

14.2

Биоактивные серебросодержащие композиции метилцеллюлозы с природным сорбентом Зостерином: структура, морфология и свойства*

© Т.Е. Суханова,^{1,2} Ю.Г. Сантурян,¹ П.Е. Алексеева,^{1,3} С.В. Валуева,¹ М.Э. Вылегжанина,¹ А.А. Кутин,¹ А.Я. Волков,¹ Е.Ф. Панарин^{1,3}

¹ Институт высокомолекулярных соединений РАН,
199004 Санкт-Петербург, Россия

² Научно-исследовательский институт синтетического каучука им. акад. С.В. Лебедева,
198035 Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
195251 Санкт-Петербург, Россия

e-mail: tat_sukhanova@bk.ru

(Поступило в Редакцию 12 декабря 2017 г.)

Методами атомно-силовой микроскопии (АСМ), просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), динамического светорассеяния и рентгеновского анализа (РСА) изучены морфология, структура и оптические свойства полимерных композиций на основе природного сорбента Зостерина, метилцеллюлозы (МЦ) и серебросодержащего препарата Повиаргола. АСМ исследования показали существенные изменения морфологии поверхности полученных пленок от зернистой с различными размерами зерен (для Зостерина и бинарной системы МЦ/Зостерин) до губчатой с нано- и субмикронными порами на поверхности (для тройной системы МЦ/Зостерин/Повиаргол). Методом ПЭМ в тройной системе МЦ/Зостерин/Повиаргол на фоне полимерной матрицы МЦ/Зостерин, имеющей морфологию фрактального типа, наблюдались наночастицы серебра различной формы и размеров. В тройной композиции МЦ/Зостерин/Повиаргол методом РСА обнаружен рефлекс, соответствующий нуль-валентному серебру.

DOI: 10.21883/JTF.2018.10.46487.2602

Введение

С целью разработки новых биоактивных полимерных систем на основе природных полимеров для покрытий биомедицинского и сельскохозяйственного назначения в настоящей работе получены и исследованы пленки на основе метилцеллюлозы (МЦ), модифицированные природным сорбентом Зостерином и серебросодержащим препаратом Повиарголом.

Известно, что МЦ является простым эфиром целлюлозы, который широко применяется в газо- и нефтедобывающей отрасли, в строительной, текстильной и бумажной промышленности, а также в фармацевтике, пищевой промышленности, косметологии и парфюмерии [1].

Метилцеллюлоза обладает хорошей растворимостью в воде, что позволяет использовать ее для получения композиций биомедицинского назначения с требуемым комплексом физико-химических и биологических свойств.

Ранее было показано, что введение в матрицу МЦ наполнителей различной природы, например, природного полисахарида Зостерина, продуцируемого морской травой *Zostera marina* [2], позволяет получать на их основе пленочные материалы для раневых покрытий, повязок и т. п.

Зостерин, относящийся к классу пектинов, обладает уникальным комплексом биоактивных свойств: высокой антиоксидантной, иммуномодулирующей, противовирусной, репаративной, противоопухолевой, геропротекторной, гипохолестеринемической, радиозащитной и сорбционной активностью, поэтому широко применяется в медицине, ветеринарии, медицинской косметологии и др. [3,4].

В качестве компонента, который необходим для обеспечения высокой антимикробной активности, в нашей работе в бинарную систему МЦ/Зостерин был введен серебросодержащий препарат Повиаргол, разработанный в ИВС РАН в 1997 г. [5], который представляет собой нанокластеры металлического нульвалентного серебра, стабилизированные низкомолекулярным поли-N-винилпирролидоном (ПВП). Установлено, что Повиаргол обладает антимикробной и противовоспалительной активностью [6].

Антимикробная активность нанодисперсных препаратов серебра обусловлена взаимодействием ионов серебра, которые генерируются поверхностью наночастиц, с ферментами бактериальных клеток, содержащими сульфгидрильные группы. В частности, они ингибируют дыхательные ферменты бактерий. Уровень активности препаратов нанодисперсного серебра зависит от удельной поверхности наночастиц (НЧ) и отношения величины поверхности к объему, а также от формы НЧ [6–8]. Наибольшей активностью обладают НЧ, имеющие форму пирамид.

