

УДК 621.014.46(546.57+546.56:66-911.38).001.5

СТРУКТУРА, СВОЙСТВА И ТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ СЕРЕБРА И МЕДИ

И. Н. Андрусишина¹И. А. Голуб¹Г. Г. Дидикин²С. Е. Литвин²Т. Ю. Громовой³В. Ф. Горчев⁴В. А. Мовчан¹¹ГУ «Институт медицины труда НАМН Украины», Киев²Институт электросварки им. Е. О. Патона НАН Украины, Киев³Институт химии поверхности им. А. А. Чуйко НАН Украины, Киев⁴Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев

E-mail: irina_andrei@voliacable.com

Получено 30.05.2011

В настоящее время разработан ряд общих методов получения наночастиц. С точки зрения возможностей промышленного производства наноматериалов в Украине сегодня наиболее развиты нанотехнологии, базирующиеся на физических методах их получения. Поэтому актуальными являются проблемы поиска стабильных органических коллоидных дисперсий и стандартизация методик экспериментов *in vitro* и *in vivo*, разработка критериев безопасности и допустимых порогов токсичности наночастиц металлов. В данной работе изучены физико-химические свойства наночастиц оксидов серебра и меди в коллоидных растворах альбумина, поливинилпирролидона, декстрана. Проведена оценка цитотоксичности наночастиц оксидов серебра и меди в поливинилпирролидоне и декстране. Исследована токсичность наночастиц серебра в подостром эксперименте на крысах Wistar. Выявлена высокая токсичность наночастиц оксида серебра в концентрации 46,6 мг/л. Биохимические исследования активности энзимных систем, содержания микроэлементов в цельной крови и морфологические исследования ее клеточного состава позволили выявить незначительные изменения состава клеток крови и количества микроэлементов, а также существенное снижение активности церулоплазмينا, повышение активности АТФ и цинкпротопорфирина в ответ на подострое воздействие наночастиц оксида серебра размером 32 нм и концентрацией 2,5 мг/л.

Ключевые слова: наночастицы оксидов серебра и меди, альбумин, поливинилпирролидон, декстран, микроэлементы, энзимы.

В последние годы происходит бурное развитие нанотехнологий и внедрение их результатов в различные области деятельности человека. С точки зрения возможностей промышленного производства наноматериалов в Украине наиболее развитыми сегодня являются нанотехнологии, базирующиеся на электронно-импульсных и плазменных технологиях [1–4]. Сравнительный анализ известных в литературе способов получения металлических наноматериалов — химический или физический — показывает, что наиболее перспективным является физический, поскольку наноматериалы, полученные с помощью химических способов, могут иметь примеси исходных соединений. При этом наиболее перспективны для применения в медицине наноматериалы, отвечающие таким основным требованиям, как биосовместимость и программируемое позитивное действие на биологический объект. В числе

наноматериалов, которые производятся в настоящее время отечественной промышленностью, особое внимание привлекают препараты наночастиц (НЧ) серебра и меди как альтернатива традиционным антимикробным, противогрибковым и дезинфицирующим средствам. НЧ серебра и других наноматериалов используют при создании искусственных костных имплантов [3, 4]. Издавна известно, что на серебро, в отличие от антисептических препаратов, не развивается бактериальная устойчивость. Наноразмерное серебро может использоваться в меньших концентрациях, чем антисептик, и оказывает минимальное токсическое воздействие на организм человека. В то же время доказано, что НЧ серебра стимулирует работу иммунной системы, стабилизирует обмен веществ в живом организме и обеззараживает более 100 видов опасных бактерий, вирусов и грибов [5, 6].

Совсем недавно стало известно о позитивном действии коллоидного серебра при лечении такого опасного заболевания, как болезнь Моргаллонов [7]. В то же время медь является жизненно необходимым (т. е. эссенциальным) элементом. Она выступает кофактором более 30 энзимных систем в живых организмах, обеспечивающих многочисленные процессы жизнедеятельности организма и устойчивости его к бактериальным инфекциям и инвазиям. Медь по сравнению с серебром имеет менее выраженные антисептические свойства, но вместе с тем значительно усиливает действие препаратов серебра [4, 6].

Известно, что получение новых препаратов на основе нанотехнологий позволит удешевить их и сделать доступными для лечения многих заболеваний. Однако актуальными остаются две проблемы. Первая — поиск стабильных органических коллоидных дисперсий, стабилизированных поверхностно-активными веществами (ПАВ), и вторая — стандартизация методик экспериментов *in vivo* и *in vitro*, разработка критериев безопасности и допустимых порогов токсичности НЧ серебра [3, 8, 9].

Целью работы было исследование структуры и свойств НЧ оксидов серебра и меди, полученных методом электронно-лучевого испарения, изучение возможностей их растворения в различных коллоидных системах, оценка общей токсичности и цитотоксичности полученных коллоидных растворов.

Материалы и методы

В исследовании были использованы дисперсные порошки НЧ металлического серебра и меди, полученные в Институте электросварки им. Е. О. Патона НАНУ (патент №92556). Конденсаты НЧ серебра и меди получали осаждением смежных молекулярных потоков Ag или Cu и соли NaCl методом электронно-лучевого испарения и осаждения паровой фазы в вакуумной электронно-лучевой установке. Температура конденсации составляла 25–45 °С [10]. Структуру исходных порошков исследовали с помощью растрового сканирующего электронного микроскопа Cam Scan 4D в режиме вторичной эмиссии упругоотраженных электронов.

