

УДК 541.64:532.77

СТРУКТУРНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГИБРИДНЫХ БИОАКТИВНЫХ МЕДЬ-, СЕЛЕН- И СЕРЕБРОСОДЕРЖАЩИХ НАНОСИСТЕМ НА ОСНОВЕ ПОЛИ-4-АКРИЛОИЛМОРФОЛИНА

© 2021 г. С. В. Валужева^а, *, М. Э. Вылегжанина^а, К. А. Митусова^а, М. А. Безрукова^а,
О. В. Назарова^а, Ю. И. Золотова^а, Е. Ф. Панарин^а

^аИнститут высокомолекулярных соединений Российской академии наук,
Санкт-Петербург, 199004 Россия

*e-mail: svalu67@mail.ru

Поступила в редакцию 20.05.2020 г.

После доработки 17.08.2020 г.

Принята к публикации 25.08.2020 г.

Методами атомно-силовой и просвечивающей электронной микроскопии, УФ/видимой спектроскопии и динамического светорассеяния проведено сравнительное исследование новых гибридных биоактивных наносистем на основе наночастиц различной природы: нуль-валентной меди (Cu^0), нуль-валентного селена (Se^0) и нуль-валентного серебра (Ag^0), стабилизированных водорастворимым гомополимером поли-4-акрилоилморфолином (ПАМ). Показана возможность регулирования структурно-морфологических параметров, а также размерных и спектральных характеристик биоактивных наносистем путем варьирования природы наночастиц. Установлено, что восстановление в воде ионов биогенных элементов в присутствии поли-4-акрилоилморфолина за счет достаточно хорошей экранировки позволяет получать наноструктуры сферической формы диаметром, не превышающим 180 нм (ПАМ/ Se^0). Наиболее вероятные размеры наночастиц не превышают 12 нм.

Ключевые слова: атомно-силовая микроскопия, просвечивающая электронная микроскопия, морфология, структура, наночастицы меди, селена и серебра, поли-4-акрилоилморфолин, гибридные биоактивные наносистемы, наноструктуры, УФ/видимая-спектроскопия, динамическое светорассеяние.

DOI: 10.31857/S1028096021020151

ВВЕДЕНИЕ

Получение гибридных наноматериалов полимер-металл/металлоид путем формирования наночастиц (НЧ) металлов/металлоидов в водных растворах высокомолекулярных соединений дифильного строения является динамично развивающимся направлением в последние годы. Одним из наиболее актуальных направлений современной бионанотехнологии является создание полифункциональных лекарственных форм, включающих модифицированные компоненты, поскольку модифицированные препараты обладают рядом преимуществ по сравнению с исходными веществами. Перспективной в этой связи представляется идея модификации водорастворимого биосовместимого гомополимера поли-4-акрилоилморфолина (ПАМ) [1], наночастицами биогенных элементов, с целью создания гибридных биоактивных наносистем – потенциальных лекар-

ственных препаратов. Нанодисперсные системы биогенных элементов таких как медь, серебро и селен представляют особый интерес. Так, медь в нанодисперсном состоянии обладает антимикробными, противовирусными, противоопухолевыми и фунгицидными свойствами, и в тоже время характеризуется сравнительно низкой токсичностью (медь в нуль-валентной форме (Cu^0) в 7–50 раз менее токсична, чем медь в ионной форме) [2–9]. Кроме того, НЧ Cu^0 стимулируют обменные процессы и проявляют полифункциональную биологическую активность [4]. Соединения меди являются контактными фунгицидами в отношении большинства фитопатогенов, ими обрабатывают сады, виноградники и овощные культуры [6–9].

Наночастицы нуль-валентного серебра (Ag^0) проявляют сильно выраженные антимикробные свойства, причем степень антибактериального

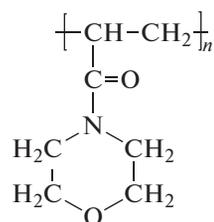
эффекта в значительной мере определяется морфологией НЧ [10, 11].

Селен — жизненно важный микроэлемент, входит в состав многих ферментов-антиоксидантов и выполняет в организме функцию антиоксиданта с иммуностимулирующим и противоопухолевым действием. Существует зависимость между содержанием селена во внешней среде и частотой поражения населения злокачественными опухолями [12–15]. В клинической медицине показана эффективность использования НЧ селена в нульвалентной форме (Se^0) в комбинации с известными противоопухолевыми веществами [16].

Известно, что наночастицы кинетически неустойчивы в растворе и имеют тенденцию как к агрегации, так и к окислению, поэтому их необходимо стабилизировать. Известными стабилизаторами являются высокомолекулярные соединения [17]. Стабилизация наночастиц полимерами может осуществляться как по стерическому, так и по электростерическому механизму [18], за счет разных по природе нековалентных взаимодействий (гидрофобных и водородных связей, кулоновских и ион-дипольных взаимодействий), при этом тип стабилизации определяется, в первую очередь, природой НЧ. Предполагается, что макромолекулярные экраны, препятствующие дальнейшему росту частиц и предохраняющие их от агрегации, образуются благодаря нековалентным (адсорбционным) взаимодействиям полимерных цепей с поверхностью растущих НЧ. К таким взаимодействиям относятся стерические, электростатические и гидрофобные, а также водородные и координационные связи. Адсорбция макромолекул полимера на НЧ сопровождается формированием органической оболочки на неорганическом ядре и приводит к снижению поверхностного натяжения, стабилизации образующихся НЧ от их агрегации, торможению роста, а также повышению их устойчивости [19]. Кроме того, в таких процессах часто образуются НЧ с достаточно узким распределением по размерам, что важно с практической точки зрения для получения хорошо организованных трехмерных периодических наноструктур. Следует также заметить, что средний размер НЧ, образующихся в присутствии органических соединений, существенно меньше, чем в их отсутствие. Эти факты свидетельствуют о влиянии адсорбции органических молекул на поверхности НЧ металлов/неметаллов на процесс формирования НЧ [20].

Цель настоящей работы — синтез и сравнительное исследование структурно-морфологических, размерных и спектральных характеристик гибридных биоактивных наносистем на основе

НЧ биогенных элементов Cu^0 , Ag^0 и Se^0 , стабилизированных водорастворимым дифильным гомополимером поли-4-акрилоилморфолином (ПАМ), структурная формула представлена ниже:



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы

Для синтеза наночастиц меди, серебра и селена использовались сульфат меди и аммиак водный (“Реахим”, Москва), гидразин гидрат и нитрат серебра (“ЭкросХим”, Москва), боргидрид натрия и селенистая и аскорбиновая кислоты (“Вектон”, Санкт-Петербург). Вещества растворялись в апирогенной воде для инъекций.

Гомополимер 4-акрилоилморфолина (поли-4-АМ) синтезировали методом свободно-радикальной полимеризации в запаянной ампуле в атмосфере аргона. Процесс проводили в растворе N,N-диметилформамида при 60°C в течение 24 ч. Концентрация мономера составляла 20 мас. %, инициатора — 2,2'-азо-бис-изобутиронитрила — 1% от массы мономера. Полученный полимер очищали от низкомолекулярных примесей диализом против воды. Использовали диализные мембраны Spectra/Por 7 фирмы “Spectrum Lab. Inc.” (США), позволяющие удалять соединения с молекулярной массой $M \leq 1000$. Из водного раствора полимер выделяли лиофильной сушкой.

Методы исследования.

Изучение морфологии гибридных биоактивных наносистем методом атомно-силовой микроскопии (АСМ)

Исследование морфологии гибридных биоактивных наносистем ПАМ/НЧ проводили методом АСМ на атомно-силовом микроскопе Nanotop NT-206 (ОДО “Микротестмашины”, Беларусь). Измерения выполняли в контактном режиме в атмосферных условиях с использованием кремниевых кантилеверов NSC11/AIBS с коэффициентом жесткости $k = 3.0$ Н/м и радиусом кривизны кончика острия 10 нм. Экспериментальные данные обрабатывали с помощью программы Surface Explorer. В качестве подложки использовали слюду.