* Вторая российская конференция с международным участием „Физика — наукам о жизни“ (Санкт-Петербург, 18–22 сентября 2017 г.)

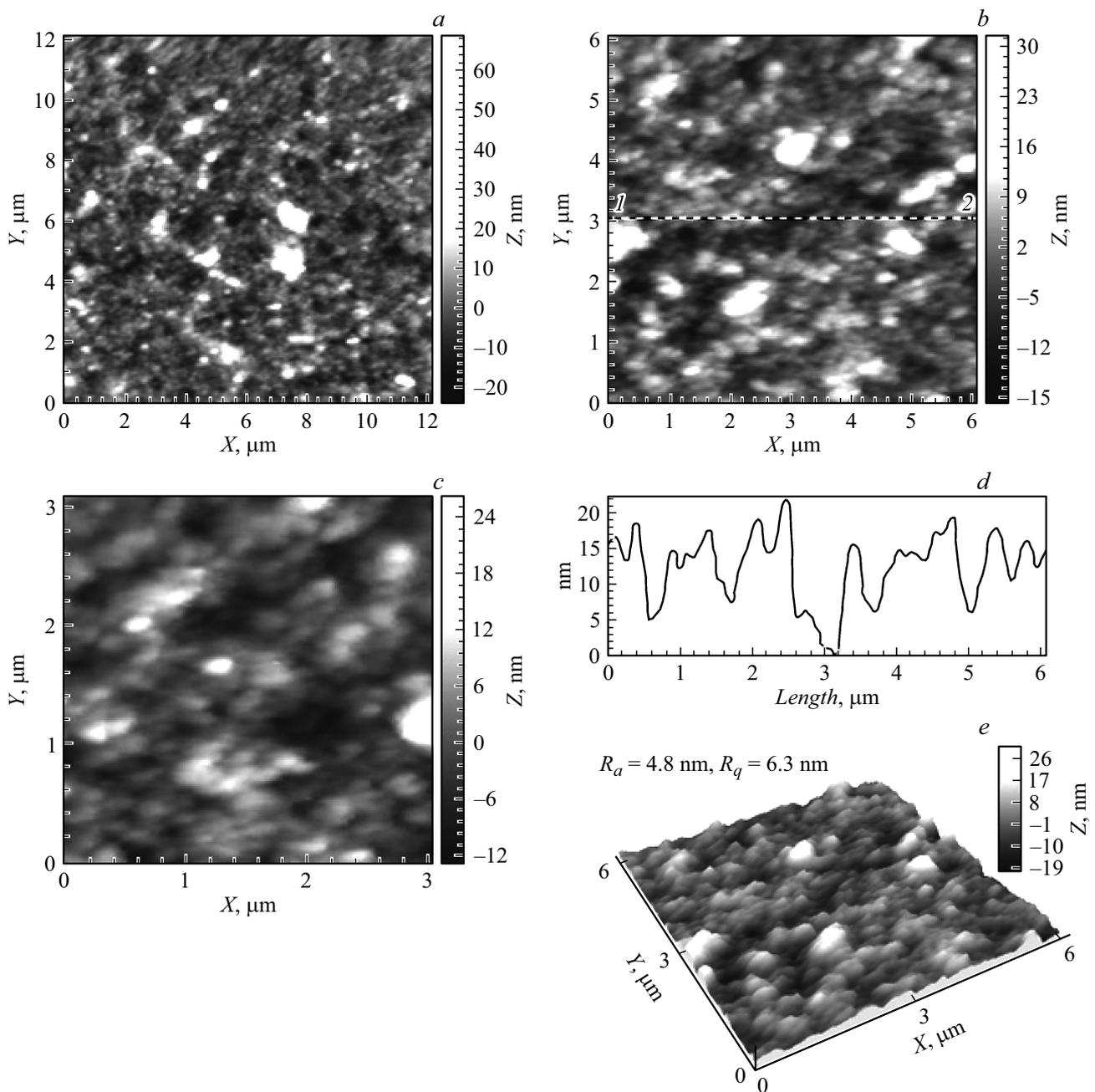


Рис. 1. АСМ изображения поверхности пленки, полученной из раствора Зостерина: *a–c* — топография поверхности, *d* — профиль выделенного участка поверхности, *e* — 3D-изображение.

