

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИРКУТСКИЙ ИНСТИТУТ ХИМИИ ИМ. А.Е. ФАВОРСКОГО
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

**ИВАНОВА
АНАСТАСИЯ АНДРЕЕВНА**

**ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МЕТАЛЛСОДЕРЖАЩИЕ НАНОКОМПОЗИТЫ
НА ОСНОВЕ СОПОЛИМЕРОВ 1-ВИНИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛА
С N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНОМ**

1.4.3. Органическая химия

1.4.7. Высокомолекулярные соединения

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель
кандидат химических наук
А.С. Поздняков

Иркутск-2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	10
Глава 1. ПОЛИМЕРЫ 1-ВИНИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛА И N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ НАНОКОМПОЗИТОВ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)	11
1.1. (Со)полимеры 1-винил-1,2,4-триазола и N-винилпирролидона.....	11
1.2. Наноконпозиты с наночастицами различных металлов	21
1.2.1. Серебросодержащие наноконпозиты.....	22
1.2.2. Золотосодержащие наноконпозиты	28
1.2.3. Железосодержащие наноконпозиты	31
Глава 2. СИНТЕЗ И СВОЙСТВА СОПОЛИМЕРОВ 1-ВИНИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛА С N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНОМ И НАНОКОМПОЗИТОВ НА ИХ ОСНОВЕ (ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ)	36
2.1. Радикальная сополимеризация 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном	36
2.2. Серебросодержащие наноконпозиты на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном.....	42
2.2.1. Влияние соотношения серебра к сополимеру на размеры наночастиц ...	44
2.2.2. Влияние функционального состава стабилизирующего сополимера на размеры наночастиц	52
2.3. Наноконпозиты с наночастицами золота в матрице сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном.....	55
2.4. Наноконпозиты с наночастицами железа в матрице сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном.....	62
Глава 3. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОПОЛИМЕРОВ 1-ВИНИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛА С N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНОМ И НАНОКОМПОЗИТОВ НА ИХ ОСНОВЕ	72
3.1. Токсичность и антимикробная активность сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и наноконпозитов с наночастицами серебра и оксидов железа.....	72
3.2. Иммуномодулирующие свойства сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и наноконпозитов с наночастицами серебра и золота.....	78
3.3. Биотестирование антибактериального потенциала сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и наноконпозитов с наночастицами серебра и золотана в отношении высших грибов	84
Глава 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	90
4.1. Подготовка исходных соединений	90
4.2. Получение (со)полимеров 1-винил-1,2,4-триазола и N-винилпирролидона.....	91

4.3. Синтез нанокомпозитов на основе сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном.....	93
4.4. Физико-химические методы исследования	94
4.5. Исследования биологических свойств	96
ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	105

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Потребность медицинской химии и фармакологии в полимерных материалах с комплексом востребованных свойств непрерывно растет, что стимулируется необходимостью создания новейших медико-биологических препаратов для лечения различных заболеваний, в том числе социально значимых. К такого рода полимерным материалам предъявляются повышенные требования, прежде всего удовлетворяющие нормам безопасности для человека (нетоксичность, биосовместимость и др.). В этой связи целенаправленное создание новых нетоксичных функциональных полимерных, в том числе нанокомпозитных, материалов способно обеспечить и удовлетворить потребности в быстро развивающихся направлениях медицины.

Среди азотсодержащих гетероциклических полимеров научный и практический интерес представляют гидрофильные полимеры 1-винил-1,2,4-триазола, которые обладают комплексом практически ценных свойств: гидрофильность, биосовместимость, нетоксичность ($LD_{50} > 5000$ мг/кг), способность к комплексообразованию и кватернизации, химическая и термическая стабильность и т.д. Функциональная 1,2,4-триазольная группа входит в состав лекарственных препаратов, проявляющих различную биологическую активность (Рибавирин, Ворозол, Итраконазол, Анастрозол и др.). Выделяют класс триазольных противогрибковых средств (например, Вориконазол, Флуконазол и прочие), которые используются в медицинской практике для лечения микозов благодаря их высокой активности и широкому спектру действия.

Широкой практической значимостью обладают полимеры на основе N-винилпирролидона, которые на протяжении уже более 80 привлекают пристальное внимание исследователей. Поли-N-винилпирролидон является гидрофильным, нетоксичным, неионогенным, термостойким, pH-стабильным и биосовместимым полимером. Полимеры N-винилпирролидона применяют в фармацевтике, биомедицине, косметологии и пищевой промышленности. Поли-N-винилпирролидон справедливо признан во всем мире в качестве полимера медицинского назначения – его широко используют в качестве компонента

лекарственных средств (Коповидон, Катапол, Метропол, Йодовидон и др.). Поли-N-винилпирролидон одобрен FDA (Food and Drug Administration) и признан многими странами как безопасный компонент, наполнитель и пищевая добавка.

Перспективным направлением полимерной химии является получение водорастворимых функциональных нанокомпозитов, в которых высокомолекулярные соединения выступают в качестве стабилизирующих матриц наночастиц различных металлов, обеспечивая их растворимость. Синергизм свойств полимерной и металлической составляющих (растворимость, биосовместимость, комплексообразующая способность, химическая стабильность, оптические, каталитические, биологические и др.) открывает широкие возможности по практическому использованию таких полимерных материалов. Для формирования и стабилизации наночастиц металлов интенсивно исследуются как полимеры синтетического (полиэтиленгликоль, поливинилпирролидон, полиэтилен и др.), так и природного происхождения (целлюлоза, хитозан, арабиногалактан и др.). При этом актуальной проблемой является комплексное решение задач, связанных с возможностью контроля над процессом формирования узкодисперсных по размерам наночастиц, их равномерным распределением в полимерной матрице и агрегативной устойчивостью.

Очевидно, что актуальным и перспективным направлением являются исследования по синтезу водорастворимых, биологически активных и нетоксичных функциональных полимерных нанокомпозитов.

Исследования по теме данной диссертации проводились в соответствии с планами научно-исследовательских работ ИрИХ СО РАН (Рег. № АААА-А16-116112510008-8, № 121021700340-5), а также при финансовой поддержке грантов РФФИ (№ 15-03-08295, № 17-43-380013).

Цель работы. Разработка методов синтеза и анализ физико-химических свойств новых функциональных нанокомпозитов с наночастицами Ag, Au и Fe на основе гидрофильных сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном, а также изучение биологической активности и токсикологических свойств синтезированных соединений.

Для достижения указанной цели были поставлены и решены **следующие задачи:**

- синтез сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола (ВТ) с N-винилпирролидоном (ВП), определение состава и молекулярно-массовых характеристик, исследование физико-химических свойств;
- синтез функциональных нанокомпозитов с наночастицами различных металлов (Ag, Au, Fe) на основе синтезированных сополимеров, определение содержания металла, размеров и характера распределения наночастиц в полимерной матрице;
- исследование влияния природы и содержания металла, а также функционального состава стабилизирующего сополимера на размеры формирующихся наночастиц и свойства синтезированных нанокомпозитов;
- изучение фазового состава и морфологии поверхности, оптических и термических свойств, а также гидродинамических характеристик полученных нанокомпозитов;
- установление стабильности металлсодержащих нанокомпозитов в водных растворах;
- исследование токсикологических свойств синтезированных соединений, включая определение полулетальной дозы (LD_{50});
- изучение антимикробной активности синтезированных соединений, включая определение минимальных бактериостатических и бактерицидных концентраций в отношении различных патогенных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.
- изучение иммуномодулирующей и антимикробной активности синтезированных соединений, включая определение минимальных бактериостатических и бактерицидных концентраций в отношении различных патогенных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, а также их антибактериальное действие в отношении высших грибов.

Научная новизна и практическая значимость работы.

Разработаны методы синтеза новых функциональных нанокомпозитов с наночастицами Ag, Au и Fe на основе сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном.

Показана высокая эффективность сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном при формировании нанокомпозитов с наночастицами Ag, Au и Fe в качестве стабилизирующей матрицы.

Изучено влияние природы, содержания металла и состава сополимера на размеры формирующихся наночастиц и свойства синтезированных нанокомпозитов.

Показана высокая агрегативная устойчивость водных растворов синтезированных нанокомпозитов с наночастицами серебра и золота в течение 6 месяцев.

Определена антимикробная активность новых серебросодержащих полимерных нанокомпозитов в отношении различных патогенных штаммов грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов. Исследована острая токсичность на беспородных белых мышах, определена полулетальная доза (LD_{50}) сополимера и нанокомпозита с наночастицами Ag на его основе.

Также у данных соединений выявлена ростостимулирующая активность в отношении объектов грибного происхождения, что делает возможным их использование в качестве индукторов повышения уровня антимикробных субстанций в культурах съедобных грибов.

Методология и методы исследования. Молекулярно-массовые характеристики сополимеров были оценены методом гель-проникающей хроматографии. Для определения структуры и состава сополимеров применяли методы элементного анализа, ИК и ЯМР спектроскопии. Содержание металлов устанавливали с использованием метода атомно-абсорбционного анализа. Физико-химические свойства синтезированных соединений исследовали методами УФ спектроскопии, рентгенофазового анализа, электронного парамагнитного резонанса, сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии,

термогравиметрического анализа, дифференциальной сканирующей калориметрии и динамического светорассеяния.

Обоснованность и достоверность результатов настоящей работы обеспечивается использованием современных методов синтеза и исследования полимеров и нанокомпозитов на их основе. Результаты, полученные независимыми методами, надежно дополняют друг друга, а погрешности многократных измерений находятся в допустимых пределах.

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии на всех этапах работы: при постановке задачи, проведении всех экспериментальных исследований, подготовке образцов для исследований их свойств, анализе полученных результатов, а также подготовке докладов к конференциям и публикаций по материалам работы.

Апробация работы и публикации. По материалам диссертации опубликовано 8 статей в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах и тезисы 10 докладов. Отдельные результаты работы докладывались и обсуждались на отечественных и международных конференциях: II и V Междисциплинарные конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» (Судак, Крым, 2015 и 2019 гг.); 12th International Saint-Petersburg Conferences of Young Scientists «Modern Problems of Polymer Science» (Санкт-Петербург, 2016 г.); V научные чтения, посвященные памяти академика А. Е. Фаворского; Школа-конференция молодых ученых с международным участием (Иркутск, 2017 г.); VII Всероссийская Каргинская конференция «Полимеры-2017» (Москва, 2017 г.); Международная объединенная конференция по органической химии «Байкальские чтения – 2017» (Иркутск, 2017 г.); Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора (Москва, 2018 г.).

Структура работы. Квалификационная работа состоит из введения, 4 глав, выводов и списка литературы. Работа изложена на 136 страницах машинописного текста, включая 22 таблиц, 36 рисунков, 5 схем и 234 литературных источников. Первая глава включает анализ литературных данных в области изучения

(со)полимеров 1-винил-1,2,4-триазола и N-винилпирролидона, а также полимерных нанокомпозитов с наночастицами серебра, золота и железа на их основе. В главе обобщены имеющиеся сведения о синтезе и свойствах гомо- и сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола и N-винилпирролидона и перспективных областях их практического использования. Рассмотрены основные методы получения полимерных нанокомпозитов, особенности их формирования, физико-химические свойства и области практического применения. Вторая глава посвящена обсуждению полученных результатов по синтезу и свойствам сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и новых нанокомпозитов с наночастицами серебра, золота и железа, инкорпорированных в полимерные матрицы сополимеров. В третьей главе представлены данные по биологической активности синтезированных сополимеров и нанокомпозитов и возможные пути их применения. В четвёртой главе представлены детали проведения экспериментов. Завершается диссертационная работа выводами и списком литературы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- ВТ – 1-винил-1,2,4-триазол
- ПВТ – поли-1-винил-1,2,4-триазол
- ВП – N-винилпирролидон
- ПВП – поли-N-винилпирролидон
- АИБН – азобисизобутиронитрил
- ДМФА – N,N-диметилформамид
- ДМСО – диметилсульфоксид
- ДМАА – диметилацетамид
- НЧ – наночастицы
- НК – нанокompозиты
- НК-Ag/ Au/ Fe – нанокompозиты с наночастицами серебра/ золота/ железа
(соответственно)
- ММ – молекулярная масса
- ММР – молекулярно-массовое распределение
- ППР – поверхностный плазмонный резонанс
- ППП – полоса плазмонного поглощения
- ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия
- СЭМ – сканирующая электронная микроскопия
- ДСР – динамическое светорассеяние
- ТГА – термогравиметрический анализ
- ДСК – дифференциальная сканирующая калориметрия

ГЛАВА 1. ПОЛИМЕРЫ 1-ВИНИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛА И N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ НАНОКОМПОЗИТОВ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)

Сополимеризация является одним из наиболее распространенных и удобных методов получения различных функционализированных полимерных материалов. При этом сополимеризация гетероциклических полимеров занимает достойное место в химии высокомолекулярных соединений, внося вклад в фундаментальные и практические знания о полимерах.

Полимерные наноккомпозиты являются объектами одного из приоритетных направлений развития относительно молодой области науки – нанотехнологии. Исследования полимерных наноккомпозитов носят междисциплинарный характер, поскольку требуют знания целого ряда научных направлений, среди которых основными являются полимерная химия, нанотехнологии и физическая химия и т.д.

Данный раздел посвящен обобщению наиболее значимых литературных данных по радикальной (со)полимеризации 1-винил-1,2,4-триазола (ВТ) и N-винилпирролидона (ВП) и использованию полученных полимеров в качестве полимерных матриц для стабилизации различных металлических наночастиц. В обзоре рассмотрены и проанализированы наиболее актуальные и перспективные области практического использования (со)полимеров ВТ и ВП и наноккомпозитов на их основе.

1.1. (Со)полимеры 1-винил-1,2,4-триазола и N-винилпирролидона

В литературе имеются довольно обширные сведения по методам получения ВТ и ВП, их гомополимеризации, а также совместной полимеризации с различными сомономерами.

(Со)полимеры 1-винил-1,2,4-триазола

Триазолам, как классу гетероциклических соединений, уделяется особое внимание ввиду их потенциального применения в качестве лекарственных средств. Такие препараты, как анастрозол [1], рибавирин [2], вориконазол [3], флупоксам [4] с

1,2,4-триазолом в качестве ядра используются в качестве противоопухолевых, противовирусных, противогрибковых и гербицидных средств соответственно. Наличие трех атомов азота в сопутствующей электронной системе позволяет триазолам и их производным посредством координации, водородных связей, ион-дипольного взаимодействия, Ван-дер-Ваальсовых сил [5, 6] легко взаимодействовать с различными ферментами и рецепторами в биологических системах. Еще одной причиной привлекательности применения соединений, содержащих в своей структуре триазольный цикл, является их низкая токсичность, высокая биодоступность и хорошие фармакокинетические свойства [7, 8].

Согласно имеющимся литературным данным по использованию того или иного типа полимеризации ВТ (радикальная, катионная, электрохимическая), наибольший практический интерес представляет радикальная полимеризация. Именно в условиях радикального инициирования ВТ проявляет высокую реакционную способность, что связано с наличием винильной группы, в которой происходит раскрытие двойной связи и формирование высокомолекулярных соединений с насыщенной основной цепью. Изучение процессов гомополимеризации ВТ нашло отражение в ряде работ [9–13]. В качестве метода инициирования полимеризации широко применяется термическое разложение различных инициаторов, среди которых наиболее распространенным является АИБН.

В работе [11] авторами исследована кинетика свободно-радикальной полимеризации ВТ в различных растворителях (вода, ДМФА, ДМАА) методами дилатометрии, калориметрии и гравиметрии. Реакцию проводили при температурах от 50 до 90°C, варьируя концентрацию инициатора АИБН ($1 \cdot 10^{-3}$ – $3 \cdot 10^{-2}$ моль/л) и ВТ (0.5–0.6 моль/л).

Независимо от природы растворителя кинетические кривые для всех используемых растворителей имеют S-образный характер. Величина индукционного периода не зависит от концентрации ВТ и обратно пропорциональна концентрации инициатора. Возможно, это является следствием ингибирования процесса полимеризации кислородом в следовых количествах,

который трудно удалить полностью из диполярных растворителей. Скорость полимеризации и ММ образующегося полимера в воде выше, чем в полярных растворителях. В ДМФА и ДМАА скорости практически равны. Отмечается, что ММ образующегося ПВТ мало зависит от концентрации инициатора. Характеристическая вязкость ПВТ, полученного в воде, в 3.5 раза выше, чем в ДМАА. Авторы отмечают, что введение воды (более 0.05 моль/л) при полимеризации в ДМФА или ДМАА также увеличивает ММ полимера. Такое поведение авторы связывают с увеличением реакционной способности ввиду специфической сольватации ВТ и растущего макрорадикала водой.

Проведение полимеризации в другом апротонном растворителе – ацетонитриле – в присутствии АИБН носит стационарный характер без индукционного периода и с начальными скоростями, зависящими от концентрации реагентов и температуры. Проявляется половинный порядок реакции по концентрации инициатора, что свидетельствует о бимолекулярном обрыве растущей макроцепи. В отличие от проведения полимеризации в диполярных растворителях и воде, в ацетонитриле наблюдается зависимость ММ полимера от концентрации инициатора. Добавление воды при полимеризации приводит к повышению скорости реакции и увеличению ММ [13].

Полученный при радикальной полимеризации ПВТ представляет собой белый порошок, хорошо растворимый в воде, уксусной кислоте и диполярных растворителях (ДМФА, ДМСО, ДМАА). Полимер гидролитически устойчив. После кипячения в 2N растворах щелочи и серной кислоты у полимера не наблюдалось значительных изменений.

Изучено влияние ПВТ (ММ=45 500, ММР=2.25, LD₅₀ у белых мышей при внутрибрюшинном введении более 3000 мг/кг) на комплексную количественную биохимическую характеристику развивающейся в раневом дефекте гранулярно-фиброзной ткани [14]. Авторами работы установлено, что модификация полиуретана 0.5% ПВТ приводит к умеренной реактогенности, а его введение в полиуретан способствует активации биосинтетической деятельности клеток соединительнотканной капсулы. Описана высокая защищающая активность ПВТ в

отношении мембраны клеток от цитотоксического действия кремнезема при взаимодействии пыли с клетками эритроцитов и брюшнополостных макрофагов [15].

Сополимеризация ВТ позволяет в значительной мере расширить области возможного практического применения полимеров ВТ за счет введения тех или иных функциональных групп. В качестве сомономеров часто выступают винильные соединения, содержащие в своем составе двойную (винильную) связь, которая отвечает за совместную полимеризацию с ВТ.

Целый спектр работ посвящен сополимеризации ВТ с рядом мономеров различной природы, таких как стирол [16–18], метилметакрилат [16, 17], винилхлорид [19], винилацетат [20], кротоновый альдегид [21], кротоновая кислота (КК) [22], акриловая [23] и метакриловая (МАК) [24] кислоты, а также натриевые соли МАК [25] и винилсульфоновой кислоты [26]. На основании литературных данных можно сделать вывод, что ВТ является активным сомономером при совместной радикальной полимеризации с указанными винильными соединениями, хотя строгой зависимости реакционной способности ВТ от полярного фактора сомономера (электроноакцепторный либо электронодонорный) не наблюдается.

При совместной полимеризации с представителями гетероциклических мономеров – 1-винилтетразолом (1-ВТА) и 2-метил-5-винилпиридином (2М5ВП) в среде метанола ВТ проявляет пониженную активность: константы сополимеризации составляют для ВТ–1-ВТА $r_{ВТ}=0.14$ и $r_{1-ВТА}=4.5$; для ВТ–2М5ВП $r_{ВТ}=0.17$ и $r_{2М5ВП}=4.5$ [27].

В работе [28] проведено исследование сополимеризации ВТ и 1-винилимидазола (ВИ) с использованием нетрадиционного метода большого избытка сомономера (БИС). Авторы доказали, что механизм роста цепи для исследуемой системы является предконцевым (четырепараметрическая модель), а не терминальным (двухпараметрическая модель). Использование метода БИС позволяет определить как механизм роста макроцепи, так и упростить вычисление констант сополимеризации для предконцевой модели. Константы относительной

реакционной способности сомономеров составляют $r_{VT}=0.41$ и $r_{VI}=0.37$. Близкие значения констант сополимеризации и предконцевой механизм роста вероятно являются следствием существенных различий донорно-акцепторных свойств сомономеров ($e_{VT}=0.08$, $e_{VI}=-0.7$). Сильные различия факторов полярности, проявляющиеся в виде эффектов отталкивания-притяжения предпоследнего звена по отношению к VT и VI, объясняют влияние предпоследнего триазолсодержащего звена на механизм роста полимерной цепи.

Интересны исследования сополимеризации VT с гетеробициклическими виниловыми мономерами, например, с 1-винил-4,5,6,7-тетрагидроиндолом (VTГИ) [29]. Во всем диапазоне соотношений содержание VT в сополимере выше, чем в исходной реакционной смеси. С увеличением содержания VT наблюдается возрастание выхода и значений характеристической вязкости. При избытке VTГИ для сополимеров наблюдаются малые значения вязкости, что, вероятно, обусловлено реакцией передачи цепи по механизму внутримолекулярной циклизации макрорадикала с концевым звеном VTГИ при участии атома углерода пиррольного кольца.

Перспективным сомономером из класса N-виниламидов является N-винилкапролактam (VK), полимеры которого характеризуются разнообразными физико-механическими, химическими и биологическими свойствами. Полимеры и сополимеры на основе VK способны к комплексообразованию, являются биосовместимыми, их водные растворы имеют нижнюю критическую температуру растворения в области температур функционирования живых систем, что открывает принципиально новые возможности практического применения данных полимеров в областях медицинского назначения. В системе VT–VK наиболее активным является VT ($r_{VT}=1.72\pm 0.28$ и $r_{VK}=0.16\pm 0.04$), из чего следует, что полученные сополимеры обогащены звеньями VT [30, 31].

Производились работы по детальному изучению кинетики радикальной сополимеризации VT и VP в различных средах [17, 32–36], в том числе ДМФА. Различными методами были подсчитаны константы (табл. 1). Константы сополимеризации в большинстве своём отличаются друг от друга более чем на

порядок, что говорит о сильно различающейся активности сомономеров. Таким образом, полученные сополимеры должны быть обогащены звеньями ВТ.

Таблица 1. Константы сополимеризации ВТ с ВП ([АИБН] 0.05 ммоль/л, 60°C, ДМФА).

Метод определения констант сополимеризации	$\Gamma_{ВТ}$	$\Gamma_{ВП}$	Лит. ист.
Аналитический метод линеаризации с исп. симметричных уравнений	2.2 ± 0.2	0.045 ± 0.01	[32]
Файнемана–Росса	1.689 ± 0.263	0.189 ± 0.026	[17]
Келена–Тюдеша	2.056 ± 0.309	0.158 ± 0.023	
Двухпараметрическая нелинейная регрессия	1.717 ± 0.259	0.250 ± 0.038	
Большой избыток сомономера	10.119 ± 0.561	0.703 ± 0.013	[33]
«Подбор кривых» по терминальной модели	0.54	0.15	

(Со)полимеры N-винилпирролидона

Успехи в области синтеза N-винилпирролидона (ВП), исследование электронного состояния атомов молекулы ВП в растворителях различной природы, изучение процесса гомополимеризации, микроструктуры и молекулярно-массовых характеристик ПВП, а также сополимеризации ВП с рядом ненасыщенных соединений освещены в работах [37–39].

Реакционная способность N-винилпирролидона в радикальной полимеризации, также как у ВТ, обусловлена наличием винильной группы, которая при раскрытии способна обеспечивать рост полимерных цепей. Интерес к этому соединению обеспечивается разнообразными возможностями для практического использования гомо- и сополимеров ВП в самых разнообразных областях, включая биотехнологии, микробиологию и медицину [39–41].

Традиционными способами получения ПВП, в том числе в промышленности («BASF» Германия, «ISP» США и др.), является радикальная полимеризация ВП при УФ-инициировании или иницировании с использованием АИБН в органическом или водном растворах. Проведение реакции в растворителе

обусловлено более высокой скоростью полимеризации (приблизительно в 2–5 раз), чем при полимеризации в массе. Константа скорости гомополимеризации в присутствии АИБН также зависит от соотношения ВП и молекул растворителя, особенно воды. Так, при увеличении доли воды от 0 до 95% скорость полимеризации ВП повышается на 80% [42].

Сополимерам ВП присуще сочетание гидрофильности, способности к комплексообразованию и отсутствию токсичности [43], что открывает широкие горизонты для использования этих соединений в различных областях медицины [44–46]. Например, сополимеры ВП, содержащие аминокислотные остатки, и металлокомплексы на их основе могут оказаться весьма перспективными для модифицирования антибиотиков и противоопухолевых препаратов [47, 48].

С медицинской точки зрения особый интерес представляют биосовместимые сополимеры ВП с различными акрилатами [49, 50]. Данные сополимеры биологически инертны и нерастворимы в воде, обладая при этом как гидрофобными, так и гидрофильными свойствами. Они рассасываются при имплантации в ткани с программированной скоростью, не вызывают в местах имплантации деструктивной тканевой реакции и поэтому могут быть использованы в качестве активных шовных материалов.

Широкий спектр действий имеет соль сополимера ВП–КК с диметилбензилалкиламмонием, известная как «Катапол» – антисептик, разработанный ИВС РАН совместно с РНИИТО им Р.Р. Вредина [51]. «Катапол» применяется в медицине и ветеринарии [52], рыбоперерабатывающей и пищевой промышленности [53], в сельском хозяйстве для защиты культур от биоповреждений [54, 55]. В свою очередь сополимеры ВП–КК при включении катиона катамина АБ снижают острую токсичность антисептика в 4 раза, повышая лечебные эффекты последнего [56], а введение в полимерную цепь N-кротоноиламинофенола придают сополимерам антигенные характеристики [57, 58].

В работе [59] освещены сополимеры ВП с синтетическими полисахаридными производными МАК и КК, которые проявляют иммуномоделирующие свойства,

сильно зависящие от состава сополимера.

Сополимеры на основе ВП с ВИ и продукты их превращений представляют интерес в качестве фармакологически активных препаратов направленного действия. В работе [60] подробно описан синтез сополимеров ВП-ВИ, рассчитаны их термодинамические характеристики и показана каталитическая активность в реакциях гидролиза. Основные кинетические параметры радикальной сополимеризации ВИ с ВП были исследованы в работе [61]. Показано влияние на скорость сополимеризации таких параметров, как концентрация инициатора, температура, состав исходной мономерной смеси. Константы сополимеризации ВИ с ВП, рассчитанные по интегральному уравнению Майо и Льюиса (при степенях превращения мономеров до 10%), составляют: $r_{ВП}=2.0\pm0.15$ и $r_{ВИ}=0.36\pm0.03$.

С целью получения новых физиологически активных полимеров в работе [62] была изучена сополимеризация ВП винилазолами (ВАЗ). В качестве сомономеров в реакцию привлекали 1-винил-3-амино-1,2,4-триазол (ВАТ-3), 1-винил-3-ациламино-1,2,4-триазол (ВААТ-3), 5-ВТА и 1-винил-5-аминотетразол (ВАТ-4). ВАЗ синтезировали по методикам [63, 64]. Сополимеризацию проводили под действием АИБН в ампулах в атмосфере инертного газа при 60°C в течение 5 часов. Повышение содержания тетразольных сомономеров в исходной мономерной смеси приводит к увеличению выходов сополимеров, в то время, как повышение содержания триазольных сомономеров приводит к снижению выхода целевых продуктов. Авторы связывают такое поведение с более электродонорным характером триазольных заместителей.

Рассчитанные константы сополимеризации (табл. 2) свидетельствуют, что все исследуемые ВАЗ в сополимеризации активнее, чем ВП. Возрастание активности ВАЗ с уменьшением числа атомов азота в реакции с макрорадикалом, оканчивающимся звеном ВП (величина $1/r_1$), связано, вероятно, с комплексообразованием между карбонильной группой ВП и пиридиновыми атомами азота ВАЗ [62]. Сополимеры ВП с триазольными сомономерами растворимы в воде, в отличие от сополимеров с тетразольными сомономерами.

Таблица 2. Константы сополимеризации ВП (M_1) с ВАЗ (M_2) ([ДМФА] 200 вес.%, [АИБН] 0.2 вес.%, время 5 ч).

№	M_2	r_1	r_2	$1/r_1$
1	ВАТ-3	0.19 ± 0.03	0.94 ± 0.07	5.3
2	ВААТ-3	0.2 ± 0.1	5.4 ± 0.5	5.0
3	5-ВТА	0.37 ± 0.07	0.44 ± 0.03	2.7
4	ВАТ-4	0.51 ± 0.05	0.69 ± 0.07	2.0

В работе [65] была показана физиологическая активность сополимеров ВП с ВАТ-3 и ВТА различного состава. Проведены их исследования на иммуностропную и гемостазиологическую активности, изучены токсичность, биосовместимость, мутагенность и антиоксидантные свойства.

Сополимеры ВП с содержанием звеньев 5-ВТА от 26 до 55 мол.% проявляют антитромбиновую активность, при этом наивысшую эффективность показал сополимер с большим содержанием тетразольных фрагментов. Показано, что сополимеры оказывают антигоагулянтное действие, выражающееся в увеличении времени рекальцификации плазмы, удлинении тромбинового и тромбопластинового времени. Стоит отметить, что соответствующие гомополимеры не обладают такой активностью.

Было обнаружено, что сополимер ВП с содержанием 80 мол.% ВАТ-3 начинает проявлять антиоксидантные свойства, уменьшая перекисное окисление липидов по методу [66] уже при концентрации 0.02 мг/мл, полное ингибирование процесса наблюдается при 0.2 мг/мл. При этом при данных концентрациях у сополимеров с содержанием сомомера ВП до 31 мол.% данный эффект не проявляется. Проявление антиоксидантных свойств авторы связывают с наличием триазольных звеньев. Для сополимера с содержанием 20 мол.% ВАТ-3 было показано, что он обладает хорошей биосовместимостью с соединительной тканью [67].

Изучение физиологической активности сополимеров винилазолов показало, что введение в полимерную цепь три- и тетразольных звеньев способствует проявлению у них антиоксидантных, антикоагулянтных и иммунодепрессорных свойств, что перспективно для создания препаратов для коррекции формулы крови

[65].

Известен ряд работ по синтезу сополимеров ВП с 2-метил-5-винилтетразолом (2М5ВТ) и 2М5ВП и изучению их биологического действия. Получали указанные сополимеры в условиях радикальной сополимеризации под действием АИБН в индифферентном растворителе – ДМФА – при температуре 60–70°C. Соплимеры с содержанием тетразольных звеньев до 70±5 мол.% растворимы в воде [68]. Константы сополимеризации, рассчитанные по методу Келена–Тьюдоша [69], при высоких степенях превращения для системы ВП–2М5ВТ составляют соответственно $r_{ВП}=0.06$ и $r_{2М5ВТ}=14.34$, что указывает на обогащение сополимеров более активным 2-метил-5-винилтетразолом.

Результаты многочисленных исследований показали, что оба сополимера не токсичны и обладают выраженной физиологической активностью: сополимеры эффективны в качестве активаторов фагоцитоза [70], агентов, повышающих терапевтическую эффективность интерлейкина-1 при лечении онкологических заболеваний, особенно с применением лучевой терапии [67, 71], адъювантов при изготовлении вакцины против гриппа [72], а также средств, потенцирующих анальгетический эффект морфина гидрохлорида [73]. Кроме того, сополимеры с 2М5ВТ обладают свойствами радиопротекторов [68], а с 2М5ВП – иммуностимулирующим действием против различных инфекционных заболеваний бактериальной природы, в частности, вещества перспективны в качестве пролонгирующих средств для лечения сибирской язвы [74] и агентов против роста опухолей [75], включая раковые опухоли различных органов [76]. Помимо прочего сополимер ВП–2М5ВП также используется в качестве полимерного носителя антигенов вируса для получения вакцины против гриппа [77].

Известны сополимеры ВП с 5-изопропенилтетразолом, растворимые в воде и диполярных растворителях и обладающие свойствами иммуноадъюванта поверхностного антигена вирусного гепатита В [78]. Соплимеры получали в условиях радикального инициирования (АИБН 2 вес.%) в среде этанола при 60°C [79]. Авторы утверждают, что эти сополимеры также обладают значительной иммуностимулирующей и иммуноадъювантной активностями, причем понижение

содержания тетразольных звеньев приводит к снижению данных параметров. При этом соответствующие гомополимеры не обладают подобной активностью. Следует отметить, что данные сополимеры практически нетоксичны и значительно снижают антикоагулятивные свойства [80]

Согласно литературным данным, гомо- и сополимеры ВП широко используются в медицинской практике, на их основе разработаны и успешно применяются самые разнообразные препараты медицинского назначения. Перспективность работ с сополимерами ВП заключается прежде всего в их функционализации, что открывает новые области медицинского применения.

1.2. Нанокompозиты с наночастицами различных металлов

Нанокompозиты (НК) – это объекты, где наночастицы упакованы вместе в макроскопический образец, в котором межчастичные взаимодействия становятся сильными и маскируют свойства изолированных частиц [81, 82]. Для каждого вида взаимодействий необходимо знать, как изменяются свойства материала в зависимости от размеров объекта.

Образование наночастиц (НЧ) из атомов сопровождается двумя процессами: формированием металлических ядер разного размера и взаимодействием между частицами, которое способствует созданию из них ансамблей, представляющих наноструктуры.

Для НЧ металлов принято различать два типа размерных эффектов [83]: внутренний – обусловлен специфическими изменениями в поверхностных, объемных и химических свойствах частицы, а внешний – является размерно-зависимым ответом на внешнее действие сил, которое не связано с внутренним эффектом.

Теоретические и экспериментальные исследования термодинамики малых частиц позволяют утверждать, что размер частицы представляется активной переменной, определяющей вместе с другими термодинамическими переменными, состояние системы и ее реакционную способность. На активность частиц влияют и межатомные расстояния. Теоретические оценки на примере частиц золота

показывают, что среднее межатомное расстояние увеличивается с нуклеарностью частицы.

Среди множества методов получения НЧ в полимерах наиболее распространенными являются химические, основанные на реакции восстановления металлов. Восстанавливающими агентами могут служить органические (гидрохинон, спирты, альдегиды и др.) и неорганические (боргидрид натрия, водород, гидразин и его производные и др.) соединения различной силы [84, 85]. Выбор того или иного восстановителя зачастую определяется природой восстанавливаемого металла и растворителя.

1.2.1. Серебросодержащие нанокомпозиты

Серебросодержащие НЧ представляют особый интерес с точки зрения оптических и биологических свойств, позволяющих применять их для разработки антимикробных препаратов, биосенсорных материалов, композитных волокон, криогенных сверхпроводников, косметических средств и электронных компонентов [86–88]. За десятилетия исследований разработано множество методик синтеза НЧ серебра, включая и те, что предполагают стабилизацию частиц в полимерной матрице [89, 90].

Серебросодержащие нанокомпозиты на основе (со)поли1-винил-1,2,4-триазола

В работе [91] методом химического восстановления ионной формы серебра в присутствии ПВТ (ММ=26 кДа) получены металлполимерные НК с узкодисперсным равномерным распределением металлических НЧ в полимерной матрице. Синтез НК проводили путем восстановления ионов серебра в водной среде с использованием боргидрида натрия в качестве восстановителя. В работе авторами было показано, что растворимость полимерных НК зависит от содержания в них металла: НК с содержанием металла до 10% хорошо растворимы в воде, при увеличении содержания серебра НК сначала частично, а затем и полностью теряют растворимость во всех доступных растворителях.

В работе [92] авторами установлено, что природа восстановителя в значительной мере влияет на дисперсность образующихся НЧ. Это связано с различием скоростей процессов образования и роста наночастиц. Чем более активный восстановитель будет использован, тем более узкодисперсные наночастицы будут получены. Так, в работе [93] в качестве восстановителей ионов серебра использовались глюкоза и ДМСО. Размер наночастиц серебра в полученных НК составили 2–26 нм и 2–8 нм, соответственно. В случае восстановления формальдегидом размеры составляют 2–14 нм.

Установлено, что водорастворимые композиты с НЧ серебра в матрице ПВТ проявляют антимикробную активность в отношении грамотрицательных и грамположительных музейных и госпитальных штаммов [94–96]. НК не токсичен и практически не вызывает изменений в структуре нервной ткани. В наибольшей степени серебро накапливается в печени и почках [97, 98].

Помимо этого, НК активирует гранулацитарный и моноцитарный ростки костного гемопоэза [99, 100], и, как следствие, несмотря на отсутствие выраженного противовоспалительного действия, может накапливаться в лакунах опухолей и препятствовать благоприятной жизнедеятельности опухолевых клеток [101]. Также НК-Ag на основе ПВТ обладает иммуномодулирующей активностью, оказывает стимулирующий эффект на бактерицидные системы фагоцитов, способствует снижению уровня токсических активных форм кислорода, проявляет протективный эффект в отношении чумного микроба [102, 103]. Предоставленные выше данные свидетельствуют о перспективности применения данного нанокompозита в качестве иммуностимулирующих средств, в частности, для повышения естественной резистентности организма к возбудителям инфекционных болезней.