Были подготовлены коллоидные растворы НЧ оксидов серебра и меди на основе растворов сывороточного альбумина человека («Биофарма», Украина, м.м. 66 000 Да), декстрана 70 (Fluka, Швеция, м.м. 45 000 Да)

и поливинилпирролидона (Merks, Германия, м.м. 40 000 Да) с концентрацией 0,1–1,0%.

Распределение НЧ по размерам в коллоидной системе определяли методом фотон-корреляционной спектроскопии ЛКС [11, 12] на лазерном корреляционном спектрометре Zeta Sizer-3 (Malvern, Великобритания).

Масс-спектры коллоидных растворов оксидов серебра и меди с сывороточным альбумином человека (САЧ) были получены на приборе Autoflex II-(Bruker, Германия). Исследования осуществляли с применением синаповой кислоты (Sinapic Acid — SA, Fluka) как матрицы. Анализировали суммарные спектры положительных ионов, которые получали путем накопления 600 одинарных спектров. Матрицу смешивали с коллоидным раствором НЧ (ПАВ + металл) в соотношении 1:1 и наносили на стандартную стальную подложку. После сокристаллизации матрицы с исследуемым раствором подложку размещали в рабочей зоне масс-спектрометра. Исследования проводили в массовом диапазоне 8–300 кДа [13].

Концентрация серебра и меди в коллоидных растворах, а также состав примесей других химических элементов в конденсатах НЧ были определены с помощью метода атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) на приборе Optima 2 100 DV фирмы Perkin Elmer (США) в соответствии с методами [14, 15].

Токсикологическая часть исследований включала определение цитотоксичности коллоидных растворов НЧ оксидов серебра и меди на основе 1%-х растворов поливинилпирролидона (ПВП) и декстрана на анализаторе токсичности АТ-05 (БМК, Россия). Для оценки возможных токсических свойств полученного коллоидного раствора нами был проведен подострый эксперимент на крысах-самцах *Wistar* массой 150–220 г с соблюдением правил биоэтики. В основу дизайна эксперимента были положены методические рекомендации «Оценка безопасности наноматериалов» (Россия, 2007) [16]. Опытным животным внутрижелудочно на протяжении 14 дней вводили раствор НЧ оксидов серебра на 1%-м ПВП в концентрации серебра 2,5 мг на 100 г массы животного. Концентрация НЧ оксидов серебра во вводимом растворе выбрана с учетом минимально действующей дозы серебра в воде, равной 0,05 мг/л. Контрольные животные получали *per os* дистиллированную воду.

Биохимические исследования включали определение общего протеина, глюкозы и окислительных энзимов — цинкпротопорфирина (ЦПП) цельной крови и церулоплазмина (ЦП) сыворотки крови спектрометри-

ческими методами [17, 18]. Проводили общий и клинический анализ крови (на автоматическом гемофлуориметре 206-10Д, Германия) [19]. Микроэлементный анализ (Ca, Mg, Cu, Fe, Zn, Se, Ag) цельной крови экспериментальных животных выполнен методом АЕС–ИСП [14].

Математическую обработку полученных результатов осуществляли, используя методы вариационной статистики, с помощью программ статистического анализа Microsoft Excel [20].

Результаты и обсуждение

Как показали исследования, частицы конденсатов имели близкую к сферической форму и размеры в нанодиапазоне от 30 до 50 нм (рис. 1). В ходе разработки коллоидных систем НЧ оксидов серебра и меди были получены удовлетворительные результаты при растворении их в альбумине, ПВП и декстране.

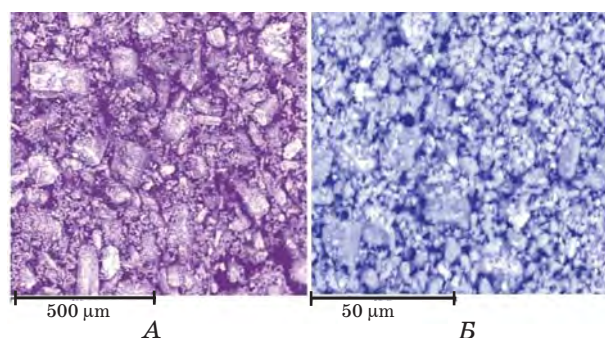


Рис. 1. Характерный вид поверхности конденсатов НЧ системы Ag-NaCl (А) и Cu-NaCl (Б)

Известно, что наноматериалы, полученные с помощью химических способов, могут иметь примеси использованных исходных соединений. Хотя физический способ получения НЧ металлов считается более чистым, однако даже эталонные слитки могут иметь незначительные включения химических элементов. Поэтому оценивали элементный состав конденсатов Ag-NaCl и Cu-NaCl. Результаты оценки элементного состава конденсатов с помощью метода АЕС–ИСП свидетельствуют о незначительном содержании примесей химических элементов в конденсатах НЧ оксидов Ag и Cu. Содержание Ag и Cu составило $12,0 \pm 0,08$ масс. % и $11,3 \pm 0,04$ масс. % соответственно (табл. 1).

