Центр коллективного пользования диагностики структур и свойств наноматериалов» ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет (г. Краснодар). Выраженность процесса сорбции наночастиц на поверхности биоразлагаемых волокон: полифиламентного синтетического материала («Капроаг»), состоящего из полиамида 6.6, и рассасывающегося шовного материала естественного происхождения из натуральной коллагеновой ткани («Кетгут»), проводили при помощи электронной микроскопии в режиме СОМРО. Электронная микроскопия исследуемых волокон была произведена через 1 час и 1 сутки инкубации отрезка длиной 1 см для каждого материала в соответствующем геле при температуре 25 °С. При подготовке всех образцов к выполнению электронной микроскопии производилась их лиофилизация.

С помощью электронной микроскопии установлено, что через 1 час экспозиции обоих исследуемых полимерных материалов в аргогеле на микрофотографиях имеется определенное соотношение различных размерных рядов AgНЧ для каждого типа биоразлагаемых волокон (рис. 3.7). При этом согласно полученным данным на микрофотографиях коллагеновых волокон преобладали наночастицы размерных рядов 1-10 нм и 25-40 нм (рис. 3.7А), в то время как на искусственных волокнах, состоящих из полиамида, было

выявлено преобладание наночастиц размером 25-40 нм и AgНЧ свыше 40 нм (рис. 3.7Б). Учитывая, что на микрофотографиях были в целом представлены все размерные ряды наночастиц, последнее может свидетельствовать об относительно равномерной сорбции AgНЧ из препарата аргогель в течение первого часа, и в большей мере это характерно для синтетического волокна капроаг.

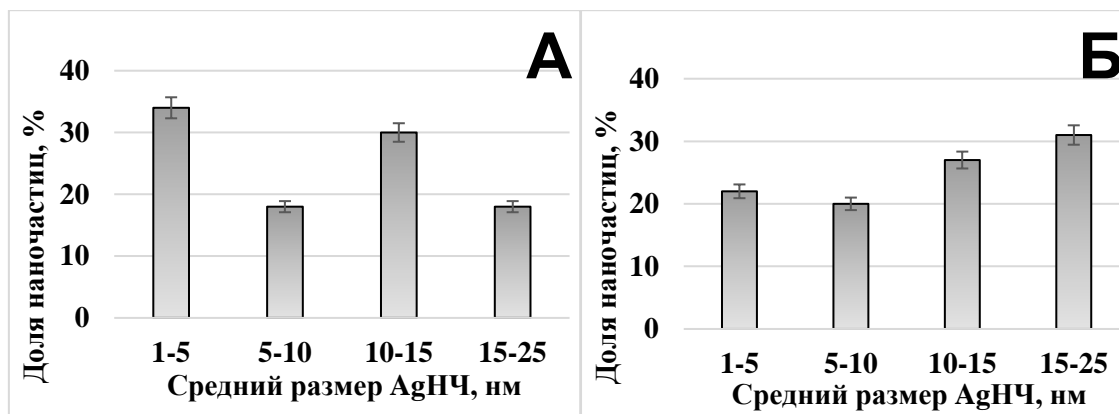


Рисунок 3.7 – Распределение наночастиц серебра по размерам, полученное при анализе электронной микрофотографии после экспозиции в аргогеле в течение 1 часа волокон кетгута (А) и капроага (Б)

Спустя сутки было отмечено существенное изменение соотношения разных размеров AgНЧ на микрофотографиях. Так, на поверхности кетгута по-прежнему преобладали AgНЧ размерного ряда 1-10 нм, в то время как количество AgНЧ других исследуемых размерных диапазонов существенно уменьшилось (рис. 3.8), что говорит о выраженной десорбции наночастиц размером свыше 10 нм. При этом наименее выраженная десорбция наблюдалась у наночастиц размером свыше 40, их количество снизилось с 18,8% лишь до 13,7% ( $p < 0,05$ ). На поверхности биоразлагаемых искусственных волокон спустя 24 часа экспозиции также было отмечено преобладание размерного диапазона 1-10 нм (рис. 3.8Б), однако снижение абсолютного количества AgНЧ прочих размерных диапазонов не было столь выраженным.

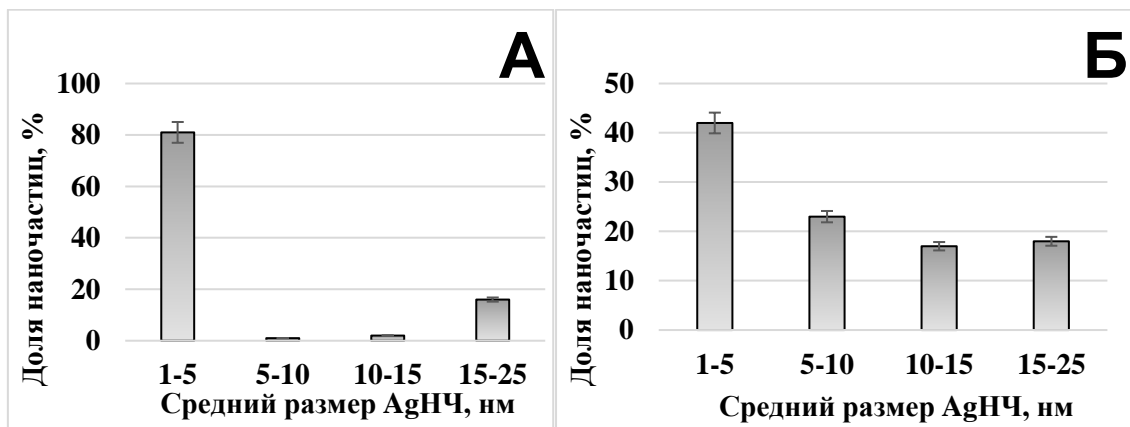


Рисунок 3.8 – Распределение наночастиц серебра по размерам, полученное при анализе электронной микрофотографии после экспозиции в аргогеле в течение 1 суток волокон кетгута (А) и капроага (Б)

При оценке результатов электронной микроскопии, полученных при исследовании искусственных волокон (капроага), прошедших экспозицию в гелевой композиции А, содержащей AgНЧ, в течение 1 часа было определено преобладание наночастиц размерных рядов 1-10 нм и 25-40 нм (рис. 3.9). Наблюдаемое распределение имеет сходные тенденции с результатами после экспозиции натуральных волокон кетгута в аргогеле, но следует отметить значительно меньшее количество AgНЧ размером свыше 40 нм (рис. 3.9Б).

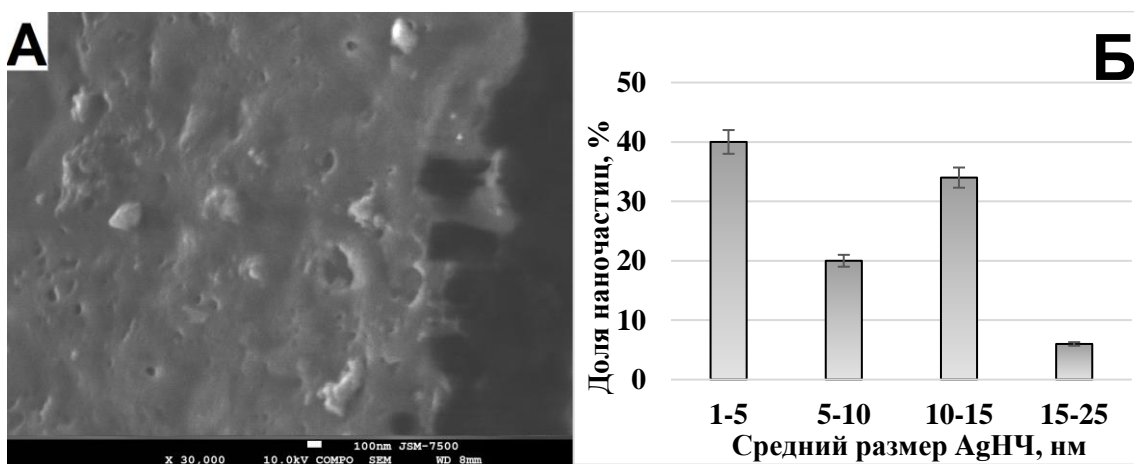


Рисунок 3.9 – Электронная микрофотография: волокна капроага при экспозиции в гелевой композиции А в течение 1 часа в режиме COMPO с

увеличением 30000 раз (А) и распределение наночастиц серебра по размерам, полученное при анализе изображения (Б)

При экспозиции кетгута в исследуемой гелевой композиции А в течение 1 часа были отмечены только крупные агломераты наночастиц серебра размером свыше 40 нм (рис. 3.10), что отчетливо видно даже при увеличении в 10000 раз (рис. 3.10).

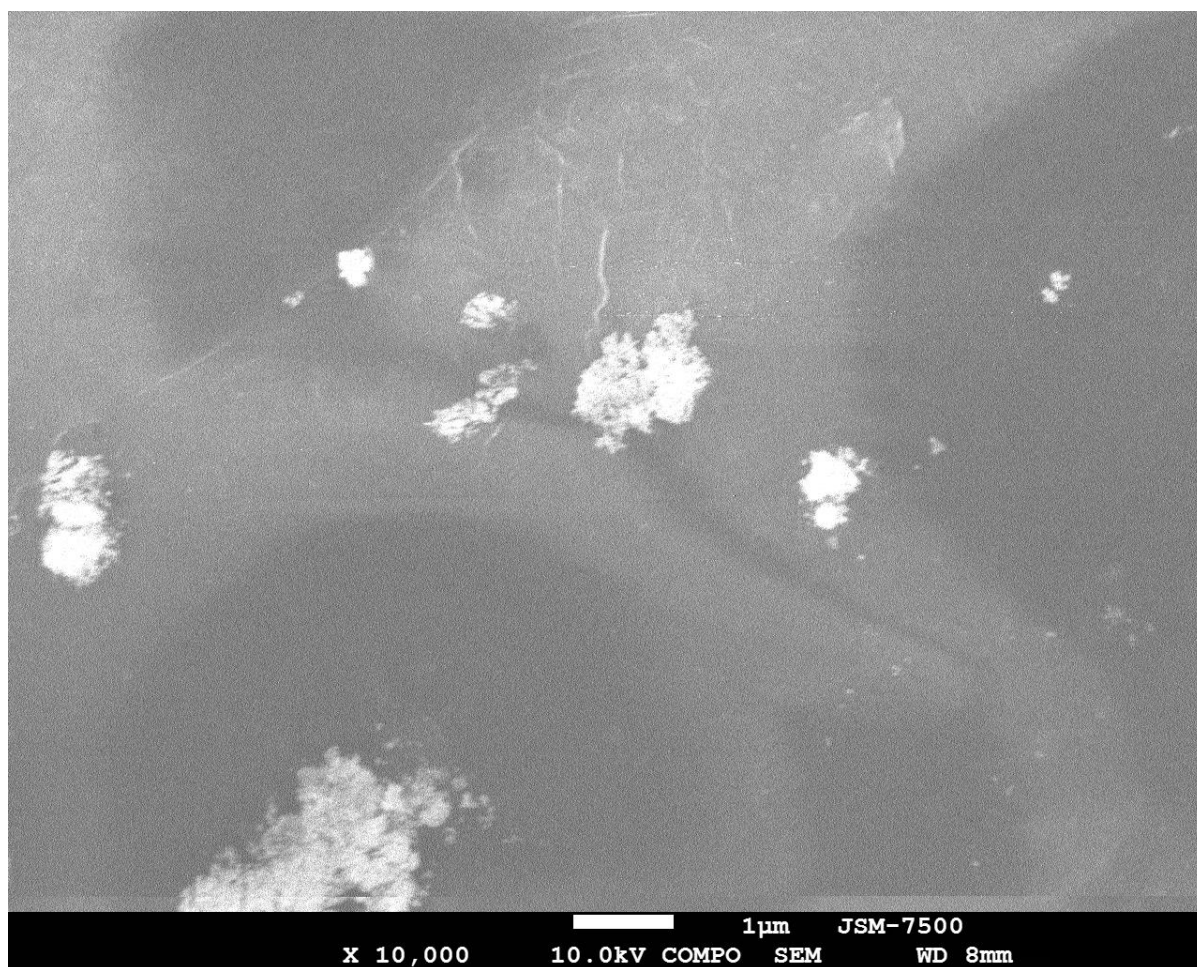


Рисунок 3.10 – Электронная микрофотография: волокна кетгута при экспозиции в гелевой композиции А в течение 1 часа в режиме COMPO с увеличением 10000 раз

Спустя 1 сутки инкубации в гелевой композиции А нами было определено следующее распределение наночастиц на биodeградируемых полимерах искусственного и естественного происхождения (рис. 3.11). При

этом на микрофотографиях волокон кетгута преобладали AgНЧ размерного диапазона 1-10 нм, а также появились наночастицы размером 10-40 нм (рис. 3.11А), в то время как количество наночастиц из преобладавшего ранее диапазона (свыше 40 нм) возросло более чем в 4 раза ( $p < 0,05$ ). Подобная динамика количества наночастиц серебра может свидетельствовать о значительной активности процесса сорбции AgНЧ из гелевой композиции А в течение 24 часов инкубации.

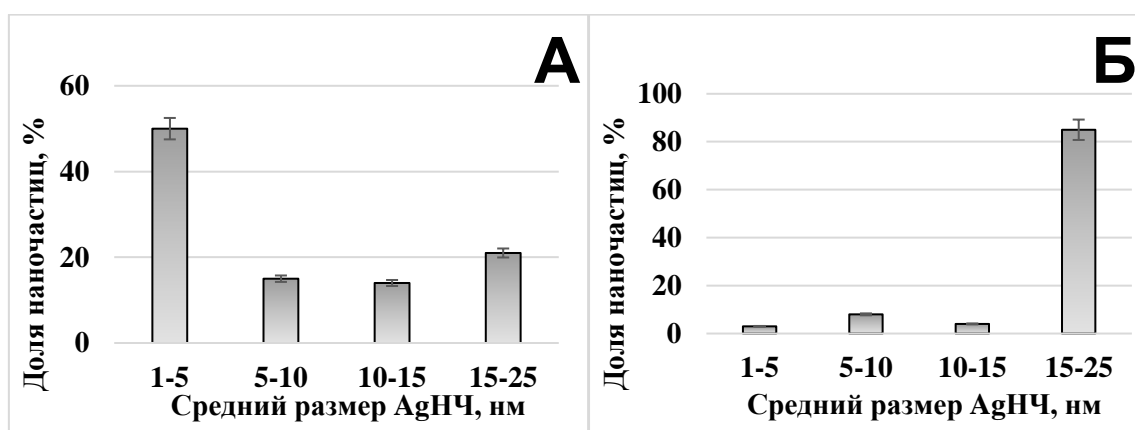


Рисунок 3.11 – Распределение наночастиц серебра по размерам, полученное при анализе электронной микрофотографии при экспозиции в гелевой композиции А в течение суток кетгута (А) и капроага (Б)

На микрофотографиях волокон капроага также выявлено увеличение количества AgНЧ свыше 40 нм, в то время как количество наночастиц прочих размерных диапазонов снизилось (рис. 3.11Б), что может свидетельствовать о выраженном процессе десорбции и возможной агломерации ранее сорбированных AgНЧ в течение первых суток экспозиции биodeградируемого полимера искусственного происхождения (рис 3.12).

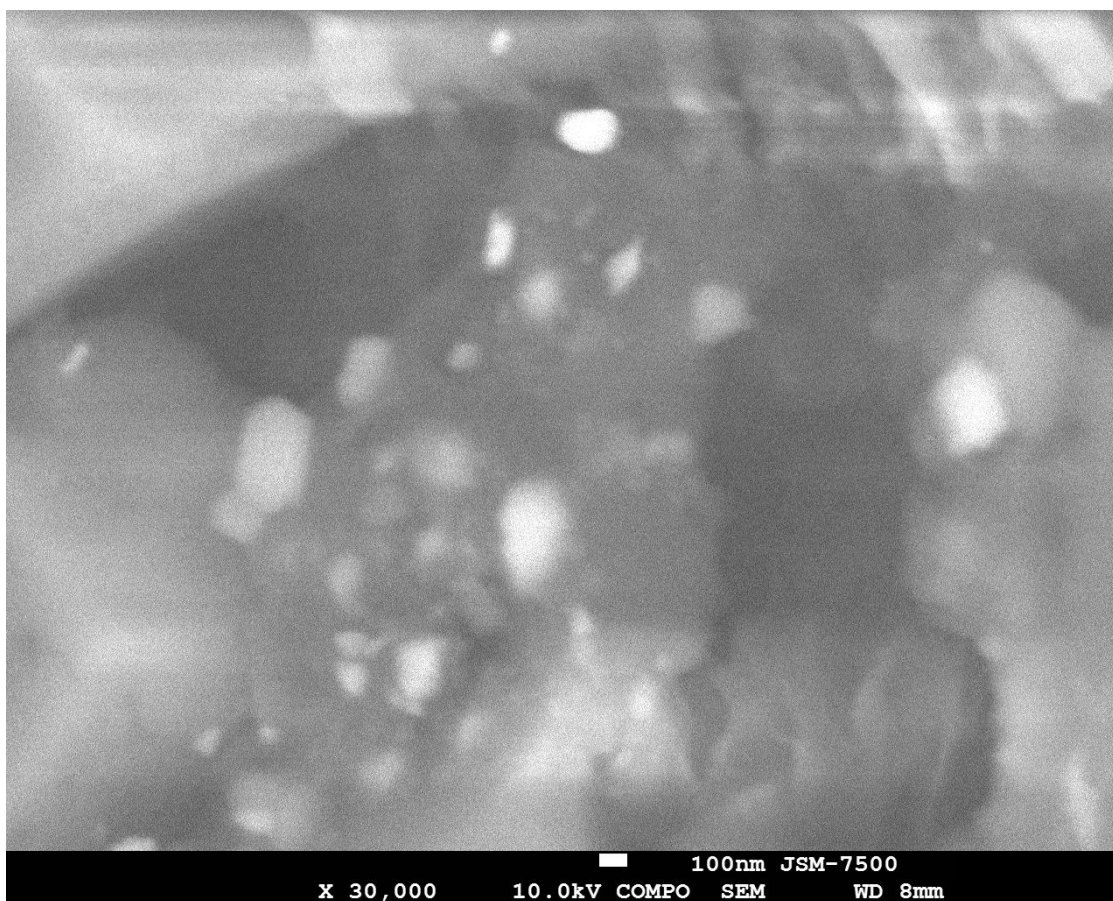


Рисунок 3.12 – Электронная микрофотография: волокна капроага при экспозиции в гелевой композиции А в течение суток в режиме COMPO с увеличением 10000 раз

Таким образом, полученные результаты указывают на различное сродство наночастиц серебра, содержащих в качестве лиганда поливинилпирролидон, к биodeградируемым полимерам синтетического (на основе полиамида 6.6) и естественного происхождения (состоящих из коллагена), что проявляется в неодинаковой скорости сорбции AgНЧ определенных размерных диапазонов в первый час инкубации, а также поразному выраженной их десорбции и агломерации в течение первых суток экспозиции этих материалов в обоих гелевых композициях.

Волокна естественного происхождения более активно сорбируют (в 3,3 раза,  $p < 0,05$ ) в течение 1 часа наночастицы серебра малого (от 1 до 10 нм) размерного диапазона и сильнее удерживают данные AgНЧ (на 4,5%,  $p < 0,05$ )

в течение первых суток при экспозиции их в аргогеле по сравнению с искусственными биodeградируемыми полимерами.

В свою очередь при инкубации этих же материалов в гелевой композиции, содержащей наночастицы Ag, полученные методом кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления, в первый час выявлена более высокая сорбционная активность последних (от 1 до 10 нм) по отношению к полифиламентному синтетическому материалу в сравнении с кетгутом, тогда как через 24 часа экспозиции наблюдалось значительное возрастание доли AgНЧ (до 50%,  $p < 0,05$ ) на коллагеновых волокнах, что превышало аналогичные показатели капроага на 46,4% ( $p < 0,05$ ). При этом через 24 часа относительное количество наночастиц размером свыше 40 нм в большей степени возрастало на поверхности искусственного биodeградируемого волокна, превышая аналогичные показатели содержания крупных AgНЧ на кетгуте более чем в 19 раз ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, полученные данные говорят о большем взаимодействии различных по происхождению наночастиц серебра с функционализированной поверхностью коллагенового волокна, что, возможно, обусловлено повышенным сродством AgНЧ к карбоксильным, гидроксильным, карбонильным и первичными аминогруппам, а также азотсодержащим гетероциклическим боковым радикалам аминокислот, входящих в состав полипептидной цепи коллагена. Подобные их взаимодействия значительно замедляют процесс десорбции и, видимо, агрегации малых AgНЧ, что позволяет получить наночастицы наиболее приемлемого размерного диапазона (до 10 нм) для достижения ожидаемого микробицидного эффекта [191, 192]. В то же время использование синтетических полимеров на основе полиамида 6.6 для создания функционализированных антимикробных материалов целесообразно только при короткой (до 1 часа) экспозиции их в гелевой композиции (содержащей AgНЧ, полученные методом кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления), так как при данных условиях применение биоразлагаемых



волокон естественного происхождения представляется менее эффективным из-за содержания на их поверхности исключительно агломератов размером свыше 40 нм.

3.3 Оценка выраженности сорбционной активности наночастиц серебра при циклическом изменении температуры на биоразлагаемых волокнах естественного и искусственного происхождения.

Разработка технологий, позволяющих получать наноматериалы, содержащие серебро, с контролируемыми размерами и текстурой представляет существенный интерес для разных областей науки и техники, что обусловлено рядом особых свойств наночастиц серебра (AgНЧ), способных, например, повышать резистентность различных материалов, при неблагоприятном воздействии среды [193], проявлять микробицидное действие без оказания видимого отрицательного влияния на организм человека [194-197], а также обладающих многими другими полезными эффектами, используемыми в производстве различных высокотехнологичных устройств [199-203].

Наночастицы серебра (AgНЧ) нашли применение во многих областях промышленности и медицине [193-195], последнее наиболее перспективно в случаях контаминации полирезистентными штаммами микроорганизмов, особенно при сочетанном использовании AgНЧ и современных способов доставки наночастиц в инфицированные участки [196, 197]. Данная ситуация обусловлена физико-химическими и биологическими свойствами подобных наночастиц, в связи с чем благодаря их высокой бактерицидной, фунгицидной и противовирусной активности они все шире используются для придания антимикробных свойств раневым повязкам, шовному материалу, различным медицинским полимерам [194-195].

Одним из направлений проводимых исследований является придание антисептических свойств полимерным изделиям на основе полипропилена. Выбор полимера обусловлен его биоинертностью и хорошими механическими свойствами. Согласно результатам ряда исследований, использование AgНЧ в

составе полипропилена позволяет не только сохранить антибактериальные свойства наночастиц, но и улучшить упругость и ударную вязкость полимера [204].

Одним из направлений проводимых исследований является придание антисептических свойств полимерным изделиям на основе полипропилена. Выбор полимера обусловлен его биоинертностью и хорошими механическими свойствами. Согласно результатам ряда исследований, использование AgНЧ в составе полипропилена позволяет не только сохранить антибактериальные свойства наночастиц, но и улучшить упругость и ударную вязкость полимера [204, 205].

Известно, что микробицидный эффект обусловлен главным образом ионами серебра, которые имеют широкий антибактериальный спектр. При этом появление штаммов бактерий с лекарственной устойчивостью, как происходит со множеством антибиотиков, гораздо менее вероятно. Однако ионы серебра ( $\text{Ag}^+$ ), связываясь в организме с галогенид-ионами, прежде всего хлоридами ( $\text{Cl}^-$ ), выпадают в нерастворимые кристаллы, а, следовательно, их бактерицидная активность в экссудате резко снижается. Поэтому, чтобы преодолеть эти препятствия, в качестве антимикробных компонентов синтезируют и применяют *in vivo* AgНЧ, которые, взаимодействуя с матриксом, выделяют ионы серебра с поверхности сформированных наноструктур в течение длительного времени. В зависимости от удельной поверхности наноматериалов ионы серебра высвобождаются с разной скоростью, а небольшие AgНЧ, диаметром 10 нм и менее, помимо бактерицидной активности, могут проявлять и антивирусный эффект. В связи с чем, благодаря этим характеристикам наночастицы являются полезными составляющими разного рода противoinфекционных средств, создание, синтез и применение которых представляют собой актуальную задачу ряда научных областей [194, 195, 206].

Ранее было показано, что перепад температур способствует усилению процессов коалесценции наночастиц серебра с формированием крупных

агломератов и частиц металлического серебра [207-209]. Таким образом, при усилении агрегации наночастиц происходит уменьшение их удельной площади, что негативно сказывается на их физико-химических свойствах и способствует, в том числе, снижению их антибактериальной активности. В то же время изменение температур и чередование циклов заморозки и разморозки может вызывать образование однородных наноструктур, состоящих, в том числе из наночастиц серебра [210]. Формирование подобных гомологичных наноструктур на поверхности полимера может представлять интерес для получения специализированных нанокомпозитов с новыми функциональными особенностями (например, с выраженной гидрофобностью, механической прочностью, или термостойкостью [211]). Например, применение модифицированных алкантиолами наночастиц серебра позволяет значительно повысить селективность и активность используемых сорбентов с заданной наноструктурой [212], а формирование тонких гибридных пленок, полученных посредством термической обработки наночастиц в водном растворе путем восстановления нитрата серебра с помощью N,N-диметилформаида, значительно усиливает их электропроводность [213]. В целом, внедрение AgНЧ в состав различного рода наноматериалов, может существенно расширять область их использования.