Существенную роль при формировании металлополимерных нанокompозитов играет природа полимерной матрицы – наличие и соотношение функциональных групп в сополимерах позволяют направлено регулировать размеры, дисперсность и распределение металлических наночастиц [24, 104–111]. Как правило, увеличение содержания звеньев с кислотными или солевыми фрагментами в

составе сополимера способствует формированию наночастиц металла с меньшими размерами и более узкого диапазона [109, 110]. Связано данное явление с ионизованным состоянием упомянутых групп в водной среде: на полимерных цепях возникает отрицательный заряд с последующей иммобилизацией на положительно заряженные поверхности металлических наночастиц. Такое взаимодействие способствует ограничению роста НЧ и образованию защитных полимерных слоев, препятствуя процессам коагуляции на стадиях восстановления и формированию наночастиц металла с меньшими размерами.

Увеличение температуры, при которой происходит восстановление, и продолжительности процесса способствует увеличению как скорости образования кристаллической фазы, так и степени кристалличности и, соответственно, размеров НЧ серебра [106].

В некоторых случаях функциональные группы сомономера, например, КА, сами способны выступать в качестве восстановителя [108]. В данном случае ионное серебро восстанавливается за счет окисления альдегидных групп до карбоксильных. Тем не менее, ввиду более слабого восстановительного потенциала альдегидных групп по сравнению с такими восстановителями как боргидрид натрия, рост наночастиц может происходить как за счет агрегации зародышей наночастиц, так и за счет восстановления ионов серебра уже на их поверхности. Как следствие, формируются наночастицы в относительно широком диапазоне размеров.

Чаще всего сополимеры ВТ в отличие от их НК-Ag не обладают антимикробной активностью в диапазоне концентраций до 500 мкг/мл [111– 113]. При этом, не только наличие, но и размеры серебряных частиц могут повлиять на антимикробные свойства НК. На примере НК-Ag в матрице ВТ-ВА [113, 114] авторы показали, что при схожем содержании серебра в НК меньший размер частиц приводит к увеличению антимикробной активности, особенно в отношении грамположительных микроорганизмов (к примеру, при содержании в НК 94 и 35% частиц размером 3–8 нм МИК для *Enterococcus durans* составляет 6.2 и 500 мкг/мл, соответственно).

Серебросодержащие нанокompозиты на основе (co)полиN-винилпирролидона

В течение последних десятилетий разработано множество методов получения НЧ серебра в матрице (co)полимеров ВП: УФ [115], микроволновое [116, 117] и лазерное [118, 119] облучение, электролиз [120], химическое восстановление под давлением CO_2 [121] и др. Выбор метода и условия восстановления металла, как внешние (продолжительность и частота облучения, температура [122, 123] и т.д.), так и внутренние (природа восстановителя [124–126] и прекурсора металла [127], pH и т.п.), сильно влияют не только на размерные характеристики, но и на форму получаемых НЧ. Контроль параметров частиц позволит получать целевые материалы различных применений [128]. Для лекарственного использования больше всего подходят НЧ сферической формы, т.к. они обеспечивают более эффективное проникновение через ткани органов [129]. Метод химического восстановления для данных целей является наиболее эффективным и менее затратным.

Изучение оптимальных условий для синтеза серебросодержащих гидрозолей в матрице ПВП позволило получить полимерные пленки, пригодные для оптических исследований и применений [130].

В работах [131–135] показано, что НЧ Ag, стабилизированные ПВП, демонстрируют широкий спектр антимикробного действия в отношении большого числа бактерий. В России такие НК-Ag выпускаются под названием «Повиаргол», который широко используется в медицинской практике в виде 1–5%-ных водных растворов. Установлено, что 5% раствор препарата имеет более выраженную антимикробную активность, однако замедляет репаративные процессы в ране, в то время как 3% раствор обладает щадящим действием на грануляционные ткани и стимулирует их репарацию [136].

Применение 1%-ного раствора повиаргола при одновременном воздействии с озоном перспективно для лечения гнойных и хорошо дренируемых ран [137]. Данный метод повышает чувствительность микроорганизмов к антибиотикам, тем самым позволяя сократить их частое потребление и снизить опасность побочного

действия.

Наиболее глубокое микробиологическое изучение повиаргола представлено в работе [138]. Исследования включают сравнение препарата с другими наиболее эффективными современными антисептиками. Бактерицидное действие повиаргола, изученное на 202 штаммах бактерий, составило 100% при концентрациях 200 мкг/мл и 100 мкг/мл для грамотрицательных и грамположительных бактерий соответственно, а для остальных антисептиков – всего 5–65% и 13.4–70% при одинаковых концентрациях.

При изучении влияющих на антимикробную активность повиаргола факторов было обнаружено, что наличие в питательной среде хлорид- и сульфид-анионов сильно снижает действие повиаргола (более чем в 100 раз), а сульфаты и карбонаты усиливают активность в 10–100 раз [139].

3% и 5% растворы повиаргола были изучены при лечении больных с инфицированными ожогами I–III степени [140, 141]. При наложении повязок с препаратом наблюдалось снижение обсемененности ожоговой поверхности различными бакткриями-возбудителями, а при смене повязок происходило безболезненное отхождение некротических тканей. Сроки лечения больных сократились в среднем на 10% по сравнению с традиционными методами лечения.

Повиаргол изучали на применение в травматологии и хирургии [142–148]. При обработке различными растворами НК гнойных очагов, возникающих при трепанации или срастании костей, выявлено, что происходит очищение ран, исчезают боли и отеки тканей. Случаев раздражения на тканях и аллергизирующего действия на организм при использовании препарата не отмечалось.

1% раствор повиаргола испытывали на группе больных с кератитами и кератоконъюнктивитами [149]. В 89% случаев через 2–3 суток с начала применения препарата у испытуемых отмечено уменьшение болей и жжения, инфильтратов и отделяемого из конъюнктивальной полости. Аллергических и токсических реакций на роговице не зарегистрировано.

0.5–2% водные растворы повиаргола обеспечивают эффективное лечение лор-органов за счет использования малых размеров частиц серебра с большой

суммарной поверхностью для максимального контакта с патогенной флорой и высокой скорости поступления НЧ в патологический очаг, не вызывая аллергические реакции [150].

В работе [151] показана возможность формирования пленочных композиций на основе метилцеллюлозы и НЧ серебра, стабилизированных ПВП, которая открывает возможности использования повияргола и в виде перевязочного материала. При этом отмечено, что при увеличении его содержания модули упругости и прочности снижаются. Это обусловлено наличием большого количества аморфного ПВП и его относительно небольшой молекулярной массы, а НЧ серебра не способны выступать в качестве армирующего компонента.

Нанесение композиции повияргола и высокомолекулярного медицинского ПВП на сетку из полиэфирных или полиамидных нитей с последующей сушкой позволяет изготовить сетчатые протезы для абдоминальной хирургии, предназначенные для пластики грыжевых дефектов брюшной стенки [152].

Описаны способы получения полимерных НК-Ag, которые могут быть использованы при изготовлении противобактериальных и стерилизующих средств [153]. Коллоидный раствор НЧ серебра получают растворением соли серебра (нитрат, перхлорат, сульфат или ацетат) и водорастворимого полимера, в том числе (со)полимера ВП с АК, винилуксусной кислотой, стиролом или виниловым спиртом. Затем реакционную емкость с полученной смесью продувают азотом или аргоном и облучают радиоактивным излучением с последующим разбавлением раствора и обработкой его ультразвуком. Свежеприготовленный раствор НК-Ag содержит НЧ размером не более 8 нм и равномерным распределением их в полимерной матрице.

Водорастворимые нетоксичные ($LD_{50}=3000$ мг/кг) НЧ серебра в матрице сополимера ВП с N,N-диаллил-N'-ацетилгидразином, восстановленные боргидридом и имеющие средний диаметр 45–47 нм, проявляют высокую цитотоксическую активность к клеткам меланомы и рабдомиосаркомы (злокачественные опухоли), что перспективно для разработки противоопухолевых препаратов [154].

1.2.2. Золотосодержащие нанокомпозиты

НЧ золота представляют интерес благодаря своим уникальным оптическим, электронным, каталитическим [155] и биологическим [156, 157] свойствам, применимым в различных областях науки и медицины [158], в том числе при разработке новых биосенсоров и биофотоников [159, 160], а также антибактериальных [161] и противоопухолевых препаратов [162].

Золотосодержащие нанокомпозиты на основе (со)поли1-винил-1,2,4-триазола

Исследовано два метода получения НЧ золота, стабилизированных ПВТ: радиационно-химический и химический.

Двустадийный процесс радиационно-химического способа предполагает первоначально образование двойного ионного комплекса ПВТ ($M_w=80$ кДа) и HAuCl_4 с последующим восстановлением ионов золота рентгеновским излучением при 293 К в 10%-ом спиртовом растворе [163]. Такой способ позволяет синтезировать НК с высокостабильными в растворе частицами кристаллической структуры от 1 до 5 нм. Обнаружено, что при добавлении в реакционную смесь во время образования комплекса ПВТ– Au^{3+} полиакриловой кислоты (ПАК) приводит к образованию НЧ, размеры которых в 2 раза меньше, чем при получении в двойных комплексах, хотя ПАК сама по себе не является подходящей защитной средой для Au НЧ, обладающих полианионным характером.

Одностадийный радиационно-химический способ заключается в одновременном проведении полимеризации ВТ и восстановления ионов золота до НЧ [164]. Показано, что pH среды имеет весомое влияние на размеры формирующихся частиц. При изменении pH от 3.6 до 6.0 размеры варьируются от 1–4 ($D_{cp}=2$ нм) до 2–12 ($D_{cp}=7$ нм) нм, соответственно.

В работах [91, 165] металлополимерные НК в присутствии ПВТ получены методами химического восстановления ионной формы золота из HAuCl_4 в водной среде с использованием боргидрида натрия в качестве восстановителя. НЧ золота равномерно распределены в полимерной матрице, достигая диаметра 1–10 нм.

Также установлено, что НЧ золота в композитах возможно преобразовывать под действием лазерного излучения [166]. Эксперимент показал, что в процессе облучения наблюдается смещение на 20–30 нм полосы плазмонного поглощения в коротковолновую область и уменьшение оптической плотности, свидетельствующие об образовании более мелких частиц ввиду дефрагментации более крупных.

Золотосодержащие нанокомпозиты на основе (со)поли-N-винилпирролидона

Разработано много различных методов получения золотых НЧ с контролируемыми формами и размерами на основе ПВП [167–171]. Они включают различные способы химического восстановления ионов золота [172–183], в том числе методы внедрения уже готовых НЧ в раствор ПВП [184].

Бехерой и др. проведена серия работ [172–177] по изучению взаимодействия НЧ золота с ПВП в неводных средах, где ПВП используется как в качестве стабилизирующей матрицы, так и компонента восстановительной системы для ионов золота. Представлен вероятный механизм стабилизации НК золота в присутствии полимера в среде ДМФА, в котором предполагается образование сшивающей структуры между ПВП, ДМФА и Au НЧ [172]. Образование структуры ядро-оболочка в наножидкости, возможно, является основной причиной демонстрации такой превосходной коллоидной стабильности НК в ДМФА. В работах [173–177] НК синтезированы путем добавления по каплям 0.05 М раствора нитрата золота (III) ($\text{Au}(\text{OH})_3$ растворяли в разб. HNO_3) в раствор ПВП (40 г/л в 1-бутаноле). После непрерывного перемешивания в течение 20 мин при 50°C был получен фиолетовый коллоид с частицами восстановленного золота (полоса плазменного поглощения при 523 нм). На основании результатов различных спектральных методов исследования доказано взаимодействие донорно-акцепторного типа между электронодефицитным Au НЧ и электронными донорами молекул ПВП путём хемосорбции полимера на поверхности наночастиц.

Авторами работы [178] изучен механизм реакции восстановления ионов золота через формирование полимерного комплекса молекулами ПВП,

выступающего самостоятельным восстановителем, в горячей воде (55-60°C). Представленный метод синтеза можно считать наиболее чистым, поскольку побочные хлорсодержащие продукты испаряются во время реакции. Но, ввиду его продолжительности среди прочих химических способов (20–25 мин), в ходе реакции образуются частицы различных форм (3-, 6- и 8-угольных) и широкого диапазона размеров (10-45 нм).

Авторы работы [179] добились контроля над ростом частиц путем расширения метода Туркевича: синтез НЧ золота проводился при комнатной температуре с применением микро-молярных количеств ПВП, в качестве восстановителя использовался цитрат натрия. Получающиеся сверхмалые НЧ имеют узкое распределение в объеме полимерной матрицы и демонстрируют очень высокую стабильность, что позволяет интегрировать нанокопозиты с усовершенствованным окислительным процессом (фото-фентоноподобный процесс, обычно используемым для очистки сточных вод) и, таким образом, модифицировать их в высокочувствительную фотореактивную нанометрическую систему [180]. Подобные системы могут найти применение в асинхронном зондировании.

Авторы работы [181] доказали, что среда, в которой протекают процессы восстановления, также является немаловажным фактором в вопросах формирования наноструктур. Меняя реакционную среду, авторам удалось достичь контроля над размерами, формой (гексагональная, треугольная, десятигранная, звездчатая) и стабильностью анизотропных наноструктур золота. В реакцию вовлекались различные классы растворителей (вода, спирт, ДМФА и др.)

Исследования нанокатализаторов золота на основе ПВП и его производных, синтезированных восстановлением ионов золота из HAuCl_4 боргидридом натрия, представлены в работе [182]. Выявлено, что наличие метильной или этильной группы у карбонил–метиленового фрагмента лактамного цикла незначительно увеличивает размеры НЧ с 2–8 до 2–9 и 2–15 нм, соответственно, но сильно при этом повышает их каталитическую эффективность ввиду большей термочувствительности.

Также описан метод получения золотых НЧ, стабилизированных ПВП,

указанным выше способом при УФ-облучении [183]. Установлено, что увеличение как длины волны, так и продолжительности облучения приводит к увеличению размеров НЧ (максимальные размеры – около 80 нм).

НК-Au в матрице ПВП с частицами сферической формы и средним диаметром 8 нм показали мощную антибактериальную активность против клинических патогенов, а также сильную цитотоксичность против клеток рака печени [185], что доказывает потенциальную ценность данного композита для разработки противоопулевых препаратов.

В работе [186] рассмотрена методика синтеза и нанесения наночастиц золота, стабилизированных ПВП, на поверхность оксида алюминия с целью получения гетерогенных нанокатализаторов золота для разложения пероксида водорода. НК получали в одну стадию нагреванием смеси водных растворов HAuCl_4 , KOH и ПВП на водяной бане при 100°C с обратным холодильником в течение нескольких минут до образования интенсивной окраски раствора. Полученный продукт наносили на оксид алюминия методом пропитки. Для этого 0.5 г оксида алюминия добавили в 5 мл водного раствора нанокompозита золота и перемешивали в течение 5 часов. После этого смесь центрифугировали на препаративной центрифуге (10×10^3 об/мин), затем осадок промывали дистиллированной водой 5 раз. Отделенный центрифугированием осадок сушили в сушильном шкафу при 50°C .

Результаты экспериментов по разложению пероксида водорода демонстрируют сравнительно высокую каталитическую активность полученного нанокатализатора золота. Скорость разложения H_2O_2 в присутствии НК-Au существенно выше, чем при использовании Al_2O_3 или его полимерно-стабилизированной ПВП формы.

1.2.3. Железосодержащие нанокompозиты

Железосодержащие НК являются наиболее подходящими магнитными материалами для исследований в различных отраслях науки и техники [187, 188]. Пленки из железосодержащих ионных комплексов можно использовать в качестве эффективного материала при разработке сорбентов тяжелых металлов из сточных

вод [189]. Тройные комплексы Fe^{3+} –галловая кислота–ПВП демонстрируют выдающиеся характеристики для фотоакустической визуализации и магнитно-резонансной томографии опухолей, при этом легко и быстро разлагаются *in vivo*, а продукты разложения выводятся организмом естественным образом, что подчеркивает их потенциал в клиническом применении [190].

Помимо прочего НЧ нуль-валентного железа способны эффективно воздействовать на биологическую денитрификацию параокка в питьевой воде при различных температурах и pH [191, 192].

Исследования НК-Fe особенно перспективны для разработки контрастных веществ для магнитно-резонансной томографии [193, 194], а также для целевой доставки контрастных веществ и препаратов при диагностике и лечении злокачественных новообразований [195].

Железосодержащие нанокомпозиты на основе (co)поли1-винил-1,2,4-триазола

В работе [196] НК-Fe в матрице ПВТ синтезирован химическим восстановлением ионов железа из сульфата железа(II) избытком NaBH_4 в водной среде, при комнатной температуре. Полученные НЧ оксидов железа преимущественно имеют сферическую форму и размер 3–9 нм. НЧ представляют собой смесь оксидов Fe_2O_3 и Fe_3O_4 в различных соотношениях.

В литературе также имеются работы, в которых НК-Fe получают путем ввода уже готовых НЧ Fe_3O_4 в матрицу ПВТ [197] или в реакционную смесь этиленгликоль диметакрилат/ВТ перед началом полимеризации [198]. В первом случае СЭМ показывает крупные агломераты более 5 микрон неопределенной формы, однако на их поверхности можно наблюдать отдельные НЧ с диаметром в диапазоне 15–20 нм. Во втором случае образуются сферические металлполимерные частицы со средним размером около 130 нм с шероховатой поверхностью.

Железосодержащие нанокомпозиты на основе (co)полиN-винилпирролидона

В работах [199–201] представлены синтез и оценка эффективности в качестве

контрастного вещества для магнитно-резонансной томографии НЧ железа с ПВП-покрытием. НК получали методом термического разложения пентакарбонила железа при 160°C в присутствии ПВП. Размеры оксидированных частиц сферической формы составили: 8–10 нм ядро и 20–30 нм в общем [199]. Тест на цитотоксичность *in vitro* показал, что соединение проявляет высокую биосовместимость. Эффективность для использования в магнитно-резонансной томографии наблюдали при введении ПВП-покрытых НЧ через краевую вену кролика, что приводило к улучшению выявления поражения печени [200]. Такие НЧ способны эффективно маркировать β -клетки, не влияя на жизнеспособность организма, что позволяет повысить качество мониторинга в клиническом лечении сахарного диабета [201].

В работе [202] авторы получали пучковидные наностержни α -Fe₂O₃ в матрице ПВП и исследовали их газочувствительные свойства к ацетону и этанолу. Синтез проводили термическим разложением гексакристалла хлорида железа (III) при 120°C, с дальнейшим прокаливанием полученного осадка при 600°C. Наноструктуры состоят из хорошо выровненных монокристаллических наностержней диаметром 20–30 нм и длиной 200–300 нм и могут быть использованы в качестве датчиков для обнаружения ацетона и этанола на производствах.

Авторы работы [203] получали нанокристаллы Fe₃O₄, покрытые ПВП, одностадийным методом пиролиза триацетилацетоната железа в ВП при 200°C при различных соотношениях мономера к соли. Результаты показали, что конверсия ПВП составила 25–36%, а размер железных частиц – 4–7 нм. Полученные НК-Fe состоят из частиц сферической формы со средними размерами 6.9–10.8 нм и могут образовывать устойчивые растворы в широком ряду органических растворителей, а также в водных растворах с различным pH (включая 0.01 М фосфатно-солевой буфер).

В работах [204, 205] авторами получены НЧ оксида железа методом термического разложения ацетилацетоната железа(III) в смеси полимеров – полиэтиленгликоль (ПЭГ)/ПВП. Для этого растворяли ПВП в ПЭГ при 90°C с

последующим добавлением соли железа и термолизом при 200–300°C. Повышение температуры привело к увеличению средних размеров НЧ от 4 до 10 нм [204]. После в структуру НК вводили противораковое лекарственное средство доксорубин (ДРЦ) и исследовали свойства высвобождения последнего. Результат показывает, что ДРЦ обладает очень высокой эффективностью инкапсуляции (более 90%), скорость высвобождения ДРЦ из НК значительно повышается в кислой среде, при нейтральных значениях pH высвобождается меньшее количество ДРЦ [205].

Железосодержащие НК на основе ПВП также были получены методом γ -облучения FeCl_3 при $\text{pH}=12$ в присутствии 2-пропанола [206]. В результате образования небольшого количества $\delta\text{-FeOOH}$ (фероксигита) образуется магнитная суспензия. Образование $\delta\text{-FeOOH}$ предопределено образованием $\text{Fe}(\text{OH})_2$ при γ -облучении, который затем в атмосферных условиях быстро окисляется до $\delta\text{-FeOOH}$.

Методика химического «мокрого» синтеза железных НЧ в матрице ПВП представлена в работе [207]: в экспериментах получали НЧ нульвалентного железа из $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в бидистиллированной воде (проводимость 18 МОм•см) путем восстановления NaBH_4 при 0°C в ультразвуковых условиях. Для предотвращения окисления наночастиц $\text{Fe}(0)$ до оксидных форм растворенный кислород удаляли барботированием N_2 . Несмотря на однородность по размеру и форме полученных частиц, в полимерной матрице их распределение могло представляться как одиночным, так и скоплениями от 2 до более 20 частиц. Помимо прочего размеры НЧ сильно варьировались в зависимости от ММ полимера, концентрации реагентов и скорости добавления восстановителя и могли достигать 184 – 955 нм.

Несмотря на обширные исследования в области синтеза и применения железных НЧ, примеры получения железосодержащих НЧ в матрице (со)полимеров ВТ или ВП, в частности методом химического восстановления, в литературе малочисленны.

Таким образом, анализ приведенных в литературном обзоре сведений показал, что мономеры ВТ и ВП проявляют высокую реакционную способность в условиях радикальной гомо- и сополимеризации. Составы, выходы и характеристики сополимеров ВТ и ВП с различными винильными сомономерами в значительной степени определяются условиями проведения реакции сополимеризации, а именно составом исходной мономерной смеси, инициатором, средой реакции, временем реакции и др.

Актуальным и перспективным направлением применения синтезированных сополимеров ВТ и ВП является их использование в качестве полимерных стабилизирующих матриц наночастиц различных металлов.

Широкое практическое использование гомо- и сополимеров ВП в самых разнообразных областях науки и техники, особенно в таких современных и интенсивно развивающихся, как медицина и биотехнология, позволяет говорить о практической значимости использования синтезируемых и исследуемых в настоящей работе сополимеров ВТ–ВП.

ГЛАВА 2. СИНТЕЗ И СВОЙСТВА СОПОЛИМЕРОВ 1-ВИНИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛА С N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНОМ И НАНОКОМПОЗИТОВ НА ИХ ОСНОВЕ (ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ)

Анализ результатов, приведенных в литературном обзоре, свидетельствует о том, что проведение исследований в области полифункциональных (со)полимеров, а также полимерных нанокомпозитов на их основе является актуальным и перспективным направлением.

Ранее в Иркутском институте химии СО РАН и Иркутском государственном университете уже проводились работы по детальному изучению кинетики радикальной сополимеризации 1-винил-1,2,4-триазола и N-винилпирролидона [32–36]. Однако данные о физико-химических характеристиках и практической значимости полученных сополимеров, в том числе в качестве стабилизирующей матрицы для получения нанокомпозитов, в этих работах практически отсутствуют. Поэтому в настоящей работе обсуждаются результаты по синтезу и свойствам сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и новых полимерных нанокомпозитов с наночастицами различных металлов на их основе.

2.1. Радикальная сополимеризация 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном

При синтезе сополимеров соотношение мономеров ВТ и ВП в исходной реакционной смеси варьировали в диапазоне 10–90 мол.% (табл. 3). Реакция протекает с раскрытием винильных связей сомономеров в соответствии со схемой 1:

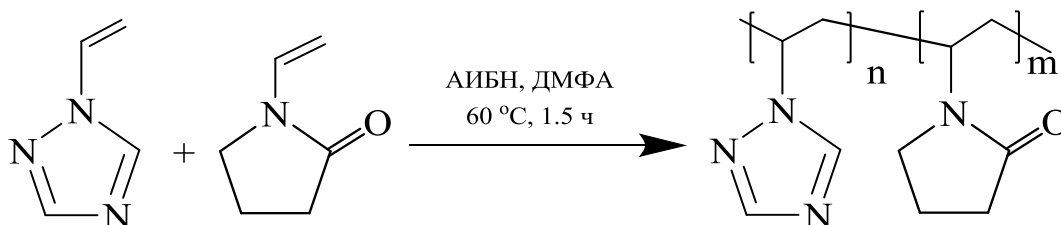


Схема 1. Радикальная сополимеризация ВТ и ВП.

Полученные сополимеры растворимы в воде и диполярных органических растворителях (ДМФА, ДМСО, ДМАА) независимо от состава сополимера, но не растворимы в ТГФ, гексане и диэтиловом эфире. При содержании ВТ менее 80

мол.% сополимеры растворимы в этиловом спирте.

Таблица 3. Условия и результаты сополимеризации ВТ с ВП ([АИБН] 0.05 ммоль/л).

№ п/п	Состав исходной смеси, мол.%		Выход сополимера, %	Состав сополимера, мол.%		M _w , кДа	M _w /M _n
	ВТ	ВП		ВТ	ВП		
1	10	90	69	26	74	51.2	1.8
2	30	70	77	49	51	57.1	1.9
3	50	50	76	60	40	94.7	1.9
4	70	30	81	87	13	107.3	2.1
5	90	10	85	95	5	130.4	2.1

Методом гелепроникающей хроматографии были определены молекулярные массы (ММ) и значения величин полидисперсности сополимеров (Рис. 1, табл. 3). Установлено, что увеличение количества ВТ в исходной реакционной смеси всегда приводит к увеличению средневесовой ММ продуктов. Выход и полидисперсность также умеренно растут.

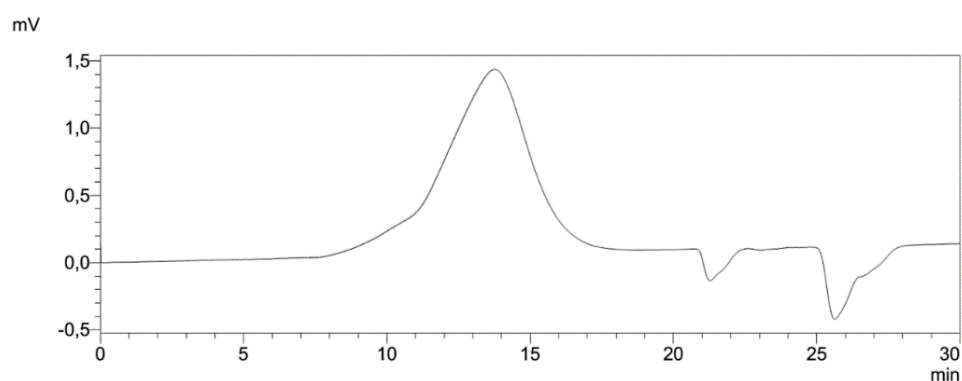


Рис. 1. Хроматограмма сополимера ВТ-ВП 2.

Состав и химическую структуру полученных сополимеров устанавливали методами элементного анализа, ИК, ¹Н и ¹³С ЯМР спектроскопии.

С целью корректного отнесения полос, были целенаправленно синтезированы гомополимеры ВТ и ВП. В ИК спектре ПВТ присутствуют полосы поглощения, характерные для валентных и деформационных колебаний триазольного цикла при 3112 (С–Н), 1506 (С=Н), 1435 (С–Н), 1277 (Н–Н), 1140 (С–Н), 1004, 660 (С–Н) см⁻¹ (Рис. 2).

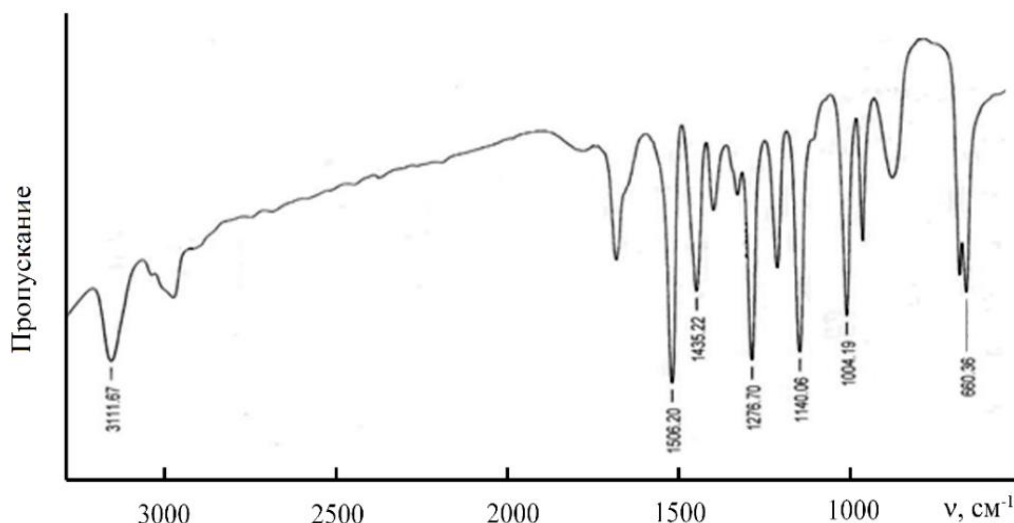


Рис. 2. Характерный ИК спектр ПВТ.

ИК спектр ПВП, представленный на Рис. 3, имеет характерные полосы поглощения валентных колебаний связей C=O и C–N лактамного цикла при 1665 и 1291 см^{-1} , соответственно.

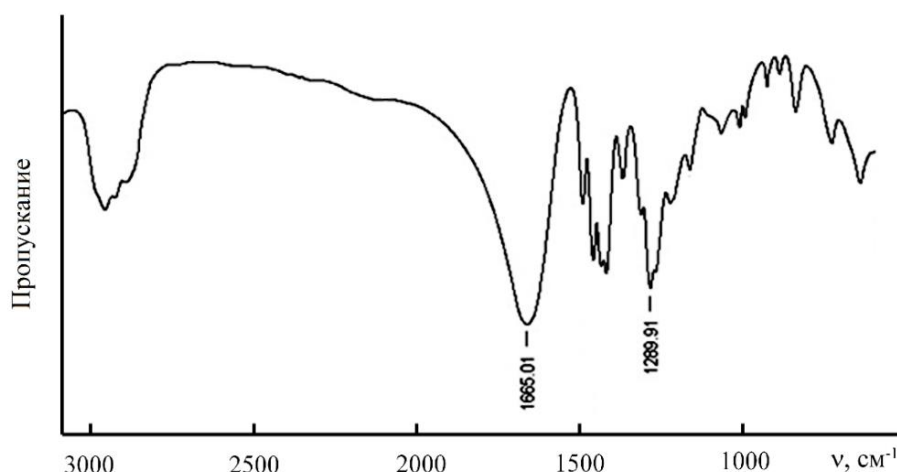


Рис. 3. Характерный ИК спектр ПВП.

По данным ИК спектроскопии в макромолекулах сополимеров ВТ–ВП содержатся звенья обоих сомономеров (Рис. 4). В спектрах сополимеров присутствуют полосы поглощения, соответствующие частотам валентных и деформационных колебаний триазольного цикла: 3112 (C–H); 1503 (C=N); 1432 (C–N); 1274 (N–N); 1137 (C–H); 1003 (C–H); 667 (C–N), а также присутствуют полосы при 1660 и 1290 см^{-1} , относящиеся к валентным колебаниям звеньев лактамного цикла (C=O и C–N), соответственно. При изменении соотношения мономеров в

исходной реакционной смеси наблюдается перераспределение интенсивностей полос поглощения. Увеличение содержания ВП в исходной смеси мономеров приводит к увеличению интенсивности полос лактамного цикла, при этом интенсивность полос триазольного кольца снижается (Рис. 4). Полоса поглощения валентных колебаний винильной группы при 1654 см^{-1} в спектрах отсутствует.

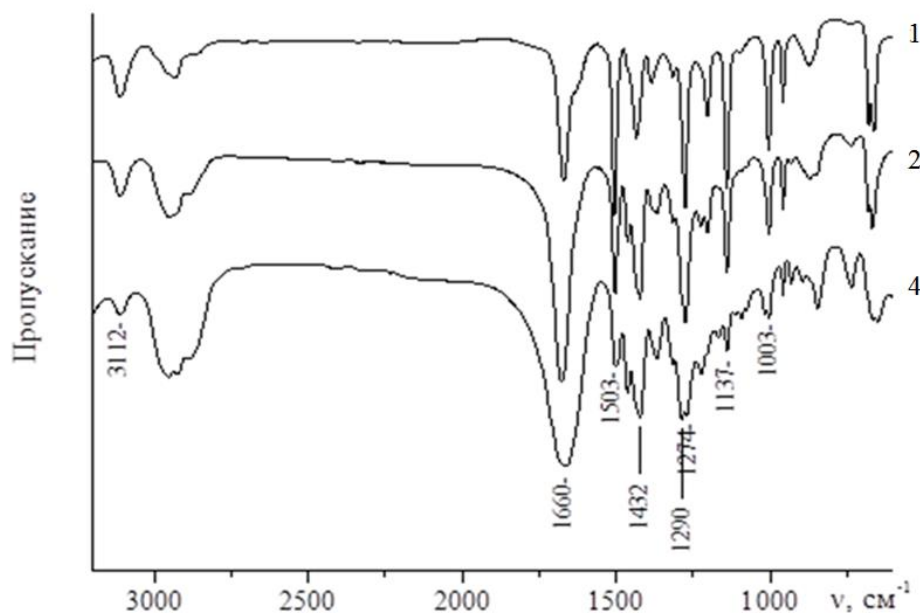


Рис. 4. ИК спектры сополимеров **1**, **2** и **4**.

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C сополимеров ВТ–ВП представлены на примере сополимера **3** (Рис. 5,6). Химические сдвиги атомов водорода и углерода были отнесены согласно литературным данным [208, 209].

В спектрах ЯМР ^1H синтезированных сополимеров ВТ–ВП отсутствуют сигналы олефиновых протонов винильных групп, характерные для сомономеров ВТ и ВП, и появляются уширенные сигналы алифатических протонов основной полимерной цепи, а также происходит уширение сигналов ЯМР ^1H , относящихся к протонам боковых звеньев сополимеров. Это свидетельствует об успешном синтезе сополимеров ВТ–ВП методом радикальной сополимеризации. В спектре ЯМР ^1H (Рис. 5) уширенные интенсивные сигналы в области 1.10–2.45 м.д. принадлежат резонансу метиленовых протонов CH_2 групп основной полимерной цепи звеньев ВТ и ВП (2,6). Широкие сигналы в области 2.55–4.25 м.д. принадлежат атомам водорода метиновых групп в α -положении к атому азота звеньев ВТ (1).

Резонансные пики атомов водорода метиновых групп в α -положении по отношению к атому азота лактамного цикла звеньев ВП (5) дают сильно уширенные сигналы в области 3.25–3.80 м.д. и перекрываются с метиновыми протонами звеньев ВТ и сигналами растворителя. Уширенные и неразрешенные сигналы протонов метиновых групп в α -положении по отношению к триазольному и лактамному циклам свидетельствуют о наличии различных типов последовательностей связывания мономерных звеньев в сополимере. Сигналы, относящиеся к резонансу α - и β -метиленовых протонов лактамного цикла (8,9), перекрываются с сигналами CH_2 протонов основной полимерной цепи звеньев ВТ и ВП. Резонансные сигналы γ -метиленовых протонов лактамного цикла перекрываются с метиновыми протонами звеньев ВТ и ВП в области 2.55–3.25 м.д. (10). Уширенные сигналы в области 7.50–8.40 м.д. принадлежат протонам триазольных колец (3,4).