Учитывая, что характерной особенностью наноматериалов для биотехнологии является их исключительное специфическое

Таблица 1. Состав примесей химических элементов в конденсатах НЧ серебра и меди (масс. %)

Химический элемент	Содержание элементов в конденсате серебра	Содержание элементов в конденсате меди
Al	$0,059 \pm 0,007$	$0,001 \pm 0,0006$
Ca	$0,13 \pm 0,07$	$0,006 \pm 0,002$
Cd	$< 0,0001$	$< 0,0001$
Cr	$0,0064 \pm 0,003$	$< 0,0002$
Fe	$0,34 \pm 0,06$	$0,01 \pm 0,008$
Mg	$0,16 \pm 0,042$	$0,0001 \pm 0,0001$
Mn	$0,0065 \pm 0,002$	$0,0004 \pm 0,0001$
Na	$0,033 \pm 0,004$	$0,14 \pm 0,054$
Ni	$< 0,0005$	$0,0011 \pm 0,0004$
Pb	$0,0026 \pm 0,0005$	$< 0,001$
V	$< 0,0005$	$0,001 \pm 0,0001$
Zn	$0,013 \pm 0,0012$	$0,0002 \pm 0,0001$

действие на живой организм, что обусловлено их корпускулярно-волновыми и квантовыми особенностями, важным моментом в процессе дальнейших исследований был выбор дисперсной системы.

Метод получения НЧ оксидов серебра и меди требовал выбора коллоидных растворов, которые имели бы стабильные характеристики размеров и концентрации во времени, что является определяющим для использования НЧ металлов в биологии и медицине.

С этой целью были проведены исследования по изучению возможностей образования стабильных во времени коллоидных растворов НЧ оксидов Ag и Cu. В качестве модельной дисперсионной среды использовали растворы САЧ, ПВП и декстрана. Как известно, раствор альбумина используется для инфузий в гематологии, а растворы ПВП и декстрана — как гемодинамические и детоксикационные средства. В то же время они представляют комфортную модель для изучения молекулярных взаимодействий НЧ [21–25].

Были подготовлены коллоидные системы с внесением 45–50 мг/л (расчетная концентрация) НЧ оксидов Ag и Cu в растворах 0,1 и 1,0% САЧ, в 1,0 и 3,0% растворах ПВП и декстрана соответственно. Исследовали также стабильность коллоидных растворов НЧ серебра и меди во времени. Полученные окончательные результаты представлены в табл. 2.

Выявлено, что НЧ оксидов серебра хорошо «растворяются» в водных растворах САЧ

Таблица 2. Колебания pH и концентрации Ag₂O и CuO в коллоидных растворах

Наименование пробы	pH исходного раствора	Концентрация Ag, мг/л	pH раствора Ag	Концентрация Cu, мг/л	pH раствора Cu
0,1% -й САЧ	7,28	2,15 ± 0,14	7,78	11,42 ± 0,13	7,88
1,0% -й САЧ	7,20	16,4 ± 0,33	7,24	36,18 ± 1,33	8,11
1 % -й декстран	6,50	0,41 ± 0,01	7,50	10,97 ± 0,05	6,44
3 % -й декстран	6,52	0,56 ± 0,01	7,02	36,48 ± 0,94	6,30
1 % -й ПВП	3,62	46,6 ± 2,17	7,56	14,28 ± 0,19	7,92
3% -й ПВП	3,70	50,3 ± 0,17	8,06	41,26 ± 0,10	7,09

Примечание. Выделенные значения достоверны ($P < 0,05$) по отношению к контролю (для pH) или приближаются к расчетным концентрациям (для НЧ металлов).

и ПВП. Для меди удовлетворительных результатов достигали при использовании больших концентраций альбумина, декстрана и ПВП (1%- и 3%-е растворы соответственно). Важным моментом исследований был контроль pH растворов. Установлено, что в зависимости от величины pH может изменяться скорость протекания химических реакций, токсичность растворов также обусловлена этим показателем [6]. Таким образом, pH среды является определяющим показателем комплексообразования, солюбилизации или мицеллообразования коллоидов на основе НЧ Ag и Cu. Во всех исследуемых растворах pH увеличивался, что свидетельствует о наличии основных оксидов на поверхности НЧ (рис. 2).

Методом масс-спектрометрии также было установлено, что НЧ серебра в 1,0%-м растворе САЧ и ПВП находились в форме оксидов Ag и Cu. Этот факт подтверждает и термогравиметрический анализ самих конденсатов Ag и Cu. При сравнении масс-спектров альбумина, инкубированного в присутствии обычных макрочастиц серебра, а также НЧ оксида Ag, отмечали следующие изменения: в случае серебра относительная интенсивность однозарядного пика альбумина (66 200 Да) практически не отличалась от контроля, однако наблюдалось уменьшение относительной интенсивности пика, соответствующего димеру альбумина (122 400 Да)

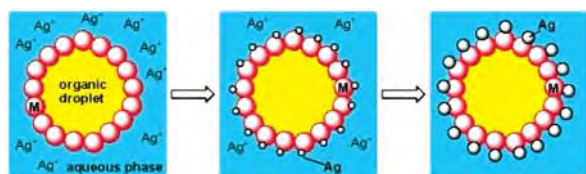


Рис. 2. Схематическое изображение гетеродимеров Ag + ПАВ (ПАВ покрывают поверхность сферы Ag)

по отношению к молекулярному иону. В случае НЧ оксида серебра наблюдалось существенное уменьшение этого значения на фоне снижения интенсивности всех пиков в масс-спектре. Эти факты указывают на взаимодействие НЧ оксида серебра с альбумином. Относительно НЧ оксида меди такой эффект не наблюдался (рис. 3).