Также имеются данные о более выраженном росте наночастиц серебра в условиях выполнения циклической заморозки и оттаивания [214]. Наблюдаемое при температурной обработки усиление процессов формирования наноструктур и повышение активности коалесценции наночастиц серебра используется для получения гидрогелей на основе хитозана [215, 216] и обосновывает целесообразность изучения процессов формирования наноструктур на основе AgНЧ на поверхности различных полимеров в условиях циклической заморозки.

Модификация медицинского полипропилена наночастицами серебра позволяет повысить прочность композита. Кроме того, добавление наночастиц на длительный срок в полимерные матрицы приводит к увеличению

содержания  $\beta$ -кристаллов в кристаллической фазе полипропилена и общему повышению прочности поверхности, что может свидетельствовать о возможности использования подобных композитов в медицинской практике [193]. Нанесение AgНЧ на поверхность полипропиленовой пленки не только не сопровождается снижением антибактериальной активности нанокompозитов, но и, в некоторых случаях, способствует увеличению их антимикробных свойств за счет высвобождения реагирующих с кислородом частиц и усиления диффузии ионов серебра [217, 218].

Коллагеновые нити в качестве рассасывающегося шовного материала естественного происхождения активно используются в современной медицинской практике, в том числе в пластической хирургии, стоматологии, гинекологии [200, 202, 220]. По своей структуре этот материал (кетгут) представляет собой полученные из подслизистой основы крупного рогатого скота волокна из коллагена, которые, помимо, описанного выше применения могут быть использованы и для изготовления раневых покрытий, повязок, кожных трансплантатов [221], что обеспечивается не только возможностью фармакологической модификации обычного кетгута для создания эффективной фиксации лекарственных средств с последующим замедленным высвобождением нековалентно связанных фармпрепаратов в раневой области, но и существованием различных типов коллагеновых волокон, качественно отличающихся между собой благодаря разной степени обработки их поверхности [222-223].

Известно, что в процессе получения модифицированного кетгута может выполняться дополнительный этап его полировки, позволяющий снизить так называемый "пилящий эффект" волокна путем уменьшения неровностей на ее поверхности, обеспечивая тем самым менее травматическое прохождение нити через сшиваемые ткани. Подобная обработка способна также повышать сорбцию наночастиц при нанесении на полированную поверхность, что было продемонстрировано на примере соединений титана и приводило к возрастанию антибактериальной активности обработанных

имплантов в отношении *Staphylococcus epidermidis* и *Escherichia coli* [224]. Кроме того, при нанесении даже незначительного количества (около 1%) наночастиц серебра (AgНЧ) на полированную поверхность кремниевой пластины, свойства последней могут значительно изменяться [225], что указывает на высокую эффективность использования подобных наночастиц при модификации различных материалов [226, 227]. Одним из дополнительных факторов, существенно влияющим на процесс сорбции и формирование AgНЧ на поверхности разных материалов, является использование низких температур [209, 214].

Исходя из вышеизложенного, в данном разделе было проведено изучение сорбционной активности различных по происхождению наночастиц серебра на шовном материале, состоящем из органических и неорганических волокон, при циклической заморозке.

В процессе выполнения эксперимента были использованы свежеприготовленные наночастицы серебра, полученные методом кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления. Метод предусматривает восстановление ионов серебра в присутствии поливинилпирролидона в условиях непрерывного перемешивания, а также комплексного совместного воздействия ультрафиолетового излучения (длина волны 280-400 нм) и ультразвуковых волн (частота излучения 1,7 МГц) в течение 60 минут. Затем полученный водный раствор наночастиц серебра разбавляли дистиллированной водой до концентрации наночастиц 5 мкг/мл, после чего при подогреве до 60°C вносили желатин, конечная концентрация которого составила 0,9% [228].

Для оценки процессов коалесценции и линейной агрегации наночастиц были использованы волокна гомополимера гликолевой кислоты, представленные шовным материалом «Дексон», полиэфирные нити с покрытием из фторполимеров, представленные шовным волокном «Фторекс», волокна полипропилена представленные шовным волокном «Монофил», волокна полиэфира этиленгликоля и терефталевой кислоты представленные

шовным волокном «Полиэстер», волокна коллагена «Кетгут» метрического размера 2.0, производства фирмы «Волоть».

Шовные материалы были разделены на отрезки длиной до 1 см, после чего отрезки погружали в полученный гель на 24 часа. Затем отрезки извлекали и проводили 10-кратный цикл заморозки/оттаивания, предусматривающий последовательное чередование глубокой заморозки до  $-37^{\circ}\text{C}$  и последующего повышения температуры до  $0^{\circ}\text{C}$ . Продолжительность экспозиции в обеих температурных точках составляла 24 часа. Для оценки состояния наночастиц на поверхности полимерных волокон выполняли электронную микроскопию в режиме СОМРО с увеличением 5000 и 30 000 при помощи оборудования научно-образовательного центра «Центр коллективного пользования диагностики структур и свойств наноматериалов» ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет (г. Краснодар).

Исследование активности сорбции/десорбции/агрегации наночастиц серебра проводили на основе анализа электронных микрофотографий. Электронную микроскопию выполняли на растровом электронном микроскопе JEOL-7500F (JEOL, Япония) с полевым эмиссионным катодом при ускоряющем напряжении 10 кВ, в режиме детектирования отраженных электронов (СОМРО) с увеличением 30 000 («Центр коллективного пользования диагностики структур и свойств наноматериалов» ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, г. Краснодар [229]). Обработку полученных экспериментальных данных проводили с помощью методов вариационной статистики. Оценку достоверности найденных отличий между показателями AgНЧ на разных волокнах и в различных размерных диапазонах проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни при парных сравнениях и H-критерия Краскела — Уоллиса для множественных выборок. Полученные в исследовании данные выражали в виде медианы и процентилей (P25 и P75), достоверными полагали различия при  $p < 0,05$ .

При оценке электронных фотографий было установлено существенное преобладание (в 2–2,5 раза) на поверхности волокон шовного материала,

состоящего из гомополимера гликолевой кислоты, наночастиц серебра размером свыше 40 нм (Рис. 3.13).

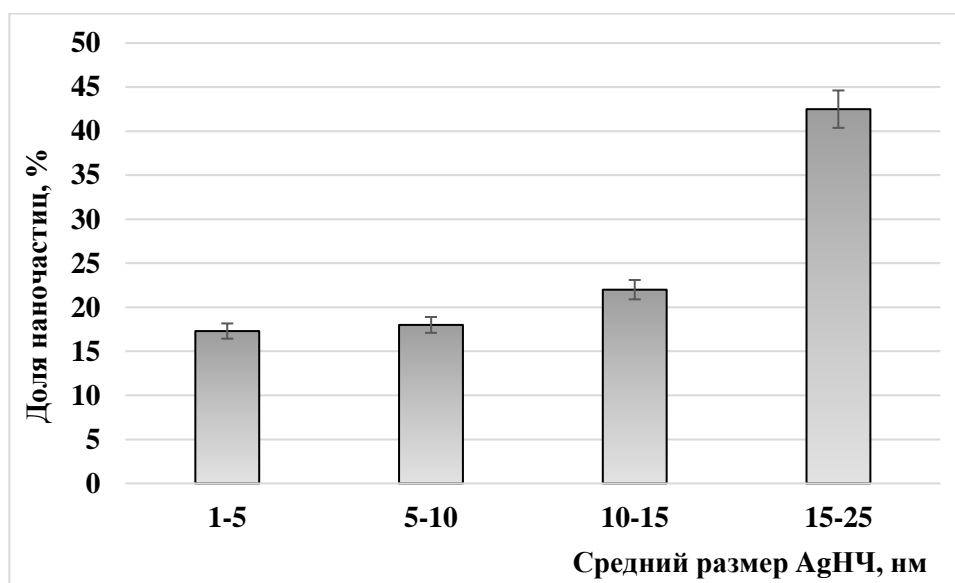


Рисунок 3.13 – Распределение наночастиц серебра по размерам, полученное при анализе электронных микрофотографий волокна дексон, после температурной обработки методом 10-кратной заморозки/разморозки.

Необходимо отметить, что после температурной обработки размер наночастиц серебра немного колеблется в пределах размерного диапазона от 40 до 50 нм (рис. 3.14), в то время как другие выявленные размерные диапазоны были представлены примерно тем же количеством AgНЧ, что и до проведения циклической заморозки. При этом, за счет выполнения описанной выше температурной обработки, в целом удалось избежать прогрессивного слияния наночастиц с формированием существенно более крупных агломератов, которые нередко наблюдаются в подобных экспериментах без обеспечения воздействия отрицательных температур [230].

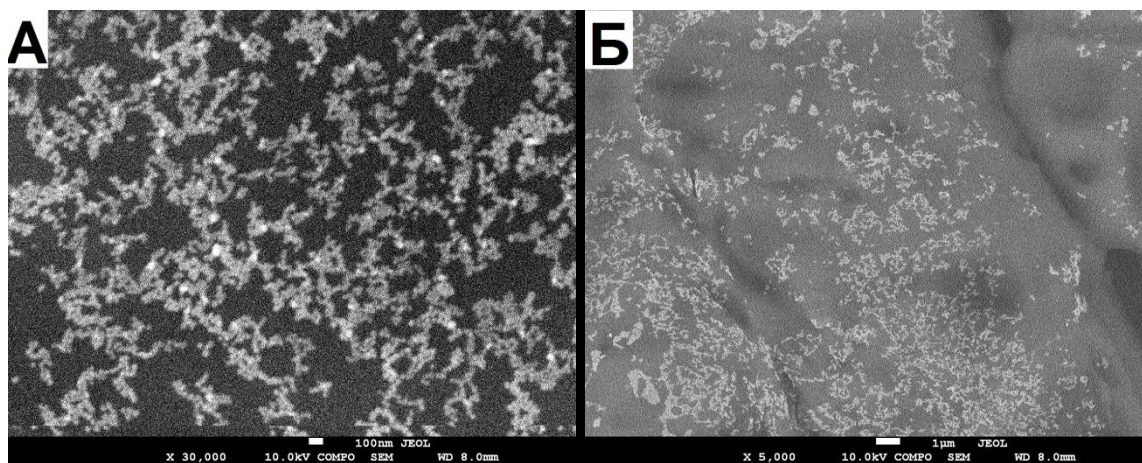


Рисунок 3.14 – Электронные микрофотографии волокна дексон после температурной обработки методом 10-кратной заморозки/разморозки при увеличении в 30 000 раз (А) и 5 000 раз (Б).

При этом вместо ожидаемого появления крупных агломератов наночастиц серебра, в составе которых невозможно выделить отдельные наночастицы, наблюдалось образование ряда агрегатов, состоящих из отдельных наночастиц преимущественно линейной формы, суммарной длиной до 500 нм (рис. 3.14), что согласуется с литературными данными, свидетельствующими о возможности «сшивания» (методом «cross-linking») крупных молекул и наночастиц серебра с формированием сложных иерархических структур, например, нанокомпозитного гидрогеля, включающего в свой состав графен, биосовместимый поливиниловый спирт, самоклеящийся полидопамин и AgНЧ [231]. Подобный гидрогель, содержащий наноструктуры с серебром, проявляет высокую антибактериальную активность в отношении типичных патогенных микроорганизмов, в том числе грамотрицательных (*Escherichia coli*) и грамположительных (*Staphylococcus aureus*). Следует подчеркнуть, что аналогичные антибактериальные, теплопроводные и прочные нанокомпозитные гидрогели, пригодные для повторного применения, чрезвычайно перспективны к использованию в биомедицинских изделиях [231]. Необходимо отметить, что образование подобных наноструктур связано не только со способом температурной обработки материала, но и с физико-



химическими свойствами самого исследуемого волокна, в том числе наличием в составе дексона карбонильных групп и кислорода сложноэфирной группы, способных взаимодействовать с AgНЧ.

Для сравнения и последующей оценки эффективности температурной обработки волокон методом циклической заморозки нами были исследованы волокна шовного материала фторекс, состоящего из полиэфирных нитей с покрытием из фторполимеров и содержащего другие функциональные группы: трифторметильную, дифторметиленовую и фторметиновую. В предыдущих исследованиях было продемонстрировано, что спустя одни сутки экспозиции данного волокна в гелевой композиции без воздействия отрицательных температур, на его поверхности появлялись крупные агломераты наночастиц. Тогда как после проведения 10 циклов заморозки/разморозки было отмечено преобладание сравнительно малых по размеру наночастиц диаметром от 1 до 5 нм (рис. 3.15), которые в несколько раз превосходили относительное количество AgНЧ других размерных диапазонов: 10–25 нм (в 2,1 раза), 25–40 нм (в 4,3 раза), >40 нм (в 2,8 раза).

Свойства полученных агломератов зависят не только от вида и методики синтеза исходных наночастиц серебра, но также они определяются уникальными свойствами полимера, на поверхности которого происходит формирование наноструктуры [232], что позволяет говорить об избирательной активности процессов коалесценции и линейной агрегации наночастиц серебра на поверхности полимеров различной химической природы в условиях циклического изменения температур. Возможно, указанный эффект связан с модификацией поверхностных свойств наночастиц, что препятствует их слиянию и образованию более крупных агломератов [209].

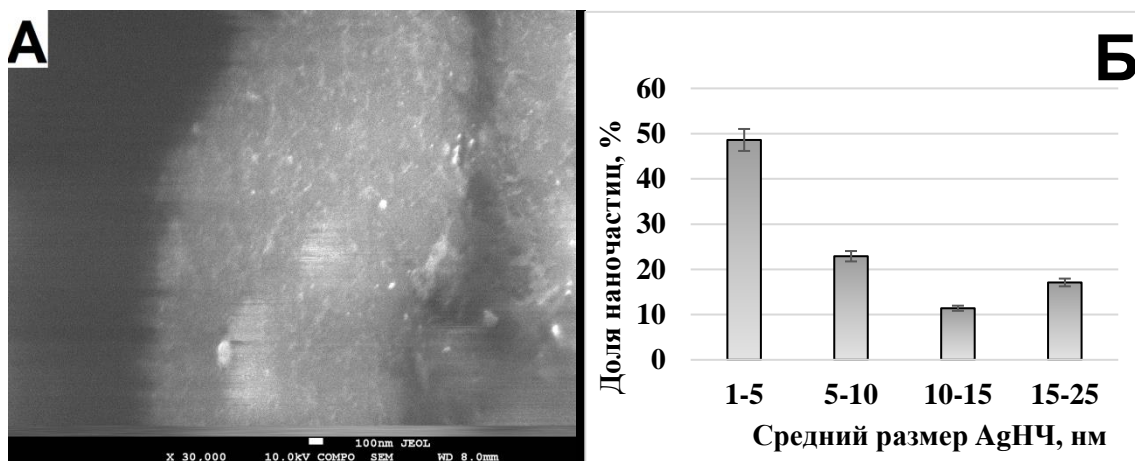


Рисунок 3.15 – Электронная микрофотография волокна фторекс после 10-кратной температурной обработки методом заморозки/разморозки в режиме COMPO с увеличением 30000 раз (А) и распределение наночастиц серебра по размерам, полученное при анализе изображения (Б).

Необходимо указать, что на поверхности данного волокна также присутствовало большое количество наночастиц диаметром свыше 40 нм (например, в 1,5 раза больше, чем относительное количество AgНЧ диаметром 25–40 нм, рис. 3), хотя при этом и не происходило образования агломератов линейной формы, подобных тем, которые выявлялись при электронной микроскопии волокон гомополимера гликолевой кислоты в ходе данного исследования и были описаны ранее на поверхности дексона (рис. 3.14).

Анализ полученных микрофотографий позволил выявить увеличение общего количества AgНЧ после выполнения циклической заморозки/разморозки на поверхности шовного материала Монофил на основе полипропилена (рис. 3.16), однако при сравнительном анализе количества наночастиц различных размерных диапазонов были выявлены существенные различия их образования и расположения на волокне после воздействия минусовой температуры.

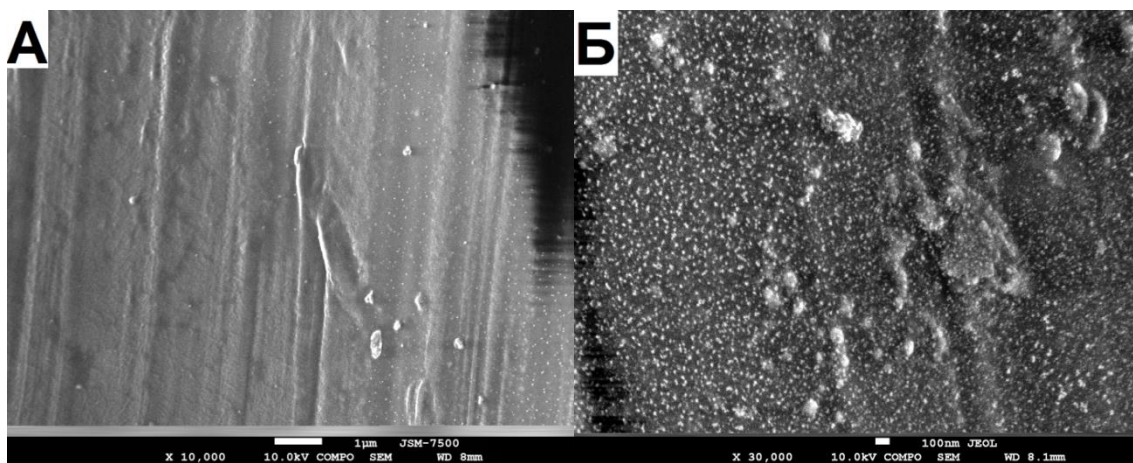


Рисунок 3.16 – Электронные микрофотографии шовного материала монофил на основе полипропилена до выполнения циклической заморозки при увеличении в 10 000 раз (А) и после при увеличении в 30 000 раз (Б).

Наблюдаемые изменения характеризовались тем, что при значительном увеличении количества наночастиц серебра размером 1-10 нм (в 8,8 раза) и частиц размером свыше 40 нм (в 3,8 раза), было отмечено увеличение количества наночастиц размером 25-40 нм на 44,0% и снижение среднего количества AgНЧ размером 10-25 нм на 20,2% (рис. 3.17). Таким образом, установленное увеличение количества небольших, наиболее функциональных наночастиц серебра, сопровождалось уменьшением количества наночастиц средних размеров. Подобная динамика может свидетельствовать об активной сорбции на поверхности волокон наночастиц малого размера, сопровождающейся частичной десорбцией частиц среднего размерного диапазона. Несмотря на увеличение общего количества наночастиц свыше 25 нм их относительное количество остается небольшим, что практически исключает возможную агрегацию наночастиц серебра, либо свидетельствует об активной десорбции сравнительно крупных Ag-содержащих частиц.

При анализе микрофотографий волокон полиэфира отмечено возрастание общего количества наночастиц серебра. Выявлено увеличение в 1,8 раза среднего количества крупных частиц свыше 40 нм и в 3,3 раза наночастиц в пределах 25-40 нм (рис. 3.18А).

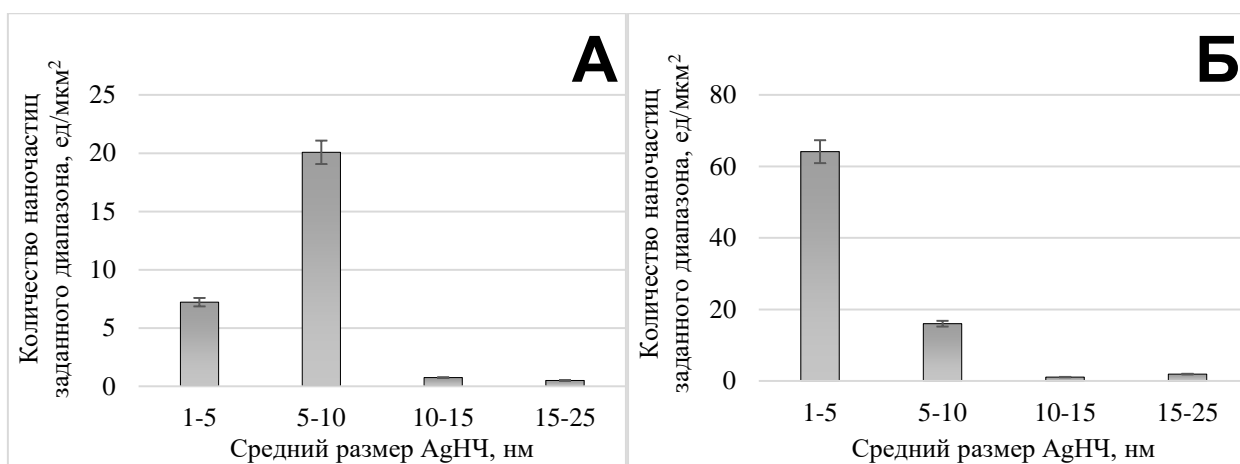


Рисунок 3.17 – Распределение наночастиц серебра по размерам на поверхности полипропиленовых волокон до выполнения циклической заморозки (А) и после (Б).

Сравнительно меньшие AgНЧ размером менее 25 нм без выполнения температурной обработки на поверхности полиэстера практически отсутствовали, и подавляющее количество AgНЧ было представлено крупными агломератами, которые достигали размера свыше 40 нм (некоторые из них были даже до 100 нм, рис. 3.18Б).

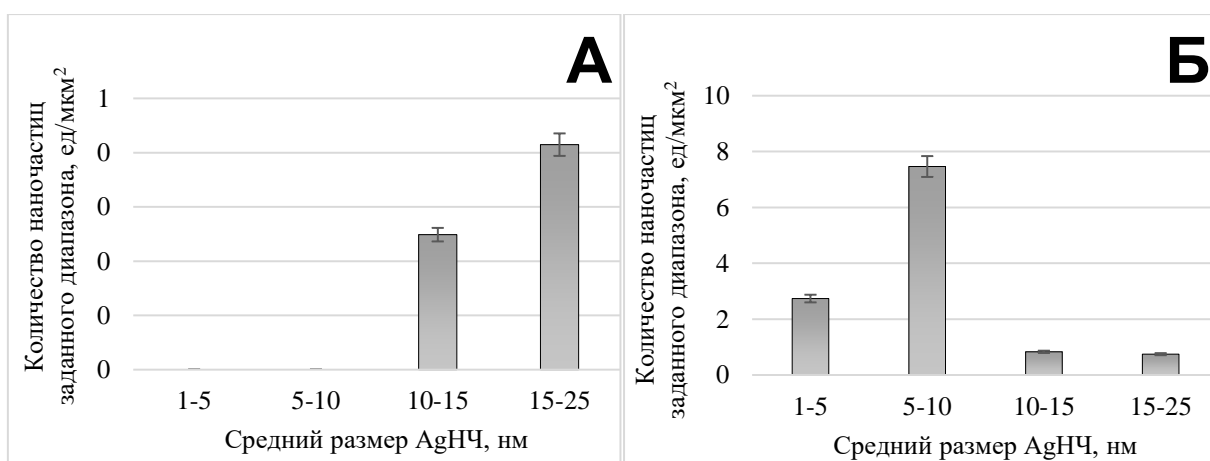


Рисунок 3.18 – Распределение наночастиц серебра по размерам на поверхности полиэфирных волокон до выполнения циклической заморозки (А) и после (Б).

Если оценить динамику сравнительно более крупных наночастиц диаметром свыше 25 нм, то на поверхности полиэфирных волокон наблюдались те же изменения, что и на поверхности полипропилена. Несмотря на возрастание таких наночастиц, их количество оставалось относительно небольшим, что может свидетельствовать об отсутствии активных процессов десорбции средних и крупных AgНЧ с поверхности исследуемых полимерных волокон. При этом количество наночастиц размером менее 25 нм после циклической заморозки существенно возрастает, причем это в равной степени характерно как для малых (1-5 нм), так и для средних AgНЧ, что указывает на их активную сорбцию на поверхности волокна в процессе данной температурной обработки.