Исследования методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ)

Исследования методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) проводили на электронном микроскопе BS-500 (фирмы “Tesla”, Чехия) при ускоряющем напряжении $U = 60$ кВ, в диапазоне увеличений 9000–30000. Перед исследованием водные растворы наносистем наносили на медную сетку, покрытую формваровой пленкой, и сушили на воздухе.

Регистрация спектров поглощения

Спектры поглощения в ультрафиолетовой (УФ) и видимой областях измеряли с помощью спектрофотометра Spexord M-40 (“Карл Цейс” г. Йена, Германия) в рабочем диапазоне от 220 до 900 нм, в кварцевых кюветках с толщиной фотометрического слоя 1 см. Относительная суммарная погрешность при регистрации спектров не превышала 2%.

Измерения динамического светорассеяния

Гидродинамические радиусы наноструктур (R_h^*) в водных растворах определяли методом динамического светорассеяния (ДСР) на корреляционном спектрометре Photocor Complex (источник света – гелий-неоновый лазер фирмы “Coherent” мощностью 20 мВт и длиной волны $\lambda = 632.8$ нм) с программируемым коррелятором Photocor-FC (число каналов 288, ООО “Фотокор”, Россия). Обработку корреляционной функции осуществляли с помощью программы DynaLS (“Гелиос”, Россия). Величины гидродинамических радиусов R_h^* рассчитывали из значений коэффициентов диффузии (D^*) по уравнению Эйнштейна – Стокса: $R_h^* = kT/6\pi\eta_0 D^*$ (η_0 – вязкость растворителя, k – константа Больцмана, T – температура) [21].

pH-Метрия

Для измерения pH-среды использовали милливольтметр И-160 МИ.

Диффузия и скоростная седиментация

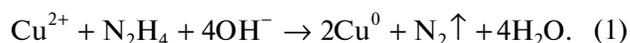
Для исследования молекулярно-конформационных характеристик синтезированного гомополимера поли-4-акрилоилморфолина использовались гидродинамические методы – поступательная диффузия и скоростная седиментация. Гидродинамические характеристики определяли в водном растворителе (0.1 н HCl + 0.1 н NaCl). Коэффициент поступательной диффузии D был

определен методом дисперсии границы раствор-растворитель на поляризационном диффузометре Цветкова [22] при температуре 24°C. Образование границы раствор-растворитель выполняли в подслаивающей оптической кювете длиной 3 см по ходу луча света. Фотографии интерференционных полос границы раствор-растворитель обрабатывали методом максимальной ординаты и площади под интерференционной полосой [23]. По площадям под интерференционными кривыми рассчитывали инкремент показателя преломления dn/dc ($dn/dc = 0.156$ см³/г). По измеренным коэффициентам диффузии D рассчитали гидродинамический радиус эквивалентной сферы R_h по уравнению Эйнштейна–Стокса: $R_h = kT/6\pi\eta_0 D$. Коэффициенты седиментации s макромолекул в центробежном поле измерены на ультрацентрифуге (фирмы “МOM 3180”, Венгрия), оборудованной поляризационно-интерферометрической приставкой [24], при скорости вращения ротора 40×10^3 об./мин при температуре 24°C. Использовали двухсекторную кювету с образованием искусственной границы методом наслаивания. Толщина кюветы по ходу луча света равнялась 12 мм. Поляризационно-интерферометрическая оптика, установленная на ультрацентрифуге и диффузометре, позволила проводить измерения при концентрациях, не превышающих 0.15×10^{-2} г/см³, и не исследовать концентрационные зависимости. По данным седиментационно-диффузионных измерений определена абсолютная молекулярная масса $M_{s,D}$ ПАМ методом Сведберга: $M_{s,D} = (s/D)N_A kT/(1 - \nu\rho_0)$, где ρ_0 – плотность растворителя. Для фактора плаваемости $(1 - \nu\rho_0)$ ПАМ приняли значение 0.254 [23]. Значения гидродинамического инварианта Цветкова–Кленина рассчитывали по формуле [24]: $A_0 = (\eta_0 D/T) \times (M_{s,D}[\eta]/100)^{1/3}$. Молекулярно-конформационные характеристики ПАМ, полученные методами вискозиметрии и седиментационно-диффузионного анализа представлены в табл. 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез наночастиц нуль-валентной меди

Наночастицы нуль-валентной меди получали восстановлением сульфата меди $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ гидразин гидратом $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ в водном растворе в присутствии ПАМ по реакции (1):

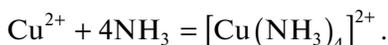


Согласно работе [25], кроме наночастиц Cu^0 в качестве примесей могут образоваться наночастицы оксидов меди. Чтобы избежать образования примесей реакцию восстановления проводили в

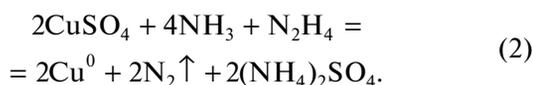
Таблица 1. Молекулярно-конформационные характеристики ПАМ, полученные методами вискозиметрии и седиментационно-диффузионного анализа

Система	$[\eta]$, дл/г	$D \times 10^7$, см ² /с	$s \times 10^{13}$, Св	M_{sD}	R_h , нм
ПАМ в 0.1 н HCl + 0.1 н NaCl/вода	0.26	4.4	2.82	60 400	5

два этапа. Сначала к водному раствору CuSO₄ и ПАМ добавляли водный аммиак до pH 10.8 (цвет раствора становился *ярко синим*), чтобы обеспечить полное связывание Cu²⁺ в комплексный ион:



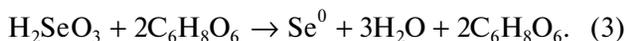
Затем реакционную смесь нагревали на водяной бане до 60°C при механическом перемешивании и добавляли раствор гидразин гидрата в соотношении Cu : N₂H₄ · H₂O = 1 : 30, после этого реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры (21°C). Реакция завершалась, когда раствор приобретал *насыщенный коричнево-красный цвет*, характерный для НЧ Cu⁰. В сильнощелочной среде реакция восстановления аммиака меди протекает с образованием НЧ меди и выделением азота:



Концентрация НЧ меди в наносистеме составляла: C_{Cu⁰} = 0.005 масс. %, концентрация ПАМ C_{ПАМ} = 0.1 масс. % (v = C_{Cu⁰}/C_{ПАМ} = 0.05, где v – массовое соотношение концентраций НЧ и гомополимера) [26]. pH медьсодержащих растворов составляла 10.8.

Синтез наночастиц нуль-валентного селена

Синтез НЧ нуль-валентного селена осуществлялся в результате реакции (3) между селенистой (H₂SeO₃) и аскорбиновой (C₆H₈O₆) кислотами в присутствии ПАМ:



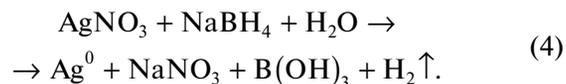
В реакционную колбу помещали водный раствор ПАМ (C_{ПАМ} = 0.1 масс. %) и раствор H₂SeO₃ (C_{Se⁰} = 0.005 масс. %). Смесь перемешивали при комнатной температуре 20 мин, затем добавляли раствор аскорбиновой кислоты в соотношении 1 : 2. После введения всех компонентов раствор выдерживали при комнатной температуре в течение суток. После завершения реакции раствор приобретал *красновато-оранжевый цвет*. В отсутствие

сополимера происходило образование золя нуль-валентного красного аморфного селена (Se⁰), который выпадал в осадок через ~24 часа. Кроме того, через 7–10 сут Se⁰ из аморфной красной формы переходил в другую модификацию – серый металлический селен.