Целью настоящей работы являются структурно-морфологические исследования методами атомно-силовой микроскопии (АСМ), просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), динамического светорассеяния (ДСР) и рентгеноструктурного анализа (РСА) полимерных композиций на основе МЦ, Зостерина и Повиаргола.

Экспериментальная часть

Пленки получали из водных растворов МЦ (Aldrich, $MW = 40 \text{ kDa}$), Зостерина [2] и их композиций в соотно-

шении 1:1, отлитых на стеклянные подложки или поверхность свежих сколов слюды. Также были приготовлены пленки композиций, содержащие 0.5 wt.% Повиаргола. Образцы сушили на воздухе при комнатной температуре до постоянного веса.

Изучение топографии поверхности тонких пленок (толщиной менее $10 \mu\text{m}$) проводили методом АСМ на приборе Nanotop NT-206 (ОДО „Микротестмашины“, Беларусь). Измерения проводили в контактном режиме в атмосферных условиях с использованием кремниевых кантиллеров NSC11/AIBS без покрытия с коэффици-

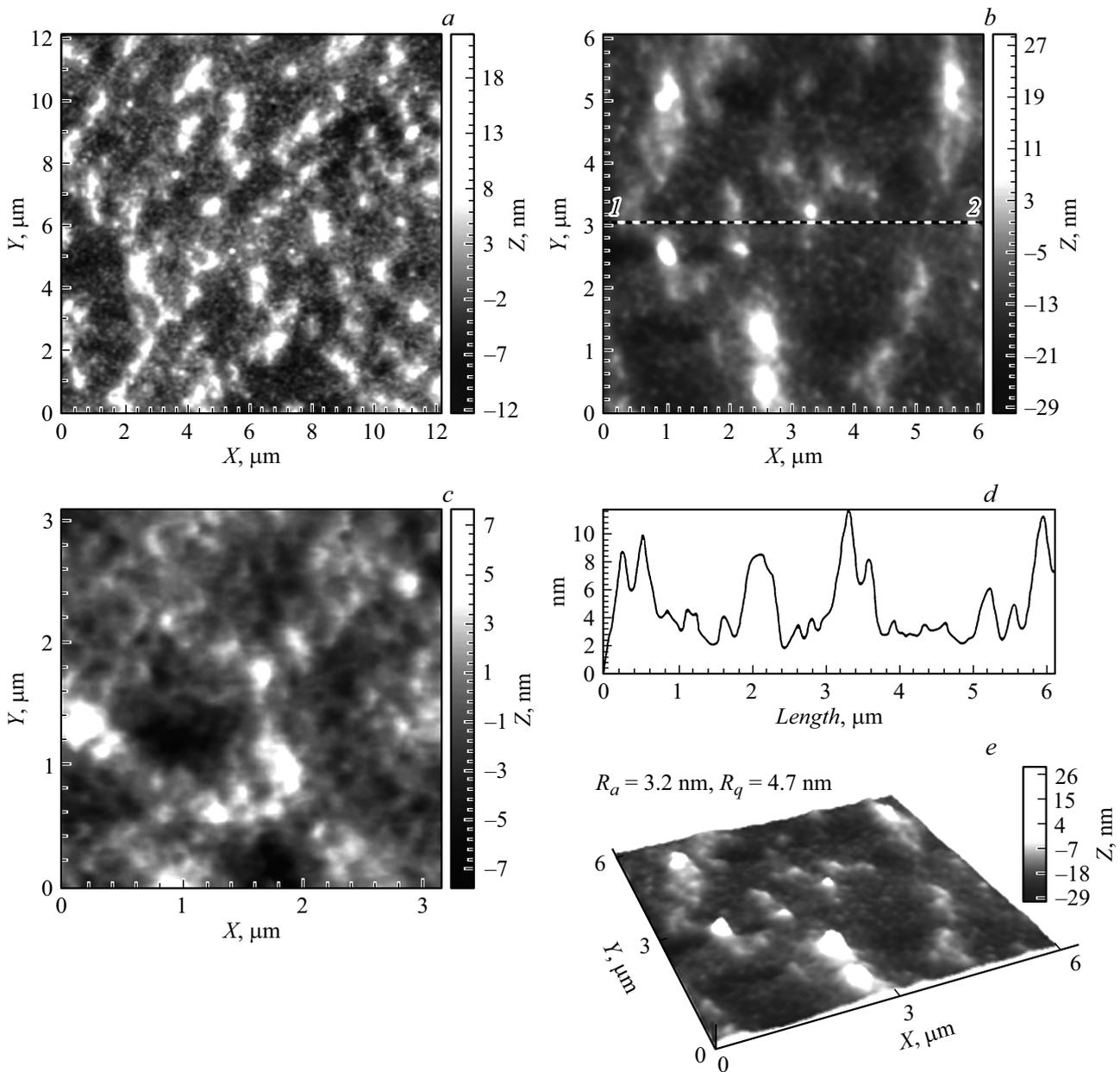


Рис. 2. АСМ изображения поверхности композиционной пленки МЦ/Зостерин (1:1): *a–c* — топография поверхности, *d* — профиль выделенного участка поверхности, *e* — 3D-изображение.