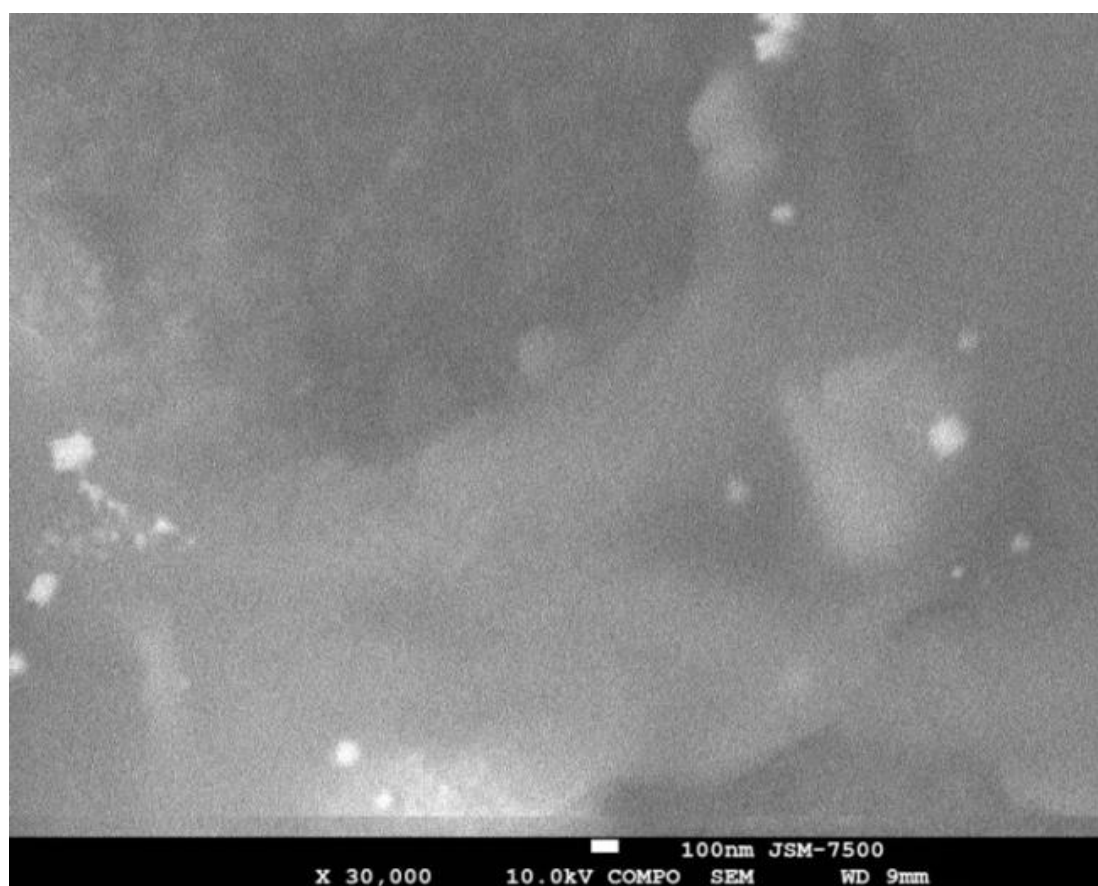


Рисунок 3.19 – Электронная микрофотография шовного материала полиэстер на основе полиэфирных волокон до выполнения циклической заморозки при увеличении в 30 000 раз.

При анализе микрофотографий, полученных в ходе исследования коллагеновых волокон, обработанных гелевой композицией с AgНЧ, которые были синтезированы методом кавитационно-диффузионного восстановления, установлено, что наибольшее количество наночастиц находится в диапазоне от 1 до 5 нм (рис. 1,  $p=0,0005$ ). При этом количество AgНЧ размером от 6 до 10 нм оказалось на 69,6% ниже, а медианы остальных размерных рядов характеризовались еще более выраженными отличиями, количественно уступая диапазону от 1 до 5 нм в различной степени: минимум на 86,5 % (для размерного ряда свыше 40 нм) и максимум на 92,6% (для размерного ряда от 31 до 40 нм, рис. 3.20).

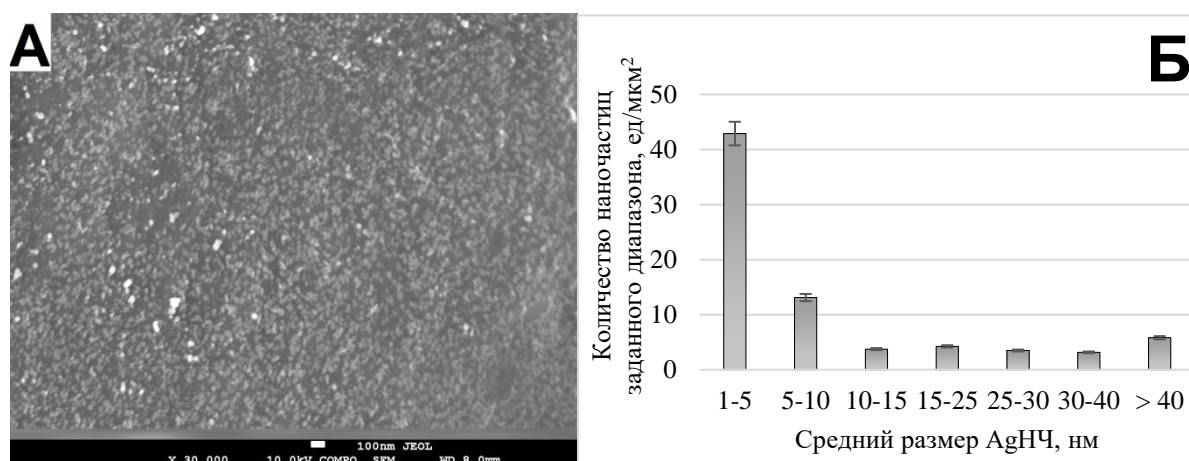


Рисунок 3.20 – Пример электронной микрофотографии полированного кетгута после температурной обработки методом 10-кратной заморозки/разморозки с увеличением в 30 000 раз при использовании разработанной гелевой композиции (А); дисперсия AgНЧ на электронных микрофотографиях в зависимости от размера наночастиц (Б).

Примечание: \* –  $p<0.05$ , в сравнении с аналогичным размерным диапазоном при использовании препарата Аргогель (рис. 3.21Б).

Анализ электронных микрофотографий полированных коллагеновых волокон, обработанных препаратом аргогель, позволил выявить в 1,74 раза большее количество образовавшихся наночастиц серебра (рис. 3.20,  $p<0,05$ ), хотя их распределение по размерным диапазонам существенно отличалось.

При этом больше всего обнаружено AgНЧ средних размеров, диаметром от 16 до 25 нм ( $p < 0,00047$ ), в то время как количество наночастиц меньших размерных диапазонов было значительно ниже: на 62,1% в ряду от 1 до 5 нм, на 48,9% в ряду от 6 до 10 нм, на 57,4% в ряду от 11 до 15 нм (рис. 3.20). По мере увеличения размерного диапазона наночастиц свыше 25 нм наблюдается еще более низкое их содержание (на 69,6 – 83,2 % меньше,  $p < 0,00047$ ).

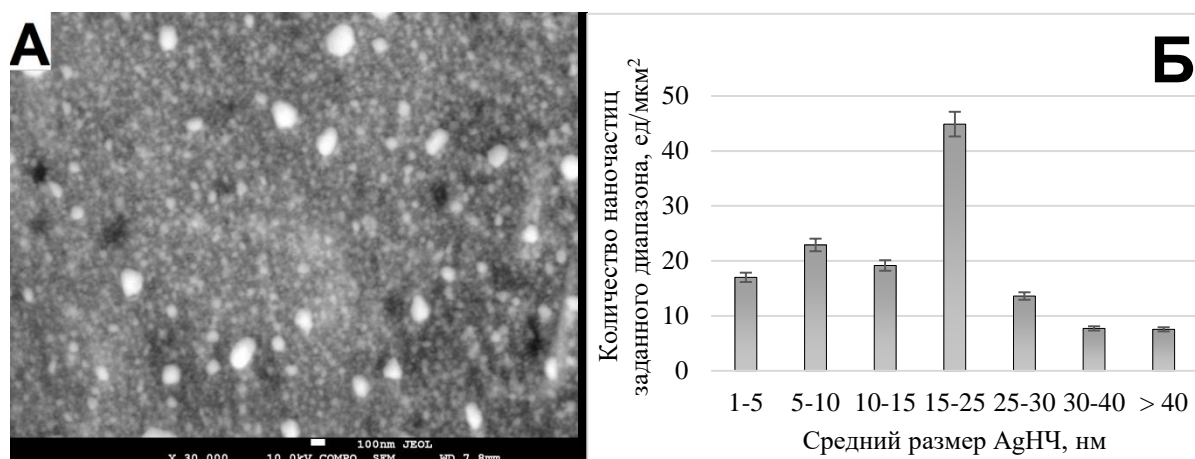


Рисунок 3.21 – Пример электронной микрофотографии полированного кетгута после температурной обработки методом 10-кратной заморозки/разморозки с увеличением в 30 000 раз при использовании Аргогеля (А); дисперсия AgНЧ на электронных микрофотографиях в зависимости от размера наночастиц (Б).

Необходимо отметить, что количественные различия между сорбированными полированным кетгутом AgНЧ при использовании разработанной гелевой композиции и препарата аргогель были достоверными в размерных рядах от 1 до 30 нм. Так, в диапазоне от 1 до 5 нм количество наночастиц, полученных после обработки кетгута гелевой композицией, было на 152,3% выше ( $p = 0,0249$ ), чем после инкубации коллагеновых волокон в аргогеле (рис. 3.14, рис. 3.15); тогда как в диапазонах от 6 до 10 нм, от 11 до 15 нм, от 16 до 25 нм и от 26 до 30 нм в свою очередь было больше AgНЧ уже после обработки полированного кетгута аргогелем: на 75,2% ( $p = 0,0151$ ), 414,5% ( $p < 0,004$ ), 959,8% ( $p = 0,0039$ ) и 291,2% ( $p < 0,01$ ) соответственно. При

анализе размерных рядов от 30 до 40 нм ( $p=0,0649$ ) и свыше 40 нм ( $p>0,17$ ) достоверных отличий в количестве сорбированных AgНЧ в зависимости от примененной для обработки коллагеновых волокон гелевой композиции не установлено.

Кроме того, необходимо отметить, что на отдельных электронных микрофотографиях полированных коллагеновых волокон была выявлена агломерация наночастиц (рис. 3.22).

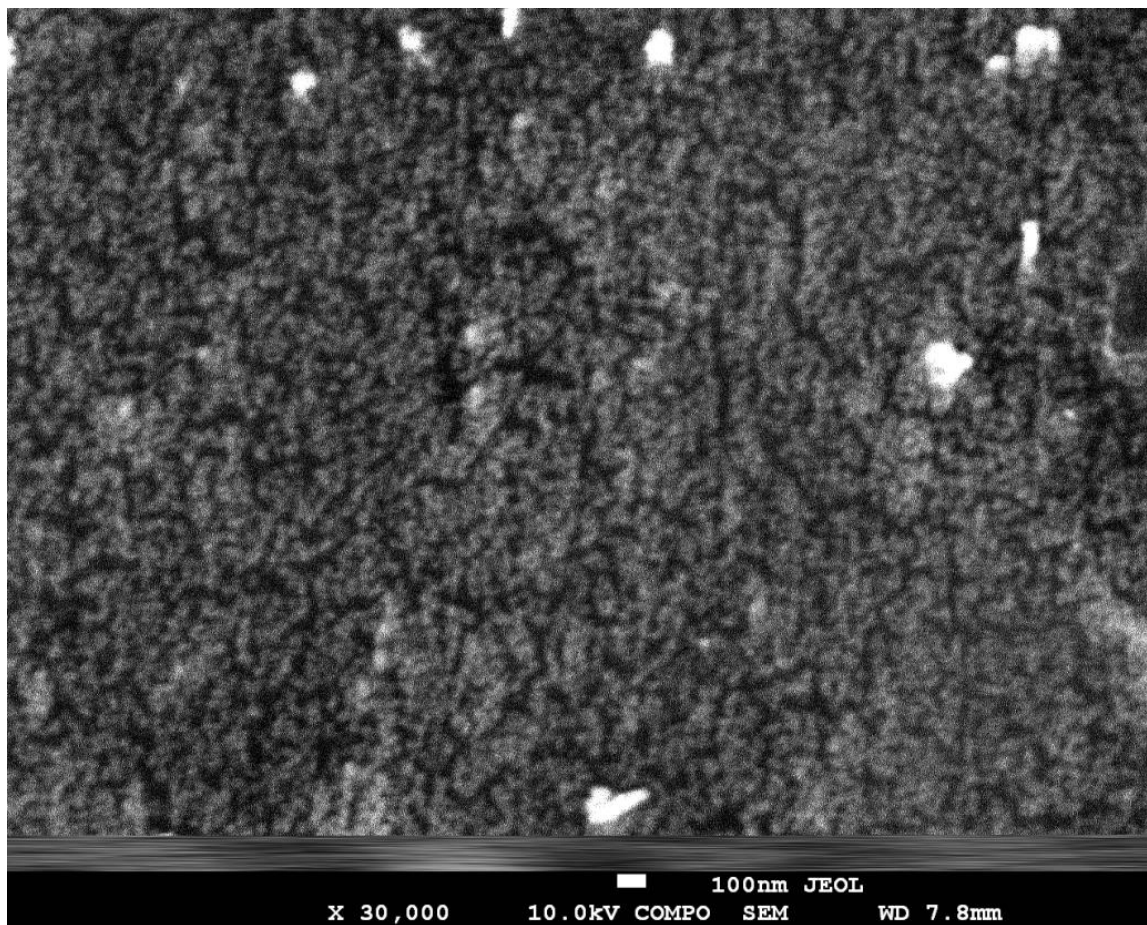


Рисунок 3.22 – Электронная микрофотография полированного кетгута после температурной обработки методом 10-кратной заморозки/разморозки с увеличением в 30 000 раз при использовании разработанной гелевой композиции.

Подобное явление агломерации AgНЧ наблюдалось при использовании для обработки полированного кетгута разработанной гелевой композиции на основе наночастиц, полученных методом кавитационно-диффузионного



восстановления, что может быть обусловлено как образованием линейных нанокompозитов за счет ускорения окислительно-восстановительной реакции с участием ионов серебра в системе «Ag<sup>+</sup>–AgНЧ», индуцированной циклической заморозкой [233], так и образованием структур аналогичных нанопленке серебра, которая также формируется за счет похожей химической реакции, но отличается составом и особыми свойствами (в том числе более высокой интенсивностью адсорбции веществ, шероховатостью поверхности, характеристиками циклической вольтамперометрии и другими параметрами), приобретаемыми поверхностью материала после проведенной модификации [209].

Описанные явления линейной агрегации наночастиц серебра на волокнах дексона могут быть рассмотрены с точки зрения начала формирования нанопроволок серебра – полимерного нанокompозита, применение которого эффективно в сфере электронных устройств, теплопроводящих материалов, антимикробных средств и сенсоров [232]. При этом в гидротермальных условиях (в процессе заморозки/разморозки) в смежных AgНЧ может происходить их линейная агрегация путем восстановления ионов Ag<sup>+</sup> и межмолекулярного сшивания лиганда (например, поливинилпирролидона). Это обусловлено тем, что в водной среде (геле) из AgНЧ выделяются Ag<sup>+</sup> за счет ускорения процесса окисления наночастиц стимулируемого циклами замораживания и оттаивания, так называемое динамическое преобразование между AgНЧ и Ag<sup>+</sup>, когда на фоне восстановительной регенерации происходит слияние отдельных частиц и коалесценция AgНЧ. В одном из исследований с помощью стабильного изотопа <sup>107</sup>Ag проведено отслеживание окислительно-восстановительной реакции с участием AgНЧ и было установлено, что при циклической заморозке (чередовании замораживания и оттаивания) данный процесс ускорялся по сравнению с реакцией этих же наночастиц, инкубированных при плюсовой температуре (4 °C, 25 °C). Причем было обнаружено, что именно во время циклической заморозки ионы Ca<sup>2+</sup> ускоряли окислительно-восстановительную

реакцию и структурные превращения, вызывая коалесценцию наночастиц, а хлорид анионы ( $\text{Cl}^-$ ) стимулировали восстановление ионов серебра, способствуя дополнительному образованию новых структур с AgНЧ. При этом наличие органического лиганда обеспечивало стабильное протекание процесса в жидкой среде в ходе замораживания и размораживания. В целом была продемонстрирована достаточно высокая интенсивность изменения наноструктурных компонентов за счет ускорения окислительно-восстановительной реакции с участием ионов серебра, обусловленной в том числе циклическим замерзанием, что может в итоге также существенно влиять на подвижность, биодоступность и токсичность AgНЧ [209].

Кроме того, представляет интерес синтез иерархических материалов при иммобилизации однородных компонентов на подложке с проводимым контролем морфологии наночастиц [232], причем с использованием циклического воздействия смены температур для стимуляции реакции восстановления. Ведь как было установлено ранее образовавшиеся иерархические структуры зависят не только от природы подложки, но и от активности нанесенных компонентов, поэтому применение циклической заморозки может существенно стимулировать процесс синтеза новых наночастиц. В связи с этим образование линейных структур при использовании замораживания и оттаивания в нашей работе только на поверхности полимера гликолевой кислоты (рис. 3.15), в отличие от нити с покрытием из фторполимеров (рис. 3.16), можно объяснить специфическим взаимодействием наночастиц серебра, полученных методом кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления, с поверхностью волокна дексон, что позволяет рассматривать данный материал как потенциальный резервуар с пролонгированной микробицидной активностью при выполнении медицинских манипуляций на инфекционно-контаминированных биообъектах.

Полученные в исследовании результаты могут быть также использованы для разработки раневых покрытий с использованием

альгинатных гелей [234], так как образующиеся при циклической заморозке линейные наноструктуры с серебром (по типу наносетей), способны играть решающую роль в достижении их целевой пролонгированной антимикробной активности. Причем реализовать это на волокнах дексона возможно за счет двухступенчатого формирования полученных агломератов наночастиц серебра (в системе «агломерат-наночастица-ион» [235]).

Таким образом, в отличие от нитей фторекса применение циклической заморозки позволило активировать линейную агрегацию AgНЧ на волокнах дексона, что позволяет рассматривать это как селективное ускорение регенерации ионов серебра на поверхности полимера гликолевой кислоты из наночастиц, полученных путем кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления. Кроме того, полученные результаты свидетельствуют о большем микробицидном потенциале полученных линейных структур с AgНЧ в условиях пролонгированного применения их в жидких средах (гелях).

В случае полипропиленовых и полиэфирных волокон увеличение количества наночастиц на поверхности может быть связано с их образованием в присутствии желатина, о чем свидетельствует исследование [236], в котором наблюдалось формирование наночастиц в присутствии желатина и хитозана. Кроме того, применение желатина в качестве гелеобразователя позволяет получить биосовместимые AgНЧ малого размера, обладающие выраженными антибактериальными свойствами, подходящими для использования в медицинской практике [237]. В основе подобного явления может лежать процесс агрегации на поверхности наночастиц серебра белковых молекул за счет межмолекулярных водородных связей и ван-дер-ваальсового взаимодействия. Дополнительную плотность формируемой оболочке могут придавать димеры глицина с водородными связями карбоновой кислоты и межмолекулярные солевые мостики между цвиттерионными  $\gamma$ -глутамильными группами [238].

Дальнейшая динамика сорбционных процессов на поверхности полипропиленовых и полиэфирных волокон, включающая активную сорбцию малых (до 10 нм) наночастиц серебра и частичную десорбцию AgНЧ средних размеров с поверхности полипропилена может быть связана с электростатическим взаимодействием и различным поверхностным зарядом выбранных полимеров [239, 240]. При этом значительно большее количество (более чем в 23 раза) малых наночастиц на поверхности полипропилена может быть связано с его большей гидрофильностью за счет большего количества кислородсодержащих функциональных групп, и изменением свойств его поверхности в результате циклической заморозки, что повышает его сорбционную емкость [241]. Таким образом, циклическая заморозка способствует повышенной сорбции AgНЧ на поверхности полипропилена, что может быть использовано для изготовления изделий медицинского назначения.

В случае полированных коллагеновых волокон было доказано, что дополнительная механическая обработка поверхности волокна может способствовать сорбции на ее поверхности наиболее функционально активных наночастиц диаметром от 1 до 5 нм (рис. 3.20). Такое количество сравнительно малых наночастиц на поверхности волокон может быть следствием их образования в результате окислительно-восстановительной реакции между ионами серебра и катехиновыми фрагментами полимера, являющегося производным желатина [242]. При этом в одном из исследований было указано, что получаемые AgНЧ размером до 20 нм проявляли значительный антимикробный эффект как в отношении грамотрицательных, так и грамположительных бактерий. Также они активно захватывались матрицей гидрогеля с последующим замедленным высвобождением их из этой матрицы (8,7% в течение 14 дней), что снижало цитотоксичность наночастиц, демонстрируя более высокую биосовместимость AgНЧ в сочетании с антибактериальной активностью *in situ* [242]. Кроме того, вероятно, что описанная окислительно-восстановительная реакция в нашем эксперименте

была ускорена и за счет дополнительной циклической температурной обработки (до  $-37,0^{\circ}\text{C}$ ) волокон кетгута с сорбированными AgНЧ, послужившей, возможно, одной из причин формирования линейных наноструктур, представленных ранее на рисунке 3.22.

Наблюдаемые явления сорбции и агломерации наночастиц на поверхности полированных коллагеновых волокон могут быть использованы для придания последним антисептических свойств, в том числе в отношении возбудителей бактериальных и вирусных инфекций [243]. Также перспективной представляется разработка раневых покрытий на основе полированных коллагеновых волокон, обработанных гелевой композицией, содержащей AgНЧ, полученных методом кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления, поскольку преобладание в данном случае наночастиц диаметром до 5 нм (56,2% от общего количества сорбированных AgНЧ, рис. 3.20) может способствовать не только разрушению даже зрелых биопленок, формируемых на поверхности инфицированных ран, особенно при замедленном высвобождении наночастиц из гелевой композиции на основе желатина [244], но и возникновению за счет этого еще и дополнительных условий для снижения цитотоксичности наночастиц серебра *in situ* [242].

### 3.4 Заключение к главе 3.

Наилучшие результаты показали волокна естественного происхождения (в частности коллагеновые), на их поверхности сорбировалось большее количество наночастиц меньшего размера, что, возможно, обусловлено схожестью AgНЧ с полипептидной цепью коллагена. В то же время использование синтетических полимеров не целесообразно только при короткой (до 1 часа) экспозиции их в гелевой композиции. Применение циклической заморозки позволяет активировать линейную агрегацию AgНЧ на волокнах, что позволяет рассматривать это как селективное ускорение регенерации ионов серебра на поверхности. Таким образом, циклическая

заморозка способствует повышенной сорбции AgНЧ на поверхности материалов различной природы, однако лучшие результаты получены на полированных коллагеновых волокнах. Дополнительная механическая обработка поверхности волокна может способствовать сорбции на ее поверхности наиболее функционально активных наночастиц диаметром от 1 до 5 нм при этом, в одном из исследований было указано, что получаемые AgНЧ размером до 20 нм проявляли значительный антимикробный эффект как в отношении грамотрицательных, так и грамположительных бактерий. Наблюдаемые явления сорбции и агломерации наночастиц на поверхности полированных коллагеновых волокон могут быть использованы для придания последним антисептических свойств, также перспективной представляется разработка раневых покрытий. Полученные AgНЧ в комбинации с гелирующим агентом желатином могут быть применены в медицине или ветеринарии для придания антибактериальных свойств шовному материалу.

## Глава 4 ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕРИАЛОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА

4.1 Исследование влияния материала с наночастицами серебра на антибактериальную активность на примере бактерий *Escherichia coli*.

В современной медицине наносеребро находит весьма разнообразное применение: лечение ран, дезинфекция поверхностей, покрытие имплантов [245], что объясняется в том числе широкой алергизацией [246, 247] населения к лекарственным антибактериальным средствам и достаточно частым развитием различных побочных эффектов [248] при приеме антибиотических препаратов для лечения различных микробных инфекций, в связи с чем все большее значение приобретают препараты на основе серебра. Разработка эффективных антисептиков с целью снижения риска гнойно-септических осложнений в хирургии продолжает оставаться одной из важнейших проблем в современной медицине [249, 250], а ионы серебра имеют широкий спектр антимикробной активности [251, 252] и обладают меньшими побочными эффектами, выработка резистентности у бактерий к ионам серебра не обнаружена [253]. С недавнего времени также приобрели актуальность препараты серебра в форме наночастиц, так как они создают депо ионов серебра и позволяют поддерживать равномерное содержание ионов серебра в растворе в течение длительного времени. Кроме того, наночастицы серебра обладают более выраженной антимикробной активностью благодаря иным механизмам воздействия на микробную клетку, чем ионы [255]. Современная фармацевтическая промышленность предлагает целый ряд серебросодержащих препаратов: растворы нитратов серебра, коллоидные взвеси протеинатов серебра, металл-белковые композиции, но их применение ограничивается тем, что оказываемое ими цитотоксическое действие распространяется не только на микробные клетки [255], но и на клетки макроорганизма [256, 257]. В этом плане перспективным представляется использование наноструктурированных препаратов серебра, так как они

эффективны при значительно более низких концентрациях частиц металла [258].