Таким образом, в отсутствие стабилизатора НЧ селена показали низкую агрегативную устойчивость. Введение в реакционную среду ПАМ позволило получить стабильные растворы красновато-оранжевого цвета, сохраняющие свои физико-химические свойства в течение 1–2 месяцев. pH селен-содержащих растворов составляла 3.8.

Синтез наночастиц нуль-валентного серебра

Наночастицы нуль-валентного серебра получали в результате окислительно-восстановительной реакции (4) нитрата серебра (AgNO₃) с боргидридом натрия (NaBH₄):



В колбу заливали водный раствор гомополимера ПАМ и раствор нитрата серебра (AgNO₃). Синтез проводился из расчета C_{Ag⁰} = 0.005 масс. % и C_{СП} = 0.1 масс. %. Колбу помещали в ледяную баню на 30–40 мин. Далее при механическом перемешивании в полученную смесь добавляли восстановитель NaBH₄ в избытке 1 : 24. Раствор выдерживали в ледяной бане в течение 1ч, а затем еще сутки в холодильнике. В результате восстановления серебра получался раствор *желтовато-коричневатого цвета*. При смешении растворов AgNO₃ и NaBH₄, в отсутствие веществ, препятствующих агрегации частиц, происходит быстрая, необратимая реакция с выпадением черного осадка металлического серебра. В присутствии ПАМ растворы НЧ Ag⁰ стабильны не менее двух месяцев. pH серебрясодержащих растворов составляла 10.5.

На рис. 1 приведены оптические спектры поглощения в УФ- и видимой областях для свободного гомополимера ПАМ (рис. 1, кривая 1) и для меди-, селен- и серебрясодержащих гибридных биоактивных наносистем: ПАМ/Cu⁰ (рис. 1, кри-

вая 2), ПАМ/ Se^0 (рис. 1, кривая 3) и ПАМ/ Ag^0 (рис. 1, кривая 4) при $\nu = 0.05$. На оптических спектрах поглощения, полученных для медьсодержащей наносистемы ПАМ/ Cu^0 появлялась характерная для НЧ Cu^0 полоса поверхностного плазмонного резонанса (ППР) при $\lambda = 580$ нм (рис. 1, кривая 2) (согласно работе [27] для наночастиц меди ППР наблюдается в диапазоне длин волн $\lambda = 570\text{--}590$ нм). Полосы поглощения, характерные для оксидов меди, обычно наблюдаемые в диапазонах $\lambda = 300\text{--}450$ и $700\text{--}750$ нм [28, 29], на данном спектре отсутствовали. Следует отметить, что ПАМ в данном диапазоне длин волн не поглощает (рис. 1, кривая 1). В случае селенсодержащей наносистемы ПАМ/ Se^0 (рис. 1, кривая 3) на оптическом спектре поглощения наблюдается четко выраженный узкий пик при $\lambda = 260$ нм, что свидетельствует об образовании в водном растворе НЧ селена в нуль-валентном состоянии (согласно литературным данным пик поглощения для свободных НЧ Se^0 наблюдается при $\lambda = 256$ нм [30], что мало отличается от ранее исследованных нами селенсодержащих наносистем [17]). Максимум полосы поверхностного плазмонного резонанса для серебросодержащей наносистемы ПАМ/ Ag^0 наблюдается при $\lambda = 400$ нм (рис. 1, кривая 4), что свидетельствует об образовании в водном растворе НЧ серебра в нуль-валентном состоянии [17, 31].

Важно отметить, что селен представляет собой гидрофобный неорганический полимер, поэтому стабилизация НЧ Se^0 происходит преимущественно за счет взаимодействий НЧ с гидрофобными CH_2 -группами ПАМ. То есть реализуется стерический механизм стабилизации за счет энтропийного эффекта, вызываемого уменьшением конфигурационной свободы полимерных цепей в области между частицами за счет гидрофобных взаимодействий [18, 32]. Для металлсодержащих наносистем ПАМ/ Cu^0 и ПАМ/ Ag^0 имеет место стерический механизм стабилизации за счет осмотического эффекта, возникающего из-за повышенной концентрации полимера в области между частицами [18, 32].

В гидродинамических экспериментах для исходного гомополимера были определены значения характеристической вязкости $[\eta] = 0.26$ дл/г, коэффициентов поступательной диффузии $D = 4.4 \times 10^{-7}$ см²/с ($dn/dc = 0.156$ см³/г) и скоростной седиментации $s = 2.82$ Св, оценен гидродинамический радиус $R_h = 5$ нм, рассчитаны молекулярная масса $M_{sD} = 60400$ и гидродинамический инвариант $A_0 = 3.6 \times 10^{-10}$ эрг/град. Найденная величина A_0 характерна для гибкоцепных поли-

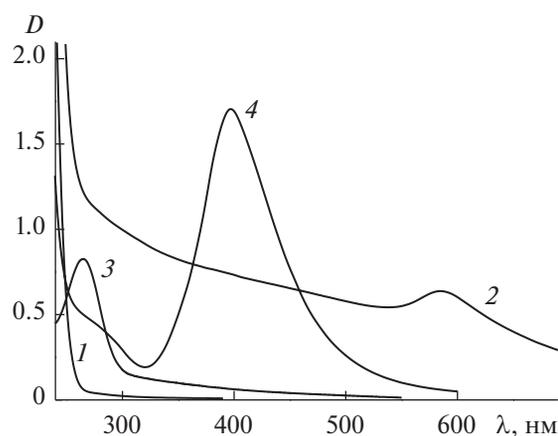


Рис. 1. УФ/видимые спектры для свободного гомополимера (кривая 1) и для гибридных биоактивных наносистем: ПАМ/ Cu^0 (кривая 2), ПАМ/ Se^0 (кривая 3) и ПАМ/ Ag^0 (кривая 4) при $\nu = 0.05$.

меров в хороших растворителях и согласуется с результатами работы [23].

Учитывая, что чем сильнее взаимодействие поверхностных атомов с адсорбированными на НЧ макромолекулами, тем меньше размер частиц, при котором образуется устойчивая в растворе система [33]. Были сопоставлены величины гидродинамических радиусов R_h^* для медь-, селен- и серебросодержащих гибридных биоактивных наносистем на основе ПАМ. При использовании в качестве стабилизатора НЧ гомополимера ПАМ в водных растворах при $\nu = 0.05$ формируются наноструктуры с гидродинамическим радиусом $R_h^* < 100$ нм (табл. 2 и рис. 2), без тенденции к агрегации в течение нескольких месяцев. Анализ данных показал, что величина гидродинамического радиуса наноструктуры R_h^* уменьшается для изученных наносистем следующим образом: $R_h^* = 17$ нм (ПАМ/ Ag^0) $< R_h^* = 50$ нм (ПАМ/ Cu^0) $< R_h^* = 65$ нм (ПАМ/ Se^0) (табл. 2 и рис. 2), что, обусловлено большей степенью гидрофобности НЧ селена по сравнению с НЧ серебра и меди.