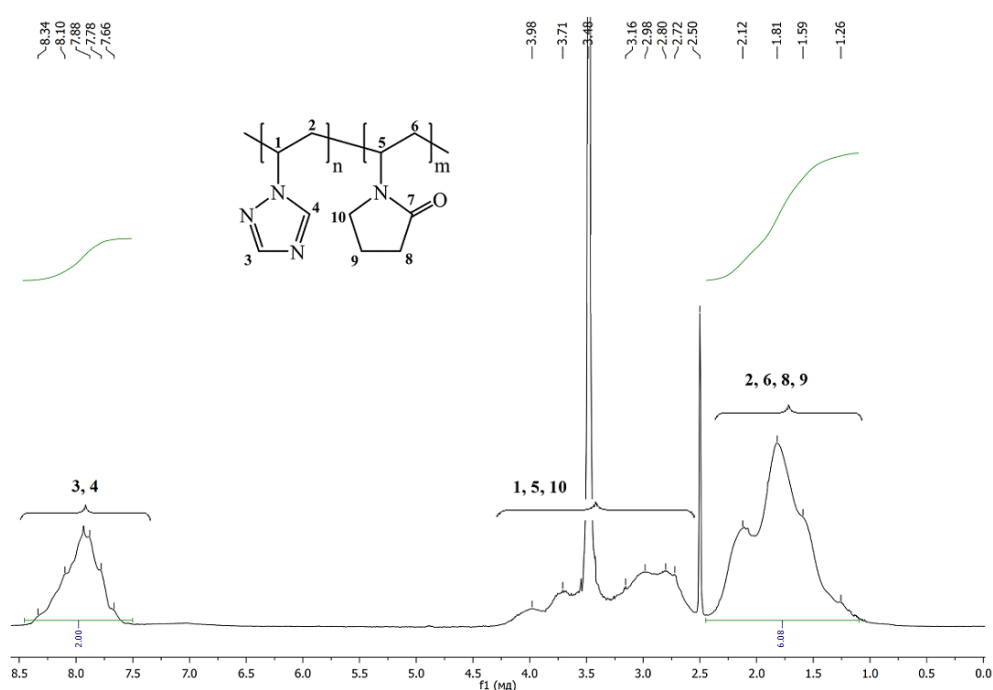


Рис. 5. Спектр ^1H ЯМР сополимера **3** в $\text{DMSO-}d_6$.

В спектрах ЯМР ^{13}C сополимеров **1–5** (Рис. 6, на примере сополимера **3**) сигналы атомов углерода винильных групп отсутствуют. В то же время наблюдаются сигналы атомов углерода метиленовых групп звеньев ВТ и ВП основной полимерной цепи в диапазоне 32.27–37.95 м.д. (2,6). Атомы углерода метиновых фрагментов в α -положении по отношению к триазольному циклу

резонируют в области 53.00–56.80 м.д. (1). Резонансные сигналы метиновых фрагментов в α -положении к атому азота звена ВП и γ -метиленовых групп лактамного цикла перекрываются и наблюдаются в области 42.50–46.00 м.д. (5,10). Уширенные резонансные сигналы при δ 151.47–151.52 м.д. (3) и δ 143.28–144.09 м.д. (4) соответствуют атомам углерода триазольного кольца. Резонансные сигналы, наблюдаемые при 17.90 м.д. (9) и 30.81 м.д. (8) принадлежат метиленовым атомам углерода лактамного цикла. Химические сдвиги в области 173.00–175.00 м.д. (7) соответствуют сигналам атома углерода карбонильной группы звеньев ВП.

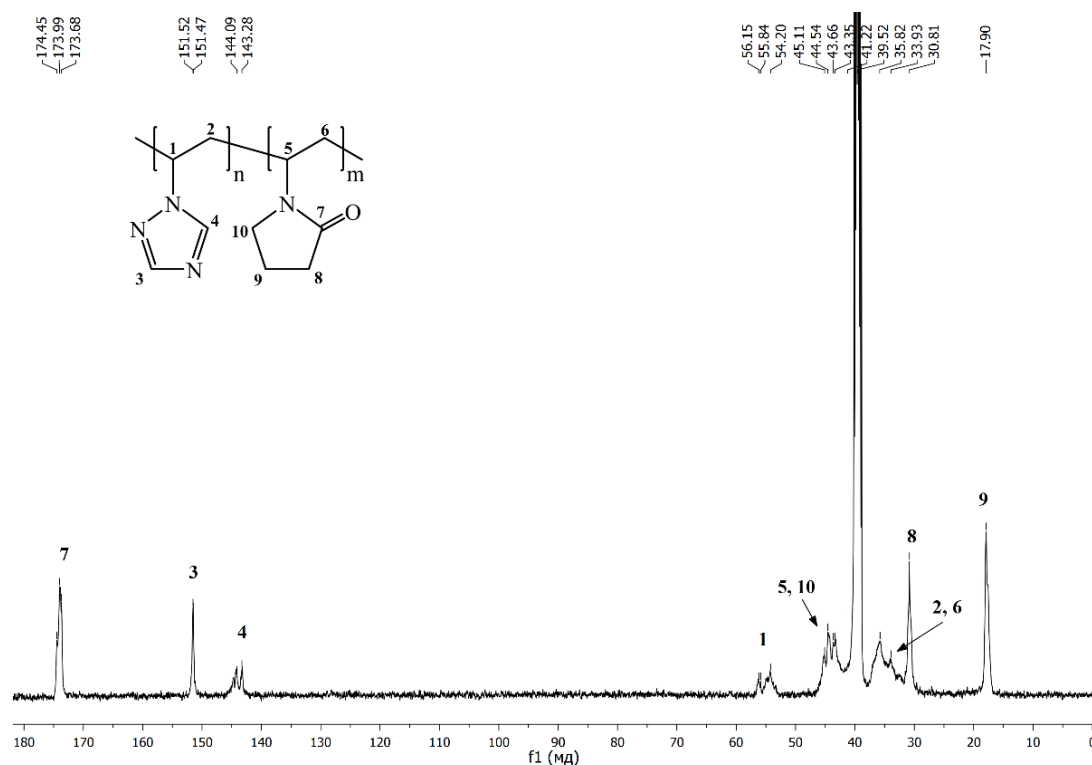


Рис. 6. Спектр ^{13}C ЯМР сополимера 3 в $\text{DMSO}-d_6$.

Для расчёта количественного состава сополимеров использовали метод ^1H ЯМР спектроскопии [210] (раздел 4.2).

Методами ТГА и ДСК исследована устойчивость к термоокислительной деструкции синтезированных сополимеров ВТ–ВП при линейном нагреве в условиях окислительной среды (Рис. 7). На термогравиметрических кривых имеется несколько характерных участков, соответствующих различным стадиям разложения образца. Прослеживаются изменения поведения термодеструкции

сополимеров в зависимости от их состава.

Установлено, что в интервале температур от 80 до 160°C происходит выделение из сополимеров физически сорбированной воды без его деструкции (потеря массы образца 4–6%).

Первая стадия термодеструкции сополимера протекает при температурах 290–340°C. Данная стадия сопровождается отрывом от цепи макромолекулы триазольных и лактамных фрагментов с последующим окислением до H_2O , CO_2 и NO_2 , что подтверждено появлением сигналов в масс-спектре с соответствующими массовыми числами (m/z 18, 44, и 46). Первая стадия заканчивается в интервале температур 420–470°C и сопровождается потерей массы на 36–61%.

Вторая стадия наблюдается в диапазоне температур от 500 до 650°C, при этом происходит полное выгорание углеродного скелета с образованием низкомолекулярных продуктов. Следует отметить, что у гомополимера ВП данная стадия полностью отсутствует.

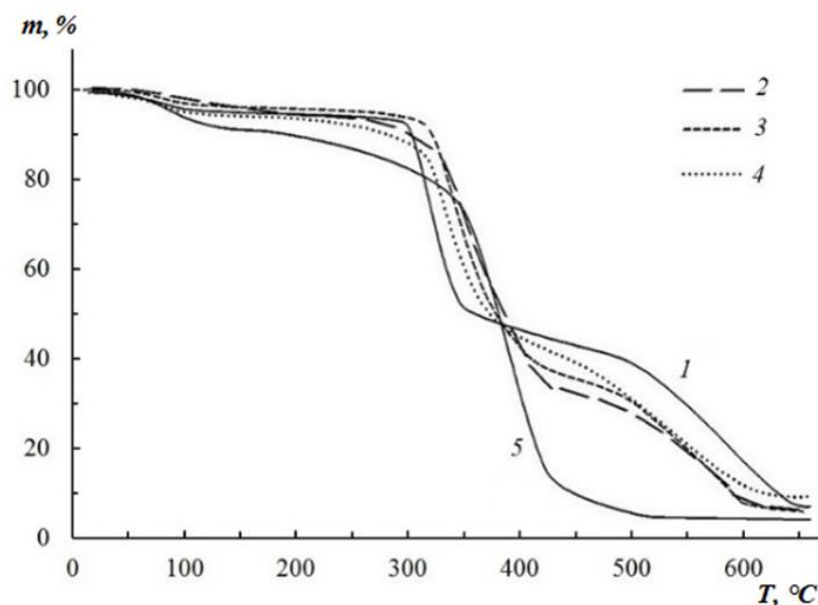


Рис. 7. Термограммы гомополимеров ВТ (1) и ВП (5) и сополимеров 1 (2), 2 (3) и 4 (4).

Синтезированные сополимеры ВП–ВТ обладают электрической проводимостью $1.8 \cdot 10^{-14}$ – $1.3 \cdot 10^{-13}$ См/см, проявляя свойства органических полупроводников. Значения электропроводности возрастают с увеличением доли ВТ в сополимере.

N-винилпирролидоном

Для получения нанокомпозитов с наночастицами серебра был выбран химический способ восстановления ионов серебра из нитрата серебра (AgNO_3) в присутствии сополимеров ВТ–ВП. В качестве восстановителя использовали боргидрид натрия. Реакцию проводили в водной среде.

Синтез полимерных НК-Ag проводили путем смешения водных растворов сополимера и нитрата серебра в различных соотношениях. Во всех случаях наблюдали образование хлопьевидного осадка, который при дальнейшем перемешивании разрушается, образуя мелкодисперсный осадок. Итоговый раствор при этом становится более вязким. Таким образом, исследуемый сополимер на первой стадии образует полимерный комплекс в виде суспензии, в котором в роли комплексообразователя выступают ионы серебра.

Далее в полученный полимерный комплекс добавляли восстановитель – боргидрид натрия и выдерживали в течение 4 ч при постоянном перемешивании. Постепенно формируется окрашенный раствор полимерного композита. Процесс сопровождается изменением цвета раствора от белого до темно-коричневого. Благодаря координационному взаимодействию ионов серебра с функциональными группами макромолекул сополимера, создается благоприятное микроокружение, которое способствует эффективной стабилизации НЧ на ранних этапах формирования (схема 2):

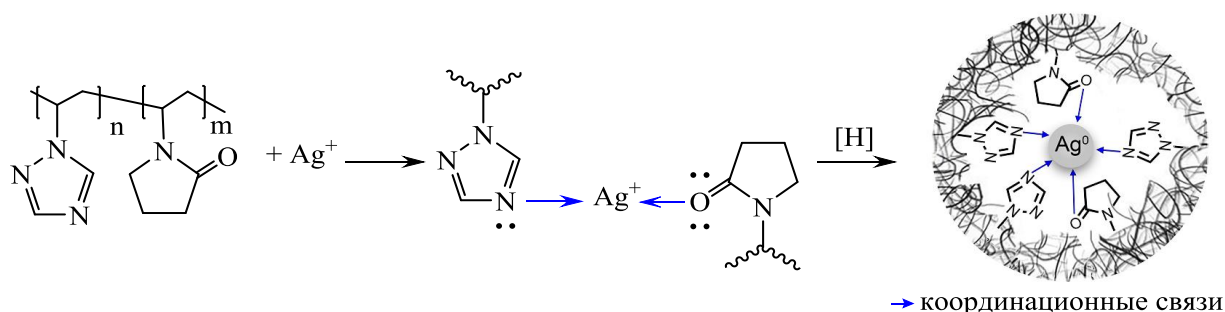


Схема 2. Формирование нанокомпозита с наночастицами серебра в полимерной матрице.

2.2.1. Влияние соотношения серебра к сополимеру на размеры наночастиц

Для определения влияния содержания металла на размеры формирующихся металлических НЧ получены серебрясодержащие НК в присутствии сополимера ВТ–ВП эквимольного состава при различных соотношениях сополимера к ионам серебра. Согласно данным элементного анализа и атомно-абсорбционной спектроскопии содержание серебра в полученных НК составляет от 1.4 до 25.4% (табл. 4).

Таблица 4. Характеристики серебрясодержащих нанокомпозитов.

№ п/п	Сополимер:Ag, моль	Ag, %	Выход, %	Раствори- мость в H ₂ O	λ , нм	d _{НЧ} , нм
6	80:1	1.4	86	+	402	1–5
7	40:1	3.9	83	+	403	1–6
8	30:1	4.8	85	+	408	1–7
9	20:1	8.0	81	+	411	1–8
10	10:1	11.6	83	–/+	423	1–12
11	5:1	25.4	87	–	–	–

ИК спектры полученных нанокомпозита подобны спектру исходного сополимера (Рис. 8). Это указывает на то, что в процессе синтеза нанокомпозита структура сополимера не претерпевает значительных структурных изменений и сохраняются оригинальные свойства полимерной матрицы. При этом наблюдается смещение полос, соответствующих колебаниям триазольных и лактамных циклов, на 6–14 см^{–1}, что указывает на координационное взаимодействие атомов N и O с наночастицами серебра.

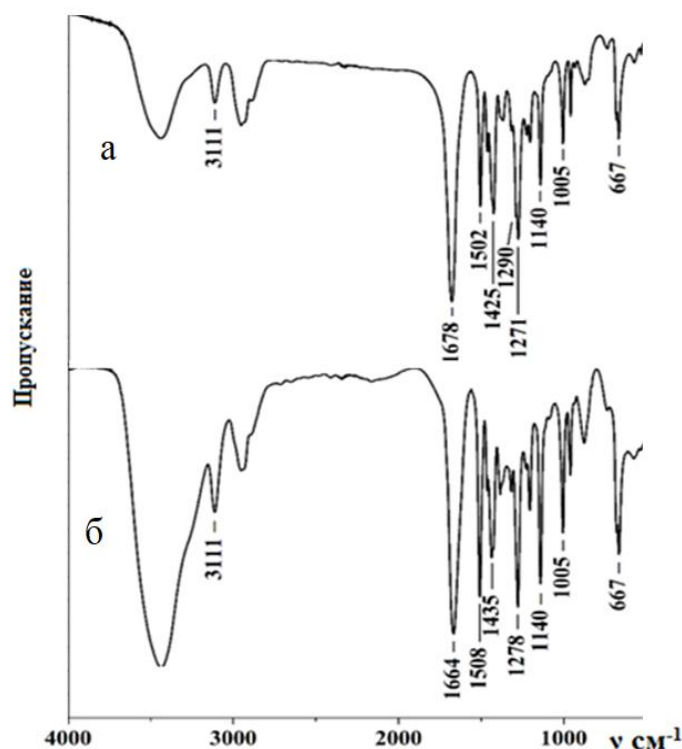


Рис. 8. ИК спектры исходного сополимера **2** (а) и НК **9** (б).

На рентгеновских дифрактограммах НК четко дифференцируются аморфное гало полимерной составляющей и интенсивные рефлексы металлических наночастиц серебра, идентифицированных путем сопоставления значений полученных межплоскостных расстояний и относительных интенсивностей с эталонными (Рис. 9). Средний размер нанокристаллитов (средняя область когерентного рассеяния), рассчитанный по уширению линий рентгеновской дифракции с использованием формулы Дебая–Шерера, для наночастиц серебра составляет 46–48 Å.

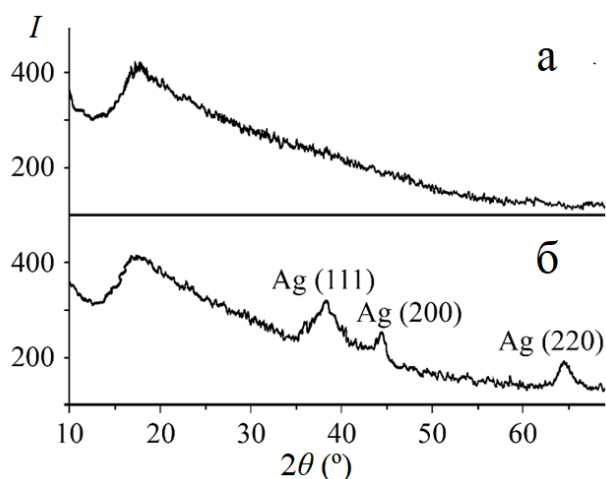


Рис. 9. Дифрактограмма сополимера **2** (а) и НК-Ag (б) **9**.

Оптические спектры поглощения водных растворов полученных нанокомпозитов характеризуется наличием ППП (полоса плазмонного поглощения) с максимумами в диапазоне 402-423 нм, что указывает на формирование металлического серебра в наноразмерном состоянии (Рис. 10).

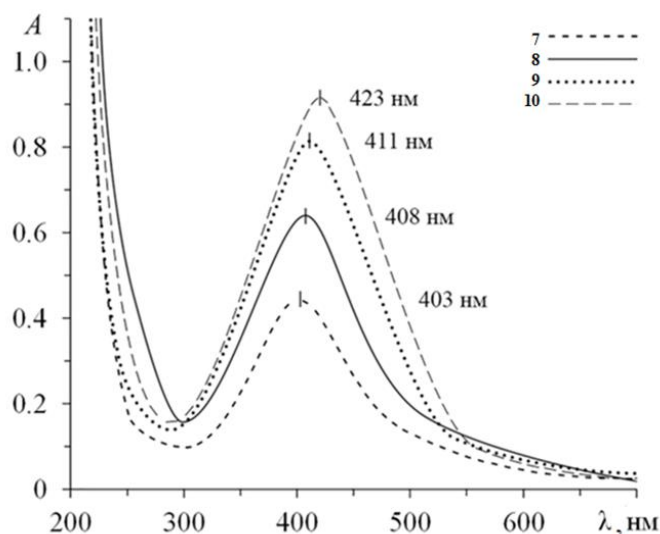


Рис. 10. УФ спектры поглощения водных растворов полимерных НК-Ag 7–10.

Водные растворы полученных нанокомпозитов центрифугировали (10000 об/мин, 15 мин). На дне пробирки формируется небольшое количество объемного осадка, который полностью растворяется при встряхивании. ППП металлических наночастиц серебра до и после центрифугирования, идентичны, что указывает на высокую стабилизирующую способность полимерной матрицы.

Результаты мониторинга процесса формирования наночастиц серебра в ультрафиолетовой и видимой области спектра представлены на Рис. 11. Процессы восстановления и формирования нанокомпозита фиксировали по изменению ППР до постоянного значения оптической плотности в области максимума.

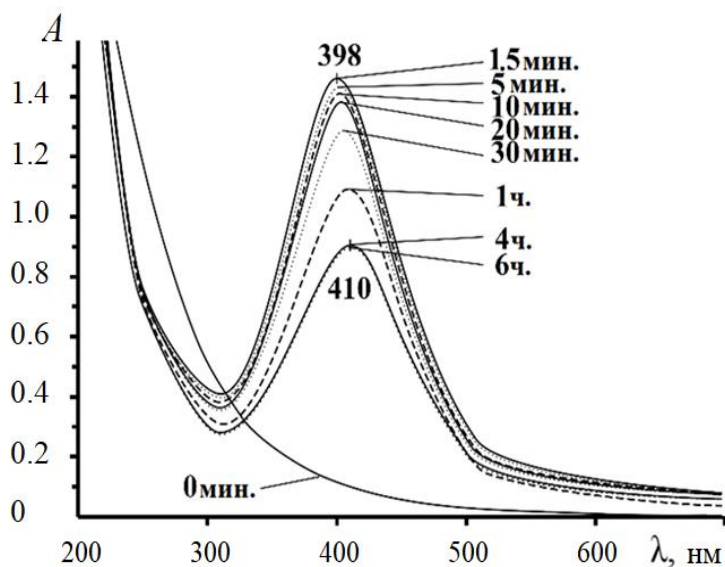


Рис. 11. УФ мониторинг формирования НЧ серебра в матрице сополимера ВТ–ВП на примере НК 9.

Известно, что боргидрид натрия является сильным восстановителем, а вода характеризуется высокими значениями диэлектрической проницаемости, поэтому уже с первых минут реакции идёт образование наибольшего количества зародышей новой фазы. На спектрах хорошо видно, что через 1.5 мин после добавления восстановителя интенсивность полосы ППР (поверхностный плазмонный резонанс) имеет максимальное значение. Подобное состояние коллоидного раствора характеризуется наибольшим количеством зародышей гетерогенной фазы и их минимальными размерами. В ходе реакции происходит постепенное снижение количества частиц ввиду их коагуляции, что сопровождается снижением оптической плотности раствора. Агрегация сопровождается увеличением средних размеров наночастиц, и положение полосы ППР постепенно сдвигается в «красную» область (с 398 до 410 нм). После 6 ч от начала реакции изменений в положении и интенсивности полос ППР не наблюдается.

Проведен УФ-мониторинг водного раствора нанокompозита **9** (концентрация 10 мг/мл) в течение 12 месяцев (Рис. 12). В течение 6 месяцев наблюдается смещение максимума ППП от 412 до 416 нм, что свидетельствует о высокой агрегативной устойчивости НЧ и, соответственно, высокой стабилизирующей способности полимерной матрицы в водной среде.

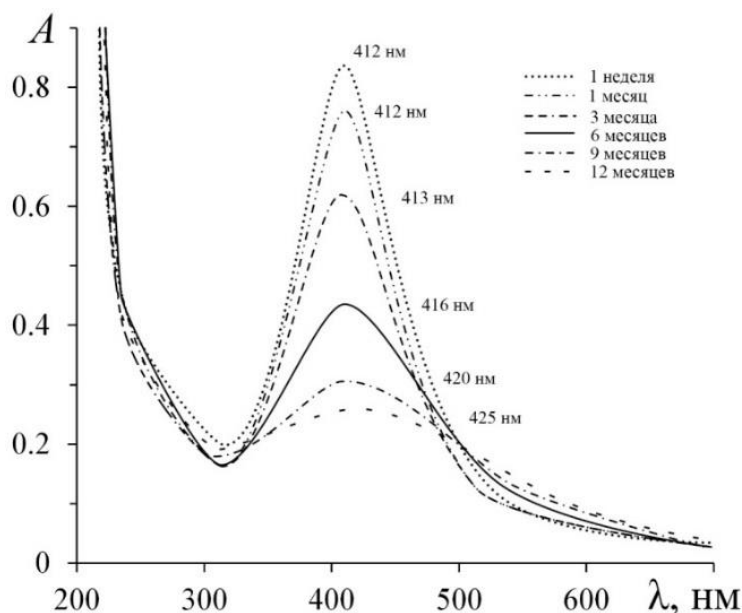


Рис. 12. УФ спектры поглощения водного раствора НК Ag 9.

По данным ПЭМ синтезированные полимерные НК состоят из изолированных электронококонтрастных наночастиц серебра преимущественно сферической формы, равномерно распределенных в объеме полимерной матрицы (Рис. 13). Дисперсность НЧ по размерам существенно зависит от содержания серебра в композите. Уменьшение содержания серебра приводит к формированию НК с узким распределением НЧ по размерам преобладающими размерами до 5 нм (Рис. 13 а, б), что связано с повышением эффективности их стабилизации полимерной матрицей. Повышение содержания серебра по отношению к сополимеру приводит к ограничению возможностей полимерной матрицы по стабилизации большого количества формирующихся НЧ, что неизбежно сопровождается процессами коагуляции и приводит к формированию НЧ большего размера. Помимо этого, увеличение содержания серебра выше 10–12% приводит сначала к частичной (при мольном соотношении сополимера к Ag 10:1), а затем и полной потере растворимости (соотношение 5:1). Это обусловлено усилением межмолекулярного взаимодействия вследствие сшивки полимерных макромолекул наночастицами металла под действием множественных координационных сил (схема 3).

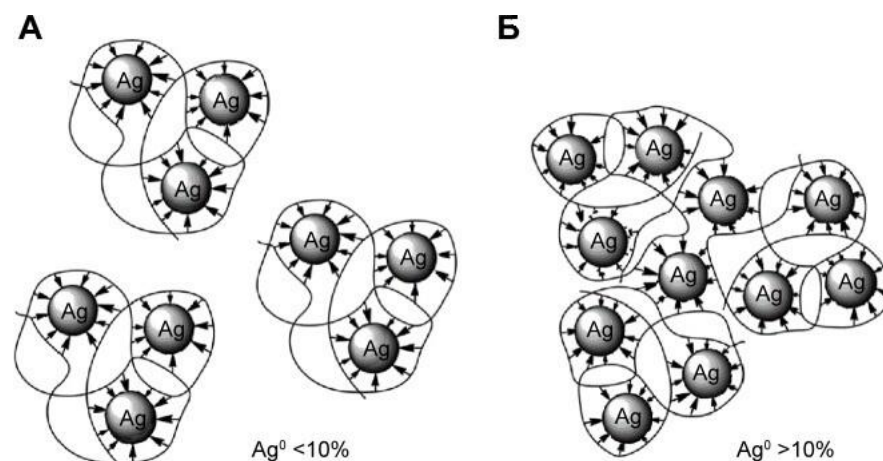


Схема 3. Внутримолекулярные (А) и межмолекулярные (Б) взаимодействия наночастиц серебра с сополимером.

При этом связывание макромолекул НЧ составляет конкуренцию процессу гидратации сополимера, поскольку его растворимость обусловлена образованием водородных связей триазольного и лактамного колец с молекулами воды. Это означает, что повышение содержания НЧ серебра препятствует растворимости полимерного НК, вплоть до ее полной потери.

Расчеты средних диаметров НЧ и их полидисперсности по данным ПЭМ показывают, что НЧ серебра демонстрируют узкодисперсное распределение по размерам (табл. 5). С увеличением содержания серебра увеличиваются как средние размеры НЧ, так и полидисперсность. Однако из расчетов видно, что, несмотря на уменьшение значений D_n и D_w (среднечисленный и средневесовой диаметр НЧ, соответственно) при снижении содержания серебра от 5.3 до 0.8%, полидисперсность изменяется не значительно.

Таблица 5. Средние размеры и полидисперсность НЧ серебра в НК рассчитанные по данным ПЭМ.

№ п/п	Ag, %	D_n , нм	D_w , нм	PDI
6	1.4	2.52	3.20	1.270
7	3.9	2.62	3.33	1.271
8	4.8	2.97	3.79	1.276
9	8.0	3.53	4.71	1.332
10	11.6	4.39	5.89	1.342

Узкодисперсное распределение НЧ по размерам обусловлено тем, что

преобладающее количество ионов серебра восстанавливается на начальной стадии реакции, формируя большое количество малых НЧ за счёт активного восстановителя (редокс-потенциал NaBH_4 -1.24 В) [84].

Согласно данным СЭМ поверхностная морфология исходного сополимера и НК существенно отличаются (Рис. 14). Сополимер обладает высокопористой структурой со множеством каналов диаметром 2–6 мкм, в случае НК поверхность становится более плотной.

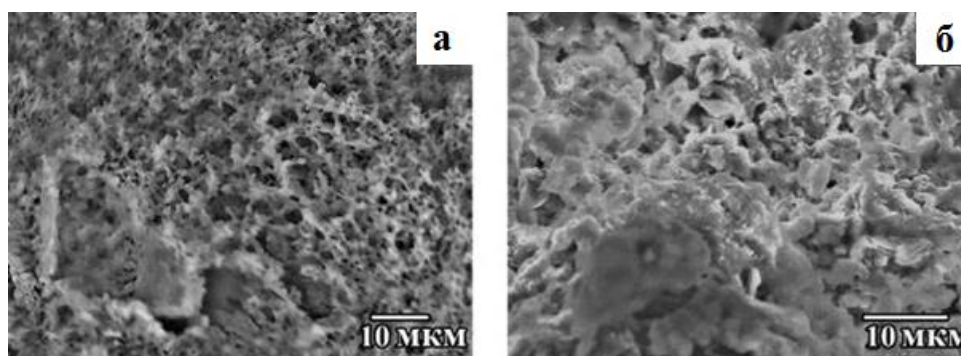


Рис. 14. СЭМ-микрофотографии исходного сополимера 2 (а) и НК-Ag 9 (б).

Данные ТГА и ДСК показывают, что термическое разрушение НК на 30–50°C меньше по сравнению с исходным полимером (320°C). Снижение термической стабильности НК по сравнению с исходным сополимером является следствием каталитических свойств НЧ серебра, которые проявляются в понижении энергии активации термодеструкции и окисления полимерной матрицы.

На первой стадии термоокислительного разложения в диапазоне температур от 60 до 220°C происходит выделение адсорбированной воды, сопровождаемое эндотермическим эффектом и потерей массы на 8.1% (рис. 15). Вторая и третья стадии деструкции полимерной составляющей наблюдаются в интервале 270–410°C, о чем свидетельствует наличие двух экзотермических эффектов (потеря веса 45.7%). Процесс сопровождается отрывом триазольных и лактамных циклов от макромолекулярной цепи с последующим окислением до H_2O , CO_2 и NO_2 (m/z 18, 44, и 46, соответственно). Последняя стадия деструкции происходит при 480–570°C и сопровождается потерей массы образца на 41.9%. При этом наблюдается интенсивный экзотермический эффект с максимумом 546.7°C, соответствующий

выгоранию углеродного скелета с образованием преимущественно CO_2 ($m/z = 44$). Эндотермический эффект, соответствующий плавлению металлического серебра, зафиксирован при 961.7°C .

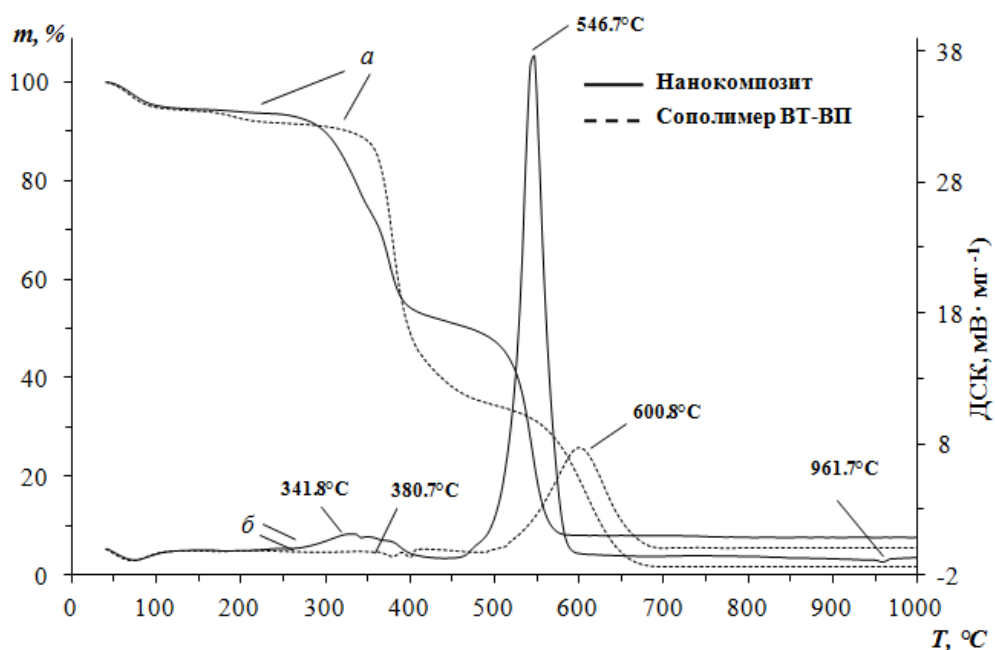


Рис. 15. Кривые ТГА (а) и ДСК (б) сополимера 2 и НК-Ag 9.

Синтезированные НК-Ag **6-11** проявляют свойства органических полупроводников: они обладают электропроводностью $1.1 \cdot 10^{-13}$ – $8.1 \cdot 10^{-13}$ См/см, что на порядок выше по сравнению с исходным сополимером ($4.5 \cdot 10^{-14}$ См/см).

2.2.2. Влияние функционального состава стабилизирующего сополимера на размеры наночастиц

Исследовано влияние функционального состава стабилизирующей матрицы ВТ–ВП на размеры формирующихся металлических наночастиц при мольном соотношении сополимер : Ag = 20:1 (табл. 6). Для снижения влияния молекулярно-массовых характеристик сополимеров на формирование наночастиц проведено фракционирование сополимеров ВТ-ВП **1, 2** и **4** методом дробного осаждения, и выделены фракции с M_w 30-40 кДа и M_w/M_n 1.3-1.4. Согласно данным атомно-абсорбционной спектроскопии содержание серебра в полученных наноккомпозита составило 7.0–7.4%.

Таблица 6. Характеристики серебросодержащих нанокompозитов.

№ п/п	Соотношение ВТ:ВП	Ag, %	Выход, %	λ , нм	$d_{HЧ}$, нм	D_n , нм	D_w , нм	PDI
12	26:74	7.0	72	423	1–15	4.09	9.92	2.42
13	49:51	7.4	75	413	1–8	3.46	4.62	1.34
14	87:13	7.2	77	413	1–8	3.42	4.45	1.30

Оптический спектр поглощения водных растворов полученных нанокompозитов характеризуется наличием ППП с максимумами в диапазоне от 413 до 423 нм, что указывает на формирование металлического серебра в наноразмерном состоянии (Рис. 16).

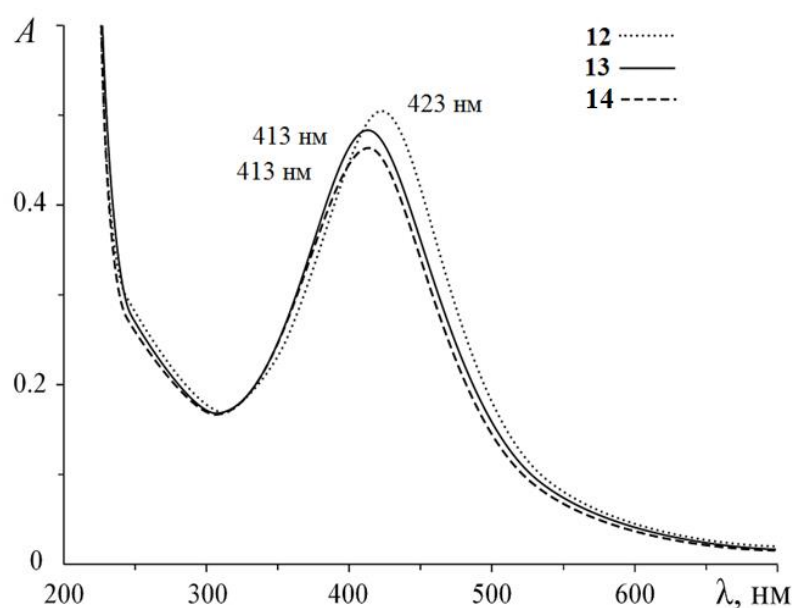


Рис. 16. УФ спектры поглощения водных растворов полимерных НК-Ag **12-14**.

Согласно данным ПЭМ, наиболее широкая полидисперсность наблюдается для нанокompозита **12** (Рис. 17). С увеличением содержания в составе полимерного прекурсора триазольных звеньев полидисперсность синтезируемых нанокompозитов уменьшается и для нанокompозита **14** составляет 1-8 нм (Рис. 17, e).

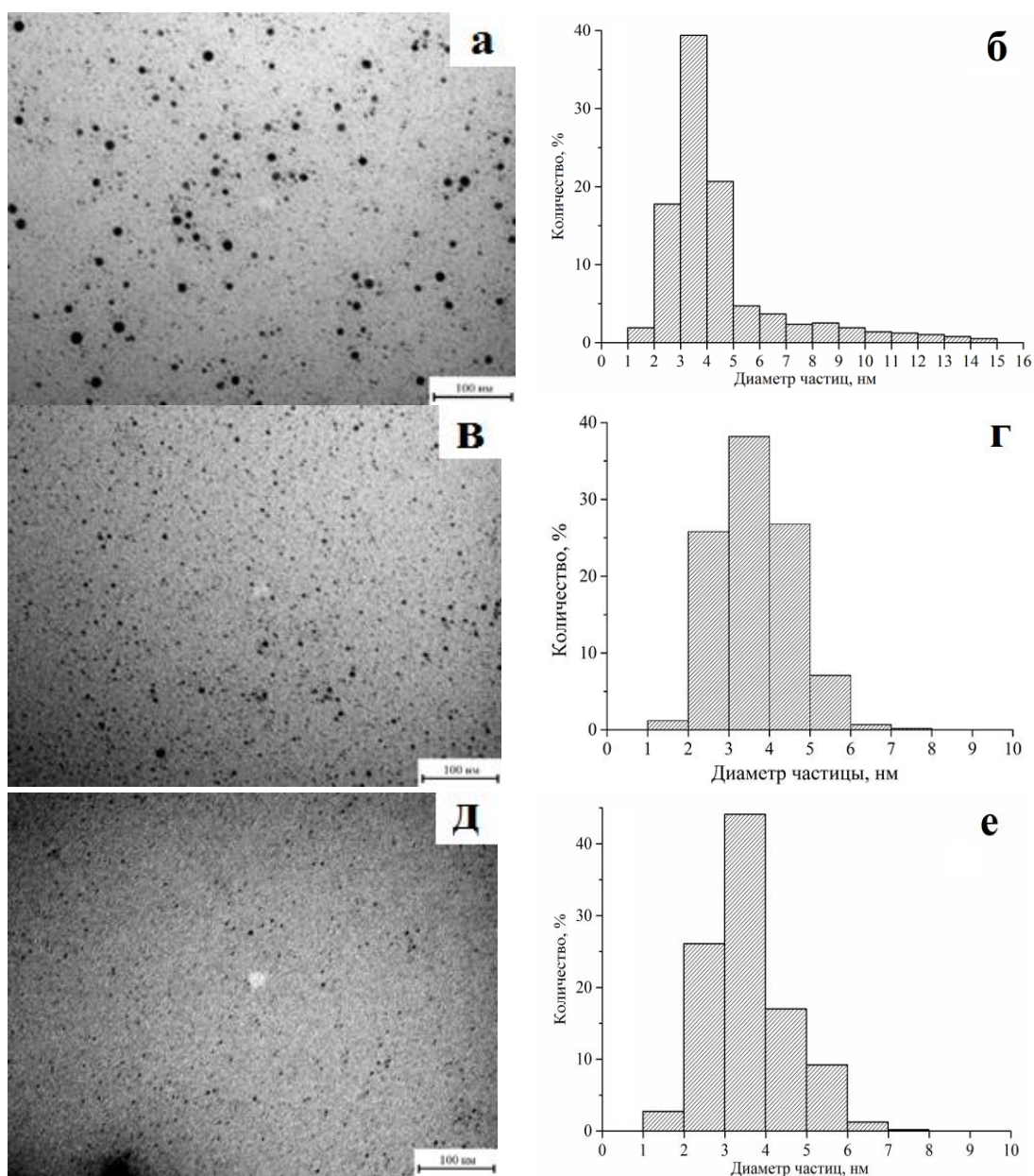


Рис. 17. Электронные микрофотографии (а, в, д) и диаграммы распределения НЧ серебра по размерам (б, г, е) НК № 12 (а, б), 13 (в, г) и 14 (д, е).