Особый интерес представляет создание антисептиков для использования при дезинфекции поверхностей, которые найдут широкое применение в различных лечебных учреждениях, а также детских образовательных учреждениях в связи со снижением трудозатрат на частую обработку поверхностей и увеличением эффективности их микробицидного действия. Одним из вариантов оценки антисептической активности является изучение воздействия исследуемого вещества или композиции на условно-патогенные бактериальные штаммы, в том числе *Escherichia coli* [259]. Отдельного внимания заслуживает то, что в последние годы отмечается отчетливый рост заболеваемости госпитальными инфекциями, возбудителями которых являются неферментирующие грамотрицательные бактерии. Ведущее место в этиологической структуре этих инфекций занимают *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* [260]. Лечение внутрибольничных инфекций, вызванных этими возбудителями, осложнено исходно высоким уровнем устойчивости микроорганизмов к традиционным антибактериальным препаратам, что актуализирует проблему создания новых терапевтических средств.

Сохраняющийся интерес к совершенствованию способов получения наночастиц серебра объясняется несовершенством существующих технологий и попытками улучшения таких свойств получаемого продукта, как стабильность и биоактивность [261, 262], а также поиском путей для снижения производственных затрат. На сегодняшний день существует множество методов синтеза наночастиц серебра, однако большинство из них используют в своей основе токсичные реагенты, используемые либо для стабилизации получаемых наночастиц, либо для восстановления ионов серебра. В то же время для использования наночастиц в медико-биологических целях необходимо исключить использование токсичных веществ на каком-либо этапе синтеза [263–266]. Еще одной актуальной проблемой остается



устойчивость при хранении образующихся нанокластеров серебра, так как многие из них склонны коагулировать [267] под действием кислорода воздуха [268] и испарения компонентов раствора при хранении и синтезе. Изучение седиментационной и агрегативной устойчивости растворов наночастиц серебра достаточно также широко освещено [269, 270], например, в связи с ограничением исследования токсичности получаемых растворов вследствие значительного понижения седиментационной и агрегативной устойчивости при повышении концентрации наночастиц серебра [271]. Поэтому повышение устойчивости получаемых растворов наночастиц серебра к воздействию внешних факторов является актуальной задачей в различных областях науки и техники [272]. Известно, что для оценки агрегативной устойчивости наночастиц серебра используются электролиты, содержащие анионы, осаждающие  $\text{Ag}^+$  [273], при этом полученные в ряде исследований данные свидетельствуют о сравнительно низкой агрегативной и седиментационной устойчивости существующих в настоящее время растворов наночастиц серебра [273, 274].

Учитывая вышеизложенное, целью проведенного исследования явилась оптимизация физико-химических условий получения наночастиц серебра для увеличения срока хранения полученных растворов и сохранения возможности их медико-биологического применения, в том числе повышения противомикробной активности коллоидных растворов наночастиц серебра, полученных путем диффузионно-кавитационного фотохимического восстановления, в отношении условно-патогенных изолятов *E. coli* и клинических изолятов неферментирующих грамотрицательных бактерий: *P. aeruginosa* и *A. baumannii*.

Наночастицы серебра были получены разработанным методом кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления [275]. Синтез наночастиц осуществляли путем восстановления ионов серебра в водном растворе в присутствии биосовместимого лиганда-стабилизатора (поливинилпирролидон) при совместном воздействии ультрафиолетового

излучения с длиной волны 280–400 нм и ультразвуковых волн частотой 1.7 МГц (использовали ультразвуковой небулайзер Little Doctor LD-250U), что позволяет получить синергетический эффект физических факторов при синтезе наночастиц серебра. Технология приготовления наночастиц серебра путем кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления заключается в том, что к 1 %-ному раствору  $\text{AgNO}_3$  добавляют 5 %-ный раствор  $\text{NaOH}$  в объемном соотношении 5:1, образовавшийся осадок  $\text{Ag}_2\text{O}$  пятикратно отмывают бидистиллированной водой. Параллельно готовят навеску лиганда и растворяют его в бидистиллированной воде до получения 1 %-ного раствора (полное растворение лиганда в растворе). Соотношение  $\text{AgNO}_3$  и лиганда по массе сухого вещества должно составлять 1:3. В полученную взвесь  $\text{Ag}_2\text{O}$  в бидистиллированной воде вносят 1 %-ный раствор лиганда при интенсивном перемешивании. После образования однородного раствора доводят объем раствора бидистиллированной водой до получения 0.0059 М раствора серебра и далее проводят фотохимическое восстановление этого раствора в течение 60 мин под действием ультрафиолетового облучения и ультразвуковых волн. В исследовании использованы несколько образцов наночастиц, полученных в растворах с разной концентрацией серебра (по убыванию): 100 мкг/мл, 50 мкг/мл, 10 мкг/мл.

Для оценки размеров полученных наночастиц была проведена их электронная микроскопия на растровом электронном микроскопе JEOL JSM-7500F в режиме детектирования отраженных и вторичных электронов с ускоряющим напряжением от 2 до 10 кВ, в зависимости от индивидуальных особенностей образца, а также в режиме детектирования прошедших электронов (просвечивающая электронная микроскопия) при ускоряющем напряжении 20 кВ. Исследование производили непосредственно на момент синтеза, через месяц, полгода и год от их получения в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 1269), с использованием оборудования «Центра коллективного пользования

диагностики структур и свойств наноматериалов» ФГБОУ ВПО Кубанский государственный университет (г. Краснодар).

Также производили оценку агрегативной устойчивости с помощью растворов электролитов [276] NaCl и Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> в концентрациях 1, 5 и 10 % соответственно на момент синтеза, через месяц, полгода и год от его начала (хранение растворов с наночастицами осуществлялось в темном месте при температуре от +4 до +6 °С) в рамках программы УМНИК-2014, проводимой Федеральным государственным бюджетным учреждением «Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере» (инновационный проект, государственный контракт № 3601ГУ1/2014 вн. № 0004193). Измерение оптической плотности полученных растворов проводилось на фотометре КФК-3.

В качестве тест-штаммов в работе использованы 15 клинических изолятов *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *E. coli* (по 5 изолятов каждого микроорганизма). Идентификацию выделенных культур проводили бактериологическим методом с использованием автоматического анализатора VITEK. Для определения минимальной эффективной концентрации наносеребра в препарате изучали его противомикробное действие в концентрации (мкг/мл) 10, 8, 5, 3, 1. Чувствительность клинических изолятов *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *E. coli* к свежеприготовленным наночастицам серебра определяли методом серийных разведений в соответствии с МУК 4.2.1890-04 «Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» макрометодом серийных разведений в бульоне [277], принятым для исследования чувствительности различных микроорганизмов к антимикробным препаратам [275]. Результаты учитывали после 18–20-часового культивирования в термостате при 37 °С. Контрольные высевы из разведений с отсутствием видимого роста бактерий осуществляли на среду АГВ. Питательную среду АГВ готовили из сухой среды промышленного производства в соответствии с инструкцией изготовителя и автоклавировали 20 мин при 121 °С.

При анализе данных электронной микроскопии полученных растворов наночастиц серебра можно отметить следующее: при получении наночастиц описанным выше методом порядка 70 % наночастиц имеет средний размер 0–5 нм, 20 % частиц – средний размер приблизительно 5–10 нм (рис. 4.1А и 4.1Б), спустя месяц распределение по размерам принципиально не изменяется. Через полгода и год от момента их получения порядка 50 % частиц все еще имели средний размер 0–5 нм, а доля частиц с размером 5–10 нм увеличилась до 30 %. Максимум оптической плотности водных растворов наночастиц серебра, измеренный на фотометре, находился в области 410 нм (рис. 4.2) и оставался неизменным по прошествии всех указанных выше временных промежутков от момента синтеза, что также говорит о минимальной агрегации частиц при хранении.

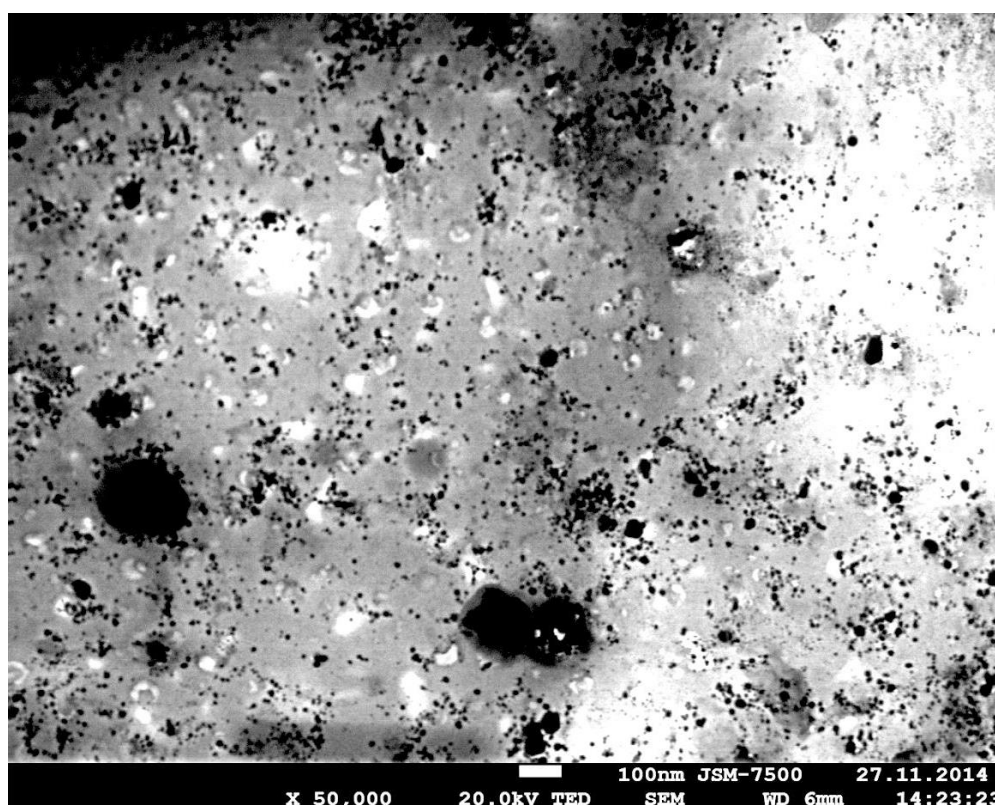


Рисунок 4.1А – электронная микроскопия наночастиц серебра, полученных с применением ультразвука на момент синтеза

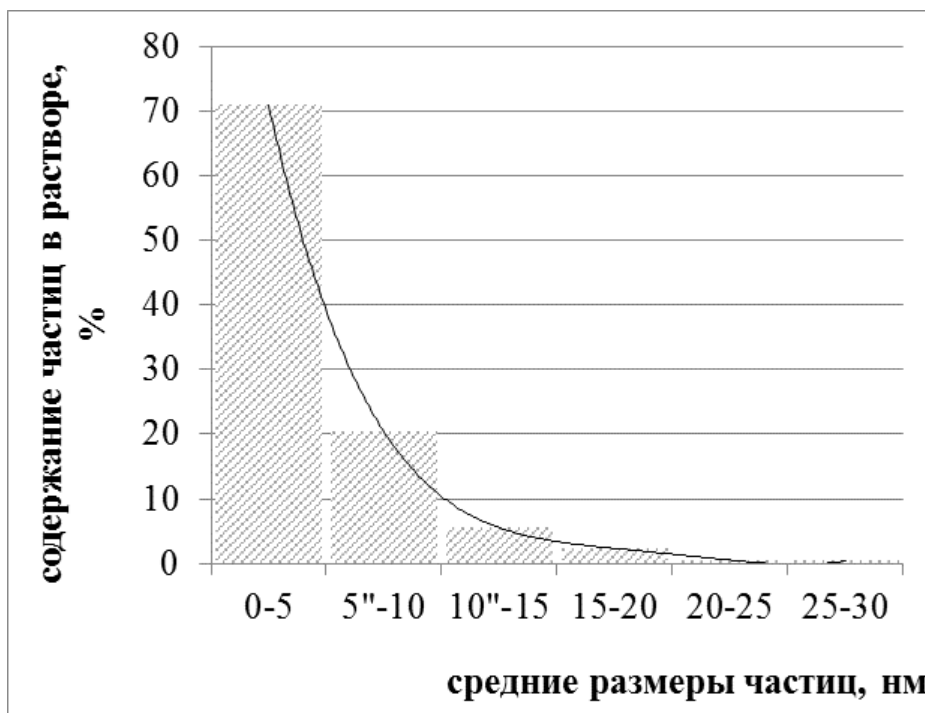


Рисунок 4.1Б – распределение частиц по размерам

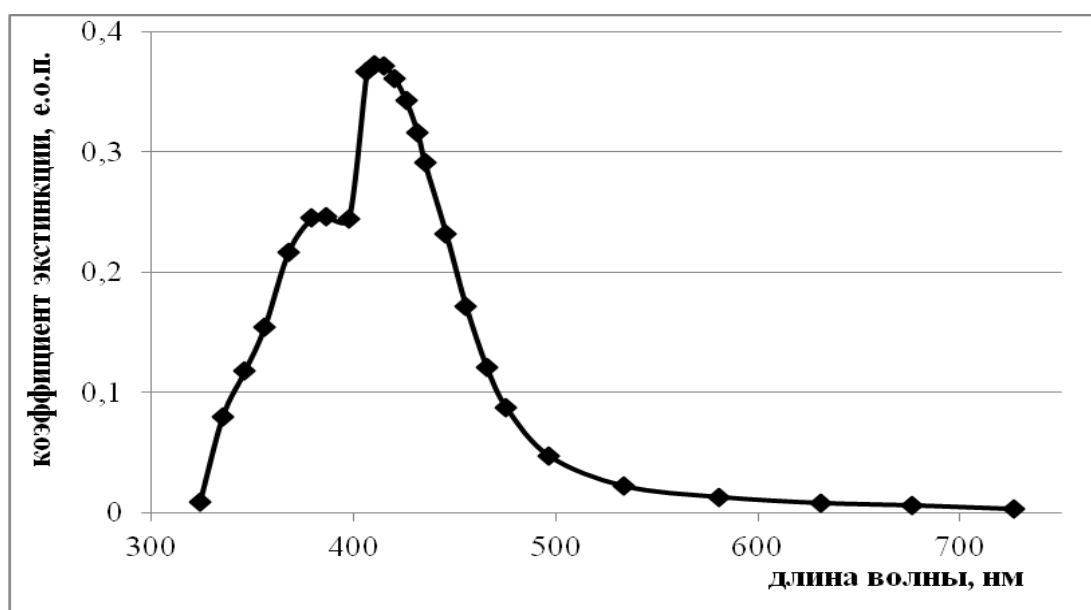


Рисунок 4.2 – Оптические спектры поглощения раствора наночастиц серебра, полученных с применением ультразвука на момент синтеза

Анализ агрегативной устойчивости показал, что полученные наночастицы были устойчивы во всем диапазоне хранения (до 12 месяцев) от момента их получения в растворах хлорида натрия (концентрация NaCl 1, 5 и 10 %) и ортофосфорной кислоты (концентрация  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  1, 5 и 10 %). Такие

результаты свидетельствуют о значительно более высокой седиментационной и агрегативной устойчивости растворов наночастиц серебра, полученных с помощью разработанного метода кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления, в сравнении с данными других литературных источников, в которых отмечается, что растворы наночастиц серебра были устойчивы только к 0.02 % раствору NaCl [274], а при использовании даже 0.9 % раствора NaCl происходило образование сероватого осадка [273], что было существенно ниже концентраций NaCl, используемых в нашем исследовании.

Также были синтезированы водные растворы наночастиц серебра при аналогичных условиях, но в отсутствие ультразвуковых волн в процессе их получения. Проведенная электронная микроскопия показала, что в данных образцах наблюдался больший разброс по размерам частиц (рис. 4.3А и 4.3Б).

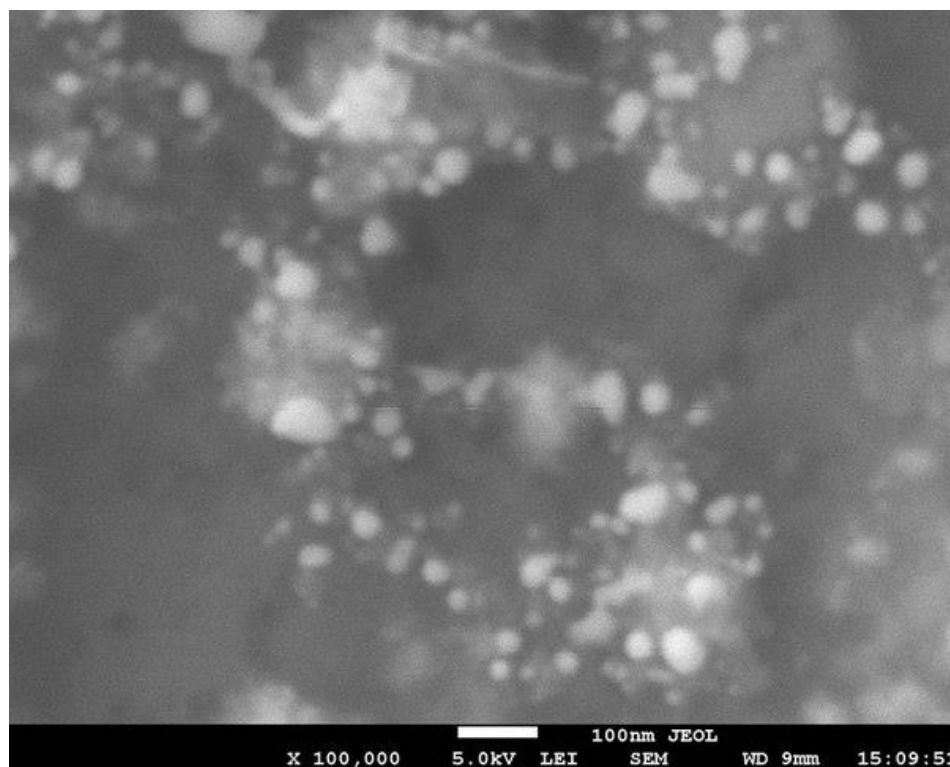


Рисунок 4.3А – электронная микроскопия наночастиц серебра, полученных без применения ультразвука на момент синтеза

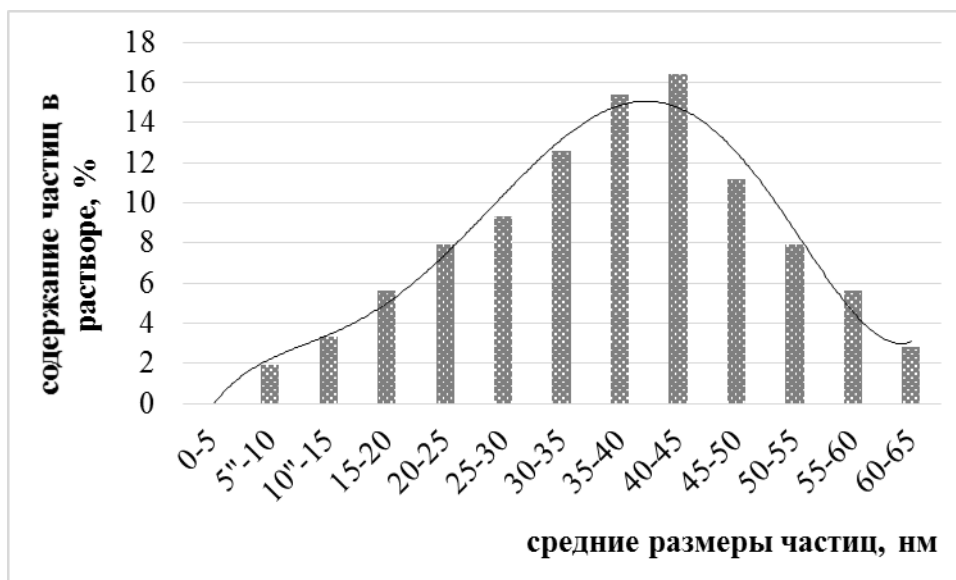


Рисунок 4.3Б – распределение частиц по размерам

Спустя месяц доля частиц с размером 100 нм возросла до 70 %, а через полгода и год частицы образовали крупные бесформенные агрегаты размером более 1 мкм и сорбированными на поверхности частицами со средним размером 20–30 нм. По данным фотометрии происходило смещение максимума поглощения раствора с течением времени от 440 до 480–500 нм (рис. 4.4), что также говорит об агрегации наночастиц.

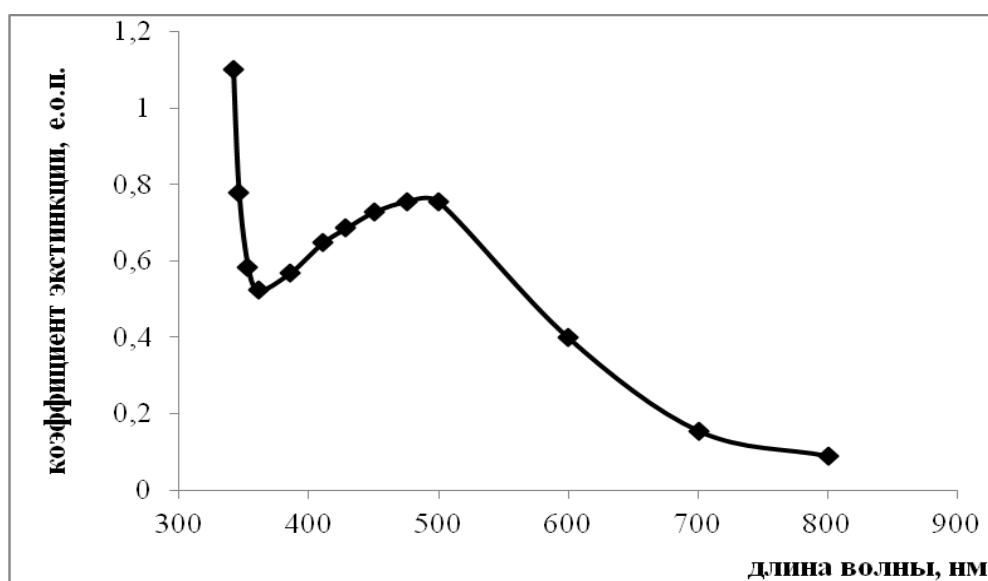


Рисунок 4.4 – Оптические спектры поглощения раствора наночастиц серебра, полученных без применения ультразвука на момент синтеза

При исследовании агрегативной устойчивости полученных растворов выявили коагуляцию к 5 % растворам NaCl и Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> непосредственно после синтеза и ее наличие спустя один месяц после синтеза и к 1 % растворам NaCl и Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, что связано с укрупнением наночастиц.

Установлено, что нитрат серебра в концентрации 1 и 10 мкг/мл не обладает антимикробной активностью по отношению к исследуемым клиническим изолятам *P. aeruginosa* и *A. baumannii*: все тест-культуры давали видимый рост в жидкой питательной среде с препаратом (табл. 4.1), но в то же время подавляет рост *E. coli* в концентрации 10 мкг/мл. При концентрации нитрата серебра 50 мкг/мл видимый рост в жидкой питательной среде отсутствовал, однако контрольные посеы были положительны для неферментирующих грамотрицательных бактерий и отрицательны для кишечной палочки. Полностью подавлял рост всех индикаторных изолятов нитрат серебра только в концентрации 100 мкг/мл. В этом разведении не регистрировалось видимого роста культур микроорганизмов, контрольные посеы также были отрицательны

Таблица 4.1 – Сравнительный анализ антимикробной активности растворов наносеребра, нитрата серебра и лиганда

Бактерии	Исследуемое вещество											
	Нитрат серебра				Лиганд (поливинилпирролид он)				Наночастицы серебра			
	Концентрация исследуемого вещества, мкг/мл											
	100	50	10	1	100	50	10	1	100	50	10	1
	Количество изолятов, давших рост											
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0
<i>A. baumannii</i>	0	0	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	0	0	0	5	5	5	5	5	0	0	0	0

Лиганд (поливинилпирролидон) совершенно не обладал антимикробными свойствами в концентрациях от 1 до 100 мкг/мл: все тест-культуры давали видимый рост в жидкой питательной среде с препаратом (табл. 4.1).



Коллоидный раствор с наночастицами серебра обладал антимикробной активностью во всех исследованных концентрациях (табл. 4.1): в соответствующих разведениях видимый рост бактерий отсутствовал. В то же время в концентрации 1 мкг/мл коллоидный раствор с наночастицами серебра обладал только бактериостатической активностью (контрольные посеы из этого разведения были положительны у всех 15 изолятов).

В концентрации 10 мкг/мл коллоидный раствор с наночастицами серебра обнаружил бактериостатические свойства в отношении трех клинических изолятов *P. aeruginosa* и двух изолятов *A. baumannii*, тогда как на остальные тест-культуры (два изолята *P. aeruginosa*, три изолята *A. baumannii*, пять изолятов *E. coli*) эта концентрация препарата действовала бактерицидно. Высокая бактериостатическая активность раствора с наночастицами серебра в отношении условно-патогенных изолятов *E. coli* указывает на возможность использования полученного коллоидного раствора в концентрации 1 мкг/мл в качестве основы для моющих средств, в том числе в социальных учреждениях при наличии аллергических реакций на традиционные моющие средства (лизоформин, аламинол и др.) у персонала и посетителей.