Распределение НЧ по размерам в коллоидной системе определяли с помощью метода фотонкорреляционной спектроскопии [11]. Данные ЛКС представлены на рис. 4. Исследование размерных характеристик НЧ в исследуемых коллоидных растворах показало, что в альбумине размер НЧ Ag₂O составил 32–34 нм, в ПВП — 32 нм, в декстране — 38 нм; НЧ CuO — 42 нм в альбумине, 20 —

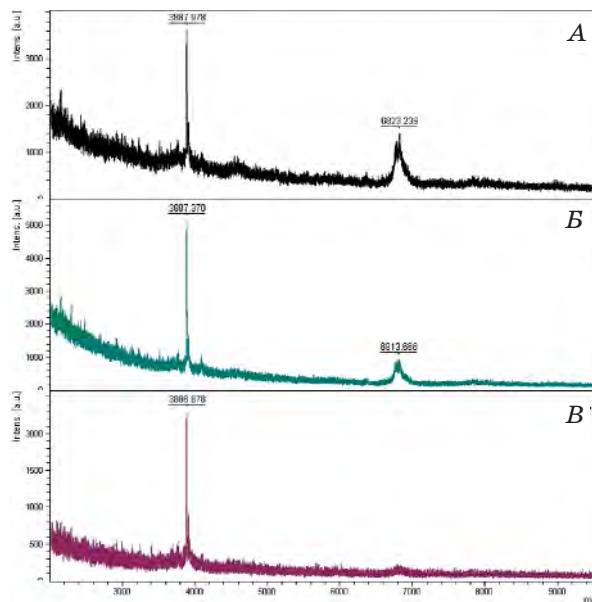


Рис. 3. Масс-спектры 1%-х растворов альбумина (A), микрочастиц серебра в альбумине (B) и наночастиц оксида серебра в альбумине (B)

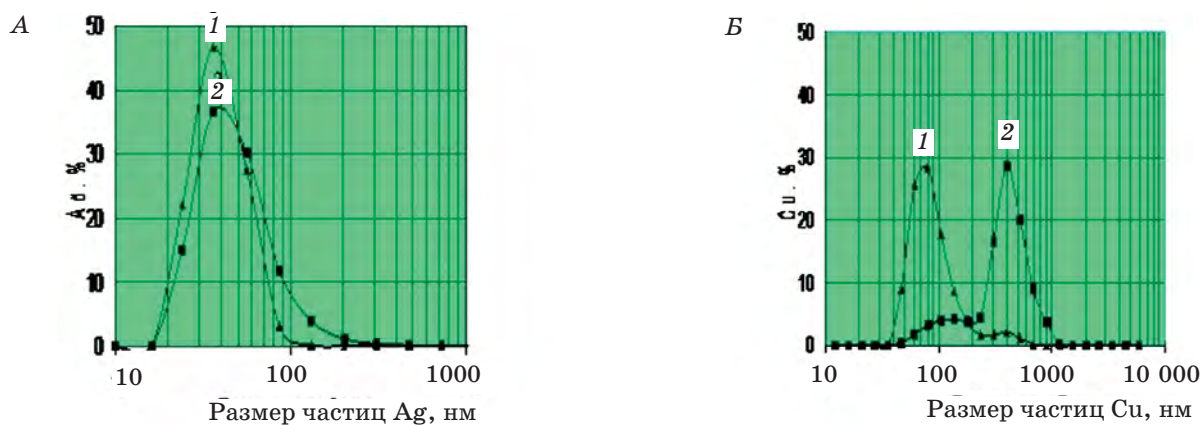


Рис. 4. Количественное (1) и объемное (2) распределение НЧ серебра (А) и НЧ меди (Б) в 1%-м водном растворе ПВП

в декстране и в ПВП — 6–30 нм. Таким образом, подбором коллоидной системы, а также поэтапным растворением в растворе ПАВ можно изменять размер НЧ оксида металла, например до 6–10 нм, как было выявлено в 1%-м растворе ПВП при изучении размеров частиц во времени.

Проведенными исследованиями [8, 9, 26–29] показано, что токсичность ряда веществ в форме НЧ может быть выше, чем у их аналогов в виде макроскопических дисперсий. Это связано с физико-химическими особенностями НЧ — повышенной реакционной и каталитической способностью, растворимостью, адсорбцией и способностью проникать через биологические барьеры организма. Последнее определяет необходимость изучения возможных токсических свойств этого принципиально нового материала.

Нами была оценена цитотоксичность НЧ оксидов Ag и Cu. Оценка индекса цитотоксичности (ИТ) проведена на суспензии мужских гамет быка. Полученные результаты представлены в табл. 3. Было показано, что введение в культуральную среду НЧ Ag₂O в концентрации 46,6 мг/л и 9,32 мг/л размером частиц 32 нм вызывало значительное снижение ИТ, что свидетельствует о высокой

токсичности НЧ Ag₂O. Последовательное разбавление раствора приводило к снижению ИТ и нормализации этого показателя.

Учитывая результаты оценки цитотоксичности НЧ, дальнейшее определение общей токсичности *in vivo* проводили только для НЧ Ag₂O. Для оценки возможных токсических свойств полученного коллоидного раствора НЧ Ag₂O нами был осуществлен подострый эксперимент на крысах-самцах линии Wistar.