ентом жесткости $k = 3.0 \text{ N/m}$ и радиусом кривизны кончика острия 10 nm . Экспериментальные данные обрабатывали с помощью программы Surface Explorer. Были получены АСМ изображения фрагментов поверхности образцов размерами 30×30 , 12×12 , 6×6 , 3×3 и $1.5 \times 1.5 \mu\text{m}$.

Исследования методом ПЭМ проводили на электронном микроскопе BS-500 (Tesla, Чехия) при ускоряющем напряжении $U = 60 \text{ kV}$ в диапазоне увеличений $9000–30\,000$. Перед исследованием раствор полимерных систем наносили на медную сетку, покрытую формваровой пленкой, и сушили на воздухе. Обработка ПЭМ изображений с целью получения информации о

фрактальных размерностях агрегатов синтезированных систем проводилась по описанной в работе [9] оригинальной методике.

Методом ДСР [9,10] определяли средние гидродинамические радиусы частиц R_h^* , которые рассчитывали из значений коэффициентов диффузии (D^*) по уравнению Эйнштейна–Стокса:

$$R_h^* = kT / 6\pi\eta_0 D^*,$$

где η_0 — вязкость растворителя. Оптическая часть установки для измерения динамического рассеяния света укомплектована гониометром ALV-SP (Германия) (источник света — гелий-неоновый (He–Ne) лазер