В экспериментах по определению минимальной бактериостатической подавляющей концентрации наносеребра в коллоидном растворе установлено ее значение на уровне 3 мкг/мл. В то же время в литературе описаны различные минимальные подавляющие концентрации наночастиц серебра, составляющие: 10 мкг/мл для *E. coli* ATCC 25922, 15 мкг/мл для госпитального штамма *E. coli* и 25 мкг/мл для *P. aeruginosa* ATCC 27853; в одной из работ отмечено, что бактериостатическая концентрация серебра достигает 50 мкг/мл, а бактерицидная концентрация достигает 100 мкг/мл для *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ESBL1224, *P. aeruginosa* ATCC 27853, госпитальных штаммов *E. coli* и *P. aeruginosa*; в другой работе указана концентрация серебра 25 мкг/мл в водной взвеси для *E. coli* и *P. aeruginosa*, что в целом превышает аналогичные показатели, установленные в нашем исследовании для растворов наночастиц

серебра, полученных по разработанной методике кавитационно-диффузионного фотохимического восстановления.

На основании вышеизложенного можно заключить, что антимикробная активность изученных наночастиц серебра по отношению к неферментирующим грамотрицательным бактериям убывает в ряду изученных средств: коллоидный раствор с наночастицами серебра > раствор нитрат серебра > лиганд. А наиболее эффективным является использование коллоидного раствора с наночастицами серебра.

#### 4.2 Исследование влияния на процессы ранозаживления материалов с наночастицами серебра на поверхности.

Известно, что в настоящее время альгинатные раневые покрытия достаточно часто применяются на практике и активно исследуются в различных областях ветеринарии и экспериментальной медицины. Так, альгинаты с различными модифицирующими добавками (прежде всего хитозаном) и разными способами физической обработки используют для создания инновационных прототипов раневого покрытия. Подобная модификация позволяет добиться увеличения способности к набуханию, снижает эрозию покрытия, а также обеспечивает гладкую текстуру поверхности и оптимальную скорость высвобождения иммобилизованного на нем лекарственного средства [276]. Гидрогели на основе альгината и хитозана с факторами роста обладают большим потенциалом в качестве многофункциональных гидрогелевых повязок для полнослойной регенерации кожи, которые характеризуются ярко выраженными кровоостанавливающими и антибактериальными свойствами, проявляя при этом устойчивую цитосовместимость [277]. Также возможно изменение свойств альгинатных покрытий за счет целлюлозы, поливинилового спирта и хлорида кальция с образованием стабильного минерализованного гидрогеля. Характерно, что его структура обладает низкой цитотоксичностью, что очень перспективно для

заживления ран, особенно у лиц с иммунной гиперреактивностью кожных покровов [278].

Еще одним из направлений создания альгинатных раневых покрытий является применение различных полимерных волокон. К ним относится, например, волокна из альгината натрия и  $\epsilon$ -полилизина, полученные путем непрерывного вытягивания электростатическим способом собранных композитов, что позволяет добиться хорошей антибактериальной активности, низкой цитотоксичности и биоадгезии [279].

Другим вариантом модификаций альгинатных повязок является применение композитного каркаса из фиброина шелка и альгината натрия в качестве нижнего регенеративного слоя и пленки. Подобная структура позволяет получить более быструю эпителизацию ран, существенно снижая местный воспалительный процесс и увеличивая синтез белка во внеклеточном матриксе в процессе регенерации тканей [280]. Также продемонстрирована потенциальная возможность использования гидрогеля на основе альгинатно-хрящевого внеклеточного матрикса и фиброина шелка для регенерации хрящевой ткани [281]. Внесение в альгинатную гелевую композицию фиброина совместно с желатином позволяет значительно повысить биосовместимость получаемого материала [282].

Перспективным направлением модификации альгинатных композиций является применение наночастиц серебра (AgНЧ). Согласно литературным данным, модификация альгинатной основы наночастицами серебра позволяет повысить их биосовместимость и антибактериальную активность, в том числе в отношении *M. tuberculosis*, *S. aureus* и *P. aeruginosa* [283-286], причем использование альгинатного матрикса позволяет пролонгировать и оптимизировать высвобождение наночастиц из подобного раневого покрытия.

В наших исследованиях была проведена серия экспериментов, направленных на изучение сорбции AgНЧ на поверхности шовных материалов различного химического состава [287-289], а также изменения их антибактериальных свойств при дополнительном температурном воздействии

[290]. В результате этого было доказано, что кавитационно-диффузионное фотохимическое восстановление ионов серебра с последующей циклической заморозкой полученных AgНЧ существенно повышает количество наночастиц на поверхности шовного материала, особенно на кетгутовых и шелковых нитях. При этом используемая 10-кратная заморозка/разморозка позволяла увеличить прежде всего количество наночастиц серебра диаметром от 1 до 15 нм, которые обладают наибольшей удельной поверхностью и, как следствие, наиболее выраженной антибактериальной активностью. Так, бактерицидные свойства модифицированных шовных материалов были подтверждены в отношении *Escherichia coli* (*E. coli* 25922) методом Кирби-Бауэра. Была обнаружена достоверно большая антибактериальная активность шелковых волокон, которые превосходили по данному показателю аналогично обработанные волокна кетгута и перлона [290].

Синтез наночастиц серебра осуществляли в соответствии с разработанной ранее методикой, включающей одновременное воздействие на компоненты реакционной системы, содержащей ионы серебра и поливинилпирролидон, как ультрафиолетового излучения с длиной волны 280-400 нм, так и ультразвука с частотой излучения 1,7 МГц с равномерным бесконтактным диффузионным перемешиванием ее компонентов [291, 292]. Получение альгинатно-тканевого раневого покрытия было основано на инкубации шовного материала из шелка в гелевой композиции с наночастицами серебра в присутствии поливинилпирролидона и дальнейшей 10-кратной циклической заморозке, каждый цикл которой заключается в последовательном чередовании температуры  $-37,0^{\circ}\text{C}$  в течение 24 часов и температуры  $0,0^{\circ}\text{C}$  в течение такого же по длительности периода времени [293].

Оценку активности сорбции/десорбции AgНЧ проводили на основе анализа электронных микрофотографий, выполненных на растровом электронном микроскопе JEOL-7500F (JEOL, Япония) с полевым эмиссионным катодом при ускоряющем напряжении 10 кВ, в режиме

детектирования отраженных электронов (СОМРО) с увеличением до 30 000 при температуре 25 °С («Центр коллективного пользования диагностики структур и свойств наноматериалов» ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, г. Краснодар) [19, 20]. Оценивалось количество AgНЧ в размерных диапазонах: от 1 до 5 нм, от 6 до 10 нм, от 11 до 15 нм, от 16 до 25 нм и свыше 25 нм. Диаметры окружностей, эквивалентных частицам, сравнивали с длиной маркера на фотографии. Погрешность измерения составила  $\pm 0,15$  нм.

Исследования на животных проводились, включая их содержания и все манипуляции в соответствии с соблюдением Директив Европейского сообщества 86/609ЕЕС, рекомендаций РД-АПК 3.10.07.02-09 «Методические рекомендации содержания лабораторных животных в вивариях, научно-исследовательских институтов и учебных заведениях.» Министерство сельского хозяйства РФ (Москва, 2007 г.), Санитарных Правил 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально биологических клиник (вивариев)», требований ГОСТ 33215-2014 от 07.01.2016 г. «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» и ГОСТ 33216-2014 «Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами». Исследование одобрено биоэтической комиссией ФГБНУ "ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова" РАН (протокол №05/2021 от 13.09.2021).

Моделирование раневого процесса у крыс массой от 150 до 170 грамм (n=16, группа I) выполняли на основании способа хирургического моделирования окислительного стресса у лабораторных животных [296]. Создание модели включало обработку операционного поля спиртовым антисептическим раствором, после чего под комбинированной анестезией, предполагающей местное применение раствора новокаина 0,5% - 2,0 мл, и кетопрофена в дозе 2,5 мг/кг, п/к [297], формировали абсцесс мягких тканей. Для этого производился разрез кожи, рассечение подкожной клетчатки,

поверхностной и пояснично-спинной фасции, собственной фасции мышцы выпрямителя спины. В рану вводился марлевый шарик, пропитанный суточной культурой патогенного штамма бактерий (*S. aureus*) концентрацией  $10^3$ /мл. Затем рану закрывали путем сшивания краев кожи крестным швом. Через 120 часов с момента проведения имплантации инфицированного инородного тела формировали гнойную рану. Для этого снимали кожные швы, удаляли инородное тело и выполняли санацию полости абсцесса с последующим лечением этих животных с помощью альгинатно-тканевого покрытия [296]. Формирование ран у крыс в группе сравнения (n=16, группа II) проводили по аналогичной методике с последующим лечением, содержащим коллоидное серебро препаратом «Аргогель» (РФ), которым пропитывали марлевую салфетку. Группу контроля (группа III) составили 16 крыс с моделированными гнойными ранами, получавшие перевязки с мазью «Левомеколь» (РФ), которая не содержала ионы или наночастицы серебра.

Далее на 1, 3, 5, 7 сутки проводилось динамическое наблюдение изменений биохимических показателей в раневом отделяемом, в том числе определялись показатели функционирования ферментного и низкомолекулярного звена антиоксидантной системы неспецифической защиты: активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД), суммарная антиокислительная емкость раневого отделяемого, содержание восстановленных тиоловых групп (SH-групп), а также прооксидантные факторы по интенсивности свободнорадикального окисления (СРО) с измерением площади вспышки хемилюминесценции (ПВХЛ). Определение суммарной антиокислительной емкости (АОА) раневого отделяемого выполнялось на анализаторе антиоксидантной активности «ЦветЯуза-ААА-01» (ОАО НПО «Химавтоматика», Россия), амперометрическим способом, основанным на измерении электрического тока, возникающего при окислении исследуемого субстрата при определенном напряжении (1,3 В) на поверхности рабочего сероуглеродного электрода и последующем сравнении полученного сигнала [298], регистрируемого в наноамперах в секунду (нА · с), с принятым

стандартом (раствором аскорбиновой кислоты). Содержание SH-групп оценивали по их взаимодействию с 5,5'-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой, образующей при наличии восстановленных тиолов тιο-2-нитробензойную кислоту, которая имеет максимум поглощения при длине волны 412 нм [299]. Полученные результаты выражали в единицах оптической плотности (е.о.п.).

Исследование активности каталазы выполняли на основании методики [300], базирующейся на определении скорости утилизации перекиси водорода в реакционной смеси, в которую вносится биологический материал, содержащий фермент [301].

Расчет активности каталазы в единицах активности производили по разнице экстинкций в опыте и контроле согласно закону Бугера-Ламберта-Бэра с учетом молярного коэффициента светопоглощения перекиси водорода при длине волны 260 нм ( $\epsilon = 22 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ). Для определения активности СОД использовалась методика, основанная на способности этого фермента ингибировать аутоокисление кверцетина [302]. Окисление 1,4 мкМ кверцетина проводили при комнатной температуре в фосфатном буфере рН=8,0 с диметилсульфоксидом, после добавления тетраметилэтилендиамина до конечной концентрации 0,8 мМ в конечном объеме реакционной смеси - 2,0 мл. Полученные результаты выражали в единицах активности (ед. акт.).

Определение интенсивности СРО раневого отделяемого проводили, анализируя площадь вспышки хемиллюминесценции [303]. Исследование выполняли, регистрируя люминол-зависимую  $\text{H}_2\text{O}_2$ -индуцированную хемиллюминесценцию, на люминотестере ЛТ-01 (производства НПО «Люмин», РФ) с помощью разработанного аппаратно-программного комплекса [304-306]. Полученные результаты сравнивали с показателями площади вспышки стандартного раствора люминола и выражали в процентах (% [307]).

Обработку полученных экспериментальных данных проводили с помощью методов вариационной статистики. Оценку достоверности найденных отличий между показателями AgНЧ и биохимических показателей

раневого экссудата проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Достоверными полагали различия при  $p < 0,05$ .

На поверхности шелковых нитей в составе альгинатно-тканевого покрытия после циклической заморозки по сравнению с аналогичными показателями на шелке до 10-кратного воздействия температуры  $-37,0^{\circ}\text{C}$  наблюдалось значительное увеличение количества AgНЧ диаметром от 1 до 5 нм, которое было в 174,0 раза выше, чем без температурной обработки ( $p < 0,004$ , рис. 4.4, рис. 4.5). Также достоверно более высокие значения AgНЧ, которые были в 23,2 раза больше ( $p < 0,05$ ) были обнаружены после разработанной процедуры заморозки/разморозки в сравнении с показателями до температурной обработки шелка для частиц диаметром от 6 до 10 нм. При этом после циклического воздействия температуры  $-37,0^{\circ}\text{C}$  на шелковых волокнах с AgНЧ в составе альгинатно-тканевого покрытия происходило снижение на 81,4 % количества наночастиц диаметром от 11 до 15 нм ( $p < 0,03$ ) и на 96,9 % AgНЧ размером от 16 до 25 нм ( $p < 0,004$ , рис. 4.4, рис. 4.5). Следует отметить, что количество наночастиц более 25 нм на волокнах шелка после циклического воздействия минусовой температуры достоверного не изменялось ( $p > 0,05$ , рис. 4.4, рис. 4.5).

Описанные изменения, сопровождающиеся многократным увеличением количества наночастиц диаметром не более 15 нм на поверхности шелка в составе альгинатно-тканевого покрытия, могут свидетельствовать о дополнительном формировании AgНЧ на поверхности исследуемого материала при циклической заморозке. В целом такая картина может быть связана с взаимодействием  $\text{Ag}^+$  с функциональными группами в составе данного волокна.





Рисунок 4.4 – Электронная микрофотография наночастиц серебра на поверхности волокон шелка в режиме СОМРО с увеличением в 30 000 раз до выполнения циклической заморозки



Рисунок 4.5 – Электронная микрофотография наночастиц серебра на поверхности волокон шелка в составе альгинатно-тканевого покрытия в режиме СОМРО с увеличением в 30 000 раз после выполнения 10-кратной циклической заморозки.

Преимуществом шелковых нитей среди других шовных материалов является наличие в их составе органического компонента, присутствие которого необходимо для ускорения восстановительных процессов при замораживании, а также высокое сродство наночастиц серебра к входящему в состав шелка серицину, способному удерживать AgНЧ и эффективно высвобождать их непосредственно в ране, что сочетается с его превосходной цитосовместимостью с клетками млекопитающих [308]. Взаимодействие ионов серебра и серицина может происходить, например, за счет гидроксильной группы ( $-OH$ ) тирозина [309], что характеризуется специфическим сигналом при ИК-Фурье спектроскопии при  $1640\text{ cm}^{-1}$  [310], а также путем Ван-дер-Ваальсового взаимодействия со стабилизацией структуры комплекса «AgНЧ–белок» за счет гидрофобных участков [311]. Образование комплекса «AgНЧ–белок» также обеспечивает дополнительную передачу энергии между аминокислотами (тирозином, триптофаном, фенилаланином) и AgНЧ, что может играть дополнительную роль в регенерации ионов серебра в процессе циклической заморозки волокон с ранее адсорбированными наночастицами (рис. 4.5).

Данные об изменении количества и диаметров AgНЧ, полученные в этом исследовании, подтверждаются результатами другой работы, где было показано, что в гидротермальных условиях (в процессе заморозки/разморозки) может происходить межмолекулярное взаимодействие AgНЧ за счет реакции восстановления ионов  $Ag^+$  [312, 313]. Такая реакция происходит как следствие выделения  $Ag^+$  из AgНЧ в геле за счет ускорения процесса окисления наночастиц стимулируемого циклами замораживания и оттаивания. Подобный процесс может характеризоваться динамическим преобразованием в системе «AgНЧ– $Ag^+$ –волокно», в ходе которого на фоне восстановительной регенерации может происходить модификация отдельных групп наночастиц с разной интенсивностью в зависимости от их диаметра.

Использование стабильного изотопа серебра ( $^{107}\text{Ag}$ ) позволило отследить окислительно-восстановительную реакцию с участием  $\text{AgНЧ}$  [314], что продемонстрировало ускорение данного процесса при чередовании замораживания и оттаивания по сравнению со скоростью аналогичной реакции этих же наночастиц при инкубации их при различной плюсовой температуре (4 °C, 25 °C).

Следует отметить, что в первые сутки после моделирования раневого процесса достоверных отличий в биохимических показателях, характеризующих состояние прооксидантно-антиоксидантной системы на местном уровне у крыс, во всех трех группах выявлено не было ( $p>0,05$ ). В дальнейшем согласно полученным данным, активность СОД в группе I оказалась достоверно ниже, чем в группах II и III на 3 день эксперимента (табл. 1). При этом в группе II данный показатель составил всего на 17,4% меньше, чем в группе III, тогда как в группе I активность СОД была на 38,9% ниже, чем в группе III ( $p<0,05$ ). В тоже время на 5 день активность СОД в группах II и III была практически сопоставима ( $p>0,05$ ), а в группе I она по-прежнему оставалась меньше в 2,6 раза ( $p<0,05$ ), чем в группах II и III. На 7 день выполнения исследования у всех животных из экспериментальной группы раны полностью перешли из фазы экссудации в фазу грануляций, что исключало возможность взятия раневого отделяемого на анализ. При этом активность СОД в группе II характеризовалась даже более высокими на 33,4% значениями, чем в группе III (табл. 4.3).

Активность каталазы уже на 3 день исследования была практически сопоставима в группах II и III ( $p>0,05$ ), тогда как в группе I значения этого фермента составляли достоверно меньше как на 3, так и 5 день исследования: на 32,6% и 43,7% соответственно ( $p<0,05$ ), чем в группе III. И также активность данного фермента была снижена в экспериментальной группе по сравнению с группой II на 25,8% на 3 сутки и на 26,1% на 5 сутки соответственно.

Таблица 4.3 Показатели прооксидантно-антиоксидантной системы в раневом отделяемом у крыс в различные сроки лечения

Показатель	1 день	3 день	5 день	7 день
Группа I				
Каталаза, ед. акт. ( $\cdot 10^{-2}$ )	7,5 $\pm$ 1,3	8,9 $\pm$ 1,1*	8,5 $\pm$ 1,6* #	-
СОД ед. акт. ( $\cdot 10^{-2}$ )	7,9 $\pm$ 1,0	9,1 $\pm$ 1,2* #	6,0 $\pm$ 0,8* #	-
АОА, нА·с	0,26 $\pm$ 0,04	0,59 $\pm$ 0,05* #	0,74 $\pm$ 0,03* #	-
ПВХЛ, %	8,5 $\pm$ 1,0	23,6 $\pm$ 1,3* #	15,9 $\pm$ 1,2* #	-
SH-группы, е.о.п.	0,20 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,01	0,42 $\pm$ 0,02* #	-
Группа II				
Каталаза, ед. акт. ( $\cdot 10^{-2}$ )	7,2 $\pm$ 1,1	12,0 $\pm$ 0,8	11,5 $\pm$ 1,4*	9,9 $\pm$ 1,0*
СОД ед. акт. ( $\cdot 10^{-2}$ )	7,4 $\pm$ 1,6	12,3 $\pm$ 1,0*	15,7 $\pm$ 1,2	10,4 $\pm$ 1,1*
АОА, нА·с	0,24 $\pm$ 0,02	0,34 $\pm$ 0,01*	0,35 $\pm$ 0,03	0,20 $\pm$ 0,01*
ПВХЛ, %	8,7 $\pm$ 0,9	32,1 $\pm$ 1,2*	22,3 $\pm$ 1,4*	10,2 $\pm$ 1,6
SH-группы, е.о.п.	0,16 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,03	0,21 $\pm$ 0,03*	0,16 $\pm$ 0,02*
Группа III				
Каталаза, ед. акт. ( $\cdot 10^{-2}$ )	7,3 $\pm$ 0,9	13,2 $\pm$ 0,9	15,1 $\pm$ 1,7	8,5 $\pm$ 0,8
СОД ед. акт. ( $\cdot 10^{-2}$ )	8,1 $\pm$ 1,1	14,9 $\pm$ 1,0	15,6 $\pm$ 1,4	7,8 $\pm$ 1,1
АОА, нА·с	0,24 $\pm$ 0,01	0,41 $\pm$ 0,03	0,38 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,02
ПВХЛ, %	8,3 $\pm$ 1,2	46,2 $\pm$ 1,5	39,3 $\pm$ 1,1	9,6 $\pm$ 1,2
SH-группы, е.о.п.	0,19 $\pm$ 0,01	0,24 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,01

# -  $p < 0,05$  в сравнении с группой II, \* -  $p < 0,05$  в сравнении с группой

III

Динамика антиоксидантной активности раневого отделяемого характеризовалась на 3 и 5 сутки достоверно большими значениями в группе, лечившейся с помощью альгинатно-тканевого покрытия, содержащего AgНЧ, по сравнению с обеими другими исследуемыми группами ( $p < 0,05$ ). При этом АОА экспериментальной группы на 3 день была на 43,9% выше, чем в группе III ( $p < 0,05$ ), и практически в 2 раза более данный показатель был на 5 день в сравнении с той же группой ( $p < 0,05$ , табл. 4.3). В тоже время показатель ПВХЛ на 3 день в группе I оказался на 48,9% меньше, чем в группе III ( $p < 0,05$ ), и на 26,5% ниже, чем в группе II ( $p < 0,05$ ). Тогда как на 5 сутки аналогичные различия в интенсивности СРО составили уже 59,5% и 28,7% соответственно

( $p < 0,05$ ). При этом наиболее высокие показатели ПВХЛ в группе III на 3 и 5 сутки эксперимента могут быть связаны с бактерицидным воздействием мази, что появляется путем локального усиления генерации свободных радикалов и реактивных молекул [315, 316], в том числе продуктов неполного одно- и двухэлектронного восстановления кислорода в организме – супероксидного аниона-радикала ( $\cdot\text{OO}^-$ ) и пероксида водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Концентрация SH-групп характеризовалась схожей динамикой с АОА и, в целом, свидетельствовала о меньшей интенсивности процессов отмирания и последующего лизиса клеток раневой поверхности при использовании разработанного раневого покрытия [317]. При этом на 1 и 3 день исследования содержание восстановленных тиолов существенно не отличалось от показателей групп II и III ( $p > 0,05$ ), тогда как на 5-е сутки оно было выше в экспериментальной группе на 44,8% относительно данных в группе III ( $p < 0,05$ ). При этом в группе II аналогичный показатель был снижен на 27,6% по отношению к данным в группе III ( $p < 0,05$ ), что отражает больший дефицит тиоловых соединений в экссудате у этих лабораторных животных. Последнее возможно обусловлено проявлением некоторой локальной цитотоксичности AgНЧ в период выраженного воспалительного процесса в ране.

Подтверждением этого является и наблюдавшееся уже на 7 сутки у крыс в группе I более быстрое завершение фазы экссудации, в отличие от животных получавших лечение без альгинатно-тканевого покрытия, включающего AgНЧ, что сопровождалось в этих группах (II и III) более медленным уменьшением проявлений воспалительного процесса в ране [318].

#### 4.3 Заключение к главе 4.

Таким образом, проведенное исследование показало, что разработанная технология 10-кратной циклической заморозки позволяет достоверно увеличить количество AgНЧ в составе альгинатно-тканевого раневого покрытия, прежде всего за счет наночастиц диаметром не более 15 нм, которые характеризуются наибольшей антибактериальной активностью. Описанный подход позволяет существенно повысить антимикробный потенциал такой

повязки, без увеличения суммарного содержания ионов серебра в ее структуре, что потенциально уменьшает возможность возникновения цитотоксического эффекта в процессе лечебных мероприятий.

В процессе получения наночастиц серебра показан положительный эффект совместного применения физических факторов: ультрафиолетового излучения, ультразвука на формирование размера наночастиц и их дальнейшей устойчивости при хранении. Комплексное воздействие ультразвука в процессе синтеза наночастиц позволяет механически диспергировать крупные частицы или агломераты наночастиц, приводя тем самым к более однородному распределению и уменьшению их размера.

Кроме того, применение разработанного раневого покрытия с AgНЧ уменьшает метаболические нарушения в работе системы неспецифической защиты на местном уровне, что характеризуется на 3 и 5 сутки раневого процесса менее выраженными показателями СРО, меньшей напряженностью в сопряженной работе ферментов локальной антиокислительной защиты (каталазы и СОД) по сравнению с применением препарата с AgНЧ, но не содержащего альгината, или использованием метода ежедневных санаций раны, не включающих как альгинат, так и AgНЧ. Также при использовании разработанной повязки динамика изученных биохимических показателей отражает большую регенерацию низкомолекулярного звена антиоксидантной системы на местном уровне, в значительной мере за счет пула восстановленных тиоловых соединений, что свидетельствует о более благоприятном течении раневого процесса и выраженной биосовместимости альгинатно-тканевого раневого покрытия. Подтверждением этого является и наблюдавшееся после 5 суток у крыс в группе I более быстрое завершение фазы экссудации, в отличие от животных получавших лечение без альгинатно-тканевого покрытия, включающего AgНЧ, что сопровождалось в данных группах (II и III) более медленным уменьшением проявлений воспалительного процесса в ране и сохраняющейся экссудацией даже на 7-е сутки эксперимента.