В ходе эксперимента не выявлено существенных отличий в общем состоянии животных (смертность, общая активность, прирост массы тела и др.) контрольной и опытной групп. Как известно, одним из путей «доставки» НЧ в органы и ткани являются эпителиальные и эндотелиальные клетки, кровеносные и лимфатические сосуды, сенсорные нервные окончания при пероральном поступлении [27, 29]. Общий и клинический анализ крови (рис. 5) позволил выявить рост числа эозинофильных (ЭофЛ) и тенденции к росту палочкоядерных (ПяЛ) лейкоцитов, снижении числа моноцитов (МЦ).

Это свидетельствует о сдвиге показателей лейкограммы влево, очевидно из-за высокой тропности НЧ Ag₂O к клеткам крови. В последние годы в литературе обсуждается

Таблица 3. Оценка индекса цитотоксичности НЧ Ag₂O и CuO в коллоидных растворах (%)

Коллоидный раствор	С, мг/л	Разведение			
		Исходный р-р	1:5	1:10	1:100
1% -й ПВП	–	86,10	–	–	–
Ag ₂ O 1% -й ПВП	46,6 ± 2,17	2,8	37,6	72,3	103,5
CuO 1% -й ПВП	14,28 ± 0,19	95,7	95,7	95,7	95,7
1% -й декстран	–	109,8	–	–	–
Ag ₂ O 1% -й декстран	0,41 ± 0,01	102,0	102,0	102,0	102,0
CuO 1% -й декстран	10,97 ± 0,05	85,3	85,3	85,3	85,3

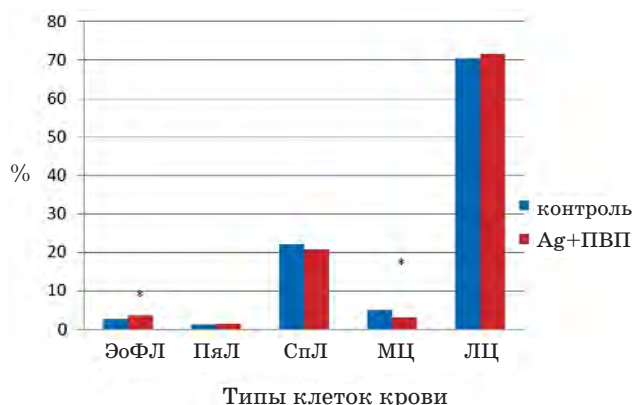


Рис. 5. Клеточный состав лейкоцитов крови экспериментальных животных в условиях подострого воздействия НЧ Ag₂O:

ЭоФЛ — эозинофильные лейкоциты, ПяЛ — палочкоядерные лейкоциты, СпЛ — сегментоядерные лейкоциты, МЦ — моноциты, ЛЦ — лимфоциты

возможная роль серебра как иммуномодулятора. В зависимости от дозы этот металл может, как стимулировать, так и угнетать фагоцитоз. Серебро считают необходимым МЭ для иммунной системы из-за хорошо выраженных антимикробных и бактерицидных свойств [6, 7].

В то же время внутрижелудочное введение НЧ Ag₂O не приводило к изменению буферных свойств протеина, однако усиливало аэробное дыхание, протекающее с участием глюкозы и АТФ (табл. 4).

Последние, как известно, являются важными энергетическими субстратами. В то же время под влиянием солей серебра вдвое повышается интенсивность окислительного фосфорилирования [4, 5]. Усиление восстановления молекулы АТФ свидетельствует об активации дыхания эритроцитов крови в ответ на воздействие НЧ Ag₂O.

Вместе с тем, угнетение синтеза ЦП в сыворотке крови животных опытной группы свидетельствует о нарушении антиоксидантной функции энзима, вырабатываемого в печени. Антиоксидантная активность ЦП осуществляется не только благодаря феррооксидантной активности, но и посредством прямого взаимодействия ОН⁻ с тиоловыми группами протеина, ингибирует супероксидное и ферритинзависимое пероксидное окисление липидов (ПОЛ). Кроме того, ЦП является протеином острой фазы воспаления и принимает участие в неспецифической защите организма от негативных факторов окружающей среды [30, 31].

Уровень ЦПП возростал, что свидетельствует об увеличении числа свободных про-

Таблица 4. Биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных животных

Показатель	Контроль	Ag ₂ O в 1% -й ПВП
Общий протеин, г/л	70,3 ± 18,7	83,77 ± 9,87
АТФ эритроцитов, мкМоль/л	130,77 ± 1,46	147,32 ± 4,03*
Церулоплазмин сыворотки крови, мкМоль/л	230,73 ± 9,58	174,24 ± 19,68*
Zn-протопорфирин, мкМоль/Моль гема	171,8 ± 29,94	233,0 ± 22,07*
Глюкоза, г/л	1,19 ± 0,27	1,25 ± 0,45

Примечание: * значения достоверны (P < 0,05) по отношению к контролю.

топорфиринов. Увеличение ЦПП используется как маркер токсического воздействия ксенобиотиков, в частности свинца, для обнаружения дефицита железа. Протопорфирины образуют комплексы не только с Fe, Zn, Cu, Mg, Ni, Co [19, 30], что обусловлено генерацией активных форм кислорода и формированием оксидативного стресса. Повышение концентрации макромолекул серебра приводит к снижению интенсивности поглощения кислорода клетками. Это является доказательством участия катионов серебра в регуляции энергетического обмена [4–6]. Присутствие НЧ в оксидной форме способствует усилению окислительного фосфорилирования в клетках крови, что подтверждает и увеличение концентрации АТФ.