Расчеты средних диаметров и полидисперсности по данным ПЭМ показывают, что при увеличении содержания звеньев ВТ в исходной полимерной матрице от 32 до 73% наблюдается уменьшение средних диаметров и полидисперсности наночастиц серебра (табл. 6).

Синтезированные НК-Ag 12, 13 и 14 обладают электропроводностью $7.1 \cdot 10^{-14}$, $4.4 \cdot 10^{-13}$ и $1.8 \cdot 10^{-12}$ См/см, соответственно, проявляя свойства органических полупроводников. Увеличением доли ВТ в сополимере приводит увеличению значений электропроводности.

2.3. Наноккомпозиты с наночастицами золота в матрице сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном

Наноккомпозиты с наночастицами золота были синтезированы в присутствии сополимера ВТ–ВП 2 путем химического восстановления ионов золота (III). Реакцию проводили в две основные стадии (схема 4). На первой стадии металл-полимерный комплекс получали в виде тонкодисперсной желтой желеобразной субстанции путем смешивания водных растворов сополимера и HAuCl_4 . Вязкость раствора при этом значительно увеличивается. На второй стадии ионная форма металла была восстановлена до металлического состояния с использованием гидразин гидрата. Процесс восстановления сопровождался постепенным изменением цвета раствора от желтого до темно-вишневого или фиолетового (в зависимости от содержания золота - чем выше содержание золота, тем темнее цвет). Реакционную смесь выдерживали в течение 6 ч при постоянном перемешивании. Мелкодисперсная суспензия полимерного комплекса постепенно исчезает и образуется окрашенный раствор полимерного НК.

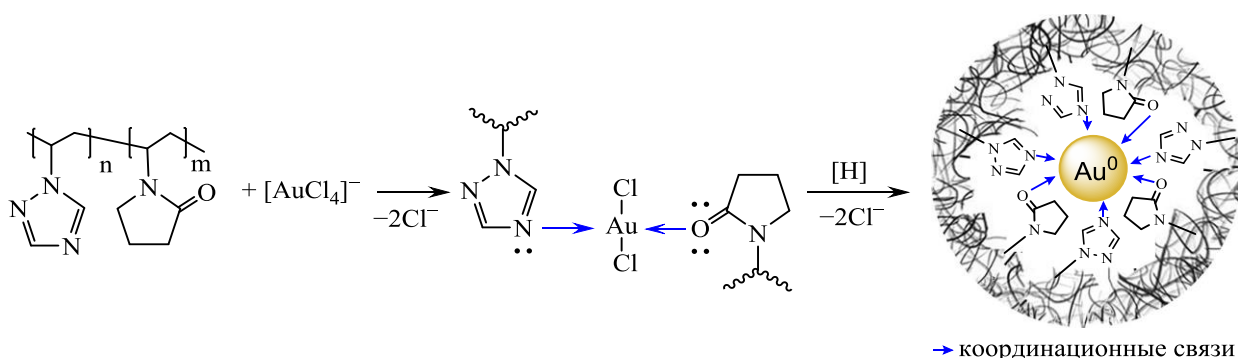


Схема 4. Формирование наноккомпозита с наночастицами золота в полимерной матрице.

Результаты элементного анализа и атомно-абсорбционной спектроскопии показали, что содержание золота в наноккомпозитах составляет от 2.2 до 25.7% (табл. 7). Увеличение содержания золота относительно сополимера приводит к снижению стабилизирующей способности полимерной матрицы относительно большого количества образующихся наночастиц, что неизбежно приводит к частичной коагуляции и образованию наночастиц с большими размерами. Содержание золота в НК свыше 20% (сополимер : Au = 5 : 1) приводит к частичной

потере растворимости образца.

Таблица 7. Характеристики золотосодержащих нанокомпозитов.

№ п/п	Сополимер : Au, моль	Au, %	Выход, %	Раствори- мость в H ₂ O	λ , нм	* D_h , нм
15	80:1	2.2	92	+	511	67.2
16	40:1	4.4	83	+	511	135.9
17	20:1	8.3	81	+	522	210.2
18	10:1	16.2	83	+	534	358.3
19	5:1	25.7	79	-/+	554	482.8

* D_h – гидродинамический диаметр макроклабков

Анализ изменений полос поглощения в ИК спектрах (Рис. 18) показывает, что при переходе от исходного сополимера к полимерным комплексам с ионами золота и НК-Au, полосы колебаний триазольного и лактамного циклов при 1658 (C=O), 1503 (C=N) и 1274 см^{-1} (N=N) сдвинуты на 3–13 см^{-1} . Это указывает на координацию функциональных групп сополимера как с ионной формой золота, так и с наночастицами металла.

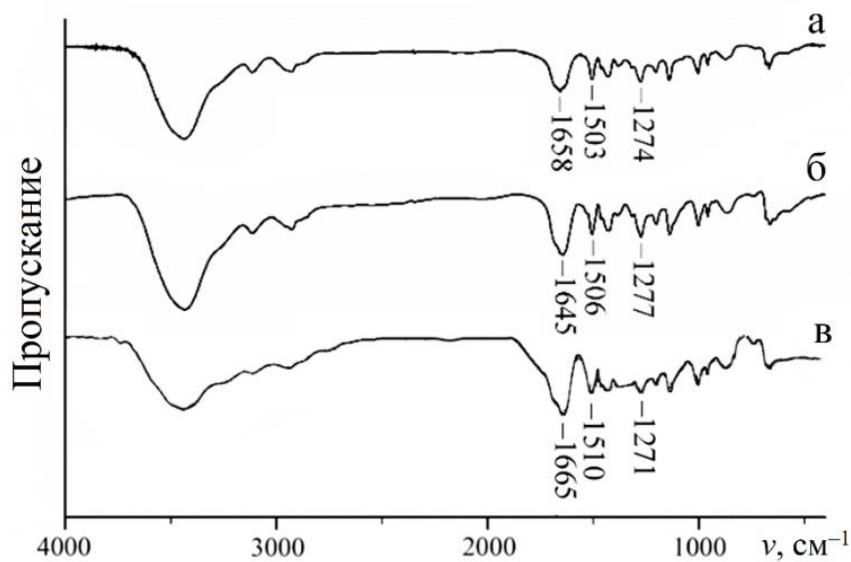


Рис. 18. ИК-спектры сополимера **2** (а), полимерного комплекса с ионами золота (б) и НК **17** (в).

На рентгеновских дифрактограммах НК четко просматриваются аморфное гало полимерного компонента и интенсивные рефлексы НЧ металлического золота, идентифицированные путем сравнения значений межплоскостных расстояний и относительных интенсивностей с эталонными (Рис. 19). Для образца **18** (табл. 7)

размер кристаллитов 105–115 Å, степень кристалличности – 16%. Все пики образцов могут быть легко проиндексированы для гранецентрированного кубического золота. Пиков других фаз не обнаружено, что свидетельствует о высокой чистоте продуктов.

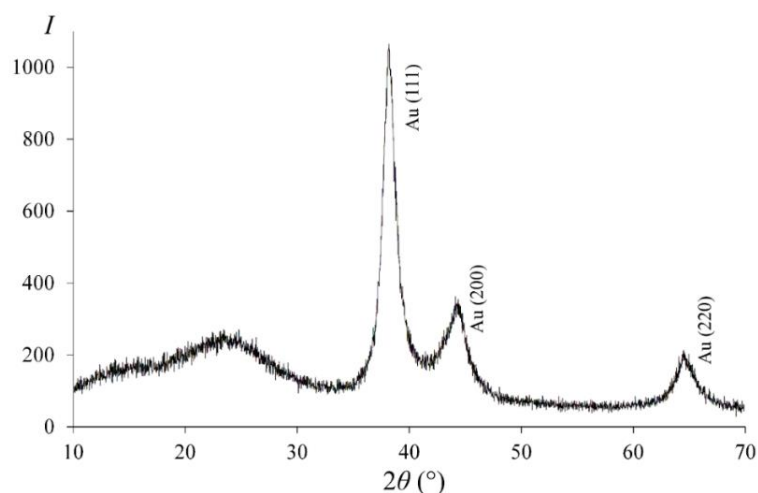


Рис. 19. Дифрактограмма полимерного НК-Ау **18**.

Спектр оптического поглощения НК в водном растворе, в отличие от исходных водных растворов сополимера и HAuCl_4 , демонстрирует характерную ППП электронов металлических НЧ золота в области 511–554 нм. (Рис. 20).

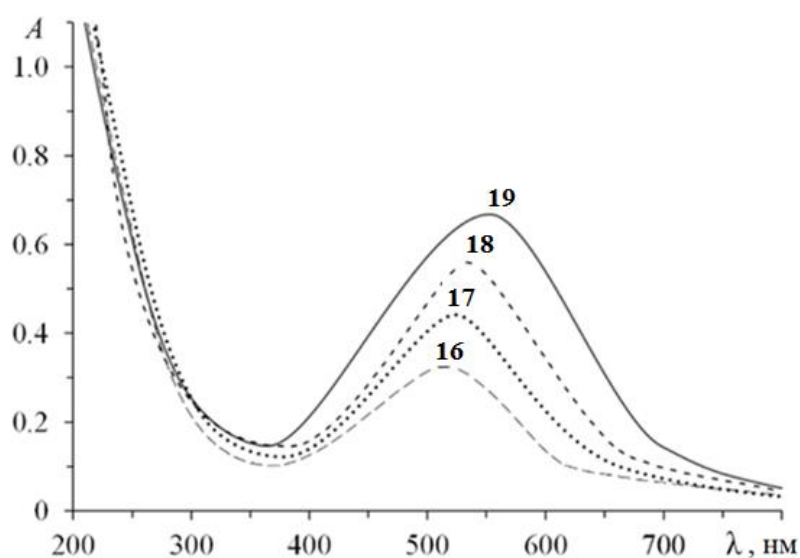


Рис. 20. Электронные спектры поглощения водных растворов полимерных нанокомпозитов **16–19**.

Водные растворы НК центрифугировали при 10000 об/мин в течение 15 мин. На дне пробирки образовывалось небольшое количество объемного осадка,

который полностью растворяется при встряхивании. ППП наночастиц золота идентичны до и после центрифугирования. Это свидетельствует о высокой устойчивости полученных НК.

С целью установления агрегативной стабильности наночастиц золота проведен УФ-мониторинг водного раствора нанокompозита **17** (концентрация 10 мг/мл) (Рис. 21). В течение 9 месяцев наблюдается смещение максимума полосы плазмонного поглощения от 534 до 536 нм, что свидетельствует о высокой стабилизирующей способности полимерной матрицы.

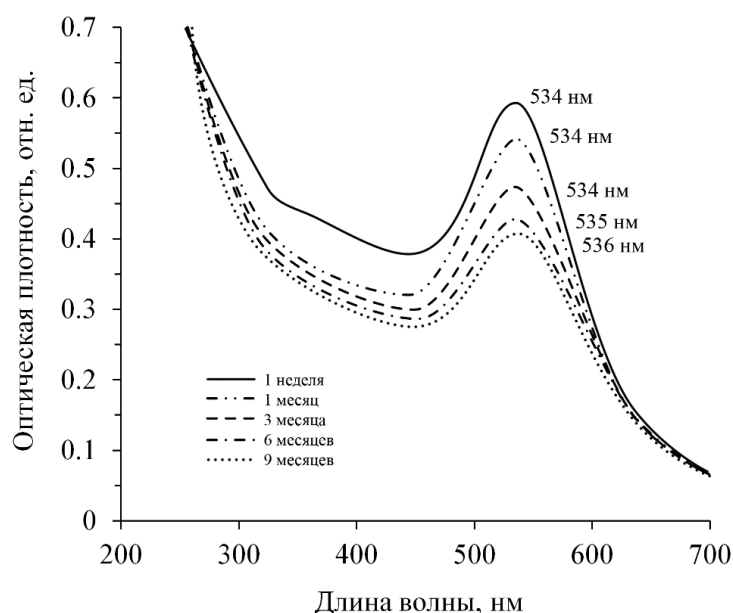


Рис. 21. УФ спектры поглощения водного раствора НК Au **17**.

По результатам ПЭМ были получены данные о размерах НЧ и их распределении в матрице сополимера (Рис. 22). Синтезированные полимерные НК состоят из изолированных электронно-контрастных НЧ золота преимущественно сферической формы, которые равномерно распределены в полимерной матрице. Дисперсность НЧ зависит от содержания золота в НК. Уменьшение содержания золота приводит к образованию НКс наиболее узким распределением НЧ по размерам. В этом случае наблюдается образование НЧ с преобладающими размерами до 5 нм (Рис. 22 б). Увеличение содержания золота по отношению к сополимеру ограничивает способность полимерной матрицы стабилизировать большое количество наночастиц, что неизбежно сопровождается процессами коагуляции и формированием более крупных НЧ.

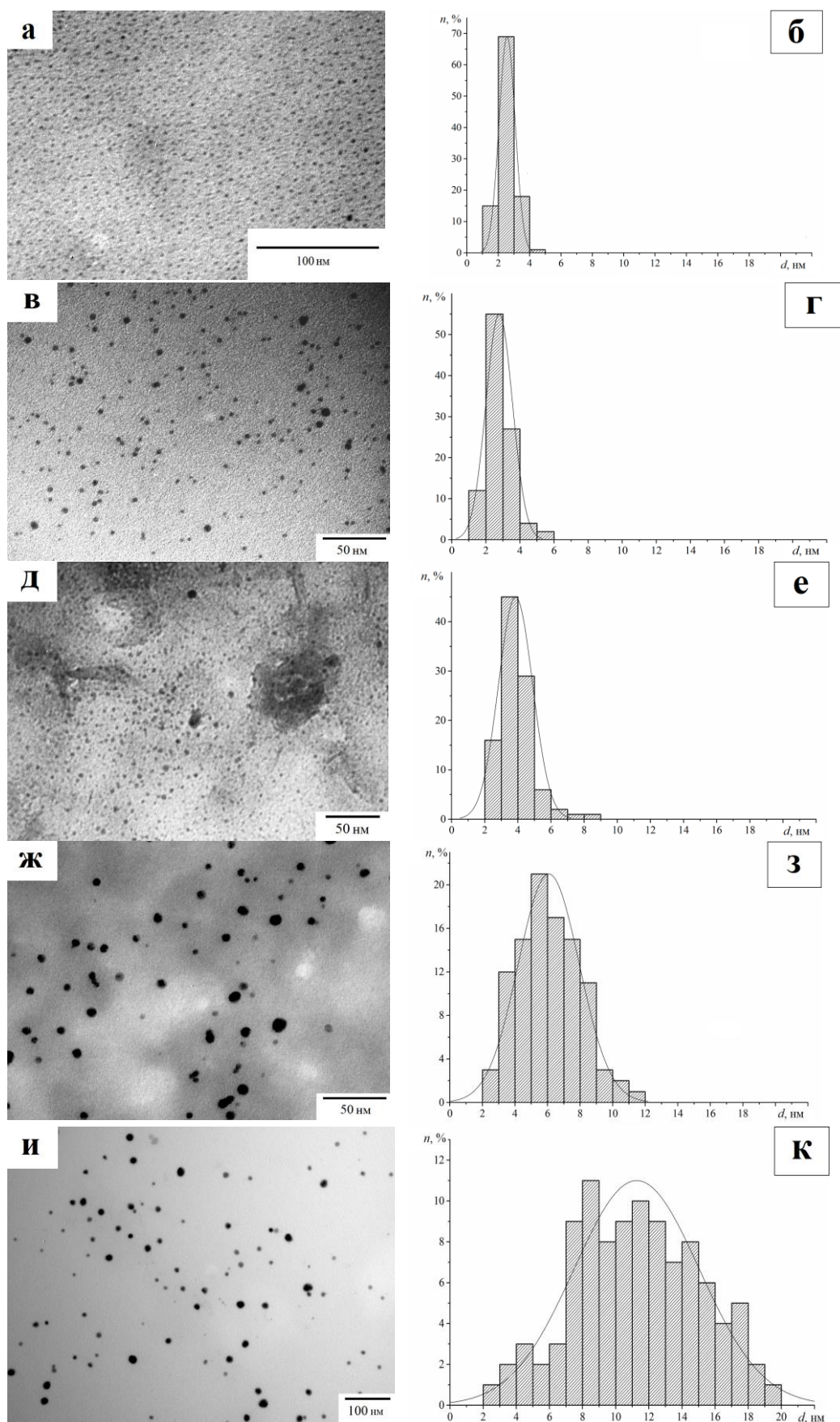


Рис. 22. Электронные микрофотографии (а, в, д, ж, и) и диаграммы распределения НЧ золота по размерам (б, г, е, з, к) НК 15 (а, б), 15 (в, г), 17 (д, е), 18 (ж, з), 19 (и, к).

Результаты показывают, что самая узкая полидисперсность ($PDI = 1.12$) наблюдается для нанокompозита **15** (Au 2.2%), размеры наночастиц в котором составляют 1–5 нм (табл. 0). С увеличением содержания золота в стабилизирующей матрице полидисперсность увеличивается до 1.31.

Таблица 8. Средние размеры и полидисперсность НЧ золота в НК, рассчитанные методом ПЭМ.

№ п/п	Au, %	$d_{НЧ}$, нм	D_n , нм	D_w , нм	PDI
15	2.2	1–5	2.56	2.88	1.119
16	4.4	1–6	2.93	3.75	1.279
17	8.3	1–9	3.49	4.47	1.281
18	16.2	2–12	6.10	7.90	1.295
19	25.7	2–20	10.95	14.39	1.314

Данные СЭМ исходного сополимера **2** и НК-Au **18** демонстрируют значительную разницу в морфологии поверхности образцов (Рис. 23). Исходный сополимер имеет высокопористую губчатую поверхность с многочисленными каналами диаметром 2–6 мкм (Рис. 23 а). Поверхность нанокompозита более плотная, но структура остается пористой, хотя количество пор намного меньше по сравнению с полимером (Рис. 23 б).

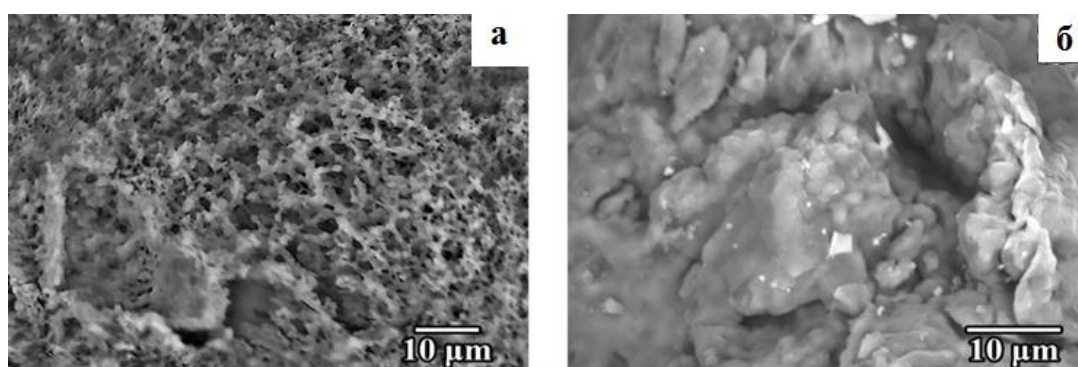


Рис. 23. СЭМ-микрофотографии сополимера **2** (а) и НК **18** (б).

Для измерения гидродинамического диаметра макроклабков (D_h) синтезированных нанокompозитов и исходного сополимера в водных растворах был использован метод ДСР (Рис. 24). Гистограммы образцов характеризуются мономодальным распределением частиц по размерам. С увеличением содержания золота в нанокompозите среднее значение D_h растет. По сравнению с исходным

сополимером ($D_h = 31.5$ нм) гидродинамический диаметр золотых наночастиц в клубке макромолекул сополимера заметно увеличивается (табл. 7). Это можно объяснить межмолекулярным взаимодействием функциональных групп сополимера с НЧ золота, приводящим к образованию металл-полимерных клубков.

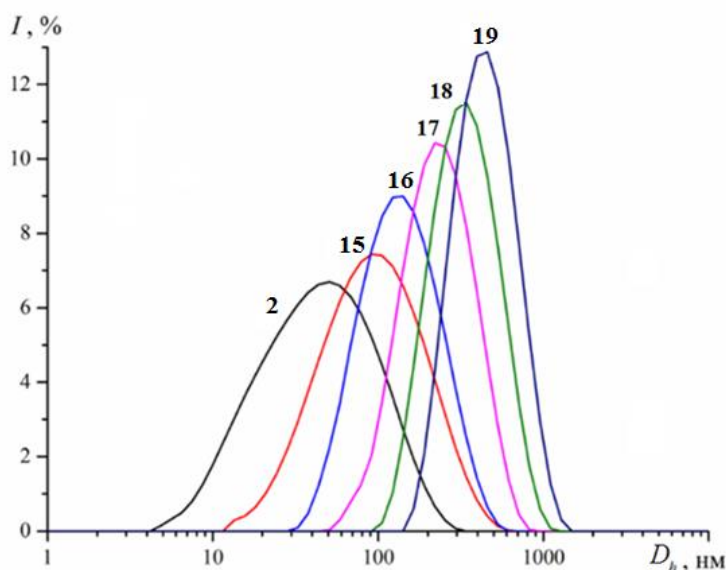


Рис. 24. Гистограмма распределения по гидродинамическим диаметрам рассеивающих частиц для НК Au 15–19 и сополимера 2.

Результаты ТГА и ДСК показывают, что исходный сополимер обладает термостабильностью до 320°C. Полученные НК также термостабильны до 270–320°C в зависимости от содержания золота (Рис. 25). Увеличение содержания металла в полимерном нанокомпозите приводит к снижению порога термостабильности. Для НК обнаружено, что при 60–150°C (потеря массы 7.2%) физически адсорбированная вода из объема образца высвобождается без разрушения его структуры. Процесс сопровождается эндотермическим эффектом на кривой ДСК. Об этом свидетельствует сигнал квадрупольного масс-спектрометра относительно соответствующего массового числа ($m/z = 18$). Первая стадия термического разрушения полимерного компонента наблюдается при 270–405°C, что подтверждается наличием двух экзотермических эффектов (потеря массы образца составляет 44.8%). Это сопровождается отрывом триазольного и лактамного фрагментов из макромолекулярной цепи с последующим окислением до H_2O , CO_2 и NO_2 , на что указывает появление сигналов в масс-спектре при

соответствующих массовых числах (m/z 18, 44 и 46). При 425–600°C потеря массы в образце достигает 38.7%. Интенсивный экзотермический эффект с максимумом при 570.1°C соответствует выгоранию углеродного скелета, в результате чего образуется в основном CO_2 ($m/z = 44$). На кривой ДСК эндотермический эффект, ответственный за плавление металлического золота, обнаружен при 1070.1°C.

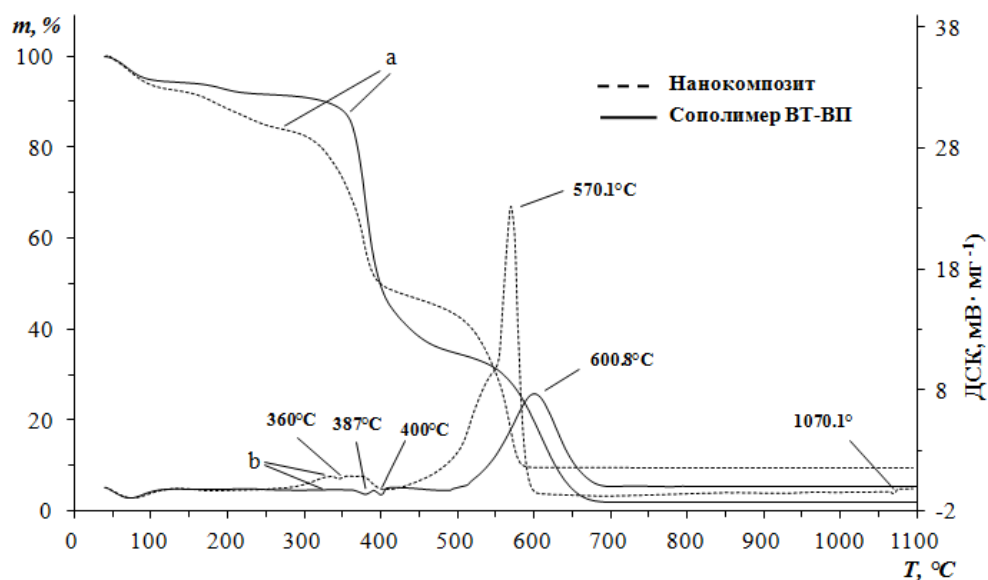


Рис. 25. Кривые ТГА (а) и ДСК (б) сополимера 2 и НК Au 17.

Снижение термостабильности наноккомпозитов обусловлено каталитическими особенностями НЧ, которые уменьшают энергию активации термического разрушения и окисления полимерной матрицы.

Синтезированные НК проявляют свойства органических полупроводников и обладают электропроводностью 10^{-10} – 10^{-9} См/см. Электропроводность синтезированных полимерных НК увеличивается в среднем на 4–5 порядков по сравнению с исходным сополимером ($4.5 \cdot 10^{-14}$ См/см), что, вероятно, обусловлено вкладом отдельных локальных токов, возникающих между электропроводящими металлическими наночастицами, близко расположенными в диэлектрической полимерной матрице.

2.4. Наноккомпозиты с наночастицами железа в матрице сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном

Для получения наноккомпозитов с наночастицами оксидов железа применяли

химический способ восстановления ионов железа из кристаллогидрата сульфата железа в водной среде. В качестве полимерной матрицы использовали сополимер ВТ–ВП 2, состав которого близок к эквимольному.

Синтез железосодержащих НК проводили в две основные стадии: на первой смешивали водные растворы сополимера и соли железа, получая металлполимерный комплекс в виде мелкодисперсного белого осадка. На второй стадии осуществляли восстановление ионов металла гидразин гидратом. Процесс восстановления сопровождается постепенным изменением окраски раствора от темно-зеленого до оранжево-коричневого (схема 5). Реакционную смесь выдерживали в течение 4 ч при постоянном перемешивании.

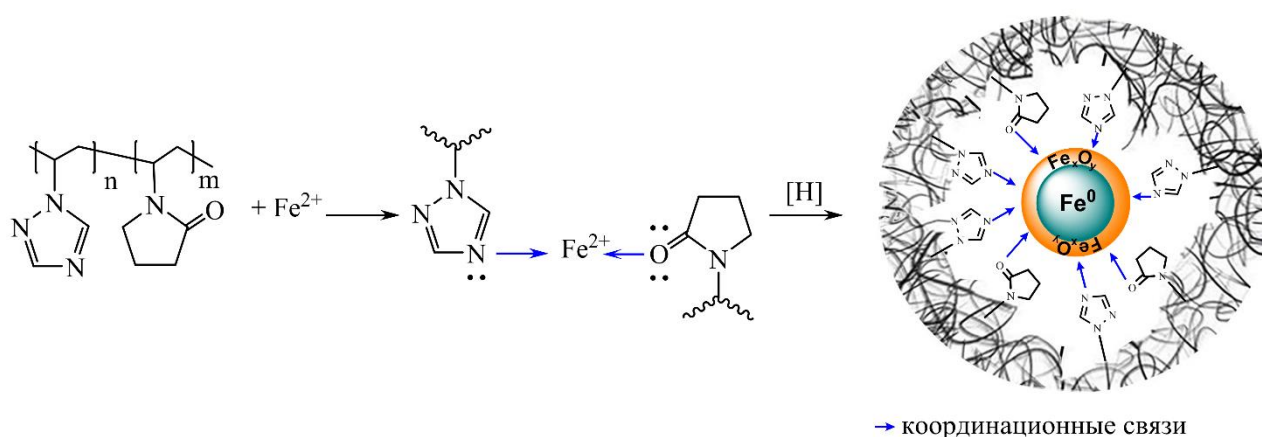


Схема 5. Формирование нанокомпозита с наночастицами железа в полимерной матрице.

Характеристическая вязкость полимерных НК в отличие от исходных сополимеров в среднем повышается на 10–20%, что можно объяснить многочисленным координационным связыванием полимерных макромолекул НЧ, которое препятствует их подвижности.

Путем варьирования мольного соотношения сополимера и сульфата железа, получены полимерные НК в виде порошков оранжевого цвета с содержанием железа 1.4–5.5% (согласно данным элементного анализа и атомно-абсорбционной спектроскопии), хорошо растворимые в воде (табл. 9).

Таблица 9. Характеристики железосодержащих нанокомпозитов.

№ п/п	Восста- новитель	Сополимер:Fe:в-ль, моль	Fe, %	Выход, %	Термостой- кость, °С	d _{НЧ} , нм
20	-	20:1: –	-	99	316	–
21	N ₂ H ₄	40:1:6	1.4	87	283	1–5
22		20:1:6	2.7	82	265	2–11
23		10:1:6	5.5	78	247	2–14

ИК спектры комплекса и НК подобны спектрам исходных сополимеров (Рис. 26). Наблюдаются смещения на 3–13 см⁻¹ полос при 1654 (C=O), 1508 (C=N), 1278 (N=N), 1007 (C–H), 666 (C–N), соответствующих валентным и деформационным колебаниям триазольных и лактамных колец. Данное явление свидетельствует об участии гетероциклов в координации как ионов железа, так и его металлических НЧ, причем максимальное смещение проявляется в случае ионного комплекса, что указывает на более сильные взаимодействия.

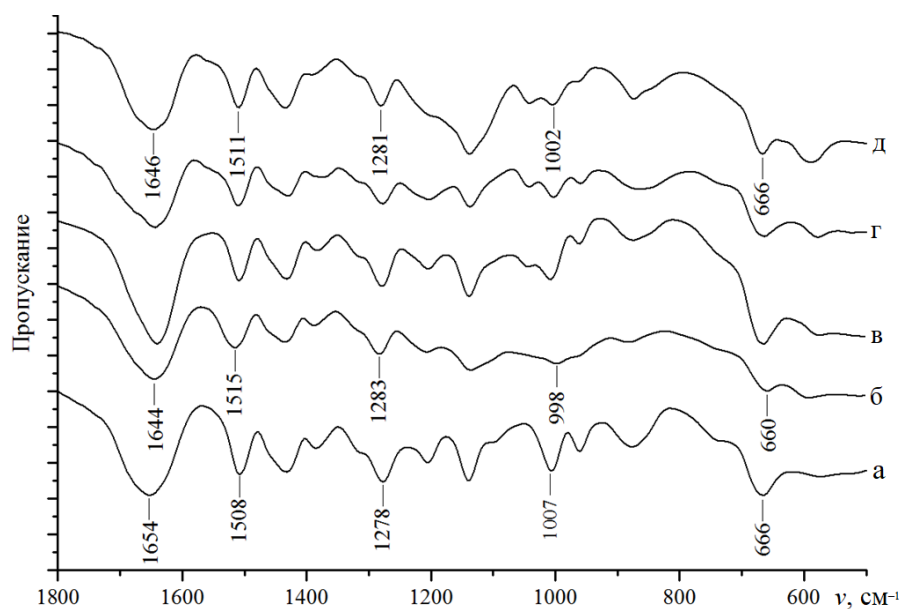


Рис. 26. ИК-спектры для сополимера **2** (а), комплекса **20** (б) и НК **21** (в), **22** (г), **23** (д).

По данным ПЭМ частицы оксидов железа имеют преимущественно сферическую форму, что характерно для частиц, синтезированных в растворе (Рис. 27). По микрофотографиям видно, что дисперсность НЧ по размерам зависит от содержания железа. НК с наименьшим содержанием железа (**21** табл. 9) характеризуется равномерным распределением НЧ в объеме полимерной матрицы,

размерами 1–5 нм (Рис. 27 а, б). С увеличением содержания железа формируются НК с более широким распределением наночастиц по размерам (до 14 нм) (Рис. 27 е). Такая зависимость является следствием того, что с увеличением содержания металла образуется большее количество наночастиц, менее эффективно инкорпорирующихся в макромолекулярную матрицу, что неизбежно сопровождается процессами коагуляции и приводит к формированию наночастиц большего размера.

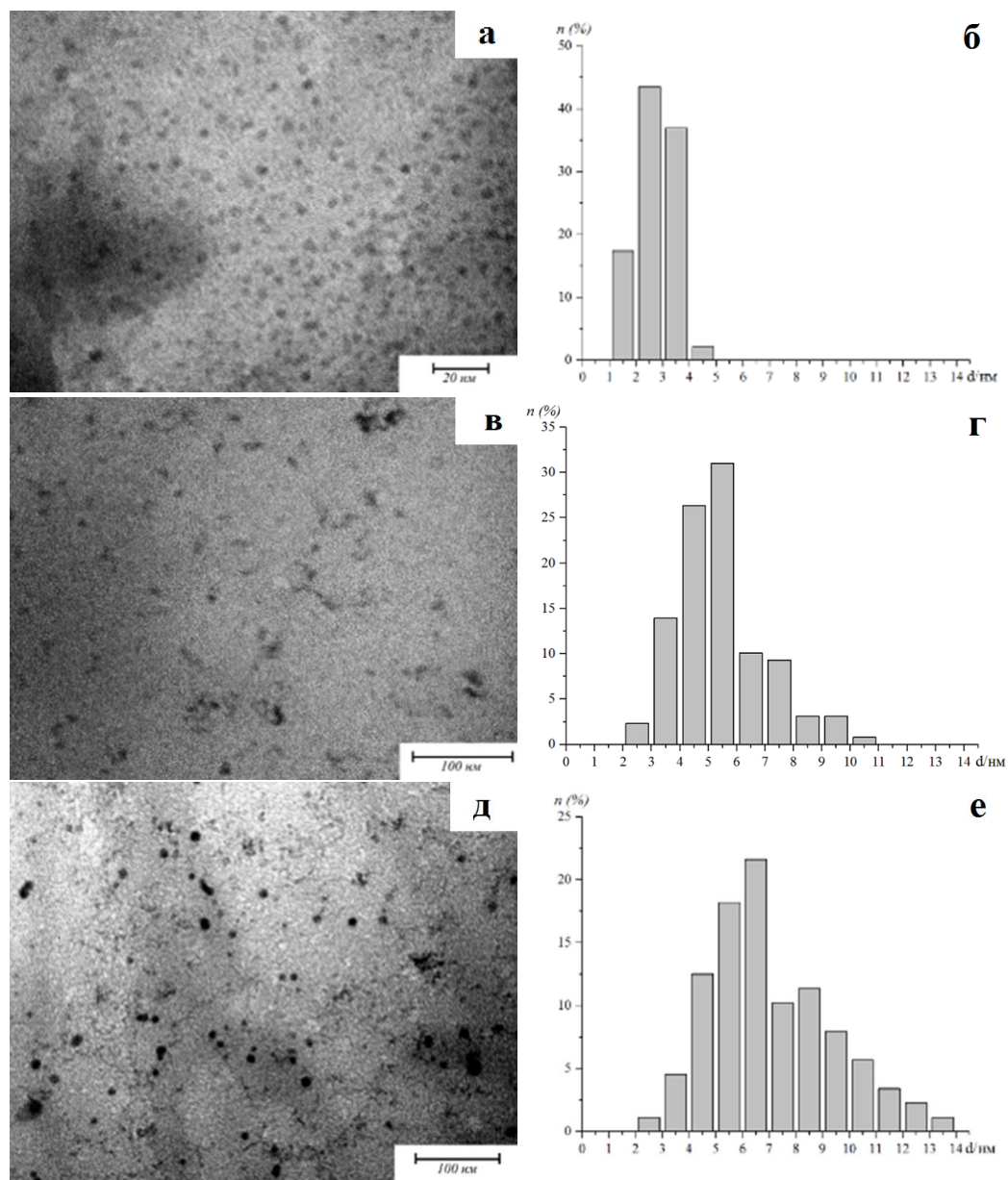


Рис. 27. Электронные микрофотографии (а, в, д) и гистограммы распределения наночастиц оксидов железа по размерам (б, г, е) для НК 21 (а, б), 22 (в, г) и 23 (д, е).