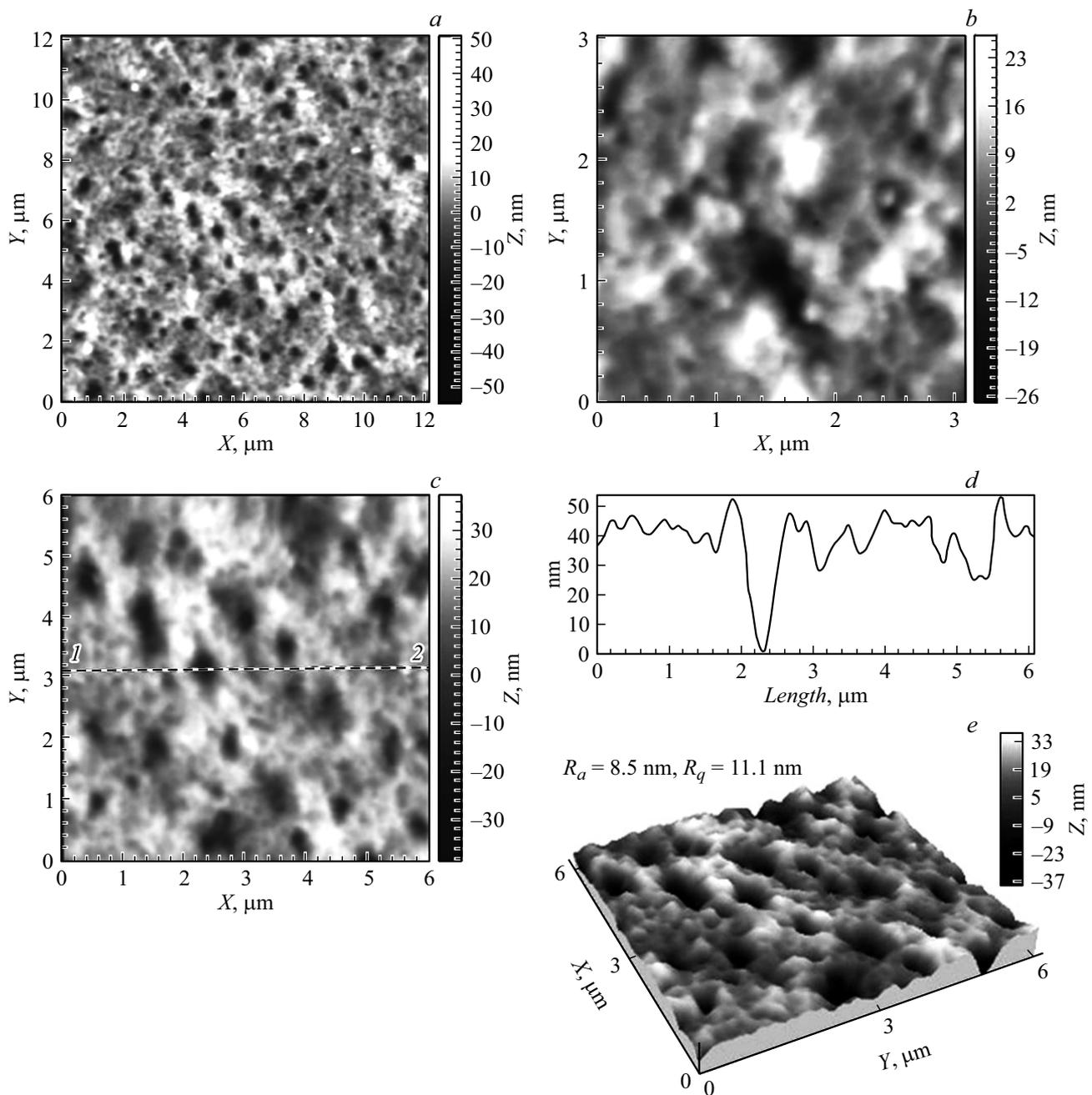


Рис. 3. АСМ изображения поверхности композиции МЦ/Зостерин/Повиаргол: *a–c* — топография поверхности, *d* — профиль выделенного участка поверхности, *e* — 3D-изображение.

Spectra-Physics с длиной волны $\lambda = 632.8$ nm, мощностью 20 mW). Корреляционную функцию интенсивности рассеянного света получали с помощью коррелятора Photo Cor-FC с числом каналов 288 (ЗАО „Антекс“, Россия). Анализ корреляционной функции осуществляли с помощью программы обработки данных динамического светорассеяния Dynals („Гелиос“, Россия).

Рентгеновские исследования проводили на дифрактометре SEIFERT XRD 3003 TT (GE, Германия), снабженном первичным монохроматором при $U = 40$ kV, $I = 40$ mA. Использовали $\text{CuK}\alpha$ -излучение с длиной вол-

ны $\lambda = 1.5406$ Å. Дифрактограммы получали в области углов рассеяния $2\theta = 3–50^\circ$ с шагом 0.05° и временем сканирования 5 s в каждой точке. Толщина пленок, на которых проводились рентгеновские исследования, составляла в среднем 50 μm.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 приведены АСМ изображения топографии свободной поверхности при разных увеличениях, профи-