На рис. 3а–3г представлены АСМ-изображения поверхности тонкой пленки, отлитой из водного раствора медьсодержащей наносистемы ПАМ/ Cu^0 , полученные в контактном режиме при комнатной температуре на слюде методом АСМ. На топографии и 3D-изображении (рис. 3а и 3г, соответственно) наблюдаются структуры двух морфологических типов: отдельные сферические наноструктуры радиусом 40–50 нм (табл. 2) и высотой над поверхностью подложки около 2 нм;

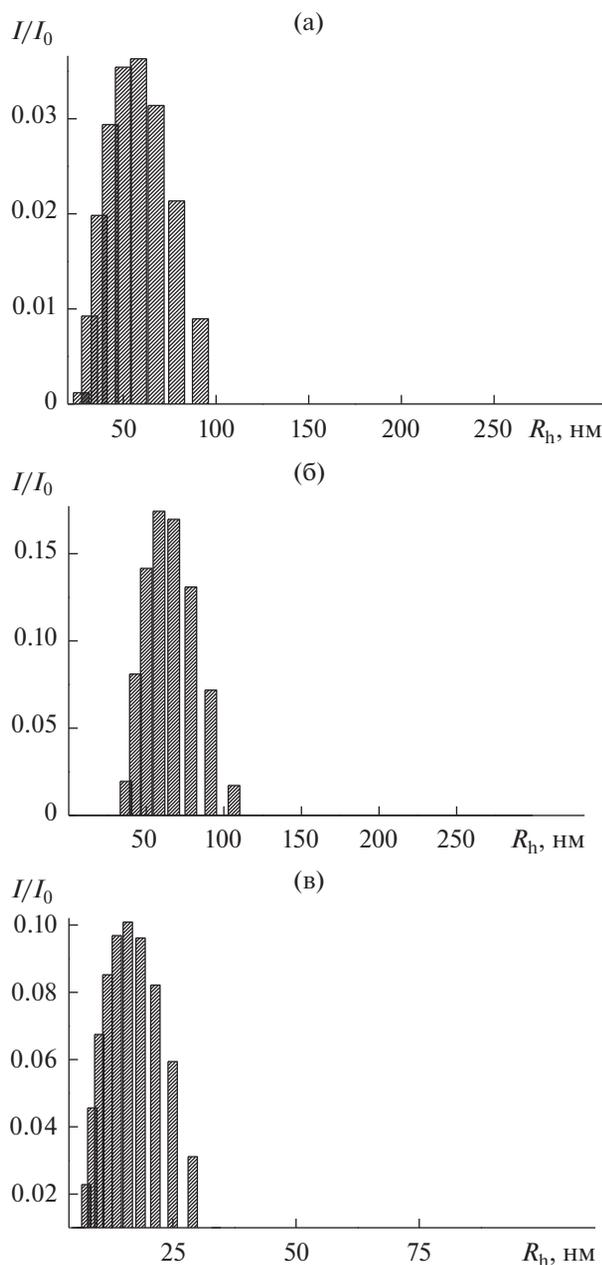


Рис. 2. Распределение по размерам R_h^* для гибридных биоактивных наносистем ПАМ/НЧ: ПАМ/ Cu^0 (а), ПАМ/ Se^0 (б) и ПАМ/ Ag^0 (в) при $\nu = 0.05$ в соответствии с относительной интенсивностью I/I_0 динамического светорассеяния.

кроме этого четко визуализируются кольцевые агрегаты размером $\sim 0.5\text{--}0.7$ мкм, имеющими толщину 100–200 нм и высоту над поверхностью подложки не более 1 нм. Ситуация, когда сосуществуют относительно малые наноструктуры меди (сферической формы) с крупными агрегированными образованиями (произвольной формы) возможна при взаимодействиях макромолекул с растущими НЧ, усиливающимися по ходу реакции получения золя [20].

Радиусы сферических наноструктур, оцененные методом АСМ, хорошо коррелируют с геометрическими размерами наноструктур, полученными методом динамического светорассеяния, $R_{sp}^* = 65$ нм (где $R_{sp}^* = 1.29 R_h^*$ – соотношение, выполняемое для сферической модели наноструктуры) (табл. 2). Расчетные математические параметры шероховатости пленки невелики и имеют следующие значения: среднеарифметическая шероховатость составляет $R_a = 0.8$ нм, среднеквадратическая шероховатость $R_q = 1.1$ нм (для матрицы сканирования 4×4 мкм) (табл. 2).

Дополнительную информацию дает анализ изображений контраста латеральных сил (рис. 3в, 4в, 5в). Для наносистемы ПАМ/ Cu^0 (рис. 3в) наблюдается островковая морфология – НЧ меди находятся в полимерной матрице, при этом видно, что пленка не сплошная.

На АСМ-изображениях, полученных для селенсодержащей наносистемы ПАМ/ Se^0 (рис. 4) хорошо видно, что наноструктуры представляют собой изолированные (дискретные) сферы. Радиусы этих наноструктур, оцененные методом АСМ, $R_{АСМ}^* = 70\text{--}90$ нм (табл. 2), хорошо коррелируют с геометрическими размерами наноструктур $R_{sp}^* = 86$ нм, полученными методом динамического светорассеяния. Высота наноструктур над поверхностью подложки не превосходит 7–10 нм (рис. 4г). Параметры шероховатости в этом случае имеют большие величины, чем для медьсодержащей наносистемы: $R_a = 3.0$ нм и $R_q =$

Таблица 2. Данные по размерным параметрам для гибридных биоактивных наносистем ПАМ/НЧ при $\nu = 0.05$

ПАМ/НЧ	R_h^* , нм	R_{sp}^* , нм	$R_{АСМ}^*$, нм	R_a , нм	R_q , нм	$R_{ПЭМ}^*$, нм
ПАМ/ Cu^0	50	65	40–50	0.8	1.1	3.5 и 6.5
ПАМ/ Se^0	67	86	70–90	3.0	4.2	6 и 12
ПАМ/ Ag^0	17	22	50–80	2.3	3.7	3

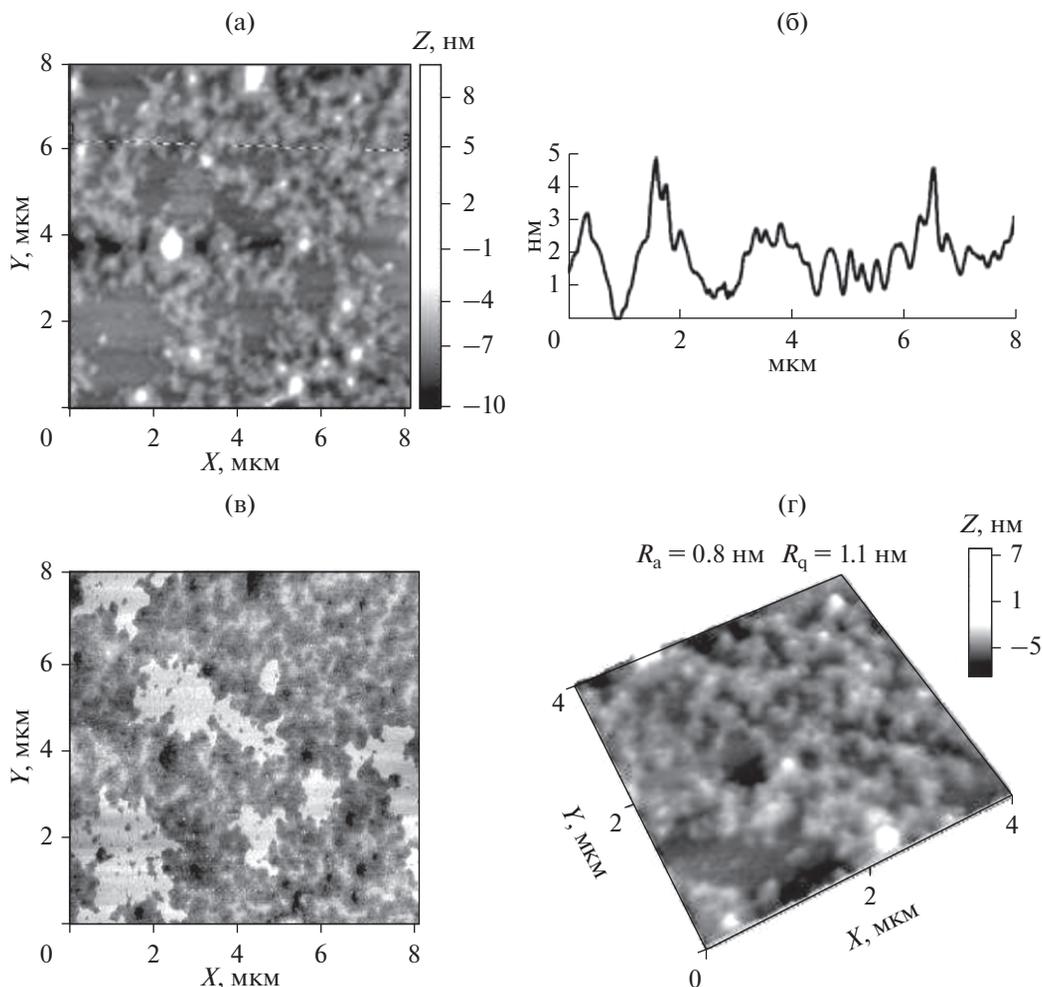


Рис. 3. АСМ-изображения поверхности тонкой пленки, полученной из водного раствора наносистемы ПАМ/ Cu^0 на слюде (а–г): а – топография (высота) поверхности, б – профиль выделенного участка, в – контраст латеральных сил (torsion), г – 3D-изображение.