Полученный коллоидный раствор с наночастицами серебра обладает выраженной антибактериальной активностью в отношении *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *E. coli*. Эффективность противомикробного действия раствора наносеребра превышает таковую исходного нитрата серебра и лиганда. В концентрации 10 мкг/мл у коллоидного раствора с наночастицами серебра обнаружены выраженные бактерицидные свойства в отношении двух изученных изолятов *P. aeruginosa*, трех изолятов *A. baumannii* и пяти изолятов *E. coli*. В концентрации 1 мкг/мл коллоидный раствор с наночастицами серебра обладал только бактериостатической активностью по отношению ко всем представленным в работе изолятам бактерий. Минимальная бактериостатическая подавляющая концентрация наносеребра была установлена на уровне 3 мкг/мл.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о перспективности создания лекарственной и антисептической формы коллоидного раствора с наночастицами серебра с антимикробной активностью по отношению к *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *E. coli* на основе разработанного способа диффузионно-кавитационного фотохимического восстановления серебра.

## Основные результаты и выводы диссертационного исследования

1. Разработана и апробирована новая физико-математическая модель для описания процесса синтеза наночастиц серебра. Модель позволяет исследовать влияние ультрафиолетового излучения на процесс синтеза наночастиц и подбирать условия для синтеза наночастиц серебра определенного размера. Исходная интенсивность потока УФ излучения, принятая за единицу в модели соответствует величине 5850 люкс с длиной волны 280-400 нм. Кроме того, модель позволяет определить временные зависимости концентрации исходных, промежуточных и конечных продуктов реакции.

2. С помощью построенной математической модели исследовано влияние физических факторов (интенсивность потока ультрафиолетового излучения и концентрация исходных реагентов) на скорость формирования и размеры наночастиц серебра. При уменьшении интенсивности потока УФ излучения в 4 раза, время синтеза наночастиц увеличивается на 21 минуту (30 %) и практически не влияет на размер наночастиц. Увеличение исходной концентрации аммиачного комплекса приводит к увеличению скорости образования димеров серебра в 1,52 раза, увеличению размеров наночастиц (до 80% частиц размером 40 нм) а также к большому количеству слипаний мелких наночастиц в крупные агрегаты. Уменьшение концентрации приводит к уменьшению размера наночастиц (до 50% наночастиц размером 5 нм), но также увеличивает время синтеза (66,6 часов).

3. Установлено, что количество наночастиц малого размера (1-10 нм), адсорбирующихся на поверхности органических биоразлагаемых материалов ( $6,6 \pm 0,33$  частиц на  $\mu\text{м}^2$ ) на 41% больше, чем на поверхности неорганических биоразлагаемых материалов ( $3,9 \pm 0,2$  частиц на  $\mu\text{м}^2$ ). Использование синтетических полимеров целесообразно только при короткой (до 1 часа) экспозиции, так как при данных условиях применение биоразлагаемых волокон естественного происхождения является менее эффективным из-за



содержания на их поверхности исключительно агломератов размером свыше 40 нм.

4. Установлено влияние циклической заморозки (в диапазоне от 295 К до 233 К) при формировании однородных наноструктур, содержащих серебро, на поверхности органических и неорганических биоразлагаемых материалов. Наилучшие результаты сорбции и агломерации наночастиц наблюдали на поверхности полированных коллагеновых волокон, увеличение числа частиц до 10 нм с  $2,5 \pm 0,13$  частиц на  $\mu\text{м}^2$  до  $57,5 \pm 2,88$  частиц на  $\mu\text{м}^2$ . В случае неорганических волокон было отмечено увеличение числа частиц до 10 нм с  $5,5 \pm 0,28$  частиц на  $\mu\text{м}^2$  до  $52,8 \pm 2,64$  частиц на  $\mu\text{м}^2$ .

5. Экспериментально установлено снижение выживаемости грамотрицательных бактерий *P. aeruginosa*, *A. baumannii* на 50% и *E. coli* на 25% при воздействии на них наночастицами серебра по сравнению с раствором нитрата серебра (50% *P. aeruginosa*, *A. Baumannii* и 25% *E. coli* погибло при обработке нитратом серебра, 100% *P. aeruginosa*, *A. Baumannii*, *E. coli* погибло при обработке наночастицами).

## Список цитируемой литературы

1. Сауд, АСМ и Франко, ОL. /Функционализация наноструктур для улучшения антибиотиков: междисциплинарный подход. // *тер. Делив.* 2016; 7:11.
2. Ван, Л.; Ху, С; Шао, Л. / Антимикробная активность наночастиц: нынешнее состояние и перспективы на будущее. // *Международ. Дж. Наномед.* 2017; 12: 1227–1249.
3. Абед, Н.; Хассан, ФС; Зухири, Ф; Мужен, Дж; Николас, В; Десмаэле, Д.; Греф, Р; Couvreur, P. / Эффективная система внутриклеточной доставки бета-лактамовых антибиотиков для преодоления бактериальной резистентности. // *науч. представитель* 2015 г.; 5:13500.
4. Арсеньева И.П., Глущенко Н.Н., Павлов Г.В., Фолманис Г.Э. / Использование биологических активных препаратов на основе наночастиц металлов в медицине и сельском хозяйстве // В кн.: *Индустрия наносистем и материалы: оценка нынешнего состояния и перспективы развития.* М: Центр “Открытая экономика”.-2006.-С. 26.
5. Г.А. Гулого. / Электрический разряд в жидкости и его применение. // Киев, 1977
6. Ситникова В.Е., Успенская М.В., Олехнович Р.О. / Наночастицы в медицине и биотехнологии // Учебное пособие - Санкт-Петербург: Университет ИТМО, 2018. -
7. Л.Ф. Абаева, В.И. Шумский, Е.Н. Петрицкая, Д.А. Рогаткин, П.Н. Любченко / Наночастицы и нанотехнологии в медицине сегодня и завтра // *Современные клинко-диагностические технологии, №22* 2010. -
8. Голубев В.Н., Слепцов В.В. Тянгинский А.Ю. / Патент РФ №2381829, “Способ приготовления гидрозоля”.
9. М.Г. Киселев, Ю.Ф. Ляшук, В.Л. Габец. / Электроэрозионная обработка материалов // УП «Технопринт», 2004 г.
10. Слепцов В.В., Тянгинский А.Ю., Остроухов Н.Н., Церулев М.В. / Электроэрозионная технология получения, диагностика и биологическое

применение гидрозолей металлов с частицами нанометрового диапазона. // Технология машиностроения. 2009 г., с. 31-34.

11. Бабенко Г.А. / О применении микроэлемента серебра в медицине // Микроэлементы в медицине. -Киев, 1977. -Вып.7. -С. 3-8. 46.

12. Войнар А.И. / Микроэлементы в живой природе. // М.:Высш. Школа, 1962.

13. Безлепко А.В. / Эффективность и безопасность применения колларгола в лечении неатопической бронхиальной астмы. // Диссертация на соискание ученой степени канд. мед. наук, М., 1999.

14. Богданчикова Н.Е., Курбатов А.В., Третьяков В.В. и др. / Активность препаратов коллоидного серебра в отношении осповакцины // Хим. фарм. Жур-нал. -1992. - Т.26. -N9-10. -С. 90-91.

15. Брызгунов В.С., Липин В.Н., Матросова В.Р. / Сравнительная оценка бактерицидных свойств серебряной воды и антибиотиков на чистых культурах микробов и их ассоциациях // Научн.тр.Казанского мед.ин-та. -1964. -Т.14. -С. 121-122.

16. Вольский Н.Н., Селедцов В.И., Любимов Г.Ю. / Иммуномодулирующие свойства препаратов коллоидного серебра // Коллоидное серебро. Физико-химические свойства. Применение в медицине. Препринт №1. Институт катализа им.Борескова Г.К. Сиб.отд. РАН. - Новосибирск, 1992. -С. 31-52.

17. Вязунов С.А., Бурмистров В.А., Шестопапов А.М. и др. / Терапевтический эффект безбелкового препарата коллоидного серебра при лечении вирусного заболевания Марбург у морских свинок // Коллоидное серебро. Физико-химические свойства. 144Применение в медицине. Препринт №1. Институт катализа им. Борескова Г.К. Сиб. Отд. РАН. Новосибирск. -1992. -С. 55-59.

18. Масленко А.А. / Влияние серебряной воды и воды, консервированной серебром, на органы пищеварения // Врачебное дело. -1976. -N5. -С. 88-90.

19. Обухов А.В. / Влияние колларгола на иммунные реакции *in vitro* // Коллоидное серебро. Физико-химические свойства. Применение в медицине. Институт катализа им. Борескова Г.К. Сиб.отд. РАН. –Новосибирск, 1992. -С. 53-54.
20. Прабху С. и Пулосе Э.К. / Наночастицы серебра: механизм антимикробного действия, синтез, медицинское применение, токсические эффекты. // *Международ. Нано пусть*. 2012 г.; 2:32.
21. Шарма, В.К.; Ингард, Р.А.; Лин, Ю. / Наночастицы серебра: зеленый синтез и их антимикробная активность. // *Доп. Коллоидный интерфейс Sci*. 2009 г.; 145: 83-96.
22. Нараянан, К.Б. и Сактивел, Н. / Биологический синтез наночастиц металлов микробами. // *Доп. Коллоидный интерфейс Sci*. 2010 г.; 156(1-2): 1-13.
23. Ахмед, С.; Ахмад, М; Свами, Б.Л.; / Икрам, С. Обзор опосредованного растительными экстрактами синтеза наночастиц серебра для антимикробных применений: экологический опыт. // *Дж. Адв. Рез*. 2016; 7:17-28.
24. Арасу, В.Т.; Прабху, Д.; Сония М. / Методы синтеза стабильных наночастиц серебра и их применение. // *Дж. Био. науч. Рез*. 2010 г.; 1(4): 259-270.
25. Нараянан, К.Б. и Сактивел, Н. / Биологический синтез наночастиц металлов микробами. // *Доп. Коллоидный интерфейс Sci*. 2010 г.; 156(1-2): 1-13.
26. Ахмед, С.; Ахмед, М; Свами, Б.Л.; / Икрам, С. Грин, синтез наночастиц серебра с использованием водного экстракта листьев *Azadirachta indica*. // *Дж. рад. Рез. приложение науч*. 2016; 9: 1-7.
27. Медда, С.; Хайра, А; Дей, У; Бос, П; Мондал, Н.Б. / Биосинтез наночастиц серебра из экстракта листьев алоэ вера и противогрибковая активность против *Rhizopus sp.* и *Aspergillus sp.* // *Заявл. Наноски*. 2015 г.; 5: 875–880.

28. Венкатесан, Б.; Субраманиан, В.; Тумала, А; Веллайчами, Э. / Быстрый синтез биосовместимых наночастиц серебра с использованием водного экстракта лепестков дамасской розы и оценка их противоопухолевой активности. // *Азиатский пакет. Дж. Трон. Мед.* 2014; 7 (Приложение 1): S294-S300.
29. Dhoondia, ZH и Chakraborty, H. / Опосредованный *Lactobacillus* синтез наночастиц оксида серебра. // *Наноматер. нанотехнологии.* 2012 г.; 2 : 15.
30. Пугажентиран, Н.; Анандан, С; Катираван, Г.; Пракаш, НКУ; Кроуфорд, С.; Ашоккумар, М. / Микробный синтез наночастиц серебра *Bacillus sp.* // *Дж. Нанопарт. Рез.* 2009 г.; 11:181
31. Гаде, А.К.; Бонде, ПП ; Ингл, АП; Меркато, П; Дюран, Н.; Рай, МК. / Использование *Aspergillus niger* для синтеза наночастиц серебра. // *J. Биоматериал. Биоэнергетика* 2008.
32. Джа, А.К.; Прасад, К.; Прасад, К. / Недорогой биосинтез наночастиц  $Sb_2O_3$  // *Биохим. англ. Дж.* 2009; 43:303.
33. Лам, П. и Стейнмец, Н.Ф. / Растительные вирусы и бактериофаги для доставки терапевтических средств на основе нуклеиновых кислот. // *Уайли Междисциплинарный. Наномед. Нанобиотехнология.* 2017; e1487. doi: 10.1002/wnan.1487.
34. Соболевский, П.; Эль Фрай, М. / Катетеризация сердца: последствия для эндотелия и потенциал для наномедицины. // *Уайли Междисциплинарный. Наномед. Нанобиотехнологии.* 2015 г.; 7(3):458-73. doi: 10.1002/wnan.1316.
35. Беллан, Л.М.; Ву, Д; Лангер, Р.С. / Современные тенденции в технологии нанобиосенсоров. // *Уайли Междисциплинарный. Наномед. Нанобиотехнология.* 2011 г.; 3(3):229-46. doi:10.1002/wnan.136.
36. Халфпенни, К.С. и Райт, Д.В. / Наночастицы обнаружения респираторных инфекций. // *Уайли Междисциплинарный. Наномед. Нанобиотехнология.* 2010 г.; 2(3): 277-90. doi:10.1002/wnan.83.

37. Де Оливейра, Х.; Тевено, Дж.; Лекомманду, С. / Умные полимерсомы для терапии и диагностики: быстрый прогресс в направлении многофункциональных биомиметических наномедицин. // *Уайли Междисциплинарный. Наномед. Нанобиотехнология*. 2012 г.; 4(5):525-46. doi:10.1002/wnan.1183.

38. Наумова, А.В. и Вельде, Г.В. / Генетически кодируемые белки, связанные с железом, в качестве репортеров МРТ для молекулярной и клеточной визуализации. // *Уайли Междисциплинарный. Наномед. Нанобиотехнология*. 2017; e1482. doi: 10.1002/wnan.1482.

39. Ли, З. и Лох, Х. / Последние достижения в использовании наночастиц на основе полигидроксиалканоатов в качестве носителей терапевтической доставки. // *Уайли Междисциплинарный. Наномед. Нанобиотехнология*. 2017; 9(3). doi: 10.1002/wnan.1429.

40. Чжао П.; Сюй, Q; Тао, Дж; Джин, З; Пан, Ю; Ю, С; Ю, З. / Квантовые точки ближнего инфракрасного диапазона в биомедицинских приложениях: текущее состояние и перспективы на будущее. // *Уайли Междисциплинарный. Наномед. Нанобиотехнология*. 2017; e1483. doi: 10.1002/wnan.1483.

41. Иваск А; Митчелл, Эй Джей; Малышева, А; Фелькер, Нью-Хэмпшир; Ломби, Э. / Методологии и подходы к анализу взаимодействия клеток и наночастиц. // *Уайли Междисциплинарный. Наномед. Нанобиотехнология*. 2017; e1486. doi: 10.1002/wnan.1486.

42. Бейт, Н.; Хури-Хаддад, Ю.; Домб, А; Хан, Вт; Хазан, Р. / Альтернативный антимикробный подход: наноантимикробные материалы. // *Эвид. Дополнение на основе альтернативы. Мед*. 2015 г.; 2015: 246012.

43. Лумба Л. и Скарабелли Т. / Металлические наночастицы и их лечебный потенциал. // *Тер. Делив*. 2013; 4(7): 859-873.

44. Лихтер, Дж. А. и Рубнер, М. Ф.. / Полиэлектролитные мультислои с внутренней антимикробной функциональностью: важность мобильных поликатионов. // *Ленгмюр* 2009; 25(13): 7686-7694.

45. Писсуван, Д.; Корти, СН; Валенсуэла, С.М.; Корти, МБ. / Функционализированные наночастицы золота для борьбы с патогенными бактериями. // *Тенденции биотехнологии*. 2010 г.; 207-213.

46. Гу, Х; Хо, РL; Тонг, Э; Ван, Л; Сюй, Б. / Представление ванкомицина на наночастицах для усиления антимикробной активности. // *Нано Летт*. 2003 г.; 1261-1263.

47. Грейс А.Н. и Каннайян П. / Антибактериальная эффективность аминогликозидных антибиотиков, защищенных наночастицами золота – краткое исследование. // *Коллоидный прибор. Физикохим. англ. Асп*. 2007 г.; 297: 63-70.

48. Саха; Бхаттачарья, Дж.; Мукерджи, А; Гош, А; Сантра, К; Дасгупта, А.К.; Кармакар, П. / In Vitro структурная и функциональная оценка антибиотиков, конъюгированных с наночастицами золота. // *Наномасштаб Res. лат*. 2007 г.; 2: 614-622.

49. Selvaraj, V и Alagar, M. / Аналитическое обнаружение и биологический анализ противолейкозного препарата 5-фторурацила с использованием наночастиц золота в качестве зонда. // *Международ. Дж. Фарм*. 2007 г.; 337(1-2): 275-281.

50. Нино-Мартинес, Н.; Мартинес-Кастанон, Джорджия; Арагон-Пина, А; Мартинес-Гутьеррес, Ф; Мартинес-Мендоса-младший; Руис, Ф. / Характеристика наночастиц серебра, синтезированных на мелких частицах диоксида титана. // *Нанотехнологии* 2008; 19(6): 065711.

51. Альт, В; Бехерт, Т; Штайнрюке, П; Вагенер, М; Зайдель, П; Дингельдейн, Э; Доманн, Э; Шнеттлер, Р. / Оценка антибактериальных свойств и цитотоксичности наночастиц серебряного костного цемента *in vitro*. // *Биоматериалы* 2004; 25(18): 4383-4391.

52. Чон, С.; Йео, С; Yi, S. / Антибактериальная характеристика наночастиц серебра против E. coli ATCC-15224. // *Дж. Матер. науч*. 2005 г.; 40:5407.

53. Рассел, А.Д. и Хьюго, В.Б. / Антимикробная активность и действие серебра. // *прог. Мед. хим.* 1994 год; 31:351.
54. Ли, НУ; Парк, Гонконг; Ли, Ю.М.; Ким, К; Парк, СБ. / Практическая процедура производства наноткани с серебряным покрытием и ее бактериальная оценка для биомедицинских применений. // *хим. коммун. (Кэмб)* 2007; 28: 2959-61.
55. Сирелхатим, А; Махмуд, С; Сини, А; Каус, Х.М.; Энн, LC; Бахори, СКМ; Хасан, Х; Мохамад, Д. / Обзор наночастиц оксида цинка: антибактериальная активность и механизм токсичности. // *Нано-Микро. лат.* 2015 г.; 7(3): 219-242.
56. Цао, Ю.В.; Джин, Р; Миркин, Калифорния. / ДНК-модифицированные наночастицы Ag/Au ядро-оболочка. // *Варенье. хим. соц.* 2001 г.; 123: 7961-2.
57. Вахид, Ф.; Чжоу, ЮН; Ван, ХС; Хотеть; Чжун, К; Чу, LQ. / Инъекционные самовосстанавливающиеся карбоксиметилхитозан-цинковые надмолекулярные гидрогели и их антибактериальная активность. // *Международ. J. Biol. Macromol.* 2018; 114:1233-1239.
58. Синглтон, П. / Бактерии в биологии, биотехнологии и медицине, // John Wiley & Sons Ltd, 2004; ISBN 0-470-09027-8.
59. Де Оливейра, Х.; Тевено, Дж.; Лекомманду, С. / Умные полимерсомы для терапии и диагностики: быстрый прогресс в направлении многофункциональных биомиметических наномедицин. // *Уайли Междисциплинарный. Наномед. Нанобиотехнология.* 2012 г.; 4(5):525-46. doi:10.1002/wnan.1183.
60. Бермудес, Э.; Мангум, Дж. Б.; Вонг, ВА; Асгарян, Б; Хекст, РМ; Вархейт, ДБ; Эверитт, Дж. / Легочные реакции мышей, крыс и хомяков на субхроническое вдыхание ультрадисперсных частиц диоксида титана. // *Токсикол. Науч.* 2004, 77: 347-357.
61. Обердорстер, Г.; Обердорстер, Э; Обердорстер, Дж. / Нанотоксикология - развивающаяся дисциплина, развивающаяся в результате



изучения сверхмелких частиц. // *Перспективы гигиены окружающей среды*, 2005 г.; 113: 347-357.

62. Чжао, У и Налва, HS, ред., / Нанотоксикология-взаимодействия наноматериалов с биологическими системами, // *Sci. Tech. Книжные новости* 2008.

63. Halliwell, В и Gutteridge, J. / Свободные радикалы в биологии и медицине // Oxford University Press, 4 издание, 2007 г.

64. Прабху С. и Пулосе Э.К. / Наночастицы серебра: механизм антимикробного действия, синтез, медицинское применение, токсические эффекты. // *Междунар. Нанопуть*. 2012 г.; 2:32.,

65. Шривастав С.; Бера, Т; Рой, А; Сингх, Г.; Рамачандрарао, П.; Дэш, Д. // Характеристика усиленных антибактериальных эффектов новых наночастиц серебра. / *Нанотехнологии* 2007; 18:1-9.

66. Анканна, С.; Прасад, ТНВКВ; Элумалай, ЕК; Savithramma, N. / Производство биогенных наночастиц серебра с использованием коры стебля *Boswellia valifoliolata*. // *J. Наноматер.и биоструктур*. 2010 г.; 5: 369-72.

67. Пелгрифт, Р.Ю. и Фридман, А.Дж. / Нанотехнологии как терапевтический инструмент для борьбы с микробной резистентностью. // *Адван. Наркотик Делив. Обзоры* 2013; 65: 1803-1815.

68. Хаджиपुर, М.Дж .; Фромм, КМ ; Ашкарран, АА ; Хименес де Аберастури, Д ; де Ларраменди, И. Р. ; Рохо, Т ; Серпушан, В ; Парак, WJ ; Махмуди, М . // Антибактериальные свойства наночастиц. // *Тенденции биотехнологии*. 2012 г.; 30(10): 499-511.

69. Фридман А.; Блехер, К.; Санчес, Д.; Такман-Вернон, К; Джаланелла, П; Фридман, Дж. М.; Мартинес, LR; Носанчук, Ю.Д. / Восприимчивость грамположительных и грамотрицательных бактерий к новой технологии наночастиц, высвобождающих оксид азота. // *Вирулентность* 2011; 2(3): 217-221.

70. Хетрик, Э.М.; Шин, Дж. Х.; Пол, ХС; Шенфиш, МХ. / Антибиопленочная эффективность наночастиц диоксида кремния, высвобождающих оксид азота. // *Биоматериалы* 2009; 30(14): 2782-2789.

71. Барро, Н.; Хассет, ди-джей; Хван, С.-Х.; Райс, ЮАР; Кьеллеберг; Уэбб, Дж. С. / Участие оксида азота в распространении биопленки // *Pseudomonas aeruginosa*. *Дж. Бактериол.* 2006 г.; 188(21): 7344-7353.

72. Чоуаке, Дж.; Шайрер, Д.; Катнер, А; Санчес, Д.А.; Макдиси, Дж.; Блехер-Пас, К.; Начараджу, П; Такман-Вернон, К; Джаланелла, П; Фридман, Дж. М.; Носанчук, Ю.Д.; Фридман, А.Дж. / Нитрозоглутатион, генерирующий наночастицы оксида азота, как улучшенная стратегия борьбы с инфицированными *Pseudomonas aeruginosa* ранами. // *Дж. Препараты Дерматол.* 2012 г.; 11(12):1471-1477.

73. Хан, Г.; Мартинес, LR; Миху, МР; Фридман, А.Дж.; Фридман, Дж. М.; Носанчук, Ю.Д. / Наночастицы, высвобождающие оксид азота, являются терапевтическими для абсцессов золотистого стафилококка в мышинной модели инфекции. // *ПЛОС ОДИН* 2009; 4(11): e7804.

74. Мартинес, Л.Р.; Вешать; Чакко, М; Миху, МР; Джейкобсон, М.; Джаланелла, П; Фридман, А.Дж.; Носанчук, Ю.Д.; Фридман, Дж. М. / Антимикробная и заживляющая эффективность наночастиц оксида азота с замедленным высвобождением против инфекции кожи, вызванной золотистым стафилококком. // *Дж. Инвест. Дерматол.* 2009 г.; 129(10): 2463-2469.

75. Дизай, С.М .; Лотфипур, Ф ; Барзегар-Джалали, М ; Зарринтан, Массачусетс ; Адибкиа, К. / Антимикробная активность металлов и наночастиц оксидов металлов. // *Матер. науч. англ. С Матер. биол. Приложение* 2014; 44:278-84.

76. Аллахвердиев , А.М .; Абамор , Э.С .; Багирова М ; Рилович , М. / Антимикробные эффекты наночастиц TiO(2) и Ag(2)O в отношении резистентных к лекарственным препаратам бактерий и паразитов лейшманиоза. // *Будущая микробиология.* 2011 г.; 6(8):933-40.