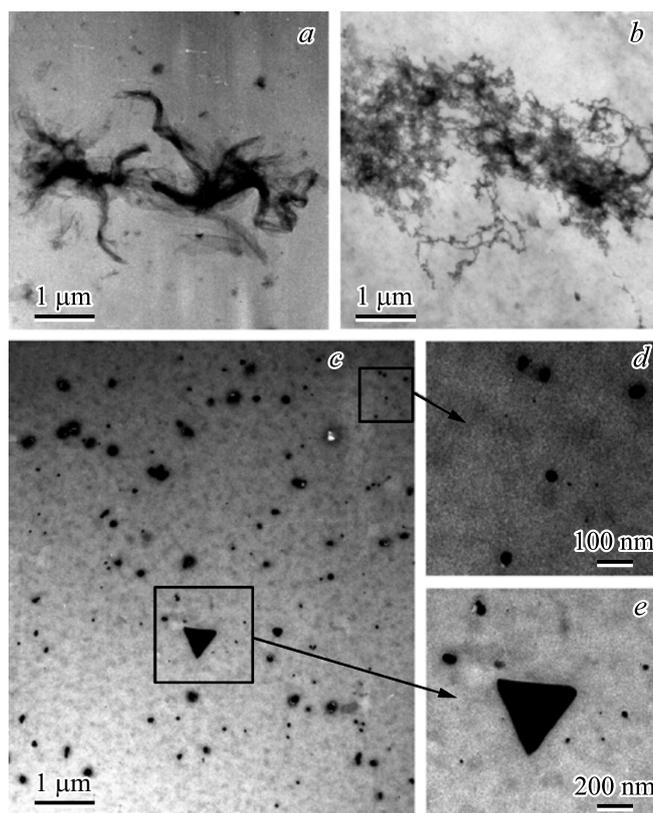


Рис. 4. ПЭМ микрофотографии образцов МЦ (а), МЦ/Зостерин (1:1) (b) и тройной системы МЦ/Зостерин/Повиаргол (с–е) при разном увеличении.

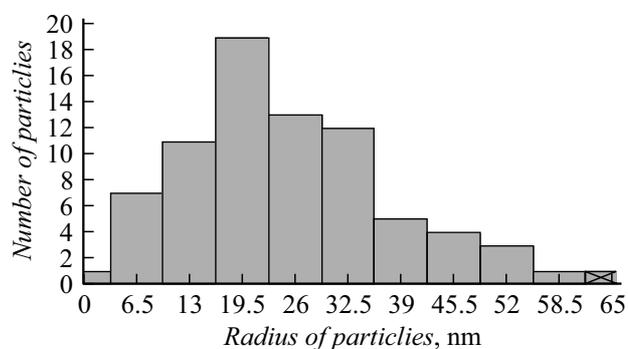


Рис. 5. Гистограмма распределения размеров НЧ серебра в тройной системе МЦ/Зостерин/Повиаргол, построенная по ПЭМ микрофотографиям.

логограмма выделенного участка и 3D-изображение тонкой пленки, полученной из раствора Зостерина. Видно, что поверхность пленки имеет зернистую морфологию с диаметром зерен 110–200 нм. Оценка средней арифметической (R_a) и среднеквадратичной (R_q) шероховатости поверхности пленки дает значения $R_a = 4.8$ нм, $R_q = 6.3$ нм. Согласно профилограмме (рис. 1, d), максимальная высота этих образований над поверхностью образца составляет ~ 23 нм.

Пленка композиции МЦ/Зостерин (1:1) (рис. 2) также имеет зернистую морфологию, но размеры зерен в композиции меньше, чем в пленке Зостерина, и состав-

ляют 40–120 нм (рис. 2, a–c). Значения шероховатости поверхности уменьшаются до $R_a = 3.2$ нм, $R_q = 4.7$ нм. Анализ профилограммы (рис. 2, d), показывает, что в пленке имеются агрегаты, высота которых над поверхностью пленки составляет 10–30 нм.

На рис. 3 представлены АСМ изображения топографии поверхности при разных увеличениях, профилограмма выделенных участков и 3D-изображение свободной поверхности тройной композиции МЦ/Зостерин/Повиаргол. Тройная система имеет пористую губчатую морфологию с порами нано- и субмикронных размеров, что хорошо видно на 3D-изображении

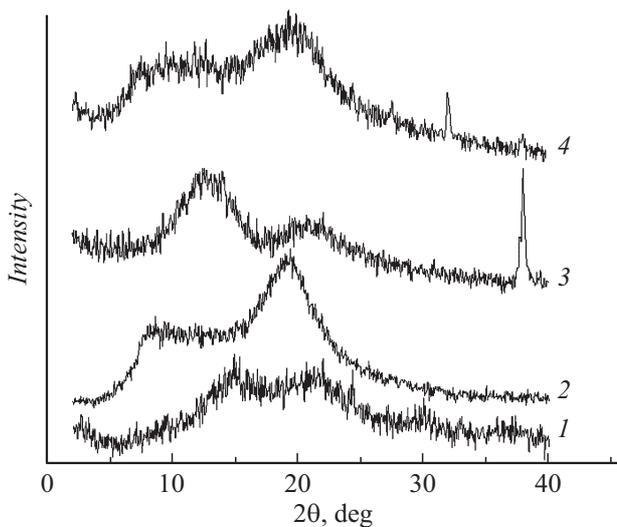


Рис. 6. Дифрактограммы Зостерина (кривая 1), МЦ (кривая 2), порошка Повиаргола (кривая 3) и пленки, полученной из раствора МЦ/Зостерин/Повиаргол (кривая 4).