Расчеты средних размеров и полидисперсности частиц показывают, что НК

оксидов железа имеют довольно узкую дисперсность по размерам независимо от содержания металла (табл. 10).

Таблица 10. Средние размеры и полидисперсности НЧ оксидов железа в НК, рассчитанные по данным ПЭМ.

№ п/п	Fe, %	D _n , нм	D _w , нм	PDI
21	1.4	2.75	3.19	1.159
22	2.7	5.47	6.84	1.251
23	5.5	7.23	12.10	1.673

Помимо изолированных равномерно распределенных НЧ в НК **22 и 23** образуются сгруппированные агрегаты, состоящие из отдельных стабилизированных матрицей сополимера НЧ (Рис. 28). Размеры таких скоплений в большинстве случаев не превышают 55–75 нм, однако встречаются и более крупные единичные с размерами от 100 до 150 нм (Рис. 28 б). Такие укрупненные агрегаты самоорганизуются и формируют разупорядоченные разветвленные цепочки. Анализ данных ПЭМ показывает, что количество цепных агрегатов в НК с наибольшим содержанием железа выше (5.5%), чем в НК, в котором содержание железа меньше (2.7%). При этом наличие цепных агрегатов не наблюдаются совсем при содержании железа в НК 1.4%.

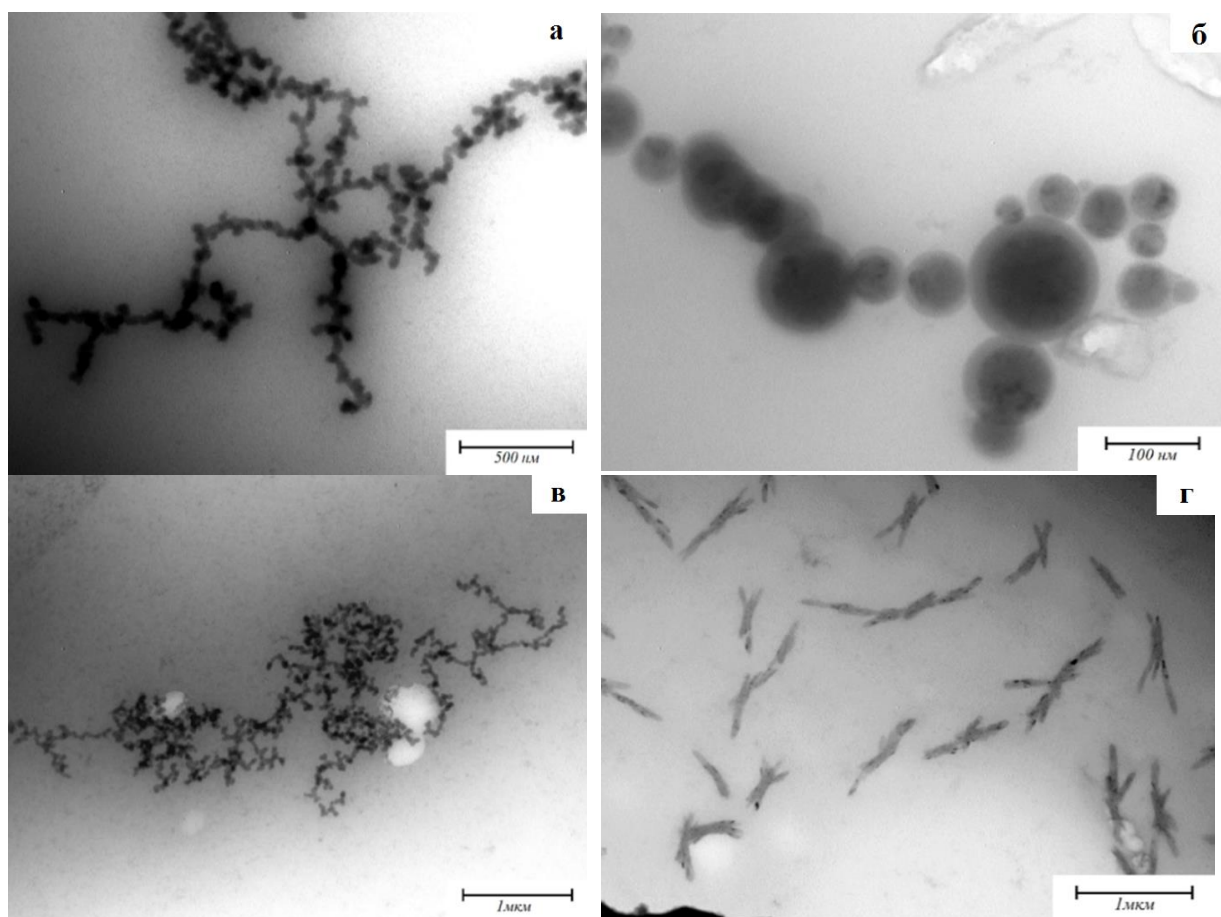


Рис. 28. Электронные микрофотографии нанокomпозитов **22** (а, б) и **23** (в, г).

Данные по ЭПР-спектроскопии представлены в табл. 11 и на Рис. 29. Исходный комплекс дает спектр ЭПР с линиями поглощения в области g 4.3 и 2.23, соответствующий трехвалентному состоянию железа, координированному по азотсодержащим лигандам [189, 211] (табл. 11, Рис. 29, а).

Таблица 11. Характеристики спектров ЭПР железосодержащих комплекса и нанокomпозитов.

№ п/п	Fe, %	ΔH , мТл	$g_{эфф}$ - фактор	Doub.Int. *	Дополнительные g - сигналы
20	—	66.0	2.097	1.0	4.23; 2.23; 1.875
21	1.4	113.5	2.064	2.7	4.27; 2.15; 2.10; 2.05; 1.99; 1.94; 1.875
22	2.7	73.5	2.031	8.1	4.27; 2.15; 1.94; 1.875
23	5.5	86.0	2.033	12.3	4.27; 2.15; 1.94; 1.875

*нормировано по отношению к комплексу **20**.

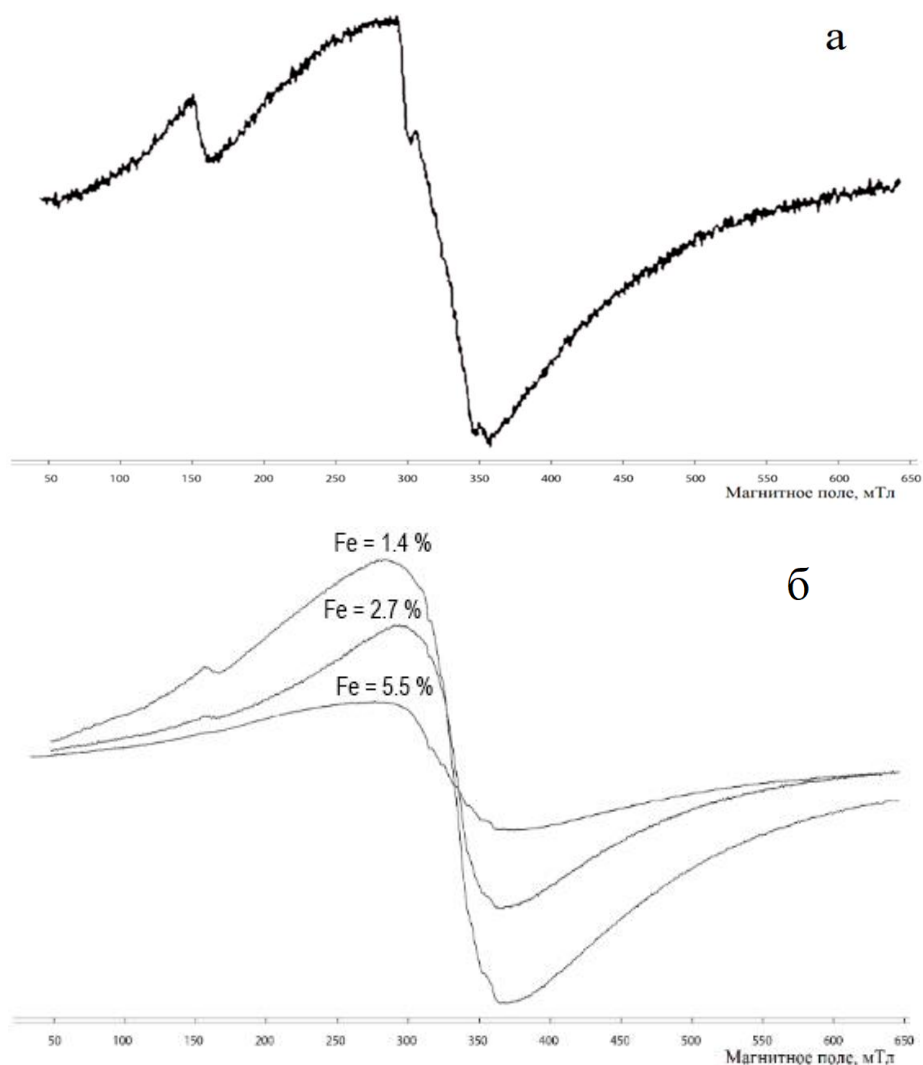


Рис. 29. Спектр ЭПР комплекса **20** (а) и НК **21–23** (б).

В спектрах ЭПР всех исследованных НК наблюдается широкий асимметричный сигнал с эффективным g -фактором в области 2.03–2.1 и шириной 70–100 мТл (Рис. 29, б). Такой сигнал характерен для железосодержащих образцов и соответствует преобладанию высокоспинового железа. Кроме того, в спектрах наблюдаются дополнительные сопутствующие сигналы железосодержащих частиц в области значений g -фактора от 1.875 до 4.3, наличие и интенсивность которых изменяется в зависимости от содержания железа в образце, соотношения окисленных форм (Fe^{2+} и Fe^{3+}), формы оксида и геометрических характеристик НЧ. Следует отметить, что изменение двойного интеграла сигнала, центрального g -фактора и ширины линии с ростом содержания железа в НК может быть связано как с изменением размеров и формы НЧ, так и с изменением релаксационных характеристик и природы образующихся оксидов железа Fe_xO_y и их соотношения в

полимерной матрице.

В спектрах ЭПР всех полученных НК присутствует сигнал с g -фактором 4.3, соответствующий наночастицам γ - Fe_2O_3 в полимерных и других матрицах [213, 214]. Самый широкий асимметричный сигнал дает НК **21**. Это может быть связано с образованием двух сопоставимых по соотношению форм оксидов железа Fe_2O_3 и Fe_3O_4 , широкие сигналы которых достаточно сильно перекрываются. С увеличением содержания железа растет интенсивность сигнала, относящегося к Fe^{3+} , что может свидетельствовать об увеличении доли Fe_2O_3 .

Во всех спектрах ЭПР нанокомпозитов присутствуют сигналы в области $g = 1.9\text{--}2.1$, что соответствует наличию в НК нульвалентного железа, что вероятно, связано с формированием НЧ типа «ядро-оболочка» (core-shell) [215]. В этом случае НЧ представляют собой ядро из нульвалентного железа, которое покрыто оксидной оболочкой. Поскольку оксидная оболочка нерастворима в водной среде при нейтральных значениях pH , она защищает металлическое ядро от последующего окисления.

Согласно данным ТГА НК-Fe обладают меньшей термической стабильностью ($247\text{--}283^\circ\text{C}$), чем исходный сополимер (320°C) и полимерный комплекс (Рис. 30, табл. 9). Увеличение содержания металла в полимерном нанокомпозите приводит к снижению термостабильности на $37\text{--}73^\circ\text{C}$. В случае комплекса **20** наличие ионов железа в матрице сополимера мало влияет на процессы первой стадии термодеструкции, однако имеет каталитический эффект для процессов второй стадии (деструкция углеродного скелета) – начало второй стадии для сополимера и комплекса составляют 470 и 390°C , соответственно.

При $60\text{--}150^\circ\text{C}$ (потеря массы 7.8%) из объема образца высвобождается физически адсорбированная вода, при этом структура НК не разрушается (Рис. 30, а). Процесс сопровождается эндотермическим эффектом на кривой ДСК. Далее в интервале температур $240\text{--}380^\circ\text{C}$ наблюдается экзотермический эффект с пиком при 305°C и два экзотермических эффекта (потеря массы образца составляет 33.4%). Это сопровождается отрывом функциональных фрагментов из макромолекулярной цепи с последующим окислением до H_2O , NO и CO_2 (m/z 18,

30 и 44) (Рис. 30, б).

В интервале от 390 до 485°C потеря массы достигает 39.4%. При этом наблюдается интенсивный экзотермический эффект при максимуме 455°C, соответствующий выгоранию углеродного скелета, с образованием в основном CO_2 ($m/z = 44$), вплоть до молекулярного углерода ($m/z = 12$).

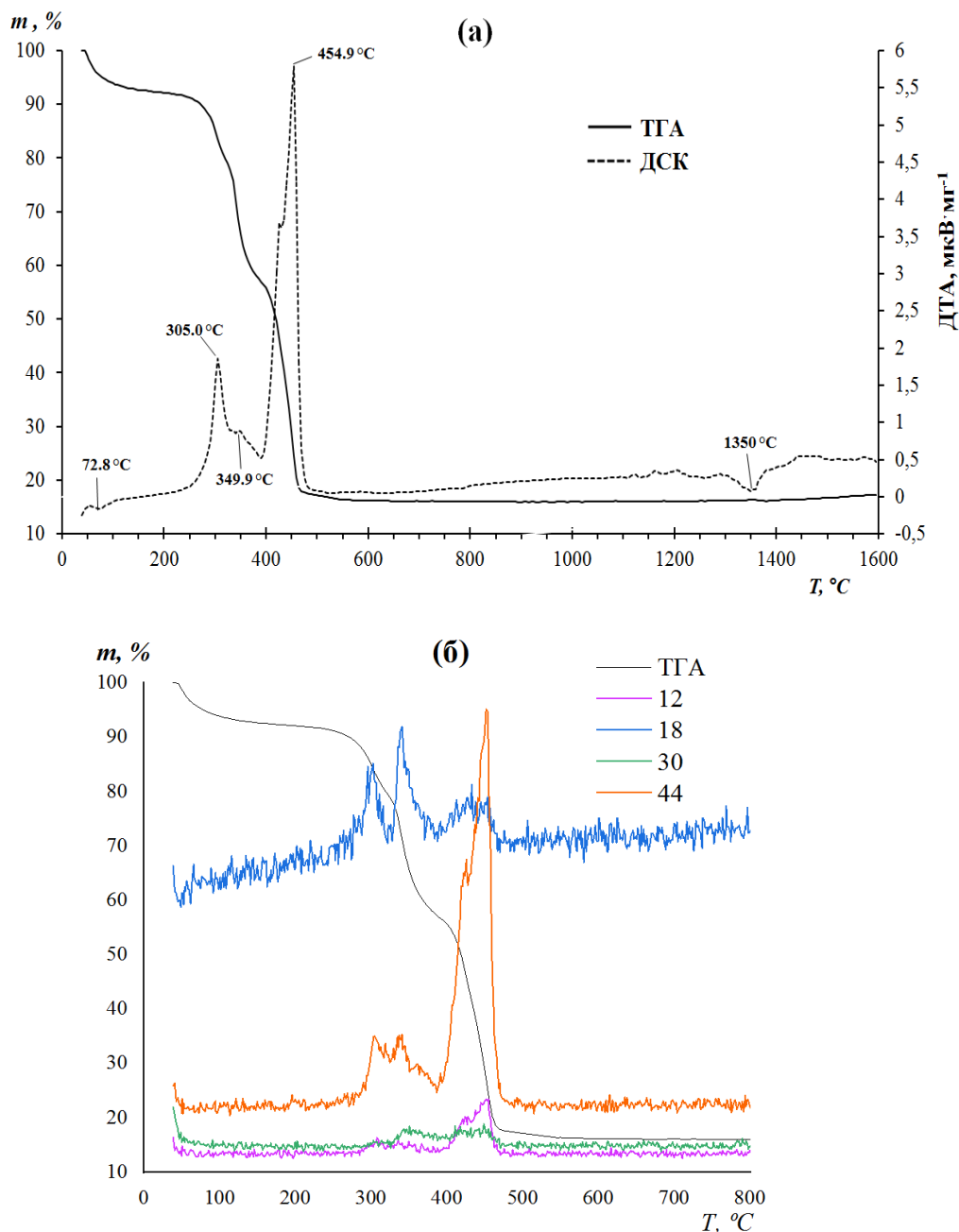


Рис. 30. Кривые ТГА и ДСК (а) и масс-спектры (б) НК Fe 23.

В интервале от 1290°C до 1390°C происходит потеря массы 0.078%. При этом на кривой ДСК наблюдается эндотермический эффект при 1350°C, соответствующий плавлению железных НЧ (наиболее близкое значение –

$T_{пл.}(FeO) = 1377^{\circ}C$). После проведения термического анализа оставшаяся масса равна 17.34% от исходной.

Синтезированные НК проявляют свойства органических полупроводников: обладают электрической проводимостью 10^{-12} – 10^{-11} См/см. Электропроводность НК увеличивается в среднем на два–три порядка по сравнению с исходным сополимером ($4.5 \cdot 10^{-14}$ См/см), что, вероятно, обусловлено вкладом отдельных локальных токов, возникающих между электропроводящими металлическими НЧ, близко расположенными в диэлектрической полимерной матрице.

ГЛАВА 3. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОПОЛИМЕРОВ 1-ВИНИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛА С N-ВИНИЛПИРРОЛИДОМ И НАНОКОМПОЗИТОВ НА ИХ ОСНОВЕ

Исследована биологическая сополимера ВТ-ВП 2 (СПЛ), НК с наночастицами Ag (6 и 9), Au (15 и 17) и Fe (23). Детали экспериментов представлены в главе 0 данной работы, в разделе «4.5. Исследования биологических свойств».

3.1. Токсичность и антимикробная активность сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и нанокompозитов с наночастицами серебра и оксидов железа

Изучение токсичности сополимеров и металлсодержащих нанокompозитов и их воздействие на живой организм является важным в процессе создания новых лекарственных форм. Препараты, содержащие в своем составе наноразмерные металлические частицы, являются эффективным антимикробными и противовирусными агентами [84, 216–218]. Высокая антибактериальная активность наночастиц обусловлена, в частности, их развитой поверхностью, которая обеспечивает максимальный контакт с окружающей средой.

Токсичность сополимера и нанокompозита с наночастицами серебра на его основе.

Совместно с сотрудниками ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека была изучена токсичность СПЛ и НК-Ag 9.

В процессе проведения эксперимента была установлена хорошая переносимость исследуемых препаратов животными (отсутствие симптомов интоксикации и гибели). При введении исследуемых соединений в препаративной дозе 5000 мг/кг в 0.5 мл физиологического раствора клиническая картина после введения субстанции не отличалась от нормальной. На протяжении всего периода наблюдения общее состояние и поведение животных всех экспериментальных групп соответствовало обычному. Различий в массе между опытными и контрольными животными не наблюдалось. Также не выявлено половых различий в чувствительности к исследуемым субстанциям при данном способе введения.

При вскрытии мышей, умертвленных в конце эксперимента (через 14 дней) а также на вскрытии контрольных животных различий при макроскопическом обследовании между ними не установлено. Внутренние органы были без изменений, кровоизлияний не наблюдалось.

Таким образом, при однократном внутрижелудочном введении исследуемых субстанций в дозе 5000 мг/кг установлена хорошая переносимость препаратов, отсутствие симптомов интоксикации и гибели животных. Установлено, что величина LD₅₀ для СПЛ и НК-Ag 9 на его основе лежит за пределами 5000 мг/кг и характеризуется для белых мышей как малоопасная (4 класс по ГОСТ 12.1.007-76).

Антимикробная активность нанокompозитов в отношении различных грамположительных и грамотрицательных штаммов

Совместно с сотрудниками ФГБНУ Иркутский научный центр хирургии и травматологии (зав. лаб. д.б.н. Т.В. Фадеева) исследована антимикробная активность СПЛ, НК-Ag 6 и НК-Fe 23.

Исследование антимикробной активности полученных соединений проводили методом репликаций на музейных тест-штаммах, а также на штаммах микроорганизмов, выделенных от больных гнойно-септического центра. Исследование вели в отношении различных клинических штаммов: грамположительных микроорганизмов – *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* грамотрицательных бактерий – *E. coli*, *Klebsiella*, а также неферментирующих бактерий – *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных от больных с гнойной инфекцией (табл. 12).

Сополимер не проявляет антибактериальных свойств в указанном диапазоне концентраций (табл. 13). В свою очередь НК-Ag 6 проявляет практически одинаковый антимикробный эффект в отношении как грамотрицательных, так и грамположительных музейных и госпитальных штаммов. Минимальные концентрации, подавляющие рост большинства микроорганизмов, составляют: бактериостатическая – от 0.5 до 8 мкг/мл, бактерицидная концентрация – от 0.5 до 16 мкг/мл.

Таблица 12. Антимикробная активность нанокompозита НК-Ag 9 по отношению к различным штаммам грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Вид микроорганизма	Минимальная ингибирующая / бактерицидная концентрация [МИК/МБК], мкг/мл								
	500-32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125
	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-- / --	-- / --	-- / --	-- / --	-- / --	-- / --	-- / --	++ / ++	++ / ++
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-- / --	-- / --	-- / --	-- / --	-- / ++	-- / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	-- / --	-- / --	-- / --	-- / --	-- / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++
<i>S. aureus</i> ATCC 29523	-- / --	-- / --	-- / --	-- / --	-- / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-- / --	-- / --	-- / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++

Таблица 13. Антимикробная активность СПЛ по отношению к различным штаммам грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Вид микроорганизма	Минимальная ингибирующая / бактерицидная концентрация [МИК/МБК], мкг/мл								
	500-32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125
	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК	МИК/МБК
<i>E. coli</i> ATCC 25922	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++
<i>S. aureus</i> ATCC 29523	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++	++ / ++

(-) рост тест-штаммов микроорганизмов не обнаружен; (+) наличие роста тест-штаммов микроорганизмов.

Согласно литературным данным [219] к действию серебра более чувствительны грамотрицательные бактерии. Грамположительные и грамотрицательные бактерии имеют различную структуру клеточных стенок. У грамотрицательных бактерий жесткий слой с гидрофильными каналами (~2–3 нм), вероятно, обеспечивает лучшее связывание с наноккомпозитом серебра, чем у грамположительных бактерий (20–60 нм).

Наиболее чувствительной к действию НК оказалась грамотрицательная бактерия *E. Coli*: МИК и МБК составили 0.5 мкг/мл. Для другой грамотрицательной бактерии, *P. aeruginosa*, МИК составляет 1 мкг/мл, МБК – 4 мкг/мл. Для микроорганизмов *K. pneumoniae* и *S. aureus* данные совпадают (МИК – 2 мкг/мл и МБК – 4 мкг/мл). Наиболее высокие значения МИК и МБК (8 и 16 мкг/мл, соответственно) данный наноккомпозит проявил в отношении грамположительного штамма *E. Faecalis*.

При оценке антибактериальных свойства НК-Fe **23** на штаммах *E. coli* (грамотрицательный) и *S. aureus* (граммположительный) (табл. 14 и 15, соответственно) установлено, что опытные концентрации Fe-1 в виде растворов 10 мкг/мл обладают ростстимулирующим действием для *E. coli*. Концентрации 100 мкг/мл вызывают бактериостатическое действие для *E. coli* через 24 часа, с еще более резким сокращением количества микробных клеток через 3 часа для 500 и через 2 часа для концентрации 1000 мкг/мл 500 (Рис. 31, а и б, соответственно).

Относительно тест-штамма *S. aureus* опытные концентрации раствора НК-Fe **23** 10 и 100 мкг/мл (Рис. 32, а) вызывают через 3 часа достоверное сокращение микробных клеток с более выраженным бактериостатическим действием для концентрации 500 и 1000 мкг/мл (Рис. 32, б и в соответственно). Бактерицидный эффект в отношении *S. aureus* начинает проявляться только через 24 часа культивирования, однако в более широком диапазоне концентраций 100–1000 мкг/мл.

Таблица 14. Антибактериальное действие различных концентраций нанокompозита НК-Fe **23** на *E. coli* ATCC 25922.

Время действия, ч	Количество колоний на твердых питательных средах ($M^1 \pm m^2$)				
	Контрольная группа (n=6)	Опытные группы			
		1	2	3	4
		10 мкг/мл (n=6)	100 мкг/мл (n=6)	500 мкг/мл (n=6)	1000 мкг/мл (n=6)
0.5	1491±86	1681.3±33.5*	1637±210	1325.8±167.1	334±23.3**
1	1445.7±77	1397±27.7	1512.2±132.2	1142.5±142.3**	103.3±8.9**
2	1434.5±92.7	1331.8±62.3*	1324.5±277.6	969.7±94.4**	16.3±3.7**
3	1267.3±153.3	1055.7±24.1	1274.7±135.1	786.7±177.6**	0
24	712.2±52.6	1123.8±17.1**	543.5±76.7*	0	0

Таблица 15. Антибактериальное действие различных концентраций нанокompозита НК-Fe **23** на *S. aureus* ATCC 25923.

Время действия, ч	Количество колоний на твердых питательных средах ($M \pm m$)				
	Контрольная группа (n=6)	Опытные группы			
		1	2	3	1
		10 мкг/мл (n=6)	100 мкг/мл (n=6)	500 мкг/мл (n=6)	10 мкг/мл (n=6)
30	1885.5±100.6	1998±45.9	1511±255.7*	1508.5±28.7**	1223.5±75.9**
60	1754.7±106.6	1736.3±37.9	1791.7±60.2	1143.5±115**	1017±55.9**
120	1770.5±13.2	2096.8±38.7**	1679.3±159.7	941.3±41.2**	590.7±40.5**
180	1698.7±55.2	1223.167±37.3**	1499±12.1**	329.2±62.5**	262.7±20.8**
24	582.5±29.6	436.2±37.5**	0**	0**	0**

* $p^3 < 0.05$; ** $p < 0.01$; – нет роста.

¹ М – средние значения колоний на твердых питательных средах.

² m – среднеквадратичные ошибки.

³ p – уровень достоверности.

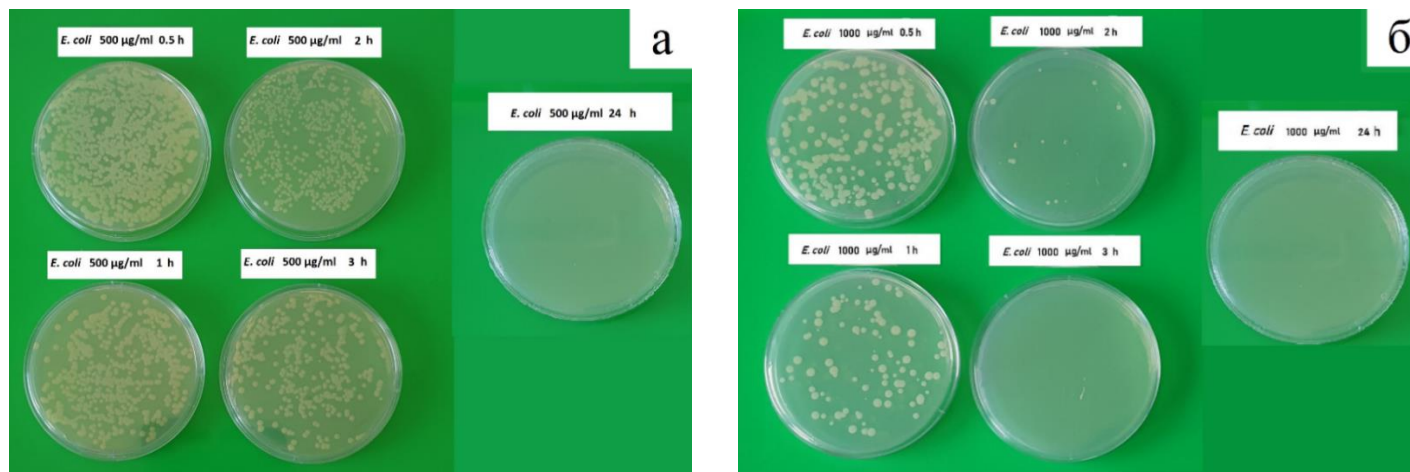


Рис. 31. Влияние НК-Fe **23** в концентрациях 500 (а) и 1000 мкг/мл (б) на рост колоний *E. Coli* в течении 0.5, 1, 2, 3 и 24 часов культивирования

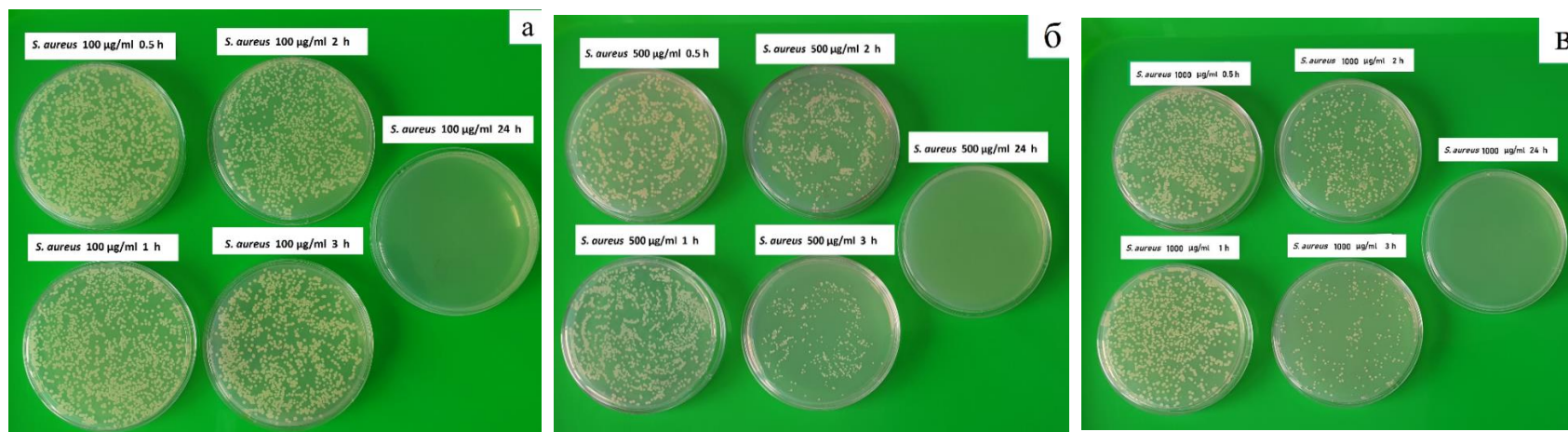


Рис. 32. Влияние НК-Fe **23** в концентрациях 100 (а). 500 (б) и 1000 мкг/мл (в) на рост колоний *S. aureus* в течении 0.5, 1, 2, 3 и 24 часов культивирования

Проведенные исследования могут быть положены в основу создания новых эффективных препаратов медицинского назначения для лечения инфекционных заболеваний, в том числе в хирургической практике для создания антимикробных покрытий.

3.2. Иммуномодулирующие свойства сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и нанокомпозитов с наночастицами серебра и золота

В настоящее время актуальным направлением в медицине является создание иммуномодулирующих препаратов, повышающих эффективность специфической иммунотерапии и иммунопрофилактики и оказывающих регулирующее действие на иммунную систему, с целью снижения инфекционной заболеваемости. К таким препаратам предъявляется ряд требований: низкая токсичность по отношению к нормальным клеткам, отсутствие стимулирующего влияния на процессы васкуляризации и метастазирования, а также провоспалительного действия. Перспективными в этом направлении являются водорастворимые полимерные материалы и органо-неорганические полимерные нанокомпозиты с наночастицами различных металлов.

Совместно с сотрудниками ФКУЗ Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора проведены исследования иммуномодулирующих свойств указанных образцов. Цель – изучить действие сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и его нанокомпозитов на функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы в условиях *in vitro*.

Предварительно была исследована острая токсичность полимерных нанокомпозитов и их действие на функциональное состояние клеток иммунной системы в условиях *in vitro*. Исследования проводились для образцов СПЛ, НК-Ag 6 и 9, НК-Au 15 и 17.

При испытаниях установлено, что при однократном подкожном введении

указанных сополимеров, НК-Ag и НК-Au (независимо от содержания металла) в дозах 1.0, 0.1 и 0.01 г сухого вещества на кг веса животного они не вызывали гибели белых мышей, а также повышения температуры и уменьшения массы тела по сравнению с исходной группой.

Важно отметить, что при подкожном введении НК-Au с большим содержанием золота (НК-Au **17**) в дозах 1.0 и 0.1 г/кг веса у экспериментальных животных в месте введения появляются некроз и яркое окрашивание в черный цвет подлежащей ткани. Кроме того, в случае применения НК-Au **17** в дозе 1.0 г/ кг печень дрябловатая, глинистого цвета, что может указывать на развитие интоксикации. При введении НК-Au с меньшим содержанием золота (НК-Au **15**) таких признаков выявлено не было.

Установленная LD₅₀ для всех препаратов составила 1000 мкг/кг (3 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76).

Первый этап исследований иммуноадьювантных свойств сополимера и НК на его основе – определение суммарной активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФД) и супероксиддисмутазы (СОД).

Установлено, что применение сополимера или нанокомпозигов способствует повышению ИС (индекс стимуляции) ферментов окислительного взрыва (Г6ФД) по сравнению с контролем, при этом наиболее выраженный эффект выявлен в случае применения НК (Рис. 33, табл. 16).

Активность Г6ФД перитонеальных макрофагов, примированных НК-Ag **6** в дозах 10, 20, 30 и 40 мкг, не установлены различия между дозами, тем не менее ИС статистически значимо ниже, чем НК-Au **15** (Рис. 33).

НК-Ag **9** и НК-Au **17** в дозе 30 мкг на 10⁶ клеток/мл статистически значимо повышают активность Г6ФД перитонеальных макрофагов (ПМ) морских свинок по сравнению с СПЛ (табл. 16). Так, ИС в случае применения, НК-Au **17** в 2.1 раза, а НК-Ag **9** – в 2.5 раза выше, чем данный показатель у фагоцитов, примированных СПЛ. Следует отметить, что в пробах с клетками, стимулированными НК-Au **17** в дозе 20 мкг/мл, ИС Г6ФД был достоверно в среднем в 1.4 раза выше, чем в аналогичных пробах с СПЛ и НК-Ag **9**. В

меньших дозах значимых различий между интактными клетками и пробами с СПЛ и нанокомпозитами не установлено.

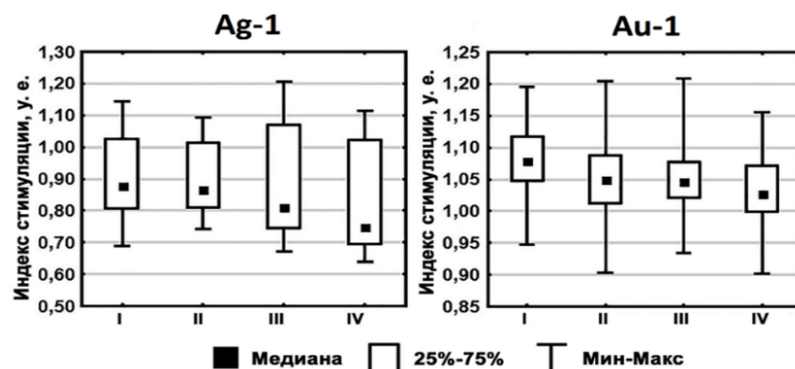


Рис. 33. Индекс стимуляции Г6ФД перитонеальных макрофагов под влиянием НК-Ag **6** (Ag-1), НК-Au **15** (Au-1), Ме (Q25%–Q75%). Концентрация, мкг/мл: I –40, II –30, III – 20, IV –10.

Таблица 16. Влияние сополимера и нанокомпозитов на показатели функционального состояния фагоцитов морских свинок.

Препарат	ИС, %	
	Г6ФД	СОД
СПЛ	2.1	1.0
НК-Ag 9	5.3*	13.8
НК-Au 17	4.4*	35.2**

* – $P < 0.05$; ** – $P < 0.01$ по сравнению с СПЛ.