= 4.2 нм (для матрицы сканирования 4×4 мкм) (табл. 2 и рис. 3г).

На рис. 5 представлены АСМ-изображения поверхности тонкой пленки, отлитой из водного раствора серебросодержащей наносистемы ПАМ/ Ag^0 . Здесь так же, как и в случае с селенсодержащей наносистемой, наблюдаются изолированные сферические наноструктуры радиусом 50–90 нм (табл. 2) и высотой над поверхностью подложки около 5 нм. Однако, в этом случае, четкой корреляции размеров $R_{\text{АСМ}}^*$ и $R_{\text{сп}}^*$ не наблюдается (табл. 2).

Анализ данных АСМ показал, что размер наноструктуры $R_{\text{АСМ}}$ уменьшается для изученных наносистем в ряду $R_{\text{АСМ}}$ для ПАМ/ $\text{Cu}^0 < R_{\text{АСМ}}$ для ПАМ/ $\text{Ag}^0 < R_{\text{АСМ}}$ для ПАМ/ Se^0 (табл. 2 и рис. 3–5), что, в целом коррелирует с данными полученными методом ДСР.

Для наносистемы ПАМ/ Ag^0 (рис. 5в) наблюдается заметная разница коэффициентов трения агрегатов частиц и самой полимерной матрицы, из чего можно сделать вывод, что данные агрегаты не покрыты полимером.

Методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) были изучены НЧ Cu^0 , стабилизированные ПАМ. Из рис. 6а видно, что сформировавшиеся НЧ Cu^0 имеют сферическую форму и дискретны по всей матрице полимера. Распределение НЧ по размерам (гистограмма на рис. 6б) рассчитывали на основе полученных ПЭМ-изображений с помощью программы ImageJ 1.51j8. Анализ полученной гистограммы позволил установить, что диаметр НЧ Cu^0 изменялся от 2 до ~10 нм, а наиболее вероятные размеры составляли 3.5 и 6.5 нм (табл. 2), что характерно при использовании в качестве стабилизатора неионогенного полимера, каковым и является ПАМ [34].

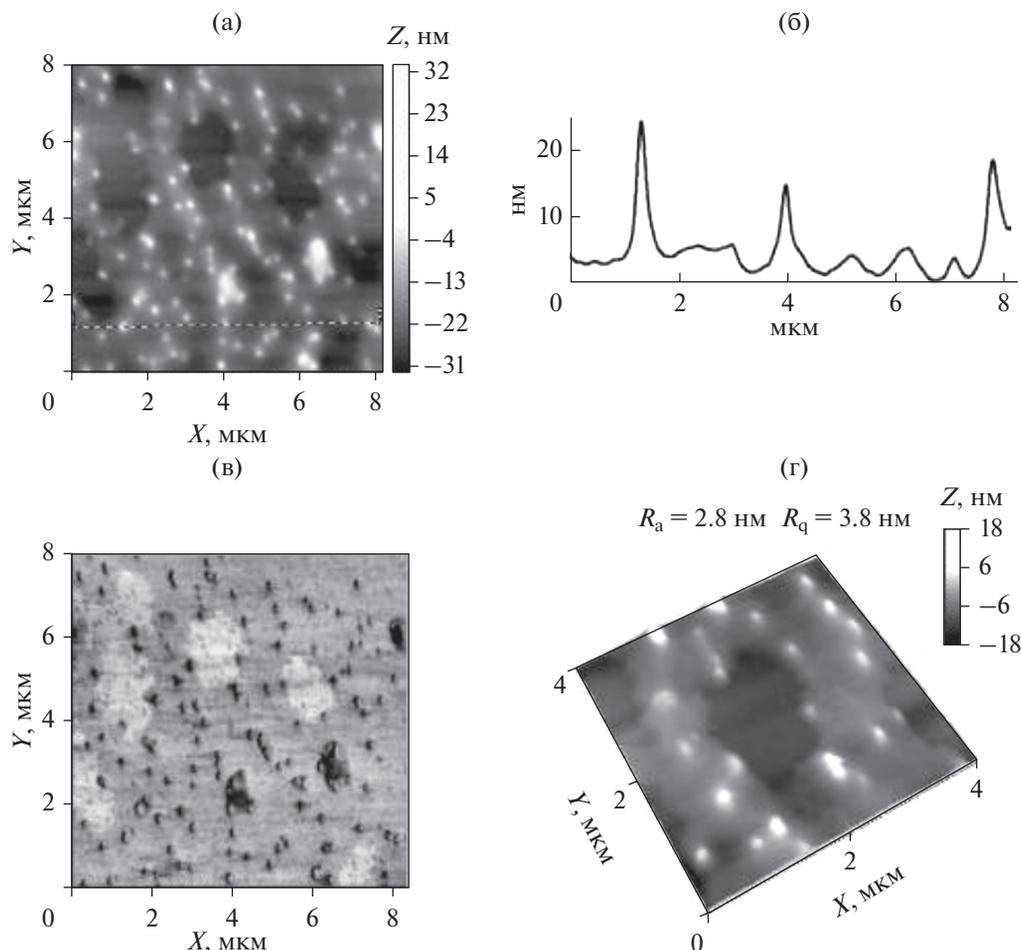


Рис. 4. АСМ-изображения поверхности тонкой пленки, полученной из водного раствора наносистемы ПАМ/Se⁰ на слюде (а–г); а – топография (высота) поверхности, б – профиль выделенного участка, в – контраст латеральных сил (torsion), г – 3D-изображение.

Из литературных данных [35] известно о двух принципиально возможных механизмах формирования наночастиц – последовательном и параллельном. В процессе последовательного роста частицы формируются посредством присоединения на каждой стадии одного атома. Случайный процесс присоединения, происходящий на каждой последующей стадии с равной вероятностью, приводит к образованию продукта, подчиняющегося нормальному (Гауссову) распределению:

$$y = y_0 + \frac{A}{w\sqrt{\frac{\pi}{2}}} \exp\left(-2\left(\frac{x - xc}{w}\right)^2\right). \quad (5)$$

В процессе параллельного роста частиц из двух атомов формируется димер, два димера образуют тетрамер, два тетрамера – октамер и т.д. Случайный процесс, в котором реализуется параллельный механизм роста, приводит к образованию

продукта, подчиняющегося логарифмически нормальному распределению (ЛНР) соотношению:

$$y = y_0 + \frac{A}{\sqrt{2\pi\sigma x}} \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{\ln(x) - \ln(\bar{x})}{\sigma}\right)^2\right). \quad (6)$$

Нами был проведен расчет с целью определения механизма роста НЧ меди. Полученное распределение НЧCu⁰ по размерам было обработано в программе Origin 8 (рис. 6б вставка, кривая 1). Расчеты показали, что построенное по экспериментальным данным распределение имеет три-модальный характер, а каждая из отдельных мод описывается Гауссовым распределением (5) (рис. 6б вставка, кривая 2). Это соответствует последовательному механизму роста НЧ.