(рис. 3, *e*). Согласно профилограмме (рис. 3, *d*), глубина пор составляет 10–40 нм, высота рельефа над поверхностью ~ 30 нм. Наночастицы серебра покрыты полимерной матрицей. Оценка шероховатости поверхности пленки дает значения $R_a = 8.5$ нм, $R_q = 11.1$ нм. Такой характер морфологии обеспечивает высокую проницаемость полученной пленки и делает композицию МЦ/Зостерин/Повиаргол перспективной для создания мембран биомедицинского или технического назначения на ее основе [11].

На ПЭМ микрофотографиях образцов, полученных из водных растворов МЦ, видно, что МЦ имеет преимущественно фибриллярную морфологию (рис. 4, *a*). Напротив, в бинарной системе МЦ/Зостерин (1:1) обнаружены агрегаты фрактального типа (рис. 4, *b*).

Тройная система МЦ/Зостерин/Повиаргол (рис. 4, *c–e*) при разном увеличении представляет собой гибридный материал, в котором на фоне полимерной матрицы МЦ/Зостерин (1:1), имеющей морфологию фрактального типа, хорошо различимы отдельные НЧ серебра. Основная популяция НЧ имеет форму, близкую к сферической (рис. 4, *c–e*). Анализ распределения НЧ серебра по размерам по данным ПЭМ для тройной системы МЦ/Зостерин/Повиаргол показал, что распределение довольно широкое — от 5 до 65 нм, а наиболее вероятный размер составляет ~ 19.5 нм по радиусу (рис. 5). На электронных микрофотографиях также наблюдаются агрегаты, состоящие из 2-х или 3-х НЧ и кристаллы серебра пирамидальной формы субмикронных размеров (рис. 4, *c, e*).

Традиционные методы описания пористых объектов не позволяют получить исчерпывающую информацию о различных уровнях структуры (на нано-, мезо-, микро- и макромасштабе) этих объектов и оптимизировать

Средние значения гидродинамического радиуса, определенных методом ДСР в растворах макромолекул МЦ и Зостерина, а также бинарной системы МЦ/Зостерин

Номер пика	Образцы		
	МЦ	Зостерин	МЦ/Зостерин
$R_h^* (1), \text{nm}$	31	192	224
$R_h^* (2), \text{nm}$	302	644	1597

процессы их формирования. Применение для этих целей мультифрактального анализа пористой структуры гибридных органо-неорганических материалов, в нашем случае композиций МЦ/Зостерин/Повиаргол, возникающей при различных условиях формирования и разном составе композиции, позволят установить корреляции между фрактальной размерностью и эксплуатационными характеристиками этих систем. Детальное исследование этого вопроса будет предметом следующих публикаций.

На рис. 6 представлены дифрактограммы порошков Зостерина (кривая 1), МЦ (2), препарата Повиаргол (3), и композиционной пленки, приготовленной из раствора тройной системы МЦ/Зостерин/Повиаргол (4). На дифрактограмме Зостерина наблюдаются два диффузных рефлекса при $2\theta = 14.9$ и 24.3° , кроме того, ряд менее интенсивных рефлексов при $2\theta = 13.1, 21.2, 30.0$ и 32.9° .

На дифрактограмме образца МЦ наблюдается плечо при 8.2° ($9.4, 13.1$ отмечены) и рефлекс при 19.9° . Согласно проведенным ранее исследованиям [1], дифрактограмма МЦ имеет плечо при $2\theta = 8.7^\circ$ и два размытых рефлекса при $2\theta = 13.5$ и 20.2° .

На дифрактограмме образца Повиаргола (рис. 6, кривая 3) наблюдаются два гало при $2\theta = 12.70$ и 20.80° , соответствующие ПВП, и интенсивный рефлекс при $2\theta = 38.02^\circ$, соответствующий металлическому серебру.