НК-Au **15** в высокой дозе 40 мкг стимулируют активность СОД, превышая показатели в контроле в среднем в 1.3 и 1.2 раза соответственно (Рис. 34).

Также было установлено, что СПЛ, НК-Ag **9**, НК-Au **17** достоверно повышают активность супероксиддисмутазы (СОД) фагоцитов по сравнению с контролем (интактные клетки). Тем не менее, в случае применения НК-Au **17** показатель ИС клеток иммунофагоцитарной системы достоверно в 2.5 раза превышает ИС фагоцитов, примированных НК-Ag **9** (табл. 16). Следует отметить, что активность СОД также стимулировал НК-Au **15** в дозе 40 мкг, но в гораздо меньшей степени, чем НК-Au **17**, что также объясняется снижением содержания металла в составе НК.

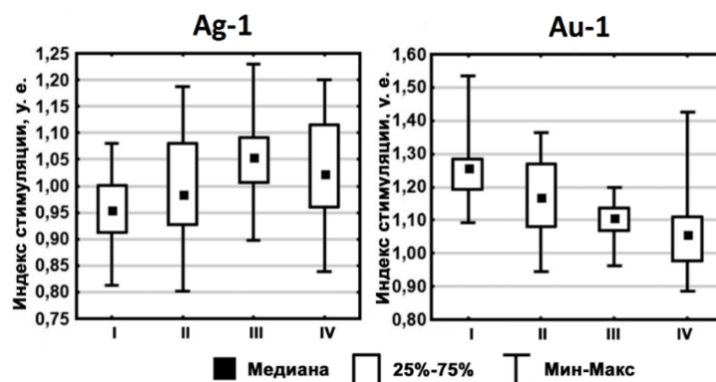


Рис. 34. Индекс стимуляции СОД перитонеальных макрофагов под влиянием НК-Ag 6 (Ag-1), НК-Au 15 (Au-1), Me (Q25%–Q75%). Концентрация, мкг/мл: I –40, II –30, III – 20, IV –10.

Таким образом, сравнительный анализ действия нанокompозитов и сополимера на функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы опытных животных и клеток крови человека показал, что нанокompозиты в условиях *in vitro* обладают способностью повышать активность фермента окислительного взрыва (Г6ФД) и антиоксидазные свойства (СОД) фагоцитов только при высоком содержании металла (НК-Ag 9 и НК-Au 17). СПЛ в дозах 20 и 30 мкг/мл не вызывает повышения функциональной активности фагоцитов в условиях *in vitro*.

Следующим этапом в исследовании стала оценка влияния тестируемых препаратов на спонтанную и индуцированную продукцию провоспалительных (TNF- α и IFN- γ) и противовоспалительных (IL-4) цитокинов лимфоцитами периферической крови. Согласно полученным результатам, тестируемые препараты обладают способностью стимулировать продукцию противо- и провоспалительных цитокинов клетками крови человека в условиях *in vitro* (табл. 17, Рис. 35).

Экспериментально показано, что НК-Au 15 в дозах 10, 20 и 40 мкг повышает продукцию TNF- α в среднем в 12.3 раза по сравнению со спонтанными пробами (табл. 17). Достоверных различий эффектов действия НК при сравнении друг с другом независимо от дозы обнаружено не было.

Таблица 17. Спонтанная и индуцированная нанокompозитами продукция цитокинов (IFN- γ , TNF- α , IL-4) клетками крови, Me (Q25%–Q75%).

Препарат	Доза, мкг/мл	IFN- γ , пг/мл	TNF- α , пг/мл	IL-4, пг/мл
Референсные значения	—	0–14	1–42	0–2.4
Контроль	—	180 (100–280)	60 (60–550)	0 (0–1.0)
НК-Ag 6	10	155 (65–250)	495 (60–1235)	0 (0–1.0)
	20	65 (10–230)	345 (60–775)	1.0 (0.3–2.1)
	30	160 (90–200)	495 (140–1000)	1.8 (1.0–2.3)*
	40	180 (110–270)	345 (100–700)	1.0 (0.5–1.3)*
НК-Au 15	10	110 (10–300)	850 (140–1000)*	1.0 (0–1.5)
	20	10 (10–200)	850 (140–1150)*	1.5 (1.0–1.6)*
	30	10 (10–260)	400 (140–1000)	1.0 (0.5–1.5)
	40	110 (10–240)	550 (140–850)*	1.5 (1.0–2.0)*

* – $p < 0.05$ при сравнении с показателем в контроле.

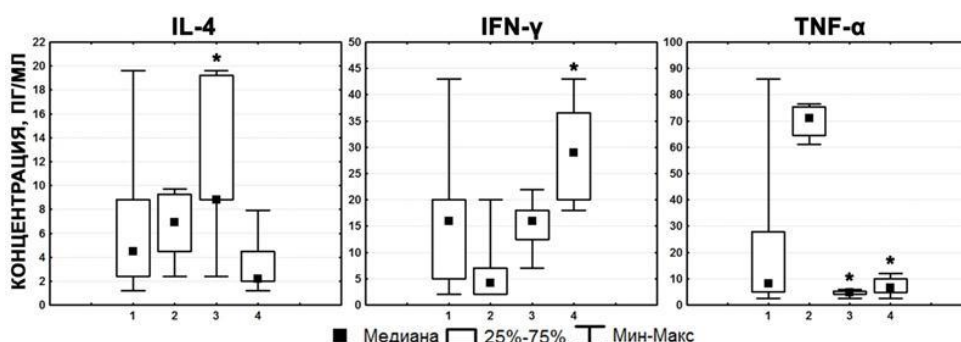


Рис. 35. Продукция цитокинов: 1 – группа образцов со спонтанной продукцией цитокинов; и группа образцов, индуцированных: 2 – СПЛ; 3 – НК-Au 17; 4 – НК-Ag 9.

При анализе продукции IFN- γ было показано, что отличий между спонтанной и индуцированной нанокompозитами продукцией IFN- γ выявлено не было, однако имела место тенденция к повышению концентрации данного цитокина в сравнении с показателями в контроле.

Установлено, что НК-Ag 6 в дозах 30 и 40 мкг и НК-Au 15 – 20 и 40 мкг вызывают повышение синтеза IL-4 по сравнению с контролем. У всех тестируемых препаратов при сравнении их действия на продукцию IL-4 с показателями в контроле отмечалась тенденция к повышению концентрации

данного цитокина.

Установлено, что в группе 4, в которой клетки индуцировались НК-Au (см. гл. 4.5), значение медианы концентрации IL-4 достоверно в 3.7 раза выше, чем в контроле, а в группах 2 и 4 – в среднем в 3.6 раза, чем в группе 3, индуцированной НК-Ag. Продукция IFN- γ в пробе 3 достоверно в 1.2 раза выше как в контроле, так и в пробах 2 и 4. Выработка лимфоцитами крови человека TNF- α в пробах 1 и 2 статистически значимо выше в среднем в 9.1 раза, чем в пробах 3 и 4 (Рис. 35). Также, концентрация IL-4 лимфоцитами, стимулированными СПЛ и НК-Au 17, выше, а продукция IFN- γ ниже, чем в случае применения НК-Ag 6 и 9. Кроме того, сополимер статистически значимо повышает продукцию TNF- α лимфоцитами крови человека, в отличие от НК-Ag 9, НК-Au 17.

Таким образом, установлено разнонаправленное действие исследуемых сополимеров и нанокомпозитов в условиях *in vitro* на продукцию цитокинов клетками крови человека. СПЛ, НК-Ag и НК-Au (независимо от содержания металла) достоверно повышали концентрацию IL-4, а сополимер и НК-Au – TNF- α . Тем не менее, у всех тестируемых препаратов независимо от дозы показана тенденция к увеличению синтеза IL-4.

Важно отметить, что показатели продукции цитокинов в контрольной (спонтанной) пробе, т.е. лимфоциты крови человека не стимулированные металлсодержащими нанокомпозитами или сополимером, не превышали значений цитокинового статуса в норме (согласно инструкции тест-системы).

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшего комплексного исследования действия сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и нанокомпозитов на их основе с наночастицами различных металлов на функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*.

3.3. Биотестирование антибактериального потенциала сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и нанокомпозитов с наночастицами серебра и золотана в отношении высших грибов

Отсутствуют сведения, связанные с выявлением и исследованием действия соединений предлагаемой в данной работе химической природы в отношении высших грибов – продуцентов уникального комплекса биологически активных веществ, представляющих большой теоретический и практический интерес как источник субстанций с антибактериальными свойствами. Актуальным является поиск индукторов повышения уровня антимикробных субстанций в культурах съедобных грибов как объектов, характеризующихся биотехнологически ценной возможностью выращивания в контролируемых и легко воспроизводимых условиях (лаборатории или производства) в присутствии нетоксичных искусственных компонентов питательных сред.

Исследования биологической активности на образцах грибного происхождения проводились совместно с сотрудниками ФГБУН института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов). В качестве образцов изучались препараты СПЛ, НК-Ag **9** и НК-Au **17**.

Влияние сополимеров и нанокомпозитов на ростовые процессы высших грибов

Обнаружены изменения морфолого-культуральных признаков как ответ на последствия введения химических нанокомпозитов в состав питательных сред грибов; оценена чувствительность биотеста в зависимости от вида гриба и условий выращивания.

Выявлено влияние сополимера и нанокомпозитов на ростовые характеристики грибов в условиях искусственной культуры. Исследования проводили на девяти штаммах разных видов ксилотрофных базидиомицетов – представителей родов *Flammulina*, *Ganoderma*, *Grifola*, *Laetiporus*, *Lentinula*, *Pleurotus*, *Tomophagus*.

Общая картина экзогенного действия нанокompозитов и использованного для сравнения СПЛ как компонентов агаризованных сред показала весьма слабое стимулирование или даже ингибирование роста микрокультур в вариантах опыта с используемыми добавками СПЛ (табл. 18). Композит НК-Ag **9**, несмотря на антимикробные свойства серебросодержащей субстанции, не снижал и даже в некоторой степени повышал скорость освоения мицелием агаризованного субстрата. Композит НК-Au **17** не оказывал существенного влияния на ростовые характеристики культур базидиомицетов.

По результатам твердофазного выращивания мицелия можно составить последовательность в порядке убывания положительного отклика культур на присутствие полимерных химических субстанций в среде (К – контроль без добавок): НК-Ag **9**>НК-Au **17**>К>СПЛ. Ростостимулирующая активность выявлена для всех изученных препаратов, синтезированных химическим путем, в отношении базидиомицетов *Flammulina velutipes*, *Ganoderma colossus*, *Ganoderma lucidum*, *Ganoderma neojaponicum*, *Grifola umbellata*, *Laetiporus sulphureus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Tomophagus cattienensis*.

Влияние препаратов грибного происхождения при введении полимерных добавок в процесс выращивания на бактериальные фитопатогены

Проведено погруженное культивирование всех вышеуказанных культур штаммов, получены препараты из базидиомицетов (см. гл. 4.5). Целевые биокомпозиты представляли собой биополимерные образцы грибного происхождения, полученные на основе внеклеточных метаболитов. Культуры выращивали в присутствии СПЛ, НК-Ag **9** и НК-Au **17** ($1 \cdot 10^{-4}$ моль/л по элементу) или в отсутствии этих добавок в исходной питательной среде (контроль). Таким образом получили 50 образцов для тестирования антимикробной активности.

Таблица 18. Интервал величин скоростей роста (мм/сут) мицелия базидиомицетов в присутствии полимерных добавок.

Базидиомицет	Добавка			
	Без добавок	СПЛ	НК-Ag 9	НК-Au 17
<i>Flammulina velutipes</i> 0535	$(3.8-6.6) \pm 0.12$	$(3.0-6.2) \pm 0.16$	$(6.0-8.2) \pm 0.23$	$(4.5-6.8) \pm 0.20$
<i>Ganoderma colossus</i> SIE1301	$(2.0-5.6) \pm 0.18$	$(1.8-5.0) \pm 0.26$	$(2.9-8.8) \pm 0.31$	$(2.0-5.6) \pm 0.25$
<i>Ganoderma lucidum</i> 1315	$(2.9-7.7) \pm 0.21$	$(2.7-7.6) \pm 0.29$	$(3.3-8.4) \pm 0.35$	$(2.8-8.2) \pm 0.42$
<i>Ganoderma neojaponicum</i> SIEbgm	$(4.5-6.6) \pm 0.33$	$(4.5-6.6) \pm 0.31$	$(5.8-8.4) \pm 0.39$	$(4.8-6.8) \pm 0.41$
<i>Grifola umbellata</i> 1622	$(7.7-8.3) \pm 0.37$	$(6.7-8.2) \pm 0.40$	$(7.8-12.1) \pm 0.71$	$(7.7-11.7) \pm 0.76$
<i>Laetiporus sulphureus</i> 120707	$(3.3-7.0) \pm 0.39$	$(2.3-6.9) \pm 0.50$	$(4.0-7.6) \pm 0.50$	$(3.3-7.3) \pm 0.35$
<i>Lentinula edodes</i> F-249	$(3.3-4.9) \pm 0.49$	$(3.3-4.9) \pm 0.59$	$(3.6-5.7) \pm 0.83$	$(3.4-5.2) \pm 0.42$
<i>Pleurotus ostreatus</i> 69	$(2.5-5.6) \pm 0.37$	$(2.3-5.6) \pm 0.27$	$(3.4-7.3) \pm 0.48$	$(2.5-5.6) \pm 0.64$
<i>Tomophagus cattienensis</i> SIE1302	$(2.4-5.0) \pm 0.31$	$(2.1-4.5) \pm 0.63$	$(4.7-7.3) \pm 0.79$	$(3.0-5.9) \pm 0.92$

По результатам определения бактерицидной активности с *Micrococcus luteus* B-109, *Pectobacterium atrosepticum* 1043, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 603, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* MI, *Pseudomonas fluorescens* EL-2.1, *Xanthomonas campestris* B-610 отобрали 20 образцов, характеризовавшихся ненулевой активностью против бактериальных тест-систем. Указанные биообразцы описаны в табл. 19.

Таблица 19. Препараты грибного происхождения с бактерицидной активностью.

№ п/п	Продуцент биокомпозита	Добавка
1	<i>Ganoderma colossus</i> SIE1301	—
2	<i>Laetiporus sulphureus</i> 120707	—
3	<i>Pleurotus ostreatus</i> HK352	—
4	<i>Tomophagus cattienensis</i> SIE1302	—
5	<i>Flammulina velutipes</i> 0535	СПЛ
6	<i>Ganoderma colossus</i> SIE1301	СПЛ
7	<i>Ganoderma lucidum</i> 1315	СПЛ
8	<i>Lentinula edodes</i> F-249	СПЛ
9	<i>Ganoderma neojaponicum</i> SIEbgm	СПЛ
10	<i>Laetiporus sulphureus</i> 120707	СПЛ
11	<i>Ganoderma colossus</i> SIE1301	HK-Ag 9
12	<i>Ganoderma neojaponicum</i> SIEbgm	HK-Ag 9
13	<i>Laetiporus sulphureus</i> 120707	HK-Ag 9
14	<i>Flammulina velutipes</i> 0535	HK-Au 17
15	<i>Ganoderma colossus</i> SIE1301	HK-Au 17
16	<i>Ganoderma lucidum</i> 1315	HK-Au 17
17	<i>Laetiporus sulphureus</i> 120707	HK-Au 17

Графические зависимости количественного показателя бактерицидной активности от состава изучаемых грибных субстанций выглядели неодинаково для разных тест-систем (Рис. 36).

В зависимости от бактериальной тест-системы, от **6** до **9** из указанных в табл. 19 биообразцов характеризовались величиной ширины зоны ингибирования не менее 4 мм (табл. 20). Наиболее высокой активностью отличались образец **17** – *L. Sulphureus* + **HK-Au 17**.

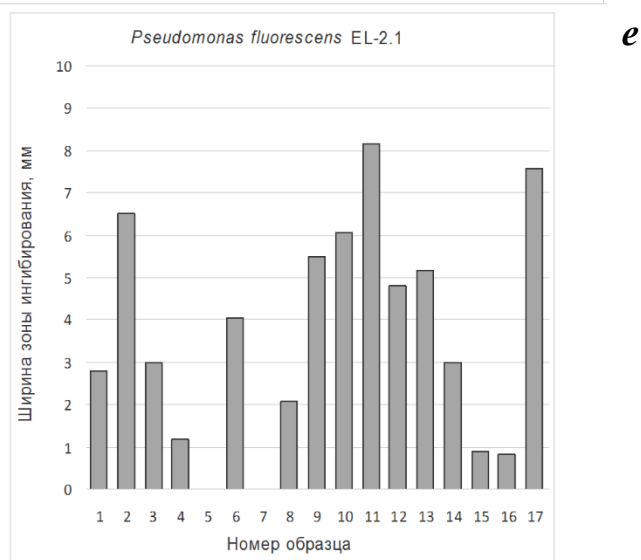
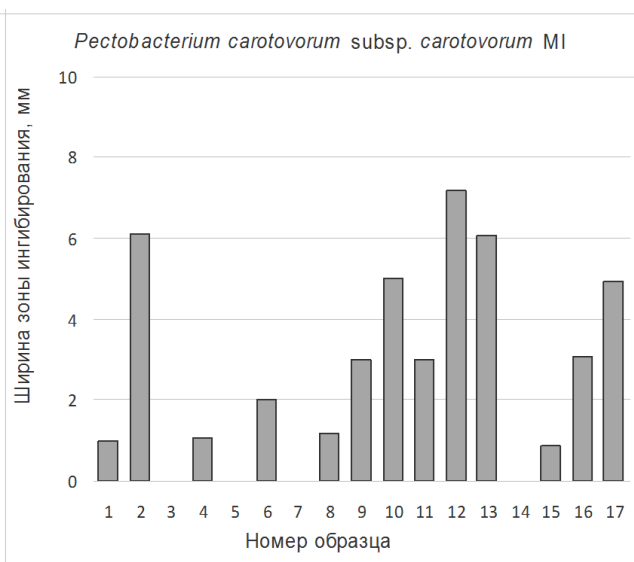
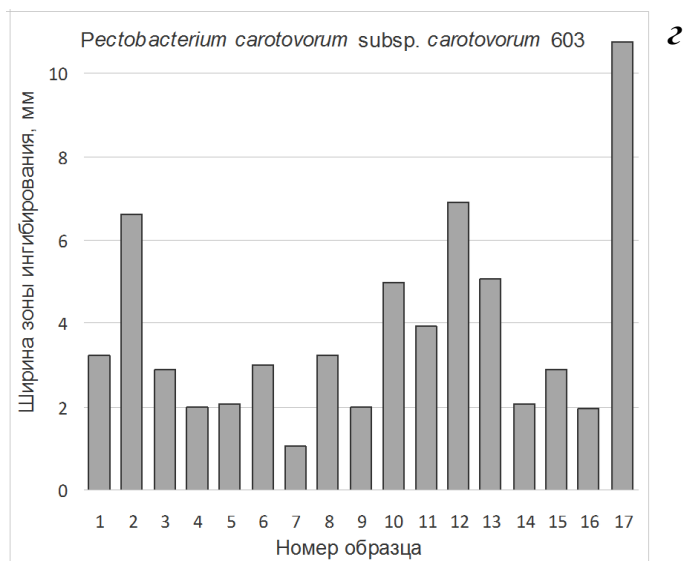
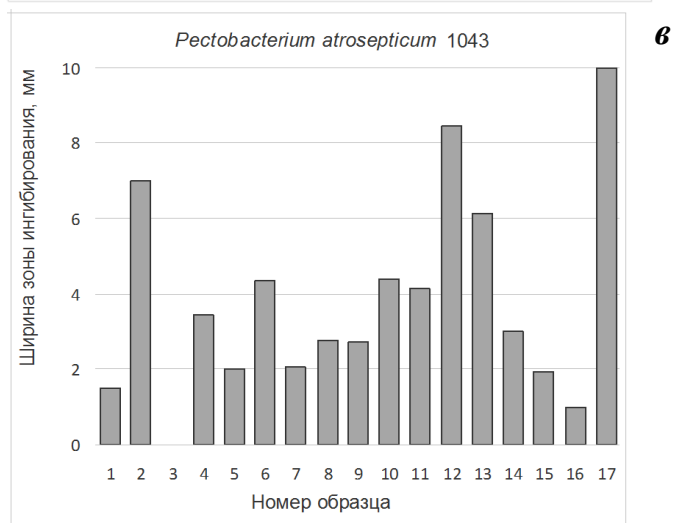
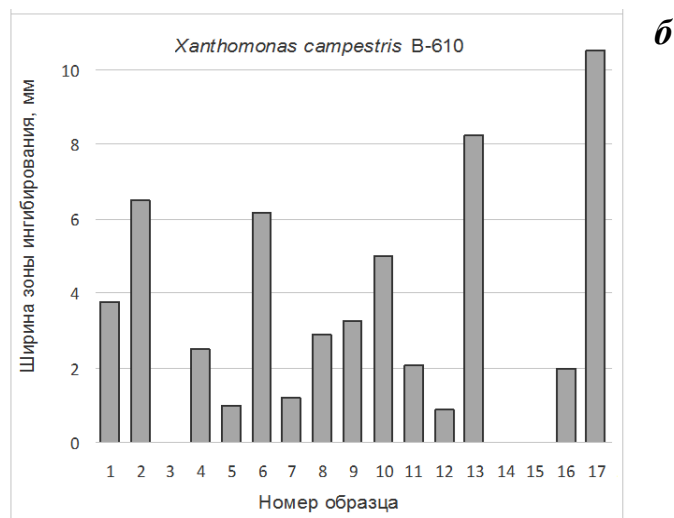
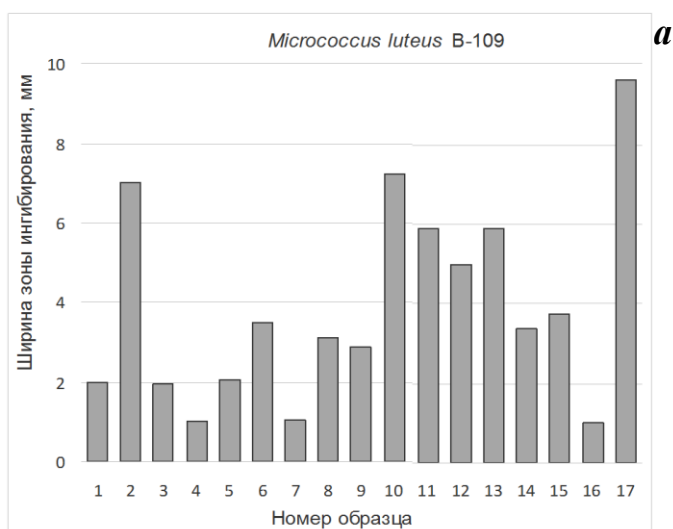


Рис. 36. Влияние биокомпозитов грибного происхождения (табл. 19) на *M.s luteus* B-109 (а), *X. campestris* B-610 (б), *P. atrosepticum* 1043 (в), *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* 603 (г), *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* MI (д) и *P. fluorescens* EL-2.1.

В отличие от перечисленных бактерицидных агентов, биообразцы **15** и **16** только в единичных случаях проявляли способность формировать зону ингибирования роста фитопатогенов шириной не менее 8 мм. Другие грибные препараты обладали более низкой активностью (Рис. 36, а-б).

Таблица 20. Сравнительная бактерицидная активность биообразцов грибного происхождения (табл. 19).

Бактериальная тест-система	Ширина зоны ингибирования, мм, не менее			
	10	8	6	4
<i>Micrococcus luteus</i> B-109	15	20>12	10>2	14>16>15
<i>Pectobacterium atrosepticum</i> 1043	20	12>15	2>16	6>14
<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i> 603	20	12	15>2	10>16
<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i> MI	–	12	15>2>16	20
<i>Pseudomonas fluorescens</i> EL-2.1	–	12>14	20>2>10	16>15>6
<i>Xanthomonas campestris</i> B-610	20>12	16	2>6	10

При значительных различиях в количественных характеристиках выявленной биоактивности (ширина зоны ингибирования для разных препаратов варьировала в пределах порядка величины) следует отметить явных «лидеров», биообразцы на основе которых обладали более высокими показателями в нашем эксперименте. Прежде всего это трутовик серно-желтый (*Laetiporus sulphureus*), опенок зимний (*Flammulina velutipes*), термофильный базидиомицет субтропической зоны *Ganoderma colossus*.

Таким образом, выявлена ростостимулирующая активность препаратов на основе сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном в отношении базидиомицетов. Охарактеризованы дифференциальные свойства коллекционных культур высших грибов в отношении характеристик изготовленных с их помощью элементсодержащих субмикроструктур для повышения эффективности подавления бактериальных фитопатогенов биопрепаратами грибного происхождения.

ГЛАВА 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Подготовка исходных соединений

1,2,4-триазол очищали путем перекристаллизации из этилового эфира уксусной кислоты.

1-винил-1,2,4-триазол синтезировали по методике [220] прямым винилированием 1,2,4-триазола ацетиленом ($\text{HC}\equiv\text{CH}$) под давлением 16 атм. в присутствии гидроксида калия в среде диоксана при 200 °С в течении 6 ч. После чего дважды перегоняли в вакууме ($T_{\text{кип}}=61\text{--}62\text{ °C} / 5\text{ мм рт. ст.}$) до получения фракции с соответствующим показателем преломления ($n_D^{20}=1.5100$). Выход 84%. Чистоту эксперимента подтверждали ЯМР и элементным анализом [220].

N-винилпирролидон фирмы «Sigma-Aldrich» (степень чистоты не ниже 98%) подвергали вакуумной перегонке на водяной бане, отбирая фракцию с $T_{\text{кип}}=64\text{--}65\text{ °C} / 4\text{ мм рт.ст.}$ ($n_D^{20}=1.5110$).

АИБН очищали от примесей многократной перекристаллизацией из абсолютированного этанола по методике [221].

Нитрат серебра, золото-хлористоводородную кислоту, монокристаллогидрат сульфата железа (II), боргидрид натрия, гидразин гидрат и оксид фосфора использовали марки «хч» без дополнительной очистки.

ДМФА очищали по следующей методике. Для освобождения ДМФА от возможных примесей на каждые 200 мл ДМФА брали 100 мл бензола и перегоняли смесь при атмосферном давлении на водяной бане, удаляя низкокипящую фракцию (до 80°С). Процедуру проводили дважды. Для удаления следов бензола ДМФА перегоняли при пониженном давлении. Перегнанный ДМФА выдерживали над гидроксидом калия, затем очищали перегонкой над прокаленным оксидом кальция при атмосферном давлении. ($T_{\text{кип.}}=153\text{ °C}$).

Ацетон сушили над цеолитами с порами 4 Å, после чего перегоняли на водяной бане при температуре 58 °С.

4.2. Получение (со)полимеров 1-винил-1,2,4-триазола и N-винилпирролидона

Гомополимеризация 1-винил-1,2,4-триазола (для сравнительных анализов). Навеску 2.63 г ВТ (4 моль/л) растворяли в 1 мл ДМФА, добавляли 0.06 г (10 ммоль/л) инициатора АИБН. Раствор выдерживали в стеклянной ампуле, предварительно вакуумированной и запаиванной, в течение 1.5 ч при 60°C. По окончании полимеризации содержимое ампулы охлаждали, разбавляли небольшим количеством ДМФА и осаждали смесью ацетона и этилового спирта в соотношении 3:1. ПВТ представляет собой белый волокнистый продукт, хорошо растворимый в воде и в диполярных органических растворителях. Выход ПВТ в виде порошка белого цвета составил 88%.

Гомополимеризация N-винилпирролидона (для сравнительных анализов) проводилась в водном растворе в присутствии 30%-ного раствора перекиси водорода, 25%-ного раствора аммиака в изотермическом режиме при 70–75°C. При этом смесь N-винилпирролидона, раствора перекиси водорода и раствора аммиака вводят дозированно в нагретую до 75°C воду в течение не более 30 минут [39]. Образовавшийся прозрачно-желтоватый блок растворяли в воде и подвергали диализу через мембрану с размером пор 5 кДа (MFPI, Cellu Sep H1) в течение 72 ч. ПВП выделяли лиофильной сушкой в виде плёнок белого цвета с выходом 82%.

Синтез сополимеров ВТ с ВП (общая методика). В стеклянную ампулу помещали ВТ и ВП ($\Sigma_{\text{мономеров}}=10$ ммоль/л), АИБН (0.05 ммоль/л) и ДМФА. Ампулы продували аргоном, запаивали и ставили в термостат при температуре 60°C в течении 1.5 ч при постоянном перемешивании. По окончании полимеризации содержимое ампулы охлаждали. По окончании полимеризации содержимое ампулы охлаждали, разбавляли небольшим количеством ДМФА и осаждали смесью ацетона и этилового спирта в соотношении 3:1. Сополимеры в виде порошков белого цвета получены с выходом до 85%.

Для расчёта количественного состава сополимеров использовали метод ^1H ЯМР спектроскопии, который применим в случаях, когда сигналы протонов повторяющихся звеньев полимера перекрываются, при условии наличия четко различимого сигнала одного из повторяющихся звеньев [210].

Химический сдвиг звена ВТ (с центром при δ 8.10 м.д.) был принят за эталонный. Его интегральная интенсивность (I) была нормирована к 2.

$$I_{8.10} = 2; N_{\text{ВТ}} = I_{8.10}/p_{8.10} = 2.00/2 = 1.$$

Мольное отношение между звеньями ($N_{\text{ВП}}/N_{\text{ВТ}}$) рассчитывается по соотношению интегральных интенсивностей ($I_{\delta\text{ВП}}/I_{\delta\text{ВТ}}$), с учетом числа протонов p_{δ} , соответствующих сигналу в спектре.

В интегральную интенсивность набора сигналов с химическими сдвигами от 1.10 до 2.45 м.д. (I_X , табл. 21) вносят вклад протоны метиленовых групп звеньев ВТ и ВП, а также α - и β -метиленовые протоны лактамного цикла. Для нахождения отношения ВП к ВТ необходимо определить пропорциональный вклад звеньев ВП и ВТ:

$$I_X = 6.08^* \text{ (на примере 3, Рис. 5)}$$

$$I_{(X(\text{ВТ}))} = I_{8.10} \times (p_{X(\text{ВТ})}/p_{8.10}) = I_{8.10} \times (2/2) = I_{8.10} = 2$$

Следовательно, отношение числа звеньев ВП к звеньям ВТ составляет

$$N_{\text{ВП}}/N_{\text{ВТ}} = (I_X - I_{(X(\text{ВТ}))}) / p_{X(\text{ВП})} = (6.08 - 2)/6 = 0.68$$

Согласно полученным расчетам, мольное соотношение звеньев ВТ:ВП составляет 1:0.68 (60% ВТ и 40% ВП)

Рассчитанные предложенным методом составы сопоставимы с расчетами по элементному анализу (углероду и азоту) по известной методике [221].

Таблица 21. Данные элементного анализа и ЯМР ^1H спектроскопии сополимеров ВТ–ВП 1–5.

№ п/п	Состав смеси, мол. доли		C, мас %	H, мас %	N, мас %	I_X , м.д	Состав сополимера, мол. доли	
	ВТ	ВП					ВТ	ВП
1	10	90	61.69	6.92	19.44	18.80	26	74
2	30	70	58.70	6.45	27.09	8.27	49	51

№ п/п	Состав смеси, мол. доли		С, мас %	Н, мас %	N, мас %	I _x , м.д	Состав сополимера, мол. доли	
	ВТ	ВП					ВТ	ВП
3	50	50	57.52	6.41	28.80	6.08	60	40
4	70	30	56.24	6.28	40.06	2.91	87	13
5	90	10	51.35	5.71	42.17	2.34	95	5

Фракционирование сополимеров (1, 2, 4) методом дробного осаждения [221]. В раствор сополимера в ДМФА постепенно добавляли осадителя – ацетон. После добавления каждой порции ацетона фракции сополимера в виде мелкодисперсного осадка отделяли от раствора и сушили в вакууме до постоянной массы. Следующую порцию осадителя добавляли к раствору сополимера. Для каждого сополимера было выделено по 6 фракций. Все фракции имеют одинаковый состав близкий к составу нефракционированного сополимера, идентичны по данным ИК и ЯМР спектров и различаются только по ММ (табл. 22).

Таблица 22. Фракции сополимеров*, взятые для синтеза НК 12–14.

Фракция сополимера	Соотношение ВТ : ВП	С, мас %	N, мас %	M _w , кДа	M _w /M _n
1*	26:74	61.26	19.22	35.9	1.37
2*	49:51	58.70	27.16	34.6	1.34
4*	87:13	56.34	40.13	35.4	1.35

4.3. Синтез нанокомпозитов на основе сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном

Синтез нанокомпозитов с наночастицами серебра. К 1.0 г (10 ммоль) сополимера, растворенного в 10 мл бидистиллированной воды, добавляли водный раствор соли, содержащий 0.021–0.327 г (0.12–1.93 ммоль) AgNO₃, интенсивно перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре, затем добавляли 0.007–0.109 г (0.18–2.89 ммоль) NaBH₄ и продолжали перемешивать в течение 6 ч. Концентрация реагентов в воде при восстановлении составляла 1.1 моль/л. Нанокомпозиты выделяли и очищали

двукратным осаждением в ацетон, промывали спиртом и сушили в вакууме при температуре 40 °С над P_2O_5 до постоянного веса. Получены нанокompозиты в виде порошков темно-коричневого цвета с выходом до 87%.

Синтез нанокompозитов с наночастицами золота. К 1.0 г (10 ммоль) сополимера (ВТ:ВП=49:51), растворенного в 15 мл бидистиллированной воды, добавляли 0.079–2.218 г (0.06–1.93 ммоль) водного раствора $HAuCl_4$, интенсивно перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре, затем добавляли 65%-ый раствор восстановителя, содержащий 0.013–0.370 г (0.41–11.16 ммоль) N_2H_4 , и продолжали перемешивать в течение 6 ч. Концентрация реагентов в воде при восстановлении составляла 0.5 моль/л. Нанокompозиты выделяли и очищали двукратным осаждением в ацетон, промывали спиртом и сушили в вакууме при температуре 40 °С над P_2O_5 до постоянного веса. Получены нанокompозиты в виде порошков темно-коричневого цвета с выходом 92%.

Синтез нанокompозитов с наночастицами железа. К 1.0 г сополимера (ВТ:ВП=49:51), растворенного в 10 мл бидистиллированной воды, добавляли 4 мл водного раствора, содержащего 0.067–0.268 г (0.24–0.96 ммоль) $FeSO_4 \cdot H_2O$, интенсивно перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Далее постепенно добавляли 65%-ый раствор, содержащий 0.046–0.185 г (1.5–5.8 ммоль) N_2H_4 , и продолжали перемешивать в течение 4 ч. В ходе реакции восстановления наблюдали изменение цвета реакционной среды от темно-зеленого до оранжево-коричневого. Нанокompозиты выделяли и очищали двукратным осаждением в ацетон, промывали спиртом и сушили в вакууме при температуре 40 °С над P_2O_5 до постоянного веса. Получены нанокompозиты в виде порошков темно-оранжевого цвета с выходом до 87%.

4.4. Физико-химические методы исследования

Спектры ядерного магнитного резонанса регистрировали на мультіядерном ЯМР-спектрометре Bruker DPX-400 с рабочей частотой (1H , 400.13 MHz; ^{13}C , 100.62 MHz), в $DMCO-d_6$ при 25 °С. В качестве внутреннего

стандарта использовали ГМДС.

Инфракрасные спектры получали на спектрометрах Varian FT–Raman, Varian FT–IR (Raman) «Vertex 70» в таблетках с KBr и в пленках.

Оптические спектры сополимеров и нанокомпозитов исследовали на спектрофотометре UV Perkin Elmer Lambda 9 (оптический диапазон составлял 200–900 нм).

Спектры электронного парамагнитного резонанса регистрировали на спектрометре FT Bruker ELEXSYS E-580 (X– 9,7 ГГц) в непрерывном режиме при следующих условиях: амплитуда модуляции 1.0 мТл, частота модуляции 100 КГц, постоянная времени 0.02 с, время конверсии 0.06 с, микроволновая мощность 0.6325 мВт, количество сканов от 1 до 10 в диапазоне развертки поля 600 мТл/центр поля 348 мТл, усиление 60 дБ при комнатной температуре.

Элементный анализ проводили на приборе «Flash E A 1112 SERIES» фирмы «Thermo Finnigan».

Атомно-абсорбционный анализ проводили на спектрометре Perkin Elmer модель AAnalyst 200.