Из рис. 7а видно, что сформировавшиеся НЧ Se⁰ имеют сферическую форму и дискретны по всей матрице полимера. Распределение НЧ по размерам (гистограмма на рис. 7б) показало, что

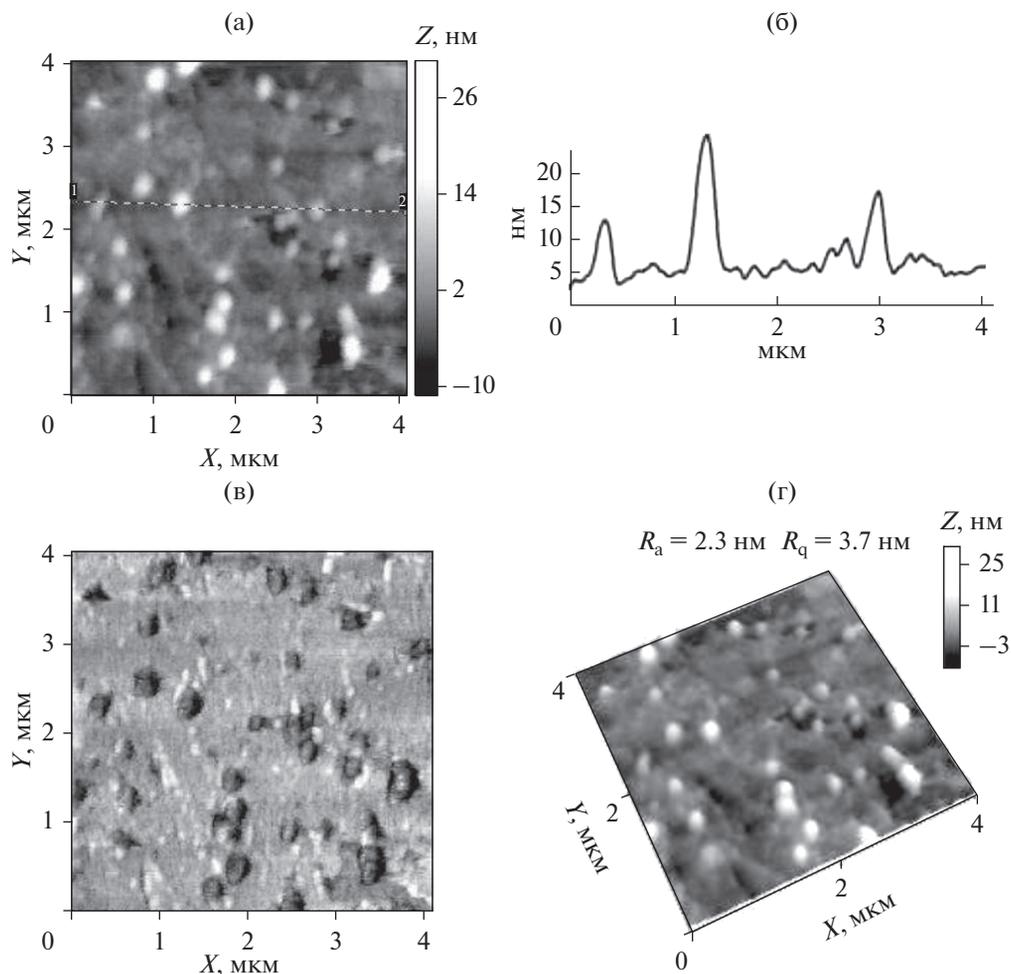


Рис. 5. АСМ-изображения поверхности тонкой пленки, полученной из водного раствора наносистемы ПАМ/Ag⁰ на слюде (а–г); а – топография (высота) поверхности, б – профиль выделенного участка, в – контраст латеральных сил (torsion), г – 3D-изображение.

диаметр НЧ Se⁰ изменялся от 2 до ~20 нм, а наиболее вероятные размеры составляли 6 и 12 нм (табл. 2). Аналогичная ситуация наблюдалась нами для селенсодержащих наносистем на основе других полимерных стабилизаторов различной природы (неионогенные полимеры (ПВП, ОЭЦ), катионный (ПТМАЭМ) и анионные (поли-2-акриламидо-2-метилпро-пансульфо-кислота и полиметакриловая кислота) полиэлектролиты) [36]: формировались плотные сферические наноструктуры с базовым размером селенового ядра, равным 6 нм и с размером “нанокластеров”, кратным 6 нм (12–30 нм). Построенное по экспериментальным данным распределение (рис. 7б, вставка, кривая 1) имеет бимодальный характер, а каждая из отдельных мод описывается Гауссовым распределением (5) (рис. 7б вставка, кривая 2), т.е. имеет место последовательный механизм формирования НЧ селена.

Распределение НЧ Ag⁰ по размерам, представленное на рис. 8, было обработано в программе Origin 8. Расчеты показали, что построенное по экспериментальным данным распределение (рис. 8б вставка, кривая 1) описывалось формулой (6), соответствующей ЛНР (рис. 8б вставка, кривая 2), т.е. имеет место параллельный механизм формирования НЧ. Анализ полученной гистограммы (рис. 8б) позволил установить, что диаметр НЧ Ag⁰ изменялся от 2 до ~17 нм, а наиболее вероятные размеры составляли 3 нм (табл. 2).

Таким образом, обнаружено, что серебро- и медьсодержащие наносистемы имеют меньшие размеры наноструктур и наночастиц, чем селенсодержащие наносистемы, что обусловлено большей степенью гидрофобности НЧ селена по сравнению с НЧ серебра и меди.

Полученные результаты составляют физико-химическую основу для модификации полимер-

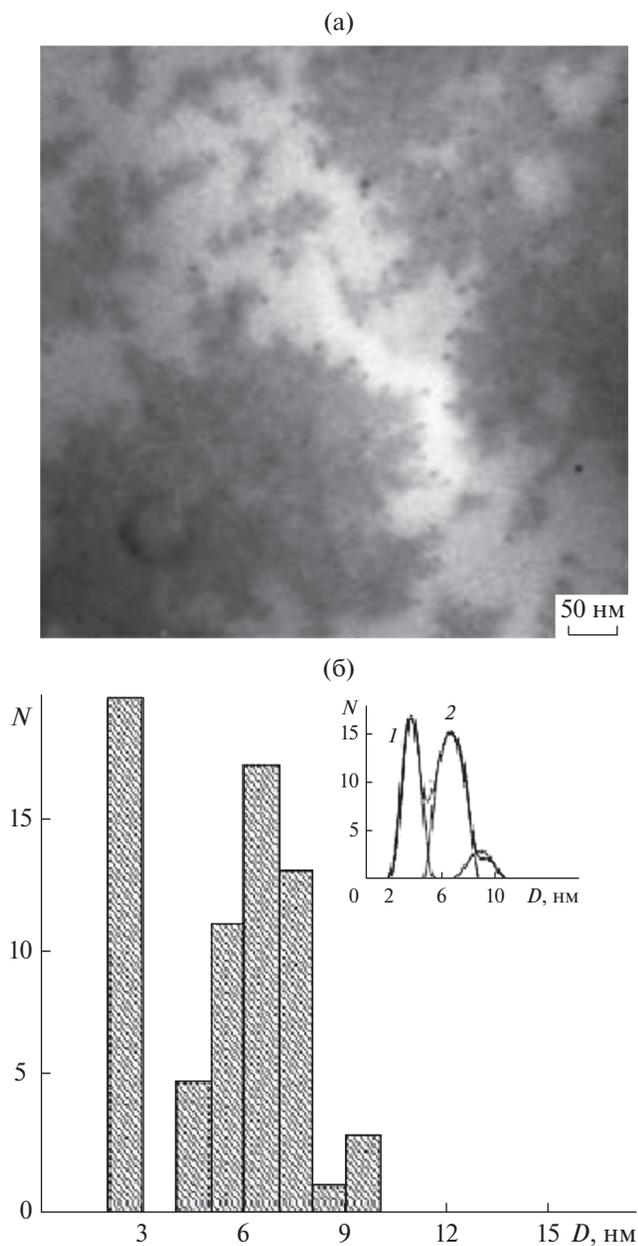


Рис. 6. ПЭМ-изображение наносистемы ПAM/Cu⁰(а); гистограмма распределения НЧ Cu⁰ стабилизированных ПAM (б). Вставка – экспериментально полученное распределение НЧ Cu⁰ по размерам (1), распределение частиц, построенное по экспериментальным данным, соответствующим распределению Гаусса (2).