По мнению ряда авторов [26, 30], дисбаланс МЭ является одним из ключевых механизмов запуска свободнорадикального повреждения клеток — универсального механизма преждевременного износа организма. Поэтому важным этапом исследований было оценить микроэлементный баланс цельной крови животных (рис. 6). В ходе исследований не выявлено существенных изменений уровня Ag в цельной крови крыс, что объясняется характером элиминации серебра из крови и возможным конкурентным взаимодействием элемента с медью [30]. Одновременно обнаружено снижение уровня содержания Mg и Cu в цельной крови животных опытной группы, которая подвергалась кратковременному воздействию НЧ Ag₂O. Магний известен как кофактор ряда энзимов углеводно-фосфорного и энергетическо-

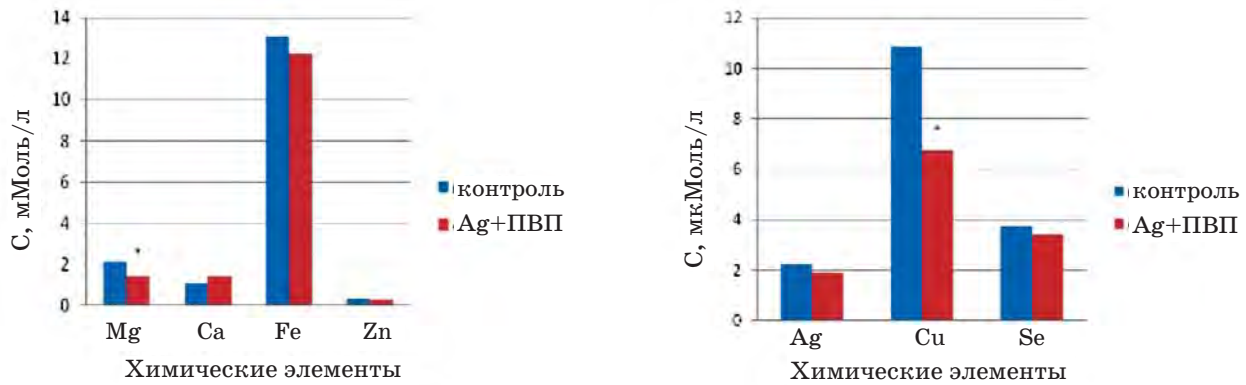


Рис. 6. Содержание МаЕ и МЕ в цельной крови экспериментальных животных в условиях подострого воздействия НЧ Ag_2O : в ммоль/л (А) и мкмоль/л (Б)

го обмена, участвует в метаболизме глюкозы, биосинтезе протеинов. Роль меди обусловлена участием в регуляции процессов биологического окисления и генерации АТФ, метаболизме железа, токсическом воздействии активных форм кислорода. Кроме того, установлено, что изменение пероксидного окисления липидов в тканях экспериментальных животных при введении НЧ цинка приводило к заметному усилению ферментативного окисления продуктов ПОЛ и сопровождалось дисбалансом меди, цинка и железа [26, 30]. Таким образом, создание в организме «депо» высокодисперсного металла (в данном случае НЧ Ag_2O) обеспечивает медленное его поступление в организм в дозах, близких к терапевтическим, и может оказывать фармакологическое воздействие на организм [32, 33].

Результаты настоящей работы свидетельствуют о большей цитотоксичности НЧ Ag_2O по сравнению с НЧ CuO . В токсикологическом эксперименте на животных НЧ Ag_2O в концентрации 2,5 мг/л и размером 32 нм имели высокое сродство к клеткам крови, были способны активировать аэроб-

ное дыхание эритроцитов и синтез ЦПП, однако приводили к снижению уровня ЦП и жизненно важных МЭ — Mg и Cu. В целом НЧ Ag_2O оказывали влияние на энергетический обмен, что свидетельствует о наличии специфической токсичности НЧ оксида серебра.

Полученные предварительные данные свидетельствуют в пользу существующих представлений о более высокой токсичности в наносостоянии даже тех веществ, которые при действии частиц микрометрового диапазона являются относительно биологически инертными. Однако, проблема метаболизма НЧ исследуемых металлов требует дальнейших более углубленных экспериментальных исследований для установления как пороговой концентрации препаратов на основе НЧ, так и его безопасной лечебной дозы.