Средневесовую ММ (M_w) и ММР (PDI) оценивали с помощью **гельпроникающей хроматографии**. Измерения проводили с использованием системы Shimadzu LC-20 Prominence (Shimadzu Corporation, Киото, Япония), оснащенной детектором дифференциального показателя преломления Shimadzu RID-20A и колонкой Agilent PolyPore 7.5 мм × 300 мм (PL1113-6500) при 50 °С. В качестве элюента использовали N,N-диметилформамид со скоростью потока 1 мл/мин. Растворение образцов проводили при 50 °С в течение 24 ч при перемешивании. Калибровку проводили с использованием серии полистирольных стандартов Polystyrene High EasiVials (PL2010-0201), состоящей из 12 образцов с молекулярной массой от 162 до 6 570 000 г/моль.

Термогравиметрический анализ и дифференциальную сканирующую калориметрию выполняли с использованием прибора синхронного термического анализа STA 449 Jupiter. Образцы нагревали от 40 до 1100 °С со скоростью 10 °С /мин в токе воздуха. Масса навесок составляла 5–7 мг. В ходе

всех экспериментов проводили контроль качественного и количественного состава газовых продуктов термоллиза с помощью квадрупольного масс-спектрометра Aelos. Энергия электронного удара 70 эВ.

Электрическую проводимость измеряли с использованием стандартного тераомметра Е6–13А. Исследуемые образцы готовили в виде таблеток путем прессования под давлением 700 кг/см².

Метод динамического светорассеяния выполняли на анализаторе фотонных частиц Zetasiser Nano-ZS (Malvern Instruments, Великобритания). Измерения гидродинамического диаметра частиц водных растворов золотосодержащих нанокмпозитов с концентрацией 0.1 мг/мл. проводились в термостатируемых кюветах с рабочей температурой 25 °С и углом регистрации рассеянного света 173°.

Рентгенофазовый анализ выполняли на порошковом дифрактометре D8 ADVANCE (Cu–излучение).

Сканирующая электронная микроскопия поверхностной морфологии образцов проводилась на сканирующем электронном микроскопе (ТМ-3000, HITACHI).

Просвечивающая электронная микроскопия нанокмпозитов проводилась совместно с сотрудниками ФГБУН Лимнологический институт СО РАН. Электронные микрофотографии сняты на трансмиссионном электронном микроскопе «LEO 906E» ("Zeiss", Германия).

Данные по размерам наночастиц были использованы для расчета D_w , D_n и PDI, представляющие собой средневесовые и среднечисленные диаметры наночастиц и индекс полидисперсности, соответственно. Расчет значений проводили с использованием следующих уравнений [222]:

$$D_n = \frac{\sum_i n_i D_i}{\sum_i n_i}$$
$$D_w = \frac{\sum_i n_i D_i^4}{\sum_i n_i D_i^3}$$
$$PDI = D_w / D_n$$

где n_i – количество частиц размера D_i .

Исследование токсичности (при внутрижелудочном введении) сополимеров и нанокомпозитов проводили сотрудниками ФГБУ «ВСНЦ ЭЧ» СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека (зав. лаб. Токсикологии, д.м.н. Л.М. Соседова) [99]. Исследования проводили на 48 беспородных белых мышах (24 самцах и 24 самках) массой 18-20 грамм. Животные были распределены на группы по 16 особей (8 самцов и 8 самок) методом рандомизации. В качестве критериев приемлимости рандомизации считали отсутствие внешних признаков заболеваний и гомогенность по весу тела. Животные первой группы получали сополимер, животные второй группы получали серебросодержащий нанокомпозит, препаративная доза составляла $5000 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ в 0.5 мл физиологического раствора. Животные третьей контрольной группы получали в эквивалентных дозах физиологический раствор. Введение исходного сополимера и серебросодержащего нанокомпозита осуществляли белым мышам до кормления однократно внутрижелудочно при помощи зонда. Длительность наблюдений за подопытными животными после введения препаратов составляла 14 дней. Работа с лабораторными животными осуществлялась согласно протоколу исследований в соответствии с Женевской конвенцией 1985 г о международных принципах биомедицинских исследований с использованием животных и Хельсинкской декларацией 2000 г. о гуманном отношении к животным.

Исследования антимикробной активности проводились сотрудниками ФГБНУ Иркутский научный центр хирургии и травматологии методом репликаций [223, 224] на музейных тест-штаммах, а также на штаммах микроорганизмов, выделенных от больных гнойно-септического центра.

Для сополимера и НК-Ag. Суточные культуры штаммов готовили методом десятикратных серийных разведений стерильным изотоническим 0.9% раствором NaCl (физиологический раствор), доводили до концентрации 10^4 – 10^5 КОЕ/мл. В экспериментальные стерильные чашки Петри вносили по 1 мл исследуемого препарата, в контрольные – по 1 мл исходного растворителя. В чашки Петри, в

эксперименте и в контроле, добавляли по 15 мл расплавленной и охлажденной среды МПА и Сабуро и быстро перемешивали. После застывания агара чашки подсушивали для удаления конденсата с поверхности среды, на которую затем бактериологической петлей наносили инокулят каждого тест-штамма бактерий и грибов в виде бляшек. Чашки инкубировали при 32–34°C в течение 48 часов. После окончания сроков инкубации, т.е. по появлению типичного роста тестируемых микроорганизмов, в контрольных чашках без препарата, фиксировали наличие или отсутствие роста тест-штаммов бактерий и грибов на средах, в которые вносили различные разведения препарата.

Для НК-Fe. Серию разведений водного раствора нанокompозита готовили в концентрациях 10, 100, 500, 1000 мкг/мл в стерильном 0.9% растворе NaCl. Для изучения антимикробной активности нанокompозита использовали стандартизированные по оптическому стандарту мутности МакФарланда (нефелометр Densi La METER II «Erba Lachema», Czech Republic) суспензии суточных контрольных штаммов микроорганизмов *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 25923 (Microtrol, Becton Dickinson, США) в концентрации $1.5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. Полученные суспензии поэтапно разводили стерильным физиологическим раствором до концентрации 10^6 КОЕ/мл. В пробирки с разведениями нанокompозита (1 мл) вносили по 50 мкл исследуемой бактериальной суспензии для получения необходимого окончательного инокулюма ($5 \cdot 10^5$ КОЕ/мл). Контрольные пробирки, выдержанные в тех же временных интервалах, содержали 1 мл физраствора без препарата и 50 мкл культуры для каждого испытуемого штамма. Каждый тест проводили в шести повторностях. С целью определения сокращения количества микроорганизмов через 0.5, 1, 2, 3 и 24 часа культивирования при комнатной температуре из опытных и контрольных пробирок производили мерный высеv (100 мкл) на чашки с агаром Мюллер–Хинтона («HiMedia», Индия). После 24-х часовой инкубации в термостате при 37°C подсчитывали количество выросших колоний. Производили статистическую обработку материала с подсчетом средних значений (M), их среднеквадратичных ошибок (m) и уровня достоверности (p).

Исследования иммуномодулирующей активности проведены сотрудниками ФКУЗ Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора. Образцы растворяли в забуференном физиологическом растворе (ЗФР).

Исследования проводили на 30 морских свинок (масса 200–250 г) и 100 белых беспородных мышах (18–20 г) обоих полов, стандартных по условиям содержания, полученных из питомника ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Животных выводили из эксперимента в соответствии с документами [225–227]. Количество животных для опыта подбирали с учетом получения статистически достоверных результатов. Для каждого срока наблюдения во всех сериях эксперимента материал брали от 5–10 морских свинок или белых мышей.

Для изучения **острой токсичности** было сформировано 10 групп по 10 особей белых мышей в каждой. Экспериментальные препараты вводили подкожно однократно в объеме 0.5 мл в дозах 1.0, 0.1 и 0.01 г сухого вещества на килограмм веса животного. Срок наблюдений составлял 7 суток. Каждый день проводился осмотр экспериментальных животных (внешний осмотр, взвешивание, измерение температуры тела). При вскрытии павших животных обращали внимание на изменения в паренхиматозных органах и месте введения препаратов. Среднелетальную дозу (LD_{50}) определяли по формуле:

$$LD_{50}=D_n - \delta(\sum Li - 0.5),$$

где n – общее число испытанных доз (разведений), D_n – максимальная доза из испытанных, δ – логарифм кратности разведений, Li – отношение числа животных, погибших от введения данной дозы, к общему числу животных, которым эта доза была введена.

Для изучения влияния с НК на функциональное состояние клеток морских свинок получали перитонеальные макрофаги согласно методическим рекомендациям [228]. Концентрацию клеток доводили до 10^6 клеток/мл. Макрофаги в условиях *in vitro* примировали сополимером или одним из нанокмпозитов в дозах 10, 20, 30 и 40 мкг/мл, в течение 60 мин при 37°C в

термостате. Контролем служили клетки интактных животных. Определение суммарной активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФД) и супероксиддисмутазы (СОД) проводили спектрофотометрическим методом [228].

При изучении действия экспериментальных препаратов на продукцию клетками крови цитокинов интерферон- γ (IFN- γ), фактор некроза опухоли- α (TNF- α) и интерлейкин-4 (IL-4) использовали кровь от 11 условно-здоровых добровольцев обоих полов в возрасте 28–60 лет. Уровень цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (г. Кольцово, Новосибирская область) согласно инструкции производителя и выражали в пг/мл.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA» версия 6.1 параметрическим критерием Стьюдента с поправкой Бонферрони и непараметрическим критерием Краскела-Уоллиса для сравнения нескольких независимых выборок. Полученные результаты выражали в виде медианы (Me) и диапазона квартильных отклонений (Q25, Q75). При этом различия считали достоверными при уровне значимости $P < 0.05$.

Изучение **спонтанной/индуцированной продукции цитокинов клетками крови человека** проводили в группах: 1 – образцы со спонтанной продукцией цитокинов (контроль); 2 – индуцированные сополимером; 3 – индуцированные полимерным НК-Ag; 4 – индуцированные НК-Au. Для этого гепаринизированную кровь в объеме 1 мл смешивали со средой RPMI-1640 (Пан-Эко, Россия) в соотношении 1:3. К 1 мл смеси добавляли тестируемые препараты в концентрации 10, 20, 30 и 40 мкг/мл и инкубировали в течение 24 часов при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в термостате.

Учет оптической плотности осуществляли на автоматическом ридере ELx 808 IU (Biotek Instruments Inc, США) при длине волны 340 нм в случае Г6ФД и 490 нм – для СОД. Об активации ферментов (Г6ФД и СОД) перитонеальных макрофагов судили по индексу стимуляции (ИС), который рассчитывали по формуле:

$$\text{ИС} = \text{ПО} / \text{ПК},$$

где ПО – показатель оптической плотности в опытной группе), ПК – показатели

оптической плотности в контрольной группе, значения ИС (индекс стимуляции) выражали в условных единицах (у.е.).

Исследования биологической активности на образцах грибного происхождения проводились сотрудниками ФГБУН института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов).

Для антибактериального тестирования экспериментальных образцов грибного происхождения использовали культуры *Flammulina velutipes* 0535, *Ganoderma lucidum* 1315, *Grifola umbellata* 1622, *Lentinula edodes* F-249 из коллекции кафедры микологии и альгологии Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (г. Москва), *Ganoderma colossus* SIE1301, *Ganoderma neojaponicum* SIEbgm, *Tomophagus cattienensis* SIE1302 из коллекции Отдела ботаники Южного Института Экологии (г. Хошимин, Вьетнам), *Laetiporus sulphureus* 120707 из коллекции кафедры ботаники Иркутского государственного университета (г. Иркутск), *Pleurotus ostreatus* 69 из коллекции лаборатории экспериментальной микологии и биоповреждений Института Микробиологии НАН Беларуси, *Pleurotus ostreatus* НК352 (ИБФРМ РАН). Культуры грибов поддерживали на агаризованном пивном сусле (4 град по Баллингу).

Бактерии *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* Ac-1405 выращивали на среде с глюкозой, пептоном и дрожжевым экстрактом (GPY) [229, 230]. Бактерии *Micrococcus luteus* B-109, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* 603, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* MI, *Pectobacterium atrosepticum* 1043, *Pseudomonas fluorescens* EL-2.1 выращивали на мясопептонной среде (BP) [231, 232]. Бактерии *Xanthomonas campestris* B-610 выращивали на среде с глюкозой, дрожжевым экстрактом и карбонатом кальция (GYCa) [233, 234]. Подбор рациональных дозировок в пересчете на металл привел к использованию концентрации $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л как исходного уровня в питательной среде.

Условия культивирования. Культуры грибов выращивали глубинным способом в течение 21 сут. при 26°C на среде состава, г/л: D-глюкоза – 10, дрожжевой экстракт – 1 без других добавок к питательной среде или с

полимерными компонентами.

При посеве в качестве инокулята использовали 14-сут. культуры, выращенные на агаризованном пивном сусле (4 град по Баллингу). Способ дозирования посевной культуры состоял в засеве жидких сред дисками сусло-агара диаметром 5 мм с культурой гриба, взятыми с помощью стерильного металлического инструмента (пробойника) из одной зоны растущего мицелия. При засеве агаризованных сред диски мицелия переносили в центр чашки Петри, 1 диск на каждую чашку.

Растворы соединений, используемых в качестве добавок к среде выращивания, готовили в водном этаноле в концентрированном виде, а затем добавляли с помощью автоматической пипетки в каждую из колб с жидкой средой, либо расплавленной агаризованной средой, достигшей при остывании после автоклавирования температуры около 40°C, перед заполнением чашек Петри. При расчете результирующей концентрации элемента в питательных средах учитывали указанное разведение.

Концентрация Бакто агара в плотных средах составляла 18 г/л. pH питательных сред доводили до величины 7.2–7.4. Все культуры выращивали при 28°C.

Состав питательных сред (г/л):

- GPY: глюкоза – 5.0, пептон – 10.0, дрожжевой экстракт – 5.0, CaCO₃ – 5.0.
- ВР: мясной экстракт – 10.0, пептон – 10.0, NaCl – 5.0.
- GYCa: глюкоза – 20.0, дрожжевой экстракт – 10.0, CaCO₃ – 20.0.

Жидкую культуру *Cms* для исследования бактериостатической активности тестируемых агентов в отношении кольцевой гнили картофеля выращивали в темноте при 26°C на качалке (80 об./мин) в колбах, содержащих питательную среду GPY, pH 7.2.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. Разработаны методы синтеза новых функциональных нанокомпозитов с наночастицами различных металлов (Ag, Au и Fe) на основе гидрофильных сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном различного состава и исследованы основные физико-химические свойства.

2. Установлена высокая стабилизирующая способность сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном при формировании функциональных металлсодержащих нанокомпозитов. Синтезированные нанокомпозиты характеризуются равномерным распределением наночастиц металла в объеме полимерной матрицы преимущественно сферической формы.

3. Показано, что природа и содержание металла, а также функциональный состав стабилизирующего полимера оказывают влияние на размеры формирующихся наночастиц и свойства нанокомпозитов. По данным просвечивающей электронной микроскопии размеры наночастиц составляют: Ag 1–15 нм, Au 1–20 нм и Fe 1–14 нм. Повышение содержания металла по отношению к сополимеру приводит к формированию наночастиц большего размера. Увеличение содержания 1,2,4-триазольных звеньев в составе стабилизирующего полимера способствует формированию наночастиц с меньшими размерами и более узкой полидисперсностью.

4. По данным РФА в полученных серебро- и золотосодержащих нанокомпозитах наночастицы находятся в кристаллическом состоянии. Методом ЭПР спектроскопии установлено, что наночастицы железа сформированы по типу «ядро–оболочка» и представляют собой нуль-валентное железо, покрытое оксидной оболочкой. Полученные нанокомпозиты обладают водорастворимостью и высокой термической стабильностью.

5. Исследована стабильность полимерных нанокомпозитов с наночастицами серебра и золота в водных растворах. Установлено, что

полимерная матрица обеспечивает высокую агрегативную устойчивость наноразмерных частиц в течение 6 месяцев.

6. Изучена острая токсичность синтезированных соединений на беспородных белых мышах и определена полуметальная доза (LD_{50}). Установлено, что сополимер и серебросодержащий нанокомпозит при однократном внутрижелудочном введении являются нетоксичными ($LD_{50} > 5000$ мг/кг), что позволяет их отнести к малоопасным (4 класс опасности). При однократном подкожном введении значение LD_{50} для сополимера и нанокомпозитов с наночастицами Ag и Au составляет более 1000 мг/кг.

7. Установлено, что серебросодержащий нанокомпозит обладает высокой антимикробной активностью в отношении патогенных штаммов грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов: бактериостатическая концентрация варьируется в интервале от 0.5 до 8 мкг/мл, бактерицидная концентрация – от 0.5 до 16 мкг/мл.

8. Исследованы иммуномодулирующих свойств сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и нанокомпозитов с наночастицами Ag и Au в условиях *in vitro*. Установлено разнонаправленное действие исследуемых сополимеров и нанокомпозитов в условиях *in vitro* на продукцию цитокинов клетками крови человека, что делает их перспективными для использования при разработке новых нанопрепаратов для противоопухолевой терапии.

9. Проведено биотестирование антибактериального потенциала сополимеров 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и нанокомпозитов с наночастицами Ag и Au на их основе в отношении высших грибов. Выявлена ростостимулирующая активность препаратов в отношении базидиомицетов. Охарактеризованы дифференциальные свойства коллекционных культур высших грибов для повышения эффективности подавления бактериальных фитопатогенов биопрепаратами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lønning, P. Clinical pharmacokinetics of aromatase inhibitors and inactivators / P. Lønning // *Clinical Pharmacokinetics*. – 2003. – V. 42, No7. – P. 619–631.
2. Witkowski, J.T. Design, synthesis, and broad spectrum antiviral activity of 1-.beta.-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide and related nucleosides / J.T. Witkowski, R.K. Robins, R.W. Sidwell, L.N. Simon // *J. Med. Chem.* – 1972. – V. 15, No 11. – P. 1150-1154.
3. Johnson, L.B. Voriconazole: a new triazole antifungal agent / L.B. Johnson, C.A. Kauffman // *Clin. Infec. Dis.* – 2003. – V. 36, No 5. – P. 630–637.
4. Hoffman, J.C. Flupoxam induces classic club root morphology but is not a mitotic disrupter herbicide / J.C. Hoffman, K.C. Vaughn // *Pes. Biochem. Physiol.* – 1996. – V. 55. – P. 49–53.
5. Holm, S.C. Synthesis of N-substituted 1,2,4-triazoles. A review / S.C. Holm, B.F. Straub // *Org. Prep. Proc. Int.* – 2011. – V. 43. – P. 319–347.
6. Sahu, J.K. Triazoles: a valuable insight into recent developments and biological activities / J.K. Sahu, S. Ganguly, A. Kaushik // *Chin. J. Nat. Med.* – 2013. – V. 11. – P. 456–465.
7. Gultekin, E. A study on synthesis, biological activities and molecular modelling of some novel trisubstituted 1,2,4-triazole derivatives / E. Gultekin, Y. Kolcuoglu, A. Akdemir, Ya. Sirin, H. Bektas, O. Bekircan // *Chem. Select.* – 2018. – V. 3. – P. 8813–8818.
8. Maddila, S. 1,2,4-Triazoles: a review of synthetic approaches and the biological activity / S. Maddila, R. Pagadala, S.B. Jonnalagadda // *Lett. Org. Chem.* – 2013. – V. 10. – P. 693–714.
9. А.с. 647310 СССР, МКИ С 07 D 55/06. Способ получения водорастворимых полимеров 1-винил-1,2,4-триазола / Л.А. Татарова, Т.Г. Ермакова, В.А. Лопырев, Н.Ф. Кедрина, Е.Ф. Разводовский, А.А. Берлин, Н.С. Ениколопан. – 2501567/23-05; заявл. 30.06.1977; опубл. 15.02.1979, Бюл. 6. – С. 2.
10. Лопырев, В.А. Исследование механизма радикальной полимеризации 1-

- винил-1,2,4-триазола / В.А. Лопырев, Л.А. Татарова, Т.И. Вакульская, Т.Г. Ермакова // Высокомолекулярные соединения, сер. Б. – 1985. – Т. 27, No 3. – С. 221–225.
11. Татарова, Л.А. Кинетика радикальной полимеризации 1-винил-1,2,4-триазола / Л.А. Татарова, Т.Г. Ермакова, А.А. Берлин, Е.Ф. Развадовский, В.А. Лопырев, Н.Ф. Кедрина, Н.С. Ениколопян // Высокомолекулярные соединения, сер. А. – 1982. – Т. 24, No 10. – С. 2205–2210.
 12. Мазяр, Н.Л. Взаимодействие поли-*N*-винилазолов с синтетическими полимерами и биологическими объектами: дис.....канд. хим. наук: 02.00.06 / Мазяр Николай Леонидович. – Иркутск, 1999. – 207 с.
 13. Цыпина, Н.А. *N*-винилтриазолы в радикальной полимеризации / Н.А. Цыпина, В.Н. Кижняев, Ф.А. Покатилов, А.И. Смирнов // Высокомолекулярные соединения, сер. Б. – 2003. – Т. 45, No2. – С. 358–361.
 14. Мансурова, Л.А. Влияние поли-1-винил-1,2,4-триазола на биохимические показатели соединительной ткани / Л.А. Мансурова, А.Б. Скорнякова, Н.А. Севастьянова, Л.А. Татарова, Т.Г. Ермакова, В.А. Лопырев, В.Б. Казимировская, Л.И. Слуцкий // Химико-фармацевтический журнал. – 1991. – Т. 25, No8. – С. 22–24.
 15. Кузнецова, Н.П. Синтез и (со)полимеризация 1-винил-1,2,4-триазола и 1-винилнафто[2,3-*d*]имидазола: дис.....канд. хим. наук: 02.00.06 / Кузнецова Надежда Петровна. – Иркутск, 2002. – 145 с.
 16. Татарова, Л.А. Сополимеризация 1-винил-1,2,4-триазола с метилметакрилатом и со стиролом / Л.А. Татарова, И.С. Морозова, Т.Г. Ермакова, В.А. Лопырев, Н.Ф. Кедрина, Н.С. Ениколопян // Высокомолекулярные соединения, сер. А. – 1983. – Т. 25, No 1. – С. 14–17.
 17. Николаенко, В.В. 1-винил-1,2,4-триазол в реакциях радикальной сополимеризации / В.В. Николаенко, А.В. Некрасов, А.В. Меркушов, Л.А. Татарова, Т. Г. Ермакова // Высокомолекулярные соединения, сер. Б. –

1989. – Т. 31, No 8. – С. 622–627.

18. Рахнянская, А.А. Распределение фталоцианатов в сополимерах на основе 1-винил-1,2,4-триазола модели светособирающей антенны фотосинтетического аппарата / А.А. Рахнянская, А.А. Ярославцев, В.С. Пшежецкий // Высокомолекулярные соединения, сер. Б. – 1985. – Т. 27, No 11. – С. 861–865.
19. Лебедева, О.В. Сополимеризация винилхлорида с 1-винил-1,2,4-триазолом / О.В. Лебедева, Н.С. Шаглаева, Г.А. Пирогова, Г.А. Заварзина, А.Н. Волков, А. К. Халиуллин // Журн. прикл. хим. – 2001. – Т. 74, No 8. – С. 1374–1375.
20. Ермакова, Т.Г. Функциональные сополимеры с триазольными и ацетатными фрагментами / Т.Г. Ермакова, Н.П. Кузнецова, Е.А. Секретарев, А.С. Поздняков, Г.Ф. Прозорова // Известия АН, сер. химическая. – 2017. – Т. 66, No 12. – С. 2303–2307.
21. Поздняков, А.С. Реакционная способность 1-винил-1,2,4-триазола в радикальной сополимеризации с кротоновым альдегидом / А.С. Поздняков, Т.Г. Ермакова, Л.В. Каницкая, Н.П. Кузнецова, С.А. Коржова, Г.Ф. Прозорова // Журнал общ. химии. – 2014. – Т. 82, No 1. – С. 91–94.
22. Поздняков, А.С. Функциональные сополимеры, содержащие триазольные и карбоксильные группы / А.С. Поздняков, А.И. Емельянов, Т.Г. Ермакова, Н.П. Кузнецова, Г.Ф. Прозорова, Б.А. Трофимов // Доклады АН. – 2014. – Т. 454, No 6. – С. 672–675.
23. Прозорова, Г.Ф. Сопolíмеры 1-винил-1,2,4-триазола с акриловой кислотой / Г.Ф. Прозорова, Т.Г. Ермакова, Н.П. Кузнецова, А.С. Поздняков, А.И. Емельянов, Б.А. Трофимов // Доклады АН – 2014. – Т. 454, No 5. – С. 545–547.
24. Прозорова, Г.Ф. Радикальная сополимеризация 1-винил-1,2,4-триазола с метакриловой кислотой / Г.Ф. Прозорова, Т.Г. Ермакова, Н.П. Кузнецова, А.С. Поздняков, А.И. Емельянов, Б.А. Трофимов // Доклады АН – 2014. – Т. 454, No 3. – С. 298–299.

25. Мячина, Г.Ф. Нанокompозиты серебра и сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с натриевой солью метакриловой кислоты / Г.Ф. Мячина, С.А. Коржова, Т.Г. Ермакова, Т.В. Конькова, А.С. Поздняков, Б.Г. Сухов, Б.А. Трофимов // Доклады АН – 2009. – Т. 427, No 6. – С. 790–792.
26. Поздняков, А.С. Гидрофильные функциональные сополимеры 1-винил-1,2,4-триазола с натриевой солью винилсульфоновой кислоты / А.С. Поздняков, Е.А. Секретарев, А.И. Емельянов, Г.Ф. Прозорова // Известия АН, сер. химическая. – 2017. – No 12. – С. 2293–2297.
27. Андреева, Л.И. Об особенностях реакционной способности 1-винил-1,2,4-триазола в сополимеризации с винилпиридинами / Л.И. Андреева, В.Ю. Барановский, В.А. Кабанов // Вестник МГУ. – 1986. – Т. 27, No 4 – С. 417–420.
28. Николаенко, В.В. Сополимеризация 1-винил-1,2,4-триазола с 1-винилимидазолом / В.В. Николаенко, А.В. Некрасов, В.В. Смолянинов, Г.А. Бодун // Высокомолекулярные соединения, сер. А. – 1989. – Т. 31, No 4. – С. 780–785.
29. Ермакова, Т.Г. 1-Винил-1,2,4-триазол в реакции сополимеризации с 1-винил-4,5,6,7-тетрагидроиндолом: синтез и свойства сополимеров / Т.Г. Ермакова, Н.П. Кузнецова, А.С. Поздняков, Л.И. Ларина, С.А. Коржова, И.В. Мазяр, В.С. Щербакова, А.В. Иванов, А.И. Михалева, Г.Ф. Прозорова. // Известия АН, сер. химическая. – 2016. – No 2. – С. 485–489.
30. Кузнецов, В.А. Радикальная полимеризация N-виниловых мономеров с азотосодержащими циклическими заместителями и свойства их водных растворов: дис.....канд. хим. наук: 02.00.06 / Кузнецов Вячеслав Алексеевич. – Москва, 2007. – 306 с.
31. Парфе, А. Микрогетерофазная сополимеризация N-винил-капролактама с 1-винил-1,2,4-триазолом / А. Парфе, В.А. Кузнецов, Г.В. Шаталов// Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация, – 2011. –No 1. – С. 49–51.
32. Рахнянская, А.А. Распределение фталоцианинов в сополимерах на основе

- 1-винил-1,2,4-триазола — моделях светособирающей антенны фотосинтетического аппарата / А.А. Рахнянская, А.А. Ярославцев, В.С. Пшежецкий, В.А. Лопырев, Л.А. Татарова // Высокомолек. соедин. — 1985. — Т. 27, No 11. — С. 861–865.
33. Бирюкова, Е.И. Исследование сополимеризации 1-винилазолов с электроннодонорными и электроноакцепторными сомономерами. Автореферат... канд. хим. наук. — Иркутск, 1996. — 22 с.
34. Николаенко, В.В. Синтез, физико-химические и биологические свойства сополимеров на основе N-винил-1,2,4-триазолов: дис... канд. хим. наук. — Москва, 1991. — 149 с.
35. Ратовский, Г.В. Влияние электронной структуры винилазолов на их активность при взаимодействии с радикалами / Г.В. Ратовский, Е.И. Бирюкова, А.И. Смирнов // ЖОХ. — 1996. — Т. 66, Вып. 4. — С. 648–651.
36. Бирюкова, Е.И. Исследование сополимеризации N-винилазолов с диэтилмалеатом и N-винилпирролидоном / Е.И. Бирюкова, В.Н. Кижняев, Г.В. Ратовский и др. // Химия, наука, производство: Сб. науч. тр. — Ангарск: АТИ. — 1992. — С. 63–68.
37. Сидельковская, Ф.П. Химия N-винилпирролидона и его полимеров / Ф.П. Сидельковская. — М.: Наука. — 1970. — 150 с.
38. Горбунова, М.Н. N-винилпирролидон в реакциях радикальной сополимеризации. Обзор. / М.Н. Горбунова, А.И. Воробьева, А.Г. Толстиков, Ю.Б. Монаков // Известия ВУЗов. Химия и хим. технология. — 2006. — Т. 49, No 2. — С. 3–22.
39. Кирш, Ю.Э. Поли-N-винилпирролидон и другие поли-N-виниламиды / Ю.Э. Кирш. — М.: Наука, 1998. — 252 с.
40. Lee, H.Y. Poly(Vinyl Pyrrolidone) conjugated lipid system for the hydrophobic drug delivery / H.Y. Lee, S.A. Yu, K.H. Jeong, Y.J. Kim // Macromol. Res. — 2007. — V. 15, No 6. — P. 547–552.
41. Savva, M. Effect of Grafted Amphiphilic PVP–Palmityl Polymers on the Thermotropic Phase Behavior of 1,2 Dipalmitoyl- Sn-Glycero-3-

- Phosphocholine Bilayer / M. Savva, V.P. Torchilin, L. Huang // J. Colloid Interface Sci. – 1999. – V. 217, No 1. – P. 166–171.
42. Топчиев, Д.А. Кинетические аномалии при радикальной полимеризации N-винилпирролидона / Д.А. Топчиев, А.И. Мартыненко, Е.Ю. Кабанова, Л.М. Тимофеева // Высокомолекулярные соединения, сер. А. – 1997. – Т. 39, No 7. – С. 1129–1139.
43. Nagaraja, A. Synthesis, characterization, and fabrication of hydrophilic antimicrobial polymer thin film coatings / A. Nagaraja, Y.M. Puttaiahgowda, A. Kulal, A.M. Parambil, T. Varadavenkatesan // Macromol. Res. – 2019. – V. 27, No 3. – P. 301–309.
44. Фармацевтическая технология. Мази / Алексеев К.В., Блынская Е.В., Кедик С.А., Агапова С.К. – М.: ИФТ, 2014. – 584 с.
45. Фармацевтическая технология. Суппозитории / Алексеев К.В., Блынская Е.В., Кедик, С.А., Агапова С.К. – М.: ИФТ, 2015. – 560 с.
46. Панарин, Е.Ф. Полимеры – носители биологически активных веществ / Е.Ф. Панарин, Н.А. Лавров, М.В. Соловский, Л.И. Шальнова; ред. Е.Ф. Панарина, Н.А. Лаврова. – СПб: ЦОП «Профессия», 2014. – 304 с.
47. Артыкова, З.Б. Поли-N-винилпирролидон с боковыми аминокислотными группами. Синтез и применение в медико-биологических областях: дис. ... канд. хим. наук.: 02.00.06 / Артыкова Зульфия Баймирзаевна. – Москва, 2010. – 160 с.
48. Ташмухамедов, Р. И. Биологически активные аминокислотные производные поли-N-винилпирролидона и их металлокомплексы: автореф. дис. ... докт. хим. наук: (02.00.06) / Ташмухамедов Равшан Иркинович; МИТХТ им. М.В. Ломоносова. – Москва, 2007. – 34 с.
49. Патент 2345096 Российская Федерация, МПК С 08 F (220/14; 220/18; 226/10). Способ получения биосовместимых сополимеров N-винилпирролидона с алкилакрилатами / С.И. Белых, А.Б. Давыдов, Г.Л. Хромов. – No 2007143495/04; заявл. 26.11.2007; опубл. 27.01.2009, Бюл. 3. – 6 с.

50. Воленко, А.В. Профилактика раневой инфекции иммобилизованными антибактериальными препаратами / А.В. Воленко, Д.Д. Меньшиков, Г.П. Титова, С.В. Куприков // Хирургия. 2004. – No 10. – С.54-58.
51. Патент 1607359 Российская Федерация, МПК С 08 F (226/10; 2/46; 220/06). Способ получения водных растворов N-винилпирролидона с солями четвертичных аммониевых оснований ненасыщенных кислот / Е.Ф. Панарин, В.Н. Ушакова, И.С. Кочеткова, В.М. Денисов, А.А. Персинен, Л.Н. Болонина, А.Г. Панышин, Г.Е. Афиногенов – No 4493095/05; заявл. 11.08.1988; опубл. 20.05.2002, Бюл. 14-2002. – 5 с.
52. Патент 1517173 Российская Федерация, МПК А 61 К (31/79; 31/14), А 61 Р 31/02. Антисептическое средство / М.В. Соловский, Е.Ф. Панарин, И.С. Кочеткова, Е.В. Ануфриева, В.Д. Паутов, Г.Е. Афиногенов, Т.В. Копылова, Т.М. Иванцова, В.Н. Виденин, А.С. Макарьин – No 4211144/14; заявл. 05.08.1986; опубл. 30.04.1995. – 3 с.
53. Патент 1674552 Российская Федерация, МПК С 08 L (29/04; 39/06), А 61 L 15/22. Пленочная антимикробная композиция / В.Д. Паутов, Е.В. Ануфриева, М.Г. Краковяк, В.Б. Лущик, М.В. Соловский, Е.Ф. Панарин, И.С. Кочеткова, В.Я. Богомольный, Е.Е. Белугина, Г.Е. Афиногенов, В.Д. Мамонтов – No 4641902/05; заявл. 22.11.1988; опубл. 20.05.1996. – 8 с.
54. Тютерев, С.Л. Перспективы использования синтетического полимерного препарата катапол в качестве средства защиты растений / С.Л. Тютерев, Е.Ф. Панарин, К.В. Новожилов, Э.В. Попова, Л.К. Хацкевич, И.С. Кочеткова, Т.Б. Дорофеева, А.М. Лазарев, В.В. Азанова // Вестник защиты растений. – 2002. – No 3. – С. 3–13.
55. Патент 2342833 Российская Федерация, МПК А 01 N (43/36; 37/52; 41/10), А 01 Р 1/00. Состав для предпосевной обработки семян овощных культур и клубней картофеля от бактериальных болезней / С.Л. Тютерев, Е.Ф. Панарин, Э.В. Попова И.С. Кочеткова, В.В. Азанова, Н.И. Воробьев; патентообладатель ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» Российской академии сельскохозяйственных

наук. – No 2007136510/15; заявл. 02.10.2007; опубл. 10.01.2009, Бюл. 1 – 6 с.

56. Соловский, М.В. Полимерные комплексы антисептика катамина АБ и их биологическая активность / М.В. Соловский, Г.Е. Афиногенов, Е.Ф. Панарин и др. // Химико-фармацевтический журнал. – 1991. – Т. 25, No 4. – С. 40–43.
57. Пат. 1812183 Российская Федерация, МПК С 08 F (226/10; 8/30), А 61 К (31/79; 39/385). Сополимеры N-винилпирролидона, кротоновой кислоты и N-кротоноиламинофенола в качестве полимерной основы синтетического антигена, синтетический антиген на основе сополимеров N-винилпирролидона, кротоновой кислоты и N-кротоноиламинофенола и способ получения синтетического антигена / Т.А. Коростелева, Е.Ф. Панарин, М.В. Соловский, О.В. Назарова, А.Т. Белохвостова, Л.С. Потапенкова – No 4744299; заявл. 16.08.1989; опубл. 30.04.1993, Бюл. 16 – 5 с.
58. Пат. 2262515 Российская Федерация, МПК С 08 F (226/10; 220/02; 220/60), А 61 К (31/765; 31/785; 39/385). Синтетический антиген на основе сополимеров N-винилпирролидона, кротоновой кислоты и N-кротоноиламинофенола, содержащий ковалентно присоединенный 2-нафтиламин в качестве гаптена / А.Т. Белохвостова, Л.С. Потапенкова, Е.Ф. Панарин, М.В. Соловский, В.М. Денисов; Патентооладатель: ГУН НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова Минздрава РФ. – No 2003121321/04; заявл. 10.07.2003; опубл. 20.10.2005, Бюл. 29 – 9 с.
59. Панарин, Е.Ф. Синтез и иммуномодулирующие свойства сополимеров N-винилпирролидона с полисахаридами / Е.Ф. Панарин, Н.П. Иванова, А.Т. Белохвостова, Л.С. Потапенкова // Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – Т. 36, No4. – С. 19–22.
60. Klotz, I. Acid–base behavior of poly (vinylpyrrolidone–vinylimidazole) copolymers. / I. Klotz, M.L. Lyndrup // Biopolymers. – 1968. – Vol. 6. – P. 1405–1417.