ных материалов с выраженной физиологической активностью биогенными элементами в нуль-валентной форме.

ВЫВОДЫ

1. Синтезированы новые гибридные биоактивные наносистемы на основе наночастиц биоген-

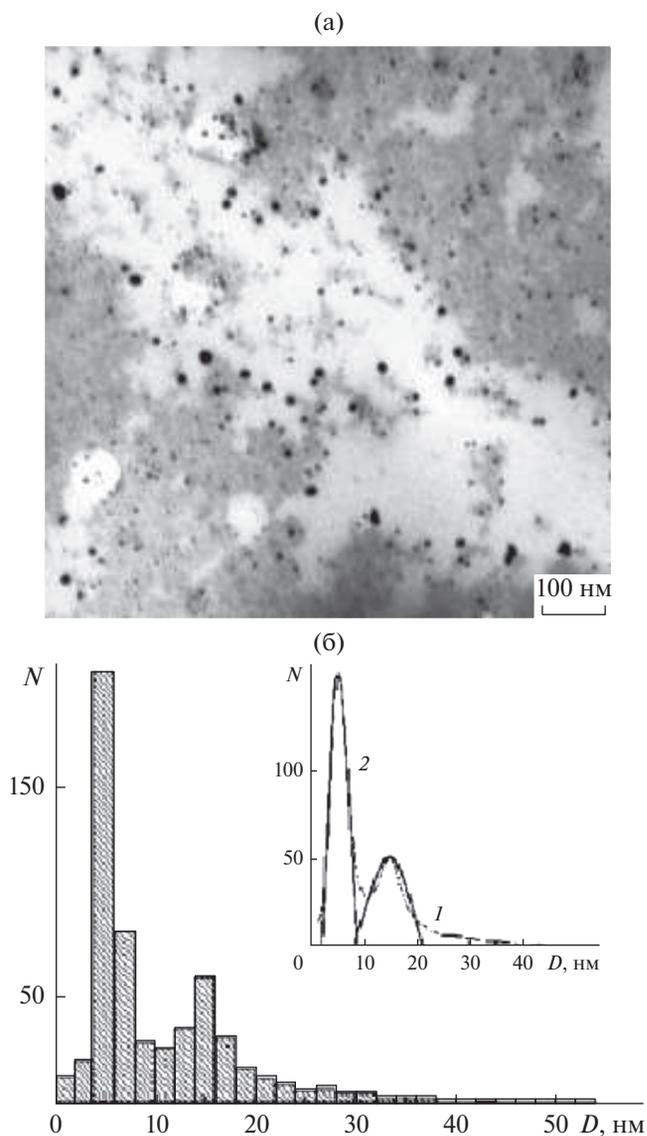


Рис. 7. ПЭМ-изображение наносистемы ПAM/Se⁰(а); гистограмма распределения НЧ Se⁰ стабилизированных ПAM (б). Вставка – экспериментально полученное распределение НЧ Se⁰ по размерам (1), распределение частиц, построенное по экспериментальным данным, соответствующим распределению Гаусса (2).

ных элементов различной природы (меди, селена и серебра) и дифильного гомополимера поли-4-акрилоилморфолина (ПAM).

2. Методом УФ/видимой спектроскопии для исследованных медь-, селен- и серебросодержащих наносистем на основе ПAM установлен факт образования в водном растворе наночастиц в нуль-валентном состоянии (Cu⁰, Se⁰ и Ag⁰).

3. Показана возможность регулирования структурно-морфологических и размерных параметров биоактивных наносистем путем варьиро-

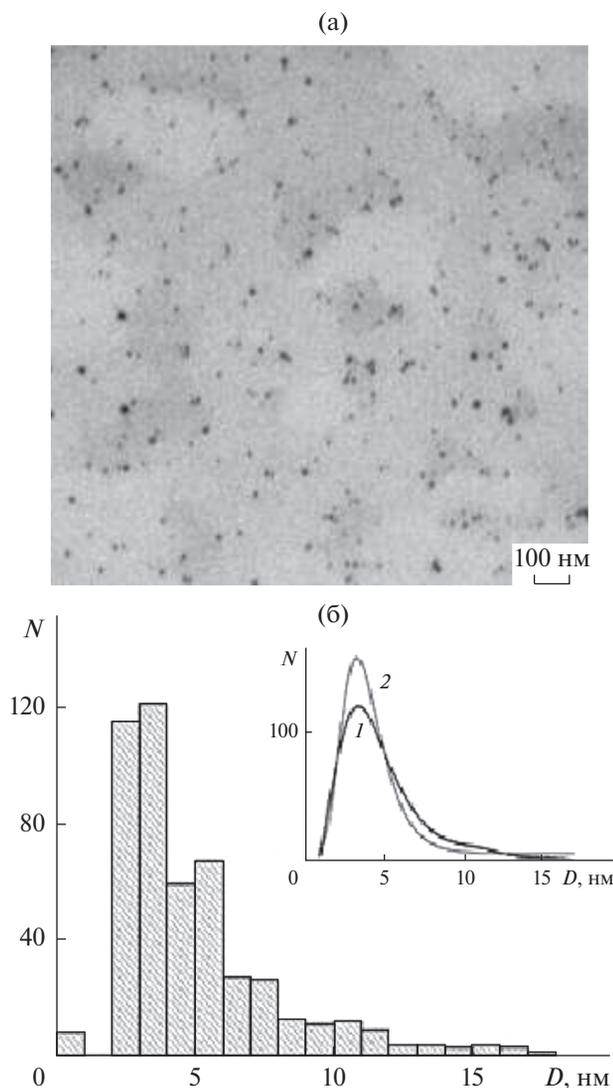


Рис. 8. ПЭМ-изображение наносистемы ПАМ/Ag⁰ (а); гистограмма распределения НЧ Ag⁰ стабилизированных ПАМ (б). Вставка – экспериментально полученное распределение НЧ Ag⁰ по размерам (1), распределение частиц, построенное по экспериментальным данным, соответствующим ЛНР (2).

вания природы наночастиц. Установлено, что в водном растворе изученных наносистем формируются сферические наноструктуры/наночастицы, размеры которых в значительной мере определяются природой НЧ: медь- и серебросодержащие наноструктуры/наночастицы имеют меньшие значения размеров (R_n^* , $R_{АСМ}^*$ и $R_{ПЭМ}^*$), чем селенсодержащие. Это обусловлено большей степенью гидрофобности наночастиц селена по сравнению с наночастицами меди и серебра.

4. Установлено, что восстановление в воде ионов биогенных элементов в присутствии ПАМ за счет достаточно хорошей экранировки позво-

ляет получать наноструктуры сферической формы диаметром, не превышающим 180 нм (ПАМ/Se⁰). Наиболее вероятные размеры НЧ/нанокластеров не превышают 12 нм.

5. Выдвинуто предположение, что стабилизация НЧ селена Se⁰ происходит по стерическому механизму за счет энтропийного эффекта, а для металлсодержащих наносистем ПАМ/Cu⁰ и ПАМ/Ag⁰ имеет место стерический механизм стабилизации за счет осмотического эффекта.