Авторы статьи выражают искреннюю благодарность сотрудникам лаборатории электронно-лучевых технологий неорганических материалов для медицины Института электросварки им. Е. О. Патона НАН Украины за оказанную помощь.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фостер Л. Нанотехнологии, наука, инновации и возможности. — М.: Техносфера, 2008. — 352 с.
2. Сергеев Г. Б. Нанохимия. 2-е изд. — М.: Изд-во МГУ, 2007. — 148 с.
3. Чекман Г. С., Сердюк А. М., Кундієв Ю. І. та ін. Нанотоксикологія: напрямки досліджень // Довкілля та здоров'я. — 2009. — № 7. — С. 3–7.
4. Нанотехнологія у ветеринарній медицині (впровадження іновативних технологій) / Під ред. В. В. Борисевич, Б. В. Борисевич,

5. В. Г. Каплуненко. — К.: ТОВ «Наноматеріали і нанотехнології», 2009. — 232 с.
6. Кульський Л. А. Серебряная вода. — К.: Освіта, 1977. — 176 с.
7. Ершов Ю. А., Плетнева Т. В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. — М.: Медицина, 1989. — 272 с.
8. Андрейчин М. А., Бігуняк В. В., Дем'яненко В. В. Таємнича хвороба Моргелонів // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. — 2010. — № 5–6 (34–35). — С. 5–10.
9. Hasselov M., Reradman J. W., Ranville J. F., Tiede K. Nanoparticle analysis and characterization methodologies in environmental risk

- assessment of engineered nanoparticles // *Ecotoxicology*. — 2008. — N 17. — P. 344–361.
9. *Christian P., Von der Kammer F., Baalousha M., Hofmann Th.* Nanoparticles: structure, properties, preparation and behavior in environmental media // *Ecotoxicology*. — 2008. — N 17. — P. 326–343.
 10. *Пат. України № 92556.* Спосіб одержання наночастинок системи метал-кисень із заданим складом електронно-променевим випаровуванням і конденсацією у вакуумі / Б. Є. Патон, Б. О. Мовчан, Ю. А. Курапов, К. Ю. Яковчук. — Опубл. 10.11.2010, Бюл. №21.
 11. *Лебедев А. Д., Левчук Ю. Н., Ломакин А. В., Носкин В. А.* Лазерная корреляционная спектроскопия и биология. — К.: Наук. думка, 1987. — 256 с.
 12. *Лебедев А. Д., Ломакин А. В., Носкин В. А.* Применение лазерной корреляционной спектроскопии для ЭФ биологических объектов в растворах // *Инструментальные методы в физиологии и биофизике*. — Л.: Наука, 1987. — С. 90–95.
 13. *Лебедев А. Т.* Масс-спектрометрия в токсикологических исследованиях // *Токсикологический вестник*. — 2010. — № 4(103). — С. 2–12.
 14. *Методические указания 4.1.1482-03* «Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой». — М.: Минздрав России, 2003. — 16 с.
 15. *Томсон М., Уолш Д. Н.* Руководство по спектрометрическому анализу с индуктивно связанной плазмой. — М.: Недра, 1988. — 288 с.
 16. *Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности наноматериалов.* МУ1.2.2520-09. — М., 2009. — 43 с.
 17. *Введение в биомембранологию* / Под ред. А. А. Болдырева. — М.: Изд-во МГУ, 1990. — 208 с.
 18. *Instruction manual of Zn-HEMATOFLUOROMETRIC Models 206D*, 1996. — 12 с.
 19. *Лабораторные методы исследования в клинике.* Справ. / Под ред. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 365 с.
 20. *Антомонов М. Ю.* Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. — К.: ФМД, 2006. — 558 с.
 21. *Степура А. И., Адамчук Р. И., Пилецкая Т. П., Степура И. И.* Стабилизация частиочно-кислородных наночастиц серебра сыворочным альбумином человека // *Материалы междунар. конф. «Лекарственные средства и биологически активные соединения»*, Гродно, 2007. — С. 159–161.
 22. *Stetchyn Y., Kostruba A., Zolobko O., Kurysko T.* The formation and properties of dex-trans-albumine nanostructure on the glass surface // *Ukrainian-German Symposium on physics and chemistry of nanostructures and on nanobiotechnology*, Book abstract, Crimea, 2010. — P. 31.
 23. *Diendorf J., Kittler S., Greulich C. et al.* Silver nanoparticles: synthesis, dissolution and toxicity // *Ibid.* — P. 20.
 24. *Manhong L., Xiaoping Y., Hanfan L., Weiyong Y.* An investigation of the interaction between polyvinylpyrrolidone and metal cations // *Reactive and functional polymers*. — 2000. — V. 44 (1). — P. 55–64.
 25. *Minchenko D., Bozhko I., Zinchenko T.* Expression of SNF1/AMP-activated protein kinase in the brain, liver, lungs, kidney and heart is a sensitive marker of silver nanoparticles action // *Materials of Ukrainian-German Symposium on Physics and Chemistry of nanostructures and on nanobiotechnology Beregove, The Crimea, Ukraine, 6–10 september, 2010*. — P. 204.
 26. *Глуценко Н. Н., Скальный А. В.* Токсичность наночастиц цинка и его биологические свойства // *Актуальные проблемы транспортной медицины*. — 2010. — № 3, (21). — С. 118–121.
 27. *Канцельсон Б. А., Привалова Л. И., Кузьмин С. В. и др.* Экспериментальные данные к оценке пульмонотоксичности и резорбтивной токсичности частиц магнетита (Fe₃O₄) нано- и микрометрического диапазона // *Токсикол. вестник*. — 2010. — № 2. — С. 17–24.
 28. *Попов В. А., Тюнин М. А., Зайцева О. Б. и др.* Морфофункциональные изменения во внутренних органах экспериментальных животных при внутрибрюшинном введении комплекса фуллерена C₆₀ с N-поливинилпирролидоном // *Международная конференция «Экофорум-2008»*, Санкт-Петербург, 2008 — С. 5.
 29. *Филатов Б. Н., Точилкина Л. П., Бочарова Л. Ю. и др.* Токсиколого-гигиенические аспекты проблемы безопасности производства продукции на основе наночастиц золота // *Токсикол. вестник*. — 2010. — № 3. — С. 30–33.
 30. *Кудрин А. В., Громова О. А.* Микроэлементы в неврологии. — М.: ГЕОТАР-Медиа, 2006. — 204 с.
 31. *Гусева С. А., Петруша А. О., Гончаров Я. П.* Церулоплазмин: физико-химические свойства, функции в организме, клиническое применение // *Укр. журн. гематол. трансплантол.* — 2004. — № 4 (4). — С. 46–51.
 32. *Чекман И. С., Мовчан Б. А., Загородный М. И. и др.* Наносеребро: технологии получения, фармакологические свойства, показания к применению // *Препарати і технології*. — 2008. — № 5 (51). — С. 32–40.
 33. *Braydich-Stolle L., Hussain S., Schlager J.* Cytotoxicity of nanoparticles of silver in mammalian cells // *Toxicol. Sciences*. — 2005. — V. 3, N 2. — P. 38–42.