77. Цуй , Ю ; Чжао , Ю ; Тиан , Ю ; Чжан , ВТ ; Лю , Х ; Цзян , Х. / Молекулярный механизм действия бактерицидных наночастиц золота на кишечную палочку. // *Биоматериалы*. 2012 г.; 33(7):2327-33.
78. Пэк, Ю.В. и Ан, Ю.Дж. / Микробная токсичность наночастиц металлов (CuO, NiO, ZnO и Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) по отношению к *E.coli*, *B. subtilis* и *Streptococcus aureus*. // *Науч. Общая окружающая среда*. 2011 г.; 409:1603-1608.
79. Музее, Н.; Твала, М; Нота, Н. / Антибактериальные эффекты инженерных наноматериалов: последствия для очистных сооружений. // *Дж. Окружающая среда. Монит*. 2011 г.; 13:1164-1183.
80. Mahmoudi, M и Serpooshan, V. / Инженерные магнитные наночастицы с серебряным покрытием обещают успех в борьбе с угрозой антибактериальной резистентности. // *АСУ Нано* 2012; 6(3):2656-2664.
81. Сауд, АСМ и Франко, ОL. / Функционализация наноструктур для улучшения антибиотиков: междисциплинарный подход. // *тер. Делив*. 2016; 7:11.
82. Вахид Ф.; Чжун, К; Ван, ХС; Ху, ХН; Чу, LQ. / Последние достижения в области противомикробных гидрогелей, содержащих ионы металлов и наночастицы металлов/оксидов металлов. // *Полимеры* 2017; 9:636.
83. Маджиоракос , А. П.; Шринивасан , А ; Кэри , РБ ; Кармели , Ю.; Фалакас , Мэн ; Гиске , К.Г.; Харбарт , С.; Хиндлер , Дж. Ф.; Кальметер , Г.; Олссон-Лильеквист ; Петерсон , Д.Л.; Рис , фунты ; Стеллинг , Дж.; Струеленс , М.Дж.; Ватопулос , А ; Вебер , Дж. Т.; Моне , ДЛ. / Бактерии с множественной лекарственной устойчивостью, широкой лекарственной устойчивостью и панлекарственной устойчивостью: предложение международного эксперта по временным стандартным определениям приобретенной устойчивости. // *Клиника Микробиол Инфект* 2012; 18(3):268-281.

84. Alexander, J.W. / History of the medical use of silver // *Surg Infect(Larchmt)*. – 2009. – Vol. 10, N 3. – P. 289-292.
85. Rai, M.K. / Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrugresistant bacteria // *Journal of Applied Microbiology*. – 2012. – Vol. 112, N 5. – P. 841-852.
86. V.K. Sharma, R.A. Yngard, Y. Liu / Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 2008. – Vol. 145. – P. 83-96.
87. O. Choi, Z. Hu / Size Dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria // *Environ. Sci. Technol.* – 2008. – Vol. 42. – P. 4583-4588.,
88. .L. Elechiguerra, J.L. Burt, J.R. Morones, A. Camacho-Bragado, X. Gao, H.H. Lara, M.J. Yacaman / Interaction of silver nanoparticles with HIV-1 // *J. Nanobiotechnol.* – 2005. – Vol. 3. – P. 6-15.,
89. C.N. Lok, C.M. Ho, R. Chen, Q.Y. He, W.Y. Yu, H. Sun, J.F. Chiu, P. Kwong-Hang Tam, C.M. Che. / Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles // *J. Proteome Res.* – 2006. – Vol. 5. – P. 916-924.
90. V. Sarsar, K.K. Selwal, M.K. Selwal / Nanosilver: Potent antimicrobial agent and its biosynthesis // *African Journal of Biotechnology*. – 2014. – Vol. 13, N 4. – P. 546-554.
91. M.K. Rai, S.D. Deshmukh, A.P. Ingle, A.K. Gade / Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrugresistant bacteria // *Journal of Applied Microbiology*. – 2012. – Vol. 112, N 5. – P. 841-852.
92. S.W.P. Wijnhoven, W.J.G.M. Peijnenburg, C.A.A. Herberts, W.I. Hagens, A.G. Oomen, E.H.W. Heugens, B. Roszek, J. Bisschops, I. Gosens, D. Van De Meent, S. Dekkers, W.H. De Jong, M. Van Zijverden, A.J.A.M. Sips, R. Geertsma / Nano-silver - a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment // *Nanotoxicology*. – 2009. – Vol. 3, N 2. – P. 109-138.

93. A. Chmielowiec-Korzeniowska, L. Krzosek, L. Tymczyna, M. Pyrz, A. Drabik / Bactericidal, fungicidal and virucidal properties of nanosilver. Mode of action and potential application. A review // *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*. – 2013. – Vol. 31, N 2. – P. 1-11.,
94. S. Egger, R.P. Lehmann, M.J. Height, M.J. Loessner, M. Schuppler / Antimicrobial properties of a novel silver-silica nanocomposite material // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2009. – Vol. 75. – P. 2973-2976.
95. M. Rai, A. Yadav, A. Gade / Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials // *Biotechnol Adv.* – 2009.– Vol. 27. – P.76-83.
96. V. Sarsar, K.K. Selwal, M.K. Selwal / Nanosilver: Potent antimicrobial agent and its biosynthesis // *African Journal of Biotechnology*. – 2014. – Vol. 13, N 4. – P. 546-554.
97. J.R. Morones, J.L. Elechiguerra, A. Camacho, J.T. Ramirez / The bactericidal effect of silver nanoparticles // *Nanotechnology*. – 2005. – Vol. 16. – P. 2346-2353.,
98. I. Sondi, B. Salopek-Sondi / Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for gram-negative bacteria // *J Colloid Interface Sci.* – 2004.– Vol. 275. – P.177-182.
99. J.S. Kim, E. Kuk, K.N. Yu, J.H. Kim, S.J. Park, H.J. Lee, D.H. Jeong, M.H. Cho / Antimicrobial effects of silver nanoparticles // *Nanomed Nanotechnol Biol Med.* – 2007. – Vol. 3. – P. 95-101.
100. J.R. Morones, J.L. Elechiguerra, A. Camacho, J.T. Ramirez / The bactericidal effect of silver nanoparticles // *Nanotechnology*. – 2005. – Vol. 16. – P. 2346-2353.
101. E.T. Hwang, J.H. Lee, Y.J. Chae, Y.S. Kim, B.C. Kim, B. Sang, M.B. Gu / Analysis of the toxic mode of action of silver nanoparticles using stress-specific bioluminescent bacteria // *Small*. – 2008. – Vol. 4. – P. 746-750.
102. S. Shrivastava, T. Bera, A. Roy, G. Singh, P. Ramachandrarao, D. Dash. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles // *Nanotechnol.* – 2008. – Vol.18. – P.103-112.

103. E.T. Hwang, J.H. Lee, Y.J. Chae, Y.S. Kim, B.C. Kim, B. Sang, M.B. Gu / Analysis of the toxic mode of action of silver nanoparticles using stress-specific bioluminescent bacteria // *Small*. – 2008. – Vol. 4. – P. 746-750.
104. A. Chmielowiec-Korzeniowska, L. Krzosek, L. Tymczyna, M. Pyrz, A. Drabik / Bactericidal, fungicidal and virucidal properties of nanosilver. Mode of action and potential application. A review // *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*. – 2013. – Vol. 31, N 2. – P. 1-11.
105. M. Raffi, F. Hussain, T.M.Bhatti, J.I. Akhter, A. Hameed, M.M.Hasan / Antibacterial Characterization of Silver Nanoparticles against E. Coli ATCC-15224 // *J. Mater. Sci. Technol*. – 2008. – Vol. 24, N 2. – P.192-196.
106. S.Y. Liao, D.C. Read, W.J. Pugh, J.R. Furr, A.D. Russell / Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions // *Lett. Appl. Microbiol*. – 1997. – Vol. 25. – P. 279-283.
107. Y. Matsumura, K. Yoshikata, S.I. Kunisaki, T. Tsuchido / Mode of Bactericidal Action of Silver Zeolite and Its Comparison with That of Silver Nitrate // *Environ. Microbiol*. – 2003. – Vol. 69. – P. 4278-4281.
108. J.S. Kim, E. Kuk, K.N. Yu, J.H. Kim, S.J. Park, H.J. Lee, D.H. Jeong, M.H. Cho / Antimicrobial effects of silver nanoparticles // *Nanomed Nanotechnol Biol Med*. – 2007. – Vol. 3. – P. 95-101.
109. V. Sarsar, K.K. Selwal, M.K. Selwal / Nanosilver: Potent antimicrobial agent and its biosynthesis // *African Journal of Biotechnology*. – 2014. – Vol. 13, N 4. – P. 546-554.
110. S.L. Percival, P.G. Bowler, J. Dolman / Antimicrobial activity of silver-containing dressings on wound microorganisms using an in vitro biofilm model // *Int Wound J*. – 2007. – Vol. 4. – P. 186-191.
111. J. Fabrega, R. Zhang, J.C. Renshaw, W.T. Liu, J.R. Lead / Impact of silver nanoparticles on natural marine biofilm bacteria // *Chemosphere*. – 2011. – Vol. 85. – P. 961-966.

112. R. Kirsner, H. Orsted, B. Wright / Matrix metalloproteinases in normal and impaired wound healing: a potential role of nanocrystalline silver // Wounds. – 2001. – Vol. 13. – P. 5-10.
113. K.C. Bhol, J. Alroy, P.J. Schechter / Anti-inflammatory effect of topical nanocrystalline silver cream on allergic contact dermatitis in a guinea pig model // Clin Exp Dermatol. – 2004. – Vol. 29. – P. 282-287.
114. J.Tian, K.K. Wong, C.M. Ho, C.N. Lok, W.Y. Yu, C.M. Che, J.F. Chiu, P.K. Tam / Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing /// Chem Med Chem. – 2007. – Vol. 2. – P. 129-136.
115. A.R. Shahverdi, A. Fakhimi, H.R. Shahverdi, S. Minaian / Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against Staphylococcus aureus and Escherichia coli // Nanomedicine. – 2007. – Vol. 3. – P. 168-171.
116. L. Zhang, F.X. Gu, J.M. Chan, A.Z. Wang, R.S. Langer, O.C. Farokhzad / Nanoparticles in Medicine: Therapeutic Applications and Developments // Clinical Pharmacology & Therapeutics. – 2008. – Vol. 83, N 5. – P. 761-769.
117. Бабенко Г.А. / О применении микроэлемента серебра в медицине// Микроэлементы в медицине. // Киев, 1977. -Вып.7. -С. 3-8.
118. Войнар А.И. / Микроэлементы в живой природе. // М.:Высш. Школа, 1962.
119. Суздаев И.П. / Нанотехнология: Физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов // М. Книжный дом «ЛИБЕРКОМ» 2009г.
120. Брызгунов В.С., Липин В.Н., Матросова В.Р. / Сравнительная оценка бактерицидных свойств серебряной воды и антибиотиков на чистых культурах микробов и их ассоциациях // Научн.тр.Казанского мед.ин-та. -1964. -Т.14. -С. 121-122.
121. Вольский Н.Н., Селедцов В.И., Любимов Г.Ю. / Иммуномодулирующие свойства препаратов коллоидного серебра // Коллоидное серебро. Институт катализа им.Борескова Г.К. Сиб.отд. РАН. - Новосибирск, 1992. -С. 31-52.

122. Масленко А.А. / Влияние серебряной воды и воды, консервированной серебром, на органы пищеварения // *Врачебное дело*. -1976. -N5. -С. 88-90.

123. Fox Ch. L. / Silver sulfadiazine for inhibition of AIDS virus during sexual intercourse // *Columbia Univ. Eur. Pat. Appl. EP 287,204 (CL A61 k 33/635)*. -1988.

124. Хуссейн, С.М.; Гесс, КЛ; Гирхарт, Дж. М.; Гейсс, КТ; Шлагер, Дж. / Токсичность наночастиц *in vitro* в клетках печени крыс BRL 3А. // *Токсикол. В пробирке* 2005; 19(7): 975-983.

125. Конне, Британская Колумбия; Калета, М; Gullans, S. / Индуцированное ионами серебра ( $Ag^+$ ) увеличение проницаемости клеточной мембраны  $K^+$  и  $Na^+$  в проксимальных канальцах почек: реверсия с помощью тиоловых реагентов. // *Дж. Член. биол.* 1988 год; 102(1): 11-19.

126. Киттлер С.; Грейлих, К; Диндорф, Дж; Коллер, М; Эппл, М. / Токсичность наночастиц серебра увеличивается при хранении из-за медленного растворения при высвобождении ионов серебра. / *хим. Матер.* 2010 г.; 22(16):4548-4554.

127. Колон, Г. / Увеличение активности остеобластов и снижение активности *Staphylococcus epidermidis* на нанофазе ZnO и TiO<sub>2</sub>. // *J. Biomed.Mater.Res.* 2006 г.; 78 (3) 595-604.

128. Уски О.; Ялава, ИП; Хаппо, MS; Торвела, Т; Лескинен, Дж.; Мяки-Паакканен, Дж.; Тиссари, Дж.; Сиппула, О; Ламберг, Х; Йокиниemi, Дж.; Хирвонен, МР. / Влияние содержания цинка в топливе на токсикологическую реакцию твердых частиц при сжигании пеллет *in vitro*. // *науч. Общая окружающая среда*. 2015 г.; 511: 331–340.

129. Уски О .; Торвела, Т ; Сиппула, О ; Кархунен, Т ; Копонен, Х ; Пераниemi, С ; Ялава, П ; Кислота, М ; Йокиниemi, Дж ; Хирвонен, М. Р. ; Источник, А. / Токсикологические эффекты *in vitro* цинксодержащих наночастиц с различными физико-химическими свойствами. // *Токсикол. В пробирке*. 2017; 42: 105-113.



130. A.D. Maynard, D.B. Warheit, M.A. Philbert / The new toxicology of sophisticated materials: nanotoxicology and beyond // *Toxicol. Sci.* – 2011. – Vol. 120, N 1. – P. 109-129.

131. L.K. Braydich-Stolle, B. Lucas, A. Schrand, R.C. Murdock, T. Lee, J.J. Schlager, S.M. Hussain, M.C. Hofmann / Silver nanoparticles disrupt GDNF/Fyn kinase signaling in spermatogonial stem cells // *Toxicol. Sci.* – 2010. – Vol. 116, N 2. – P. 577-589.,

132. C. Carlson, S.M. A.M. Schrand, L.K. Braydich-Stolle, K.L. Hess, R.L. Jones, J.J. Hussain, Schlager / Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species // *J. Phys. Chem. B.* – 2008. – Vol. 112, N 43. – P. 13608-13619.,

133. A. Haase, H.F. Arlinghaus, J. Tentschert, H. Jungnickel, P. Graf, A. Manton, F. Draude, S. Galla, J. Plendl, M.E. Goetz, A. Masic, W. Meier, A.F. Thunemann, A. Taubert, A. Luch / Application of laser postionization secondary neutral mass spectrometry time-of-flight secondary ion mass spectrometry in nanotoxicology: visualization of nanosilver in human macrophages and cellular responses // *ACS Nano.* – 2011. – Vol. 5, N 4. – P. 3059-3068.,

134. W. Liu, Y. Wu, C. Wang, H.C. Li, T. Wang, C.Y. Liao, L. Cui, Q.F. Zhou, B. Yan, G.B. Jiang / Impact of silver nanoparticles on human cells: effect of particle size // *Nanotoxicol.* – 2010. – Vol. 4, N 3. – P. 319-330.

135. T.M. Tolaymat, A.M. El Badawy, A. Genaidy, K.G. Scheckel, T.P. Luxton, M. Suidan / An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: a systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers // *Sci. Total Environ.* – 2010. – Vol. 408, N 5. – P. 999-1006.

136. M. Ahamed, M. Karns, M. Goodson, J. Rowe, S.M. Hussain, J.J. Schlager, Y. Hong / DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 233, N 3. – P. 404-410.

137. P. Nymark, J. Catalan, S. Suhonen, H. Jarventaus, R. Birkedal, P.A. Clausen, K.A. Jensen, M. Vippola, K. Savolainen, H. Norppa / Genotoxicity of polyvinylpyrrolidone-coated silver nanoparticles in BEAS 2B cells // *Toxicology*. – 2013. – Vol. 313. – P. 38-48.

138. A.K. Suresh, D.A. Pelletier, W. Wang, J.L. Gu, B. Morrell-Falvey, M.J. Doktycz / Cytotoxicity induced by engineered silver nanocrystallites is dependent on surface coatings and cell types // *Langmuir*. – 2012. – Vol. 28, N 5. – P. 2727-2735.

139. X. Yang, A.P. Gondikas, S.M. Marinakos, M. Auffan, J. Liu, H. Hsu-Kim, J.N. Meyer / Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in *Caenorhabditis elegans* // *Environ. Sci. Technol.* – 2012. – Vol. 46, N 2. – P. 1119-1127.

140. M.P. Monopoli, C. Aberg, A. Salvati, K.A. Dawson / Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials // *Nat. Nanotechnol.* – 2012. – Vol. 7, N 12. – P. 779-786.

141. A.A. Ashkarran, M. Ghavami, H. Aghaverdi, P. Stroeve, M. Mahmoudi / Bacterial effects and protein corona evaluations: crucial ignored factors in the prediction of bioefficacy of various forms of silver nanoparticles // *Chem. Res. Toxicol.* – 2012. – Vol. 25, N 6. – P. 1231-1242.

142. S. Kittler, C. Greulich, J. Diendorf, M. Koller, M. Epple / Toxicity of Silver Nanoparticles Increases during Storage Because of Slow Dissolution under Release of Silver Ions // *Chem.Materl.* – 2010. – Vol. 22, N 16. – P. 4548-4554.,

143. J. Liu, Z. Wang, F.D. Liu, A.B. Kane, R.H. Hurt / Chemical transformations of nanosilver in biological environments // *ACS Nano*. – 2012. – Vol. 6, N 11. – P. 9887-9899.,

144. J. Liu, D.A. Sonshine, S. Shervani, R.H. Hurt / Controlled release of biologically active silver from nanosilver surfaces // *ACS Nano*. – 2010. – Vol. 4, N 11. – P. 6903-6913.,

145. J. Liu, R.H. Hurt / Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids // *Environ. Sci. Technol.* – 2010. – Vol. 44, N 6. – P. 2169-2175.

146. E. Wiberg, N. Wiberg, A.F. Holleman / *Holleman Wiberg's Inorganic Chemistry* // San Diego, CA: Academic Press. – 2001. – 1924 p.

147. A.P. Gondikas, A. Morris, B.C. Reinsch, S.M. Marinakos, G.V. Lowry, H. Hsu-Kim / Cysteine-induced modifications of zero-valent silver nanomaterials: implications for particle surface chemistry, aggregation, dissolution, and silver speciation // *Environ. Sci. Technol.* – 2012. – Vol. 46, N 13. – P. 7037-7045.,

148. / L.V. Stebounova, E. Guio, V.H. Grassian / Silver nanoparticles in simulated biological media: a study of aggregation, sedimentation, and dissolution // *J. of Nanopart. Res.* – 2011. – Vol. 13, N 1. – P. 233-244.

149. A.J. Kennedy, M.S. Hull, A.J. BeДHKr, J.D. Goss, J.C. Gunter, J.L. Bouldin, P.J. Vikesland, J.A. Steevens / Fractionating nanosilver: importance for determining toxicity to aquatic test organisms // *Environ. Sci. Technol.* – 2010. – Vol. 44, N 24. – P. 9571-9577.

150. K.R. Rogers, K. Bradham, T. Tolaymat, D.J. Thomas, T. Hartmann, L. Ma, A. Williams / Alterations in physical state of silver nanoparticles exposed to synthetic human stomach fluid // *Sci. Total Environ.* – 2012. – Vol. 420. – P. 334-339.

151. S. Kim, J.E. Choi, J. Choi, K.H. Chung, K. Park, J. Yi, D.Y. Ryu / Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells // *Toxicol. In Vitro.* – 2009. – Vol. 23, N 6. – P. 1076-1084.

152. C. Beer, R. Foldbjerg, Y. Hayashi, D.S. Sutherland, H. Autrup / Toxicity of silver nanoparticles - nanoparticle or silver ion? // *Toxicol. Lett.* – 2012. – Vol. 208, N 3. – P. 286-292.,

153. H. Bouwmeester, J. Poortman, R.J. Peters, E. Wijma, E. Kramer, S. Makama, K. Puspitaninganindita, H.J. Marvin, A.A. Peijnenburg, P.J. Hendriksen / Characterization of translocation of silver nanoparticles and effects on wholegenome

gene expression using an in vitro intestinal epithelium coculture model // ACS Nano. – 2011. – Vol. 5, N 5. – P. 4091-4103.,

154. E. Navarro, F. Piccapietra, B. Wagner, F. Marconi, R. Kaegi, N. Odzak, L. Sigg, R. Behra / Toxicity of Silver Nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii* // Environ. Sci. Tech. – 2008. – Vol. 42, N 23. – P. 8959-8964.,

155. X. Yang, A.P. Gondikas, S.M. Marinakos, M. Auffan, J. Liu, H. Hsu-Kim, J.N. Meyer / Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in *Caenorhabditis elegans* // Environ. Sci. Technol. – 2012. – Vol. 46, N 2. – P. 1119-1127.

156. E.J. Park, J. Yi, Y. Kim, K. Choi, K. Park / Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism // Toxicol. In Vitro. – 2010. – Vol. 24, N 3. – P. 872-878.

157. E. Navarro, F. Piccapietra, B. Wagner, F. Marconi, R. Kaegi, N. Odzak, L. Sigg, R. Behra / Toxicity of Silver Nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii* // Environ. Sci. Tech. – 2008. – Vol. 42, N 23. – P. 8959-8964.

158. R. Foldbjerg, E.S. Irving, Y. Hayashi, D.S. Sutherland, K. Thorsen, H. Autrup, C. Beer / Global gene expression profiling of human lung epithelial cells after exposure to nanosilver // Toxicol. Sci. – 2012. – Vol. 130, N 1. – P. 145-157.

159. Дас, Б.; Трипати, С; Адхикари, Дж.; Чагтопадхьяй, С.; Мандал, Д.; Дэш, СК; Дас, С; Дей, А; Дей, СК; Дас, Д; Рой, С. / Модификация поверхности сводит к минимуму токсичность наночастиц серебра: исследование in vitro и in vivo. // Дж. Биол. неорг. хим. 2017; 22 (6): 893-918. doi 10.1007/s00775-017-1468x.

160. Оливейра, JFAD; Сайто, А; Бидо, АТ; Кобарг, Дж.; Стассен, Гонконг; Кардосо, МБ. / Победа над устойчивостью бактерий и предотвращение токсичности клеток млекопитающих за счет рационального дизайна наночастиц, функционализированных антибиотиками. // науч. 2017 г.; 7: 1326.

161. Ву, Ю; Фишер, С; Лю, Вт; Вейл, Т; Маллен, К. / Контроль клеточного поглощения и токсичности полифениленовых дендримеров путем

химической функционализации. // *ХимБиоХим* 2017; 18 (10): 960-964. doi 10.1002/cbic.201700079.

162. Браун, А.Н.; Смит, К.; Сэмюэлс, Т.А.; Лу Дж. Обаре, О; Скотт, М. / Наночастицы, функционализированные ампициллином, уничтожают полирезистентные к антибиотикам изоляты *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter aerogenes*, а также метициллинрезистентный *Staphylococcus aureus*. // *Appl Environ Microbiol* 2012; 78(8): 2768-74.

163. Малышко В.В., Джимаков С.С., Ломакина Л.В., Басов А.А., Шашков Д.И. / Способ повышения количества и антибактериальной активности наночастиц серебра на шовном материале из шелка. // Патент на изобретение 2770277 С1, 15.04.2022. Заявка № 2021125044 от 23.08.2021.

164. Джимаков С.С., Соколов М.Е., Басов А.А., Федосов С.Р., Малышко В.В., Власов Р.В., Лясота О.М., Барышев М.Г. / Оптимизация физико-химических условий для получения наночастиц серебра и оценка биологических эффектов синтезированных коллоидных растворов // Российские нанотехнологии. 2016. Т. 11. № 11-12. С. 132-137.

165. Джимаков С.С., Соколов М.Е., Басов А.А., Федосов С.Р., Малышко В.В., Власов Р.В., Лясота О.М., Барышев М.Г. / Оптимизация физико-химических условий для получения наночастиц серебра и оценка биологических эффектов синтезированных коллоидных растворов // Российские нанотехнологии. 2016. Т. 11. № 11-12. С. 132-137.

166. Джимаков С.С., Шашков Д.И., Малышко В.В., Моисеев А.В., Копытов Г.Ф. / Формирование однородных наноструктур, содержащих серебро, на поверхности полимера гликолевой кислоты при циклической заморозке // Известия вузов. Физика. 2021. Т. 64. № 6 (763). С. 62-67.

167. Копытов Г.Ф., Малышко В.В., Моисеев А.В., Басов А.А., Джимаков С.С. / Особенности сорбции наночастиц серебра на поверхности полимерных волокон гликолевой и молочной кислот при циклической заморозке в присутствии желатина и хитозана // Известия вузов. Физика. 2022. Т. 65. № 6 (775). С. 105-111.