6. Расчеты показали, что построенные по экспериментальным данным распределения НЧ меди и селена имеют, соответственно, тримодальный и бимодальный характер, а каждая из отдельных мод описывается Гауссовым распределением, что соответствует последовательному механизму роста этих НЧ. Распределение НЧ Ag⁰ по размерам представляет собой логарифмически нормальное распределение, т.е. здесь имеет место параллельный механизм формирования НЧ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kipper A.I., Savinov A.G., Valueva S.V. et al. // Polym. Sci. Ser. B. 2003. V. 45. № 3. P. 100.
2. Borkow G., Gabbay J. // Current Chemical Biology. 2009. V. 3. № 3. P. 272. <https://doi.org/10.2174/2212796810903030272>
3. Lansdown A.B.G., Sampson B., Rowe A. // J. Anat. 1999. V. 195. P. 375. <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.1999.19530375.x>
4. Shende S., Ingle A.P., Gade A., Rai M. // World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2015. V. 31. № 6. P. 865. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1840-3>
5. Halevas E.G., Pantazaki A.A. // Nanomed. Nanotechnol. J. 2018. V. 2. № 1. P. 119.
6. Saharan V., Sharma G., Yadav M. et al. // J. Biol. Macromol. 2015. V. 75. P. 346. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.01.027>
7. Cioffi N., Torsi L., Ditaranto N. // Appl. Phys. Lett. 2004. V. 85. № 12. P. 2417. <https://doi.org/10.1063/1.1794381>
8. Abd-El salam K.A., Vasil'kov A.Y., Said-Galiev E.E. et al. // Eur. J. Plant Pathol. 2018. V. 151. P. 57. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1349-8>
9. Mekahlia S., Buzid B. // Physics Procedia. 2009. V. 2. P. 1045. <https://doi.org/10.1016/j.phpro.2009.11.061>
10. Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф. Антимикробные полимеры. СПб.: Гиппократ, 1993. 264 с.
11. Назарова О.В., Ананьева Е.П., Зарубаев В.В., Синегубова Е.О., Золотова Ю.И., Безрукова М.А., Панарин Е.Ф. // Хим.-фарм. журн. 2019. Т. 53. № 11. С. 48.
12. Yoshizawa K., Willett W.C., Morris S.J. // J. Natl. Cancer Inst. 1998. V. 90. № 16. P. 1219. <https://doi.org/10.1093/jnci/90.16.1219>

13. *Kok F.J., Hofman A., Witteman J.C.M. et al.* // JAMA. 1989. V. 261. № 10. P. 1161. <https://doi.org/10.1093/ajcp/45.2.462>
14. *Валуева С.В., Боровикова Л.Н., Коренева В.В. и др.* // Журн. физ. химии. 2007. Т. 81. № 1. С. 1329. ISSN: 0044-4537.
15. *Валуева С.В., Азизбекян С.Г., Кучинский М.П. и др.* // Журн. "Нанотехника". 2012. № 4(32). С. 53.
16. *Wang Y., Hang H., Yan L.* // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2016. V. 140. P. 297. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.02.025>
17. *Валуева С.В., Вылегжанина М.Э., Плющенко А.В.* // Поверхность. Рентген., синхротр. и нейтрон. исслед. 2019. № 7. С. 27. ISSN: 1028-0960. <https://doi.org/10.1134/S0207352819070175>
18. *Mayer A.B.R.* // Polym. Adv. Technol. 2001. V. 12. P. 96.
19. *Тальрозе Р.В., Шандрюк Г.А., Мерекалов А.С., Шаталова А.М., Отмахова О.А.* // Высокомолекулярные соединения А. 2009. Т. 51. № 11. С. 1930.
20. *Литманович О.Е.* // Высокомолекулярные соединения С. 2008. Т. 50. № 7. С. 1370.
21. *Brown W.* Dynamic Light Scattering: the Method and Some Application. Oxford: Clarendon Press, 1993. 305 p.
22. *Eskin V.E., Frenkel S.Ya.* Structure of Macromolecules in Solutions, National Lending Library for Sci. and Technol., Boston Spa, Yorkshire, England, 1979. 750 p.
23. *Андреева Л.Н., М.А. Безрукова М.А., Бушин С.В. и др.* // ВМС. А. 2014. Т. 56. № 4. С. 372.
24. *Tsvetkov V.N., Lavrenko P.N., Bushin S.V.* // J. Polym. Sci.: Polym. Chem. Ed. 1984. V. 22. № 11. P. 3447. <https://doi.org/10.1002/pol.1984.170221160>
25. *AL-Thabaiti S.A., Obaid A.Y., Khan Z.* // Colloid Polym. Sci. 2015. P. 12. <https://doi.org/10.1007/s00396-015-3633-5>
26. *Valueva S.V., Nazarova O.V., Vylegzhanina M.E., Borovikova L.N., Zolotova Yu. I., Panarin E.F.* // Doklady Chemistry. 2019. V. 489. Part 1. P. 264–266. <https://doi.org/10.1134/S0012500819110065>
27. *Guzman A., Arroyo J., Verdea L., Rengifo J.* // Procedia Materials Science. 2015. V. 9. P. 298. <https://doi.org/10.1016/j.mspro.2015.04.038>
28. *Sundaramurthy N., Parthiban C.* // IRJET (International Research J. Engineering and Technology). 2015. V. 2. № 6. P. 332.
29. *Rodriguez O.P., Pal. U.* // J. Opt. Soc. Am. B. 2008. V. 28. № 11. P. 2375.
30. *Бусев А.И.* Колориметрические (фотометрические) методы определения неметаллов. М.: Издательство иностранной литературы, 1963. 467 с.
31. *Низамов Т.Р., Евстафьев И.В., Оленин А.Ю., Лисичкин Г.В.* // Коллоидный журн. 2014. Т. 76. № 4. С. 513. <https://doi.org/10.1134/S1061933X14040127>
32. *Валуева С.В., Боровикова Л.Н., Суханова Т.Е., Вылегжанина М.Э.* // Сборник трудов VII Межд. научно-практической конф. "Актуальные достижения европейской науки-2011", София, Болгария, С. 13.
33. *Kamat P.V.* // J. Phys. Chem. B. 2002. V. 106. P. 7729.
34. *Литманович О.Е., Литманович А.А., Паписов И.М.* // Высокомолек. соед. Б. 2010. Т. 52. № 6. С. 1066.
35. *Оленин А.Ю.* // Российские нанотехнологии. 2012. Т. 7. № 5–6. С. 53.
36. *Валуева С.В., Боровикова Л.Н., Суханова Т.Е., Лаврентьев В.К., Волков А.Я.* // Бутлеровские сообщения. 2011. Т. 25. № 7. С. 13.

Structural-Morphological and Spectral Characteristics Hybrid Bioactive Copper-, Selenium- and Silver-Containing Nanosystems Based on Poly-4-Acryloylmorpholine

S. V. Valueva^{1,*}, M. E. Vylegzhanina¹, K. A. Mitusova¹, O. V. Nazarova¹, M. A. Bezrukova¹, Yu. I. Zolotova¹, E. F. Panarin¹

¹Institute of Macromolecular Compounds, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199004 Russia

*e-mail: svalu67@mail.ru

By the methods of atomic force (AFM) and transmission electron (TEM) microscopy, UV/visible spectroscopy, and dynamic light scattering (DLS), a comparative study of new hybrid bioactive nanosystems based on nanoparticles (NPs) of various nature: zero-valent copper (Cu⁰), zero-valent selenium (Se⁰) and zero-valent silver (Ag⁰) stabilized by the water-soluble homopolymer poly-4-acryloylmorpholine (PAM) has been carried out. The possibility of controlling the structural and morphological parameters, as well as the dimensional and spectral characteristics of bioactive nanosystems by varying the nature of the NPs was shown. It was established that the reduction of biogenic element's ions in water in the presence of PAM due to sufficiently good screening allows to obtain spherical nanostructures with a diameter not exceeding 180 nm (PAM/Se⁰). The most probable sizes of NP/nanoclusters do not exceed 12 nm.

Keywords: atomic force microscopy, transmission electron microscopy, morphology, structure, copper, selenium and silver nanoparticles, poly-4-acryloylmorpholine, hybrid bioactive nanosystems, nanostructures, UV/visible spectroscopy, dynamic light scattering.