СТРУКТУРА, ВЛАСТИВОСТІ ТА ТОКСИЧНІСТЬ НАНОЧАСТИНОК ОКСИДІВ СРІБЛА ТА МІДІ

I. M. Андрусішина¹
I. O. Голуб¹
G. G. Дідікін²
S. E. Літвін²
T. Yu. Громовий³
V. F. Горчев⁴
V. O. Мовчан¹

¹ДУ «Інститут медицини праці
НАМН України», Київ

²Інститут електрозварювання ім. Є. О. Патона
НАН України, Київ

³Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка
НАН України, Київ

⁴Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна
НАН України, Київ

E-mail: irina_andrei@voliacable.com

На цей час розроблено низку загальних методів отримання наночастинок. З точки зору можливостей промислового виробництва наноматеріалів в Україні найбільш розвиненими сьогодні є нанотехнології, які базуються на фізичних методах їх отримання. Тому актуальними є проблеми пошуку стабільних органічних колоїдних дисперсій і стандартизація методик експериментів *in vitro* та *in vivo*, розробка критеріїв безпеки та допустимих порогів токсичності наночастинок металів. У цій роботі було вивчено фізико-хімічні властивості наночастинок оксидів срібла та міді в колоїдних розчинах альбуміну, полівінілпіролідону, декстрану. Проведено оцінку цитотоксичності наночастинок оксидів срібла та міді в полівінілпіролідоні та декстрані. Досліджено токсичність наночастинок оксиду срібла у підгострому експерименті на щурах лінії Wistar. Виявлено високу токсичність наночастинок оксиду Ag у концентрації 46,6 мг/л. Біохімічні дослідження активності ферментів сироватки крові, аналіз вмісту мікроелементів цільної крові та морфологічні дослідження її клітинного складу дали змогу виявити незначні зміни складу клітин крові та кількості мікроелементів, а також істотне зниження активності церулоплазміну та підвищення активності АТФ і цинкопротопорфірину у відповідь на підгостру дію наночастинок оксиду срібла розміром 32 нм і концентрацією 2,5 мг/л.

Ключові слова: наночастинок оксидів срібла та міді, альбумін, полівінілпіролідон, декстран, мікроелементи, ферменти.

STRUCTURE, PROPERTIES AND TOXICITY OF NANOPARTICLES OF SILVER AND COPPER OXIDES

I. N. Andrusishina¹
I. A. Golub¹
G. G. Didikin²
S. E. Litvin²
T. Yu. Gromovoy³
V. F. Gorchev⁴
V. A. Movchan¹

¹Institute of Occupational Health of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv

²Paton Institute of Electro-welding
of National Academy of Sciences of Ukraine,
Kyiv

³Chuyko Institute of Surface Chemistry
of National Academy of Sciences
of Ukraine, Kyiv

⁴Palladin Institute of Biochemistry
of National Academy of Sciences
of Ukraine, Kyiv

E-mail: irina_andrei@voliacable.com

Currently, a number of general methods for nanoparticles synthesis have been created. In terms of opportunities for industrial production of nanomaterials in Ukraine today, the most advanced is nanotechnology based on physical methods of their obtaining. Therefore today finding stable organic colloidal dispersions stabilized by surfactants and standardization of the experiments techniques *in vitro* and *in vivo*, development of safety criteria, and acceptable thresholds for toxicity of metal nanoparticles is an urgent problem. Physicochemical properties of nanoparticles of silver and copper oxides in colloidal solutions of albumin, polyvinylpyrrolidone, and dextran have been studied. Cytotoxicity of nanoparticles of silver and copper oxides in polyvinylpyrrolidone and dextran was evaluated. Toxicity of silver oxide nanoparticles was assessed during *per os* subacute experiment on Wistar rats. High toxicity of 46.6 mg/l concentration of silver oxide nanoparticles was detected. Biochemical study of enzyme system activity, measurement of trace elements content in whole blood and morphological study of blood cellular composition enabled to reveal minor changes in the composition of blood cells and amount of trace elements, as well as a significant reduction in ceruloplasmin activity and increased activity of ATP and zincprotoporphyrin in response to *per os* subacute exposure of silver oxide nanoparticles with a size of 32 nm and 2.5 mg/l concentration.

Key words: nanoparticles of silver and copper oxides, albumin, polyvinylpyrrolidone, dextran, microelements, enzymes.