В нашем случае дифрактограмма тройной композиции МЦ/Зостерин/Повиаргол (рис. 6, кривая 4) близка по форме дифрактограмме исходной МЦ, но плечо в области $8^\circ - 15^\circ$ более протяженное, кроме того, присутствует слабый пик при $2\theta = 38.02^\circ$, соответствующий нульвалентному серебру, а также рефлекс при $2\theta = 32.9^\circ$, наблюдаемый у Зостерина.

Методом динамического светорассеяния для растворов свободных макромолекул (МЦ и Зостерин), а также — бинарной системы МЦ/Зостерин (1:1) зарегистрированы два пика: первый пик $R_h^* (1)$ соответствует изолированным макромолекулам (или комплексам МЦ/Зостерин), второй пик — $R_h^* (2)$ отражает ассоциативные явления в растворе. Сравнение значений $R_h^* (1)$ для МЦ (31 нм), Зостерина (192 нм) и бинарной системы МЦ/Зостерин (224 нм) позволяет сделать заключение о том, что в бинарной системе на одну молекулу МЦ приходится одна молекула Зостерина (см. таблицу).

Выводы

1. АСМ исследования показали, что для пленок исходного Зостерина и его композиции с МЦ характерна зернистая морфология с разными размерами зерен. При этом обнаружено, что композиция МЦ/Зостерин имеет в два раза меньшую шероховатость поверхности, чем исходный Зостерин. Тройная система МЦ/Зостерин/Повиаргол имеет губчатую морфологию с порами глубиной порядка 10–40 нм.

2. Анализ ПЭМ изображений композиции МЦ/Зостерин показал, что в бинарной системе присутствуют агрегаты фрактального типа. В тройной системе МЦ/Зостерин/Повиаргол на фоне полимерной матрицы, также имеющей фрактальную морфологию, хорошо различимы НЧ серебра преимущественно сферической формы со средним радиусом ~ 19.5 нм.

3. Сопоставление значений гидродинамического радиуса R_h^* для бинарной системы МЦ/Зостерин (1:1) и ее компонентов показало, что в бинарной системе на одну молекулу МЦ приходится одна молекула Зостерина.

4. Методом РСА для тройной композиции МЦ/Зостерин/Повиаргол обнаружен рефлекс при $2\theta = 38.02^\circ$, соответствующий нульвалентному серебру.

Список литературы

- [1] Суханова Т.Е., Вылегжанина М.Э., Гофман И.В. и др. // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. 2014. № 9. С. 47–57. DOI: 10.7868/s0207352814090194
- [2] Santuryan Yu.G., Kutsenko L.I., Gofman I.V. et al. // Russ. J. Appl. Chem. 2014. Vol. 87. N 7. P. 942–949. DOI: 10.1134/S1070427214070167
- [3] Лоенко Ю.Н., Артюхов А.А., Козловская Э.П. и др. Зостерин. Владивосток: Дальнаука, 1997. 88 с.
- [4] Патент РФ № 2517063. Водорастворимая бактерицидная композиция / Е.Ф. Панарин, И.А. Десев, Ю.Г. Сантурян. 2014. Б.И. № 15.
- [5] Патент РФ № 2088234. Водорастворимая бактерицидная композиция и способ ее получения / В.В. Копейкин, Е.Ф. Панарин, Ю.Г. Сантурян. и др. Публ. 27.08.1997.
- [6] Афиногенов Г.Е., Панарин Е.Ф. Антимикробные полимеры. СПб: Гиппократ, 1993. 264 с.
- [7] Копейкин В.В., Панарин Е.Ф. // Докл. РАН. 2001. Т. 380. № 4. С. 497–500.
- [8] Rai M., Yadav A., Gade A. // Biotechnol. Adv. 2009. Vol. 27. N 1. P. 76–83. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.09.002
- [9] Новиков Д.В., Суханова Т.Е., Лаврентьев В.К., Вылегжанина М.Э. // Высокомолекулярные соединения. 1999. Т. 41. № 8. С. 1266–1277.
- [10] Brown W. Dynamic Light Scattering: the Method and Some Application. Oxford: Clarendon Press, 1993. P. 305.
- [11] Alekseeva P.E., Santuryan Yu.G., Kutin A.A., Vylegzhanina M.E., Volkov A.Ya., Valueva S.V., Panarin E.F., Sukhanova T.E. // Proc of the 9th International Symposium „Molecular mobility and order in polymer systems“. St. Petersburg, 2017. P. 205.