168. Petriev I.S., Frolov V.Y., Bolotin S.N. et al. // Russian Physics Journal. – 2015. – V. 58. № 8. – P. 1044–1048.
169. Petriev I.S., Frolov V.Y., Bolotin S.N. et al. // Russian Physics Journal. – 2018. – V. 60. № 9. – P. 1611–1617.
170. Bahadar H., Maqbool F., Niaz K., Abdollahi M. // Iranian Biomedical Journal. – 2016. – V. 20. № 1. – P. 1–11.
171. Khan K, Javed S. // Curr Pharm Biotechnol. – 2018. – doi: 10.2174/1389201019666180731121401.
172. Burduşel A.C., Gherasim O., Grumezescu A.M. et al. // Nanomaterials (Basel). – 2018. – V. 8(9). – e681.
173. Spagnol C., Fragal E.H., Pereira A.G.B. et al. // J Colloid Interface Sci. – 2018. – V. 531. – P. 705-715.
174. Wu Z., Huang X., Li Y.C. et al. // Carbohydr Polym. – 2018. – V. 199. – P. 210–218.
175. Mowafi S., Kafafy H., Arafa A. et al. // Environ Sci Pollut Res Int. – 2018. – V. 29. – P. 29054–29069.
176. Vijayan R., Joseph S., Mathew B. // IET Nanobiotechnol. – 2018. – V. 6. – P. 850–856.
177. Wan J., Kim Y., Mulvihill M.J. and Tokunaga T.K. // Environ Toxicol Chem. – 2018. – V. 37(5). – P. 1301–1308.
178. Dzhimak S.S., Sokolov M.E., Basov A.A. et al. // Nanotechnologies in Russia. – 2016. – V. 11. – P. 835–841.
179. Liu L., Cai R., Wang Y. et al. // Int J Mol Sci. – 2018. – V. 19(10). – e2875.
180. Bahadar H., Maqbool F., Niaz K. et al. // Iran. Biomed. J. – 2016. – V. 20(1). – P. 1–11.

181. Dzhimak S. S., Malyshko V. V., Goryachko A. I. et al. // *Rus. Phys J.* – 2019. – V. 62(2). – P. 314–322.
182. Morris D., Ansar M., Speshock J. et al. // *Viruses.* – 2019. – V. 11(8). – P. e732.
183. Haggag E. G., Elshamy A. M., Rabeih M. A. et al. // *Int. J. Nanomedicine.* – 2019 – V.14. – P. 6217–6229.
184. Grabowski N., Hillaireau H., Vergnaud J. et al. // *International journal of pharmaceutics.* – 2015. – V. 482(1-2). – P. 75–83.
185. Haase A., Tentschert J., Jungnickel H. et al. // *Journal of physics.* – 2011. – V. 304(1). – P. E012030.
186. Ribeiro A. I., Modic M., Cvelbar U. et al. // *Nanomaterials (Basel).* – 2020. – V. 10(4). – P. e607.
187. Потекаев А. И., Лысак И. А., Малиновская Т. Д. и др. // *Известия высших учебных заведений. Серия: Химия и химическая технология.* – 2020. – Т. 63(3). – С. 94–99.
188. Chen X., Schluesener H. J. // *Toxicology letters.* – 2008. – V. 176(1). – P. 1–12.
189. Popov K. A., Bykov I. M., Tsymbalyuk I. Yu. et al. // *Medical News of North Caucasus.* – 2018. – V. 13(3). – P. 525–529.
190. Bykov I. M., Basov A. A., Malyshko V. V. et al. // *Bull Exp Biol Med.* – 2017. – V. 163(2). – P. 268–271
191. Dzhimak S. S., Sokolov M. E., Basov A. A. et al. // *Nanotechnologies in Russia.* – 2016. – V. 11(11–12). – P. 846–852.
192. Saleh T., Ahmed E., Yu L. et al. // *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* – 2018. – V. 46(2). – P. 273–284.
193. Rajaboopathi S., Thambidurai S. // *J Photochem Photobiol. B Biol.* – 2018. – V. 183. – P. 75–87.
194. Ziabka M., Dziadek M. // *Polymers.* – 2019. – V. 11(12). – P. E2018.

195. Nakamura S., Sato M., Sato Y. et al. // *Int J Mol Sci.* – 2019. – V. 20(15). – P. 3620.
196. Потекаев А. И., Лысак И. А., Малиновская Т. Д., Лысак Г. В. // *Известия высших учебных заведений. Серия: Химия и химическая технология.* – 2020. – Т. 63(3). – С. 94–99. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20206303.6195>.
197. Dzhimak S. S., Malyshko V. V., Goryachko A. I. et al. // *Rus Phys J.* – 2019. – V. 62(2). – P. 314–322.], создавать гибридные наноструктуры с уникальными электропроводящими, оптическими и каталитическими свойствами [5. Guo Z., Chen, B., Zhang M. et al. // *J. Colloid Interface Sci.* – 2010. – V. 348. – P. 37–42.
198. Jiang L., Zhou Y., Guo Y. et al. // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2019. – V. 136. – P. 47584.
199. Zhao Y., Shang Q., Yu J. et al. // *ACS. Appl. Mater. Inter.* – 2015. – V. 7. – P. 11783–11791.
200. Petriev I. S., Bolotin S. N., Frolov V. Y. et al. // *Bull Russ Acad Sci Phys.* – 2018. – V. 82. – P. 807–810.
201. Basov A. A., Malyshko V. V., Elkina A. A. et al. // *Russian Open Medical Journal.* – 2019. – V. 8(4). – P. e0409. doi: 10.15275/rusomj.2019.0409.
202. Hasobe T. // *J. Phys. Chem. Lett.* – 2013. – V. 4. – P. 1771–1780.
203. Bykov I. M., Basov A. A., Malyshko V. V. et al. // *Bull Exp Biol Med.* – 2017. – V. 163(2). – P. 268–271.
204. Petriev, I. S., Bolotin, S. N., Frolov, V. Y. et al. // *Rus Phys J.* – 2019. – V. 61. – P. 1894–1898.
205. Chen J., Fan L., Yang C. et al. // *Int J Biol Macromol.* – 2020. – V. 161. – P. 1286–1295.
206. Oliani W.L., Parra D.F., Komatsu L.G.H. et al. // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* – 2017. – V. 75. – P. 845-853.
207. Seqqat R., Blaney L., Quesada D. et al. // *J. Nanotechnology.* – 2019. – V. 2019. – P. 2850723. doi: 10.1155/2019/2850723.



208. Yan S., Sun D., Gong Y. et al. // *J. Synchrotron Rad.* – 2016. – V. 23. – P. 718–728.
209. Perkas N., Amirian G., Applerot G. et al. // *Nanotechnology.* – 2008. – V. 19(43). – P. 435604.
210. Guo X. R., Yi Y. G., Tan Z. Q., Liu J. F. // *Environ Sci Technol.* 2018. – V. 52(12). – P. 6928–6935.
211. Fan L., Xie J., Zheng Y. et al. // *ACS Appl Mater Interfaces.* – 2020. – 12(19). – P. 22225–22236.
212. Mubarak S., Dhamodharan D., Kale M.B. // *Nanomaterials (Basel).* – 2020. – V. 10(2). – pii: E217.
213. Lu Y., Yuan W. // *Carbohydr Polym.* – 2018. – V. 191. – P. 86–94.
214. Huang P. Y., Chiu C. W., Huang C. Y. et al. // *Nanomaterials (Basel).* – 2019. – V. 10(1). pii: E65. doi: 10.3390/nano10010065.
215. Tan Z., Guo X., Yin Y. et al. // *Environ Sci Technol.* – 2019. – V. 53(23). – P. 13802–13811.
216. Kumar A., Behl T., Chadha S. // *Int J Biol Macromol.* – 2020. – V. 149. – P. 1262–1274.
217. Wang Q., Qian Z., Liu B. et al. // *J Biomater Sci Polym Ed.* – 2019. – V. 30(6). – P. 462-485.
218. Vishnuvarthanan M., Rajeswari N. // *J Food Sci Technol.* – 2019. – V. 56(5). – P. 2545–2552.
219. Cao G., Lin H., Kannan P. et al. // *Langmuir.* – 2018. – V. 34(48). – P. 14537–14545.
220. Kim H., Hwang K., Yun S.M. // *J Craniofac Surg.* – 2020. – V. 31(3). – P. 876-878.
221. Hosseini R., Mansoorli S., Pirjani R., et al. // *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* – 2021. – V. 50(4). – 101933.
222. Chattopadhyay S., Raines R.T. // *Biopolymers.* – 2014. – V. 101(8). – P. 821-33.

223. Moussy Y., Guegan E., Davis T., et al. // *Biotechnol Prog.* – 2007. – V. 23(4). – P. 990-994.
224. Mienaltowski M.J., Birk D.E. // *Adv Exp Med Biol.* – 2014. – V. 802. – P. 5-29.
225. Gallo J., Hradilová Š., Joska L., et al. // *Acta Chir Orthop Traumatol Cech.* – 2019. – V. 86(2). – P. 110-117.
226. Demirtaş Ö., Doğanay D., Öztürk İ.M., et al. // *Phys Chem Chem Phys.* – 2020. – V. 22(37). – P. 21139-21146.
227. Petriev I., Pushankina P., Lutsenko I., et al. // *Nanomaterials.* – 2020. – V. 10. – P. 1–19.
228. Petriev I., Pushankina P., Bolotin S., et al. // *J Membr Sci.* – 2021. – V. 620. – P. 118894.
229. Dzhimak S. S., Sokolov M. E., Basov A. A. et al. // *Nanotechnologies in Russia.* – 2016. – V. 11(11–12). P. 846–852.
230. Dzhimak S.S., Malyshko V.V., Goryachko A.I., et al. // *Nanotechnologies in Russia.* – 2019. – V. 14. – P. 48-54. <https://doi.org/10.1134/S199507801901004X>.
231. Dzhimak S. S., Malyshko V. V., Goryachko A. I. et al. // *Rus Phys J.* – 2019. – V. 62(2). – P. 314–322.
232. Fan L., Xie J., Zheng Y. et al. // *ACS Appl Mater Interfaces.* – 2020. – 12(19). – P. 22225–22236.
233. Jia L., Tong L., Liang Y. et al. // *J Am Chem Soc.* – 2014. – V. 136(47). – P.16676–16682.
234. Huo S.J., Xue X.K., Li Q.X., et al. // *J Phys Chem B.* – 2006. – V. 110(51). – P. 25721-25728.
235. Wang Z., Zhang H., Chu A. J. et al. // *Acta Biomater.* – 2018. – V.70. – P. 98–109.
236. Li R., Wang H., Song Y. et al. // *J Am Chem Soc.* – 2019. – V.141(50). – P. 19542–19545.

237. Ye H., Cheng J., Yu K. // *Int J Biol Macromol.* – 2019. – V. 121. – P. 633–642.
238. Han X., He J., Wang Z. et al. // *Drug Deliv.* – 2021. – V. 28(1). – P. 319–324.
239. Basu A., Vaskevich A., Chuntanov L. // *J Phys Chem B.* – 2021. – V. 125(3). – P.895–906.
240. Li S., Ma R., Zhu X. et al. // *Ecotoxicol Environ Saf.* – 2021. – V. 210 – P. 111842.
241. Petriev I., P ushankina P., Lutsenko I., Shostak N., Baryshev M., / Synthesis, Electrocatalytic and Gas Transport Characteristics of Pentagonally Structured Star-Shaped Nanocrystallites.
242. Fan X., Ma Z., Zou Y. et al. // *Environ Res.* – 2021. – V. 195. – P. 110858.
243. Le Thi P., Lee Y., Hoang Thi T.T., et al. // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* – 2018. – V.92. – P. 52-60.
244. Bello-Lopez J.M., Silva-Bermudez P., Prado-Prone G., et al. // *Biomed Mater.* – 2021. – V. 17(1).
245. Haidari H., Bright R., Garg S., et al. // *Biomedicines.* – 2021. – V. 9(9). – P. 118
246. Taglietti A., Arciola C.R., D'Agostino A., Dacarro G., Montanaro L., Campoccia D., Cucca L., Vercellino M., Poggi A., Pallavicini P., Visai L. / Antibiofilm activity of a monolayer of silver nanoparticles anchored to an amino-silanized glass surface // *Biomaterials.* 2014. V. 35 (6). P. 1779–1788.
247. Андреева И.В., Стецюк О.У. / Аллергические реакции на антибиотики // *Клиническая фармакология и терапия.* 2013. Т. 22. № 2. С. 5–10.
248. Banks T.A., Ressler R.A., Gada S.M. / Antibiotic reclamation: penicillin allergy, antibiotic stewardship, and the allergist // *Annals of Allergy, Asthma and Immunology.* 2015. V. 115 (5). P. 451–452.
249. Wright J., Paauw D.S. / Complications of Antibiotic Therapy // *Medical Clinics of North America.* 2013. V. 97 (4). P. 667–679.

250. Leaper D.J. / Risk factors for and epidemiology of surgical site infections // *Surgical Infections*. 2010. V. 11 (3). P. 283–287.

251. Savage J.W., Anderson P.A. / An update on modifiable factors to reduce the risk of surgical site infections // *Spine J*. 2013. V. 13 (9). P. 1017–1029.

252. Голубева О.Ю., Шамова О.В., Орлов Д.С., Пазина Т.Ю., Болдина А.С., Дроздова И.А., Кокряков В.Н. / Синтез и исследование антимикробной активности биоконъюгатов наночастиц серебра и эндогенных антибиотиков // *Физика и химия стекла*. 2011. Т. 37. № 1. С. 107–115.

253. Муха Ю.П., Еременко А.М., Смирнова Н.П., Михиенкова А.И., Корчак Г.И., Горчев В.Ф., Чунихина А.Ю. / Антимикробная активность стабильных наночастиц серебра заданного размера // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2013. Т. 49. № 2. С. 215.

254. Catalina M.J., Eric M.V. / A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment // *J. Nanopart Res*. 2010. V. 12. P. 1531–1551.

255. Shameli K., Ahmad M.B., Zargar M., Yunus W., Ibrahim N.A., Shabanzadeh P., Moghaddam M.G. / Synthesis and characterization of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites by chemical reduction method and their antibacterial activity // *Int. J. Nanomedicine*. 2011. № 6. P. 271–284.

256. Xiu Z.-M., Ma J., Alvarez P.J. / Differential effect of common ligands and molecular oxygen on antimicrobial activity of silver nanoparticles versus silver ions // *Environ. Sci. Technol*. 2011. V. 45 (20). P. 9003–9008.

257. Naddy R.B., Mc Nerney G.R., Gorsuch J.W., Bell R.A., Kramer J.R., Wu K.B., Paquin P.R. / The effect of food on the acute toxicity of silver nitrate to four freshwater test species and acute-to-chronic ratios // *Ecotoxicology*. 2011. V. 20 (8). P. 2019–2029.

258. McShan D., Ray P.C., Yu H. / Molecular toxicity mechanism of nanosilver // *Journal of Food and Drug Analysis*. 2014. V. 22 (1). P. 116–127.

259. Pal S., Tak Y.K., Song J.M. / Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative

bacterium *Escherichia coli* // Appl. Environ. Microbiol. 2007. № 73 (6). P. 1712–1720.

260. Carolin F.D., Горовцов А.В., Nadine S.F., Ewa K. / Сравнение скорости подавления роста *E. coli*, *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* современными антисептиками с целью их применения для инфицированных ран // Фундаментальные исследования. 2013. № 10–2. С. 321–327.

261. Кузнецова М.В., Карпунина Т.И., Николаева Н.В., Чепурная И.М., Авдеева Н.С., Проворова С.В. / *Pseudomonas aeruginosa* в спектре микробных культур, изолируемых от пациентов различных стационаров // Альманах клинической медицины. 2012. № 27. С. 50–57.

262. Hebeish A.A., Ramadan M.A., Montaser A.S., Farag A.M. / Preparation, characterization and antibacterial activity of chitosan-g-poly acrylonitrile/silver nanocomposite // Int. J. Biol. Macromol. 2014. V. 68. P. 178–184.

263. Mahendra S., Li Q., Lyon D.Y., Brunet L., Alvarez P.J.J. / Enabled water disinfection and microbial control: merits and limitations // Nanotechnology applications for clean water: solutions for improving water quality: Second edition. 2014. P. 319–327.

264. Золотухина Е.В., Кравченко Т.А., Пешков С.В. / Способ получения наночастиц серебра // Патент на изобретение № 2385293 Российская Федерация. С01G 5/00, В82В 3/00. 27.03.2010. Бюл. 9. 7 с.

265. Парсаев А.А., Абхалимов Е.В., Якимова Е.Е., Ершов Б.Г. / Получение наночастиц серебра в водных растворах, содержащих карбонат-ионы // Вестник МИТХТ. 2010. Т. 5. № 5. С. 24–26.

266. Okafor F., Janen A., Kukhtareva T., Edwards V., Curley M. / Green synthesis of silver nanoparticles, their characterization, application and antibacterial activity // Int. J. Environ Res. Public Health. 2013. V. 10 (10). P. 5221–5238.

267. Wang C., Kim Y.J., Singh P., Mathiyalagan R., Jin Y., Yang D.C. / Green synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus methylotrophicus*, and their antimicrobial activity // Artif. Cells Nanomed. Biotechnol. 2015. № 6. P. 1–6.

268. Вегера А.В., Зимон А.Д. / Синтез и физико-химические свойства наночастиц серебра, стабилизированных желатином // Известия Томского политехнического университета. 2006. Т. 309. № 5. С. 60–63.

269. Михиенкова А.И., Муха Ю.П. / Наночастицы серебра: характеристика и стабильность антимикробного действия коллоидных растворов. // Environment & Health. 2011. № 1. С. 55–59.

270. Жабаева С., Осмонканова Г.Н., Жунусов А.Б. / Изучение золь наноразмерного серебра методом электронной спектроскопии // Известия вузов Кыргызстана. 2014. № 5. С. 88–90.

271. Крутяков Ю.А., Оленин А.Ю., Кудринский А.А., Джурик П.С., Лисичкин Г.В. / Агрегативная устойчивость и полидисперсность наночастиц серебра, полученных в двухфазных водно-органических системах // Российские нанотехнологии. 2008. Т. 3. № 5–6. С. 112–117.

272. Петрицкая Е.Н., Абаева Л.Ф., Рогаткин Д.А., Литвинова К.С., Бобров М.А. / К вопросу о токсичности наночастиц серебра при пероральном введении коллоидного раствора // Альманах клинической медицины. 2011. № 25. С. 9–12.

273. Мосин О.В., Игнатов И. / Композиционные материалы на основе мелкодисперсных наночастиц серебра // Строительные материалы, оборудование, технологии XXI века. 2015. № 3 (194). С. 21–23.

274. Кошелев К.К., Кошелева О.К., Свистунов М.Г., Паутов В.П. / Способ получения концентратов нанодисперсий нульвалентных металлов с антисептическими свойствами // Патент на изобретение RUS 2445951 24.08.2010 Опубликовано: 27.03.2012. Бюл. № 9.

275. Блинов А.В., Блинова А.А., Серов А.В., Храмцов А.Г., Набережный Д.О. / Исследование устойчивости концентрата наночастиц серебра в различных средах // В сборнике: Актуальные проблемы современной науки. IV Международная научно-практическая конференция. 2015. С. 393–396.

276. Шпынев К.В., Кречикова О.И., Кречиков В.А., Козлов Р.С. / *Streptococcus pyogenes*: характеристика микроорганизма, выделение, идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2007. Т. 9. № 2. С. 104–120.
277. H. A. Albarqi, A. A. Alqahtani, I. Ullah et al. // *AAPS Pharm. Sci. Tech.* 23 (2), 72 (2022).
278. L. Wei, J. Tan, L. Li, et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 23 (3), 1249 (2022).
279. R. E. Abouzeid, A. Salama, E. M. // *El-Fakharany. Molecules* 27, 697 (2022).
280. X. Huang, H. Jing, X. Du, et al. // *Int. J. Biol. Macromol.* 200, 1 (2022).
281. Y. Wang, L. Su, Y. Hou, et al. // *Macromol. Biosci.* 22 (4), e2100352 (2022).
282. N. Shojarazavi, S. Mashayekhan, H. Pazooki, et al. // *J. Biomater. Appl.* 36 (5), 803 (2021).
283. E. Kim, J. M. Seok, S. B. Bae, et al. // *Biomacromolecules.* 22 (5), 1921 (2021).
284. C. C. Chen, Y. Y. Chen, C. C. Yeh et al. // *Front. Pharmacol.* 12, 746496 (2021).
285. A. Basov, L. Fedulova, E. Vasilevskaya et al., // *Saudi J. Biol. Sci.* 28 (3), 1826 (2021).
286. S. Tian, Y. Hu, X. Chen, et al. // *Int. J. Biol. Macromol.* 195, 515 (2022).
287. H. Murugaiah, C. L. Teh, K. C. Loh et al. // *Molecules* 26 (21), 6414 (2021).
288. S. S. Dzhimak, V. V. Malyshko, A. I. Goryachko et al. // *Rus. Phys. J.* 62 (2), 314 (2019).
289. S. S. Dzhimak, V. V. Malyshko, A. I. Goryachko, et al. // *Nanotech. Rus.* 14, 48 (2019).
290. G. F. Kopytov, V. V. Malyshko, A. A. Elkina et al. // *Rus. Phys. J.* 63 (6), 989 (2020).

291. A. Basov, S. Dzhimak, M. Sokolov, et al. // *Nanomaterials* 12, 1164 (2022).
292. S. S. Dzhimak, M. E. Sokolov, A. A. Basov, et al. // *Nanotech. Rus.* 11, 835 (2016).
293. А. А. Басов, В. В. Малышко, С. Р. Федосов, Ю. П. Савченко, Р. В. Власов, К. Н. Чернобай, // РФ № 150504, № 5, (2015).
294. В. В. Малышко, С. С. Джимаков, Л. В. Ломакина, А. А. Басов, Д. И. Шашков, // РФ № 2770277, № 11, (2022).
295. I. Petriev, P. Pushankina, M. Baryshev and N. Shostak, // *Int. J. Mol. Sci.* 23 (1), 228 (2022).
296. I. S. Petriev, P. D. Pushankina, I. S. Lutsenko and M. G. Baryshev, // *Tech. Phys. Let.* 47, 803 (2021).
297. А. А. Басов, И. М. Быков, С. Р. Федосов, В. В. Малышко, // РФ № 2455703, № 19, (2012).
298. М. О. Гомзикова, А. Г. Маланьева, З. Ю. Сираева, / *Основы проведения биомедицинских исследований на лабораторных животных: учеб. пособие* // МеДДоК, Казань, 2021.
299. А. Я. Яшин, // *Рос. хим. журнал.* 2, 130 (2008).
300. J. F. Robyt, R. J. Ackerman and C. G. Chittenden, *Arch. Biochem. // Biophys.* 147, 262 (1971).
301. R. Beers and I. Sizer, // *J. Biol. Chem.* 195, 133 (1952).
302. А. А. Басов, S. V. Kozin, I. M. Bikov, et al. // *Biol. Bull.* 46 (6), 531 (2019).
303. В. А. Костюк, А. И. Потапович и Ж. И. Ковалева, // *Вопр. мед. хим.* 2, 88 (1990).
304. A. Kravtsov, S. Kozin, A. Basov, et al. // *Molecules* 27 (1), 243 (2022).
305. А. А. Басов, И. И. Павлюченко, А. М. Плаксин и С. Р. Федосов, // *Вест. нов. мед. технол.* 4, 67 (2003).
306. И. И. Павлюченко, А. А. Басов и С. Р. Федосов, // РФ № 54787, № 21, (2007).



307. И. И. Павлюченко, С. Р. Федосов и А. А. Басов, // РФ № 2006611562, ЭВМ, (2006).
308. I. M. Bykov, A. A. Basov, V. V. Malyshko, et al. // Bull. Exp. Biol. and Med. 163 (2), 268 (2017).
309. G. Tao, Y. Wang, R. Cai, et al. // Mater. Sci. Eng. C. 101, 341 (2019).
310. H. He, G. Tao, Y. Wang, et al., // Mater. Sci. Eng. C. 80, 509 (2017).
311. H. Muhammad Tahir, F. Saleem, S. Ali et al. // J. Basic. Microbiol. 60 (5), 458 (2020).
312. S. Roy and T. K. Das et al. // J. Appl. Spectrosc. 82, 598 (2015).
313. Z. Tan, X. Guo, Y. Yin, et al. // Environ. Sci. Technol. 53 (23), 13802 (2019).
314. S. J. Yu, Y. G. Yin, J. B. Chao, et al. // Environ. Sci. Technol. 48 (1), 403 (2014).
315. G. Xiaoru, Y. Yongguang, T. Zhiqiang et al. // Environ. Sci. Technol. 52 (12), 6928 (2018).
316. С. Р. Туйсин и И. В. Богданов // Фунд. исслед. 4, 81 (2010).
317. A. A. Basov, S. R. Fedosov, V. V. Malyshko, et al. // J. Wound Care. 30 (4), 312 (2021).
318. I. Y. Tsymbalyuk, A. M. Manuilov, K. A. Popov and A. A. Basov // Novosti Khirurgii. 25 (5), 447 (2017).