61. Скушникова, А.И. Кинетика сополимеризации 1-винилмидазола с некоторыми азотсодержащими мономерами / А.И. Скушникова, Е.С. Домнина, Г.Г. Скворцова // Высокомолекулярные соединения, сер. Б. – 1979. – Т. 21, No 1. – С. 8–11.
62. Круглова, В.А. Полиэлектролитные свойства и конформация макромолекул терполимеров 2-трихлорметил-4-метилен-1,3-диоксолана, N-винилпирролидона и акриловых кислот / В.А. Круглова, В.В. Анненков, Р.Л. Большедровская, Л.М. Калабина // Высокомолекулярные соединения, сер. Б. – 1986. – Т. 28, No 7. – С. 528–531.
63. Скворцова, Г.Г. Изучение строения и свойств 1-винил-3-амино-1,2,4-триазола / Г.Г. Скворцова, Е.С. Домнина, Л.П. Махно, В.К. Воронов, Д.С. Торяшинова, Н.Н. Чипанина // Химия гетероциклических соединений. – 1973. – No 11. – С.1566–1569.
64. Бузилова, С.Р. Синтез винильных производных тетразолов / С.Р. Бузилова, В.М. Шульгина, Г.В. Сакович, Л.И. Верещагин // Химия гетероциклических соединений. – 1981. – No 9. – С.1279–1282.
65. Круглова, В.А. Синтез сополимеров винилазолов и их физиологическая активность / В.А. Круглова, В.В. Анненков, Л.И. Верещагин, В.В. Павленко, В.Б. Казимировская, Л.Г. Москвитина, Е.М. Бойко, Л.А. Мансурова, А.Б. Скорнякова, С.В. Калмыков // Химико-фармацевтический журнал. – 1987. – Т. 21, No 2. – С. 159–163.
66. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А. Н. Арчаков. – М, 1972. – 252 с.
67. Слуцкий, Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани / Л.И. Слуцкий. – Ленинград, 1969. – 376 с.
68. Кедик, С.А. Синтез и радиопротекторная активность сополимеров N-винилпирролидона и 2-метил-5-винилтетразола / С.А. Кедик, И.В. Сакаева, Ю.В. Кочкина (Черта), Д.В. Еремин, А.В. Панов, В.В. Суслов // Химико-фармацевтический журнал. – 2012. – Т. 46, No12. – С. 30–33.
69. Определение констант бинарной сополимеризации на глубоких стадиях

превращения по методу Келена–Тюдеша. – МИТХТ им. М.В. Ломоносова, Москва. – 1988.

70. Пат. 2430933 Российская Федерация, МПК С 08 F 226/10, А 61 К 31/79. Сополимеры 2-метил-5-винилпиридина и N-винилпирролидона, обладающие свойствами активаторов фагоцитоза / С.А. Кедик, А.В. Панов, М.А. Зайцев, Ю.В. Черта; Патентооладатель: С.А. Кедик. – No 2010144325/04; заявл. 29.10.2010; опубл.10.10.2011, Бюл. 28. – 9 с.
71. Пат. 2430932 Российская Федерация, МПК С 08 F 226/10, А 61 К 31/79. Сополимеры 2-метил-5-винилпиридина и N-винилпирролидона, активирующие продуцирование интерлейкина-1, и их применение в качестве противораковых агентов / С.А. Кедик, А.В. Панов, М.А. Зайцев, Ю.В. Черта; Патентооладатель С.А. Кедик. – No 2010105912/04; заявл. 29.10.2010, опубл.10.10.2011, Бюл. 10. – 10 с.
72. Пат. 2415876 Российская Федерация, МПК С 08 F 226/10, А 61 К 31/79. Сополимеры на основе N-винлпирролидона / С.А. Кедик, В.И. Свергун, Ю.В. Черта, Е.И. Ярцев, А.В. Панов; Патентооладатель: С. А. Кедик. – No 2010105912/04, заявл. 19.02.2010, опубл.10.04.2011, Бюл. 10. – 10 с.
73. Пат. 2471491 Российская Федерация, МПК А 61 К 31/79, А 61 К 31/485, А 61 Р 29/00. Применение сополимера на основе N-винилпирролидона в качестве средства, потенцирующего анальгетический эффект морфина гидрохлорида / С.А. Кедик, А.В. Панов, Д.В. Еремин и др.; Патентооладатель: С. А. Кедик. – No 2011142225/15; заявл. 19.10.2011, опубл. 10.01.2013, Бюл. 1. – 7 с.
74. Пат. 2000004 Российская Федерация, МПК С 08 F (226/10; 226/06), А 61 К 31/79. Сополимеры 2-метил-5-винилпиридина и N-винилпирролидона, обладающие иммуностимулирующим действием / С.А. Кедик, Е.К. Федоров, В.И. Свергун, В.А. Гаврилов, М.М. Зубаиров; Патентооладатель Фармацевтическая Фирма «Ковидон». – No 1578143 (87/03587); заявл. 16.07.1992, опубл. 15.02.1993, Бюл. 6. – 10 с.
75. Пат. 2015993 Российская Федерация, МПК С 08 F (226/10; 226/06), А 61

- К 31/79. Сополимер 2-метил-5-винилпиридина и N-винилпирролидона, обладающий противоопухолевой активностью / С.А. Кедик, В.И. Свергун, Е.И. Ярцев, А.С. Соколова, С.Г. Калистратов, А.В. Спиридонов, В.С. Калистратова, Г.В. Калистратов; Патентооладатель Фармацевтическая фирма «Ковидон». – No 5054916/05; заявл. 16.07.1992, опубл. 15.07.1994.
76. Пат. 2459838 Российская Федерация, МПК С 08 F 226/10, А 61 К 31/79. Сополимер, содержащий звенья N-винилпирролидона, 2-метил-5-винилпиридина и 4-винилпиридина / С.А. Кедик, А.В. Панов, Ю.В. Кочкина, Д.В. Еремин, И.В. Сакаева; Патентооладатель: С.А. Кедик. – No 2011140410/04; заявл. 05.10.2011, опубл. 27.08.2012, Бюл. 24. – 13 с.
77. Пат. 2446824 Российская Федерация, МПК А 61 К (39/145; 39/385; 31/79), А 61 Р 31/14. Вакцина против гриппа и способ ее получения / М.М. Алсынбаев, Н.В. Загидуллин, С.А. Кедик; Патентооладатель: ФГУП Научно-производственное объединение по медицинским иммуномодулирующим препаратам «Микроген» МЗСР РФ. – No 2010129770/15 заявл. 20.07.2010, опубл. 10.04.2012, Бюл. 10. – 14 с.
78. А.с. 1578143 СССР, МКИ С 08 F 226/10, А 61 К 31/79. Сополимер 5-изопропенилтетразола и N-винилпирролидона, обладающий свойствами иммуноадьюванта поверхностного антигена вирусного гепатита В / В.В. Анненков, С. И. Лещук, В. А. Круглова, В.А. Ананьев, М.М. Ветрова, И.В. А
79. Круглова, В.А. Влияние свойств среды на сополимеризацию 5-изопропенилтетразола с N-винилпирролидоном / В.А. Круглова, В.В. Анненков, И.В. Аксаментов, Л.В. Зайцева // Известия ВУЗов. Химия и хим. технология. – 1990. – Т. 33, No 10. – С. 103–108.
80. Анненков, В.В. Физиологическая активность сополимеров 5-изопропенилтетразола с 1-винилпирролидоном / В.В. Анненков, В.А. Круглова, В.Б. Казимировская, С.И. Лещук, Л.Т. Москвитина, Н.М. Бойко, В.А. Ананьев // Химико-фармацевтический журнал. – 1995. – Т. 29,

№ 1. – С. 38–40.

81. Гусев, А.И. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии / А.И. Гусев. – М.: Физматлит, 2007. – 416 с.
82. Сергеев, Г.Б. Нанохимия. Учебное пособие / Г.Б. Сергеев. – М.: КДУ, 2007. – 336 с.
83. Kreibig, U. Optical Properties of Metal Clusters / U. Kreibig, M. Vollmer. – Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 1995. – 532 p.
84. Помогайло, А.Д. Наночастицы металлов в полимерах / А.Д. Помогайло, А.С. Розенберг, И.Е. Уфлянд. – М.: Химия, 2000. – 671 с.
85. Свиридов, В.В. Химическое осаждение металлов в водных растворах / В.В. Свиридов, Т.Н. Воробьева, Т.В. Гаевская, Л.И. Степанова. – Минск: Университетское, 1987. – 270 с.
86. Guo, Ya. Label-free probes using DNA-templated silver nanoclusters as versatile reporters / Ya. Guo, X. Pan, W. Zhang, Zh. Hu, K.-W. Wong, Zh. He, H.-W. Li // Biosensors and Bioelectronics. – 2020. – V. 150. – P. 111926. – DOI: 10.1016/j.bios.2019.111926.
87. Irshada, A. Comprehensive facts on dynamic antimicrobial properties of polysaccharides and biomolecules-silver nanoparticle conjugate / A. Irshada, N. Sarwar, H. Sadia, K. Malik, I. Javed, A. Irshad, M. Afzal, M. Abbas, H. Rizvi // Int. J. Biolog. Macromolecules. – 2020. – V. 145. – P.189– 196.
88. Basak, G. Biofunctionalized nanomaterials for clean-up of hydrocarbon contamination: A quantum jump in global bioremediation research / G. Basak, Ch. Hazra, R. Sen // Journal of Environmental Management. – 2020. – V. 256. – DOI: 10.1016/j.jenvman.2019.109913.
89. Alem, S.A.A. Microwave sintering of ceramic reinforced metal matrix composites and their properties: a review / S. A. A. Alem, R. Latifi, S. Angizi, F. Hassanaghaei, M. Aghaahmadi, E. Ghasali, M. Rajabi // Materials and Manufacturing Processes. – 2020. – V. 35, No 3. – P. 303–327.
90. Iravani, S. Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods / S. Iravani, H. Korbekandi, S.V. Mirmohammadi, B. Zolfaghari // J.

- of Pharmaceutical Sciences and Research. – 2014. – V. 9, No 6. – P. 385–406.
91. Прозорова, Г.Ф. Синтез и свойства нанокompозитов серебра и золота в матрице поли-1-винил-1,2,4-триазола / Г.Ф. Прозорова, С.А. Коржова, Т.В. Конькова, Т.Г. Ермакова, А.С. Поздняков, А.Н. Сапожников, О.А. Пройдакова, Б.Г. Сухов, К.Ю. Арсентьев, Е.В. Лихошвай, Б.А. Трофимов // Журнал структурной химии. – 2010. – Т. 51. – С. 109–112.
92. Прозорова, Г.Ф. Особенности формирования наночастиц серебра в полимерной матрице / Г.Ф. Прозорова, С.А. Коржова, Т.В. Конькова, Т.Г. Ермакова, А.С. Поздняков, Б.Г. Сухов, К.Ю. Арсентьев, Е.В. Лихошвай, Б.А. Трофимов // Доклады АН. – 2011. – Т. 437, No 1. – С. 50–52.
93. Prozorova, G.F. Green synthesis of water-soluble nontoxic polymeric nanocomposites containing silver nanoparticles / G.F. Prozorova, A.S. Pozdnyakov, N.P. Kuznetsova, S.A. Korzhova, A.I. Emel'yanov, T.G. Ermakova, T.V. Fadeeva, L.M. Sosedova // International Journal of Nanomedicine. – 2014. – V. 9, No 1. – P. 1883–1889.
94. Прозорова, Г.Ф. Антимикробная активность нанокompозитов серебра и поли-1-винил-1,2,4-триазола / Г.Ф. Прозорова, С.А. Коржова, Т.В. Конькова, А.С. Поздняков, Т.Г. Ермакова, Т.В. Фадеева, С.А. Верещагина, Б.А. Трофимов // Известия АН, сер. химическая. – 2011. – No 4. – С. 657–661.
95. Zharikov A.A. The radiation-induced preparation of ultrasmall gold nanoparticles in Au(III) complexes with units of poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) and poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) – poly(acrylic acid) / Zharikov A.A., Vinogradov R.A., Zezina E.A. et al. // Colloids Interface Sci. Commun. – 2022. – V. 47. – P. 100602 (11).
96. Shurygina, I.A. NonToxic Silver/Poly-1-Vinyl-1,2,4-Triazole Nanocomposite Materials with Antibacterial Activity / I.A. Shurygina, G.F. Prozorova, I.S. Trukhan et al. / Nanomaterials. – 2020. – V. 10. – P. 1477. – DOI:10.3390/nano10081477.
97. Прозорова, Г.Ф. Токсикологические свойства поливинилтриазола и

- серебросодержащего нанокompозита на его основе / Г.Ф. Прозорова, А.С. Поздняков, С.А. Коржова, Т.Г. Ермакова, М.А. Новиков, Е.А. Титов, Л.М. Соседова // Известия АН, сер. химическая. – 2014. – № 9. – С. 2126–2129.
98. Соседова, Л.М. Синтез и антимикробные и токсические свойства нанобиокompозита на основе частиц Ag(0) и поли-1-винил-1,2,4-триазола / Л.М. Соседова, М.А. Новиков, Е.А. Титов // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т. 52, № 11. – С. 37–41.
99. Новиков, М.А. Биологические эффекты нового серебросодержащего полимерного нанокompозита / М.А. Новиков, Е.А. Титов, В.А. Вокина, Н.Л. Якимова, Л.М. Соседова, С.А. Коржова, А.С. Поздняков, А.И. Емельянов, О.А. Пройдакова, Т.Г. Ермакова, Г.Ф. Прозорова // Бюллетень ВСНЦ СО РАН. – 2012. – Т. 84, № 4. – Ч. 2. – С. 121–125.
100. Витязева, С.Я. Оценка действия аргентогалактоманнана и аргенто-поли-винил-1,2,4-триазола на популяционный состав клеток костного мозга экспериментальных животных / С.Я. Витязева, Т.П. Старовойтова, В.И. Дубровина, Ж.А. Коновалова // Бюллетень ВСНЦ СО РАН. – 2012. – Т. 87, № 5. – Ч. 2. – С. 103–106.
101. Морозкин, Е.С. Цитотоксические и иммуномодулирующие свойства нанокompозитов серебра и платины / Е.С. Морозкин, И.А. Запорожченко, М.Е. Харькова, А.В. Черепанова, П.П. Лактионов, В.В. Власов, Б.Г. Сухов, Г.Ф. Прозорова, Б.А. Трофимов, М.В. Хвостов, Т.Г. Толстикова // Химия в интересах устойчивого развития. – 2013. – Т. 21, № 2. – С. 155–163.
102. Дубровина, В.И. Сравнительная характеристика действия наноструктурированных аргенто-1-винил-1,2,4-триазола, аргентогалактоманнана и кобальтарабиногалактана на иммунную реакцию организма экспериментальных животных / В.И. Дубровина, С.А. Витязева, Ж.А. Коновалова, Т.П. Старовойтова, Г.Б. Мухтургин, Б.Г. Сухов, Г.Ф. Прозорова, Г.П. Александрова // Нанотехнологии и охрана здоровья. – 2012. – Т. 12, № 3. – С. 31–37.

103. Прозорова, Г.Ф. Иммуномодулирующие свойства серебросодержащего нанокompозита на основе поливинилтриазола / Г.Ф. Прозорова, С.А. Коржова, А.С. Поздняков, А.И. Емельянов, Т.Г. Ермакова, В.И. Дубровина // Известия АН. – 2015. – No 2. – С. 1437–1439.
104. Кузнецова, Н.П. Синтез и характеристика серебросодержащих полимерных нанокompозитов на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с акрилонитрилом / Н.П. Кузнецова, Т.Г. Ермакова, А.С. Поздняков, А.И. Емельянов, Г.Ф. Прозорова // Известия АН. – 2013. – No 11. – С. 2509–2513.
105. Khutsishvili, S.S. EPR investigation of nanosized silver particles in polymer composites / S.S. Khutsishvili, T.I. Vakul'Skaya, N.P. Kuznetsova, T.G. Ermakova, A.S. Pozdnyakov // Magn. Reson. in Solids. Electr. J. – 2011. – No 1. – 4 p.
106. Pozdnyakov, A.S. Synthesis and Characterization of Silver-Containing Nanocomposites Based on 1-Vinyl-1,2,4-triazole and Acrylonitrile Copolymer / A.S. Pozdnyakov, A.I. Emel'yanov, N.P. Kuznetsova, T.G. Ermakova, S.A. Korzhova, S.S. Khutsishvili, T.I. Vakul'skaya, G.F. Prozorova // J. Nanomaterials. – 2019. – Article ID 4895192. – 7 p.
107. Прозорова, Г.Ф. Водорастворимые нанокompозиты серебра с сополимером 1-винил-1,2,4-триазола / Г.Ф. Прозорова, А.С. Поздняков, А.И. Емельянов, С.А. Коржова, Т.Г. Ермакова, Б.А. Трофимов // Доклады АН. – 2013. – Т. 449, No 2. – С. 172–173.
108. Поздняков, А.С. Нанокompозиты серебра на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с кротоновым альдегидом / А.С. Поздняков, А.И. Емельянов, Н.П. Кузнецова, Т.Г. Ермакова, Г.Ф. Прозорова // Известия АН. – 2016. – No 2. – С. 498–501.
109. Поздняков, А.С. Функциональные полимерные нанокompозиты, содержащие триазольные и карбоксильные группы / А.С. Поздняков, А.И. Емельянов, Т.Г. Ермакова, // Высокомолекулярные соединения, сер. Б. – 2014. – Т. 56, No 2. – С. 226–235.

110. Поздняков, А.С. Металлополимерные нанокompозиты Ag на основе гидрофильных азот- и серосодержащих сополимеров: контроль размеров наночастиц / А.С. Поздняков, А.А. Иванова, А.И. Емельянов, Г.Ф. Прозорова / Известия АН. – 2020. – No 4. – С. 715–720.
111. Поздняков, А.С. Антимикробная активность Ag(0)-нанокompозита сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с натриевой солью акриловой кислоты / А.С. Поздняков, Н.П. Кузнецова, С.А. Коржова, Т.Г. Ермакова, Т.В. Фадеева, А.В. Ветохина, Г.Ф. Прозорова // Известия АН, сер. химическая. – 2015. – No 6. – С. 1440–1444.
112. Pozdnyakov A. Strong Antimicrobial Activity of Highly Stable Nanocomposite Containing AgNPs Based on Water-Soluble Triazole-Sulfonate Copolymer / A. Pozdnyakov, A. Emel'yanov, A. Ivanova, N. Kuznetsova, T. Semenova, Yu. Bolgova, S. Korzhova, O. Trofimova, T. Fadeeva, G. Prozorova // Pharmaceutics. – 2022. – V. 14, I. 1. – P. 206 (13).
113. Прозорова, Г.Ф. Синтез и свойства новых сополимер-Ag(0) нанокompозитов / Г.Ф. Прозорова, С.А. Коржова, И.В. Мазяр, Л.А. Беловежец, Н.П. Кузнецова, А.И. Емельянов, А.С. Поздняков // Известия ВУЗов. Прикладная Химия И Биотехнология. – 2019. – Т. 9, No 1. – С. 22–227.
114. Прозорова, Г.Ф. Синтез и биологическая активность новых полимерных серебросодержащих нанокompозитов / Г.Ф. Прозорова, С.А. Коржова, Н.П. Кузнецова, А.И. Емельянов, Л.А. Беловежец, А.С. Поздняков // Известия АН, сер. химическая. – 2019. – No 10. – С. 1897–1902.
115. Huang, H.H. Photochemical Formation of Silver Nanoparticles in Poly(N-vinylpyrrolidone) / H.H. Huang, X.P. Ni, G.L. Loy et al. // Langmuir. – 1996. – V. 12, No 4. – С. 909–912.
116. Tsuji, M. Rapid synthesis of silver nanostructures by using microwave-polyol method with the assistance of Pt seeds and polyvinylpyrrolidone / M. Tsuji, Yu. Nishizawa, K. Matsumoto, N. Miyamae, T. Tsuji, X. Zhang // Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. – 2007. – V. 293. – P. 185–194.

117. Noroozi, M. Green Formation of Spherical and Dendritic Silver Nanostructures under Microwave Irradiation without Reducing Agent / M. Noroozi, A. Zakari, M. Maarof Moxsin, Z. Abd Wahab, A. Abedini // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2012. – V. 13. – P. 8086–8096.
118. Tsuji, T. Preparation of silver nanoparticles by laser ablation in polyvinylpyrrolidone solutions / T. Tsuji, D.-H. Thang, Yu. Okazaki, M. Nakanishi, Ya. Tsuboi, M. Tsuji // *Applied Surface Science*. – 2008. – V. 254. – P. 5224–5230.
119. Tsuji, T. Laser-induced silver nanocrystal formation in polyvinylpyrrolidone solutions / T. Tsuji, T. Mizuki, Sh. Ozono, M. Tsuji // *J. Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. – 2009. – V. 206. – P. 134–139.
120. Пат. 2602741 Российская Федерация, МПК А 61 К 033/38, В 82 Y 40/00. Способ получения водорастворимой композиции наночастиц серебра / В.А. Бурмистров, А.Н. Пестряков, Г.В. Одегова, И.В. Бурмистров, А.В. Бурмистров, Н.Е. Богданчикова; Патентооладатель ФГАОУВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет». – No 2015110368/15; заявл. 23.03.2015, опубл. 20.10.2016; бюл. No 29. – 12 с.
121. Cheng, Wen-Tung. Manipulation of silver nanostructures using supercritical fluids in the presence of polyvinylpyrrolidone and ethylene glycol / Wen-Tung Cheng, Yu-Wen Chih // *The Journal of Supercritical Fluids*. – 2010. – V. 54. – P. 272–280.
122. Crespy, D. Synthesis of polyvinylpyrrolidone/silver nanoparticles hybrid latex in non-aqueous miniemulsion at high temperature / D. Crespy, K. Landfester // *Polymer*. – 2009. – V. 50. – P. 1616–1620.
123. Tsuji, M. Shape evolution of decahedral and icosahedral Ag flags and their intermediates from Ag nanorod seeds in DMF solution in the presence of polyvinylpyrrolidone / M. Tsuji, N. Nakamura, X. Tang, K. Uto, M. Matsunaga // *J. Crystal Growth*. – 2014. – V. 406. – P. 94–103.
124. Gaoa, Y. Studies on silver nanodecahedrons synthesized by PVP-assisted N,N-

- dimethylformamide (DMF) reduction / Y. Gaoa, P. Jiangb, L. Song, J.X. Wang, L.F. Liu, D.F. Liu, Y.J. Xiang, Z.X. Zhang, X.W. Zhao, X.Y. Dou, S.D. Luo, W.Y. Zhou, S.S. Xie // *J. Crystal Growth*. – 2006. – V. 289. – P. 376–380.
125. Шмаков, С.Н. Образование и свойства наночастиц серебра, меди и кобальта в растворах поливинилпирролидона / С.Н. Шмаков, Р.М. Искаков, Б.А. Жубанов, Е.А. Бектуров // *Химический журнал Казахстана*. – 2008. – No 21. – С. 190–197.
126. Slistan-Grijalva, A. Assessment of growth of silver nanoparticles synthesized from an ethylene glycol–silver nitrate–polyvinylpyrrolidone solution / A. Slistan-Grijalva, R. Herrera-Urbina, J.F. Rivas-Silva, M. Ávalos-Borja, F.F. Castellón-Barraza, A. Posada-Amarillas // *Physica E*. – 2005. – V. 25. – P. 438–448.
127. Шмаков, С.Н. Влияние природы соли на свойства композиционных материалов на основе поливинилпирролидона и наночастиц серебра / С.Н. Шмаков, Р.М. Искаков, Б.А. Жубанов, Е.А. Бекрутов // *Изв. Нац. АН респ. Казахстан, сер. хим.* – 2008. – No 4. – С. 54–58.
128. Zhang, J. H. Controlling the Growth and Assembly of Silver Nanoprisms / J. H. Zhang, H. Y. Liu, P. Zhan, Z. L. Wang, N. B. Ming // *Angewandte Chemie International Edition* – 2007. – V. 17. No 9. – P. 1558–1566.
129. Бурмистров, В.А. Биосеребро – здоровью добро! / В.А. Бурмистров, А.В. Бурмистров. – Новосибирск, 2014. – 140 с.
130. Сайфуллина, И.Р. Получение композитных пленок с наночастицами серебра и их фрактальными агрегатами в полимерной матрице / И.Р. Сайфуллина, Г.А. Чиганова, С.В. Карпов, В.В. Слабко // *Журнал прикладной химии*. – 2006 – Т. 79, No 10 – С.1660–1663.
131. Пат. 2088234 Российская Федерация, МПК А 61 К 031/79 (033/38). Водорастворимая бактерицидная композиция и способ ее получения / В.В. Копейкин, Е.Ф. Панарин, Ю.Г. Сантурян, Г.Е. Афиногенов, З.А. Пашникова, Е.Ф. Прохода, Т.И. Будникова; Патентооладатель Институт высокомолекулярных соединений РАН. – No 94042748; заявл. 25.11.1994,

опубл. 27.08.1997. – 8 с.

132. Копейкин, В.В. Водорастворимые нанокompозиты нуль–валентного металлического серебра с повышенной антимикробной активностью / В.В. Копейкин, Е.Ф. Панарин // Доклады АН. – 2001. – Т. 380, No 4. – С. 497–500.
133. Панарин, Е.Ф. Биологически активные полимерные наносистемы / Е.Ф. Панарин. – Инновации. – 2008, No 6. – С. 50–53.
134. Dey, A. Evaluation of the of antibacterial efficacy of polyvinylpyrrolidone (PVP) and tri-sodium citrate (TSC) silver nanoparticles / A. Dey, A. Dasgupta, V. Kumar, A. Tyagi, A. Kamra Verma // Int. Nano Lett. – 2015. – V. 5. – P. 223–230.
135. Quirós, J. Antimicrobial electrospun silver-, copper- and zinc-doped polyvinylpyrrolidone nanofibers / J. Quirós, J.P. Borges, K. Boltes, I. Rodea-Palomares, R. Rosal // J. Hazardous Materials. – 2015. – V. 299. – P. 298–305.
136. Крылов, К.М. Клинико-бактериологическая оценка эффективности нового антисептика – повииаргола / К.М. Крылов, В.Д. Бадиков, В. В. Копейкин // В сб.: Применение препаратов серебра в медицине. – ИКИ СО РАМН, Новосибирск. – 1994. – С. 54–55.
137. Гнетнев, А.М. Перспективы комплексного использования повииаргола и озона для борьбы с госпитальной инфекцией в хирургических стационарах / А.М. Гнетнев, А.С. Колмыкова // В сб.: Серебро в медицине и технике. – ИКИ СО РАМН, Новосибирск. – 1995. – С. 80–83.
138. Гнетнев, А.М. Результаты изучения бактерицидного действия повииаргола по сравнению с другими детергентами / А.М. Гнетнев, Б.Я. Позднякова, И.А. Емельянова и др. // В сб.: Серебро в медицине и технике. – ИКИ СО РАМН, Новосибирск. – 1996. – С. 56–63.
139. Афиногенов, Г.Е. Факторы, влияющие на бактериостатическую активность коллоидных препаратов серебра / Г.Е. Афиногенов, В.В. Копейкин // В сб.: Применение препаратов серебра в медицине. – ИКИ СО РАМН, Новосибирск. – 1994. – С. 51–53.

140. Христо, С.А. Применение повииаргола в ожоговом центре / С.А. Христо, Д.А. Каленицкий // В сб.: Серебро в медицине и технике. – ИКИ СО РАМН, Новосибирск. – 1995. – С. 109–112.
141. Христо, С.А. Повииаргол и ожоги / С.А. Христо // В сб.: Серебро в медицине, биологии и технике. – ИКИСО РАМН, Новосибирск. – 1996. – С. 84–88.
142. Афиногенов, Г.Е. Применение антисептика повииаргол в лечении острых и хронических гнойных заболеваний опорно–двигательной системы / Г.Е. Афиногенов, В.Д. Мамонтов, В.Д. Кулик и др. // Вестник хирургии им. И. И. Грекова. – 1991. – Т.145, No 5. – С. 59–61.
143. Афиногенов, Г.Е. Опыт клинического изучения и применения нового серебросодержащего препарата повииаргол для профилактики и лечения раневой инфекции в травматологии / Г.Е. Афиногенов, В.В. Копейкин, М.В. Краснова // В сб.: Серебро в медицине и технике. – ИКИ СОРАМН, Новосибирск. – 1995. – С. 115–118.
144. Гнетнев, А.М. Использование повииаргола для лечения гнойных осложнений в травматологических стационарах / А.М. Гнетнев, В.В. Копейкин, Г.Е. Афиногенов и др. // В сб.: Применение препаратов серебра в медицине. – ИКИ СОРАМН, Новосибирск. – 1994. – С. 64–68.
145. Либерзон, Р.Д. Опыт клинического применения растворов повииаргола для ультразвуковой санации гнойных ран и очагов остеомиелита у травматологических больных / Р.Д. Либерзон, А.М. Гнетнев, Б.Я. Позднякова и др. // В сб.: Применение препаратов серебра в медицине. – ИКИ СОРАМН, Новосибирск. – 1994. – С. 69.
146. Щербаков, С.А. Новый бактерицидный препарат повииаргол и его применение для лечения больных с гнойно-септическими заболеваниями / С.А. Щербаков // В сб.: Серебро в медицине, биологии, технике. – ИКИ СО РАМН, Новосибирск. – 1993. – С. 34–35.
147. Щербаков, С.А. Использование повииаргола для лечения гнойных ран в условиях гнойно-септического отделения / С.А. Щербаков // В сб.:

Серебро в медицине, биологии, технике. – ИКИ СО РАМН, Новосибирск. – 1995. – С. 93–95.

148. Щербаков, С.А. Опыт применения повииаргола при лечении больных с гнойными заболеваниями / С.А. Щербаков, В.И. Ярошно, Н.С. Аментьев и др. // В сб.: Серебро в медицине, биологии, технике. – ИКИ СО РАМН, Новосибирск. – 1996. – С. 97–102.
149. Balashevich, L. Clinical evaluation of eye drops containing poviargol / L. Balashevich, I. Okolov, G. Afinogenov, A. Afinogenova // 2nd International Conference on Cornea, Eye Banking and External Diseases. – Prague, 1996. – P. 196.
150. Пат. 2307657 Российская Федерация, МПК А 61 Р 11, А 61 К (31/79; 33/38). Способ лечения воспалительных заболеваний лор-органов / Н.А. Воронцова, П.П. Родионов, В.А. Бурмистров, Е.М. Благитко, Ю.И. Михайлов, Г.В. Одегова, Н.Е. Богданчикова, М.А. Борха, О.А. Полунина, К.Ю. Михайлов, Т.П. Родионова, Л.А. Дмитриева, С.А.Бернвальд – No 2005123007/14; заявл. 19.07.2005; опубл. 10.10.2007, Бюл. 28. – 6 с.
151. Добровольская, И.П. Структура и свойства пленочных композитов на основе метилцеллюлозы, повииаргола и наночастиц монтмориillonита / И.П. Добровольская, В.Е. Юдин, Н.Ф. Дроздова, В.Е. Смирнова, И.В. Гофман, Е.Н. Попова, А.М. Бочек, Н.М. Забивалова, И.В. Плугарь, Е.Ф. Панарин // Высокомолекулярные соединения А. – 2011. – Т. 53, No 2. – С. 256–262.
152. Пат. 2292224 Российская Федерация, МПК А 61 L (27/14; 17/00; 15/22), А 61 К (31/79; 33/38). Способ изготовления сетчатого протеза с антимикробными свойствами для герниопластики / Б.Я. Басин, Г.Е. Афиногенов, Н.А. Пострелов, Г.Е. Афиногенов, А.И. Кольцов – No 2005121826/15; заявл. 11.07.2005; опубл. 27.01.2007, Бюл. 3. – 12 с.
153. Пат. 2259871 Российская Федерация, МПК В 01 J 13; В 01 F 17/00; В 82 В 3. Коллоидный раствор наночастиц металла, нанокompозиты металл-полимер и способы их получения / С.Б. Ким, М.С. Ли, Э.С. Мин, С.Б. Ким,

- Х.С. Син; Патентооладатель: М.С. Ли; Поустеч Фаундейшн. – No 2003133728/15; заявл. 30.04.2002; опубл. 10.09.2005, Бюл. 25. – 23 с.
154. Gorbunova, M.N. New Water-Soluble Silver Nanocomposites / M.N. Gorbunova, D.M. Kisel'kov, V.O. Nebogatikov // *Rus. J. Applied Chemistry*. – 2015. – V. 88, No 2. – P. 320–324.
155. Zhang, J. Thermally responsive gold nanocatalysts based on a modified polyvinylpyrrolidone / J. Zhang, Y. Yuan, K.J. Kilpin, Yu. Kou, P.J. Dyson, N. Yan // *J. Mol. Catal. A: Chem.* – 2013. – V. 371. – P. 29–35.
156. Salata, O.V. Applications of nanoparticles in biology and medicine / O.V. Salata // *J. Nanobiotechnol.* – 2004. – V. 2. – P. 3–9.
157. Lee, J.H. Blood Biochemical and Hematological Study after Subacute Intravenous Injection of Gold and Silver Nanoparticles and Coadministered Gold and Silver Nanoparticles of Similar Sizes / J.H. Lee, M. Gulumian, E.M. Faustman, T Workman, K.-S. Jeon, I. Je Yu // *BioMed Res. Int.* – 2018. – Article ID 8460910. – 10 p.
158. Sannella, A.R. New uses for old drugs. Auranofin, a clinically established antiarthritic metallodrug, exhibits potent antimalarial effects in vitro: Mechanistic and pharmacological implications / A.R. Sannella, A. Casini, C. Gabbiani, L. Messori, A. R. Bilia, F. Franco Vincieri, G. Majori, C. Severini // *FEBS Letters*. – 2008. – V. 582, No 6. – P. 844–847.
159. Toubanaki, D.K. Towards a Dual Lateral Flow Nanobiosensor for Simultaneous Detection of Virus Genotype-Specific PCR Products / D.K. Toubanaki, E. Karagouni // *J. Anal. Methods in Chem.* – 2018. – 11 p. – DOI: 10.1155/2018/7691014.
160. Zhao, Yu. The synthesis of metal nanoclusters and their applications in biosensing and imaging / Huangmei Zhou, Sanjun Zhang, Jianhua Xu // *Methods and Applications in Fluorescence*. – 2013. – V. 8, No 1. – DOI: 10.1088/2050-6120/ab57e7.
161. Staroverov, S.A. Effect of gold nanoparticles on the respiratory activity of peritoneal macrophages / S.A. Staroverov, N.M. Aksinenko, K.P. Gabalov,

- O.A. Vasilenko, I.V. Vidyasheva, S.Y. Shchyogolev, L.A. Dykman // Nanotechnology, Gold Bull. – 2009. – V. 42, No 2. – P. 153–156.
162. Xia, Y. Gold nanocages: From synthesis to theranostic applications / Y. Xia, W. Li, C.M. Cobley, J. Chen, X. Xia, Q. Zhang, M. Yang, E. Ch. Cho, P. . Brown // Acc. Chem. Res. – 2011. – V. 44, No 10. – P. 914–924.
163. Zezin, A.A. The radiation-induced preparation of ultrasmall gold nanoparticles in Au(III) complexes with units of poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) and poly(1-vinyl-1,2,4-triazole) – poly(acrylic acid) / A.A. Zezin, R.A. Vinogradov, E.A. Zezina, V.I. Feldman, A.A. Zezin, A.S. Pozdnyakov, A.L. Vasiliev // Colloid Interface Sci. Commun. – 2022. – V.47 – P. 100602 (7).
164. Zezin, A.A. A one-pot radiation-chemical synthesis of metal-polymeric nanohybrides in solutions of vinyltriazole containing gold ions / A.A. Zezin, A.I. Emel'yanov, G.F. Prozorova, E.A. Zezina, V.I. Feldman, S.S. Abramchuk, A.S. Pozdnyakov // Mendeleev Commun. – 2019. – V.29. – P. 158–159.
165. Мячина, Г.Ф. Наночастицы золота, стабилизированные водорастворимым биосовместимым поли-1-винил-1,2,4-триазолом / Г.Ф. Мячина, Т.В. Конькова, С.А. Коржова, Т.Г. Ермакова, А.С. Поздняков, Б.Г. Сухов, К.Ю. Арсентьев, Е.В. Лихошвай, Б.А. Трофимов // Доклады АН. – 2010. – Т. 431, No 1. – С. 50–51.
166. Поздняков, А.С. Преобразование наночастиц серебра и золота в полимерных композитах под действием лазерного излучения / А.С. Поздняков, А.А. Старченко, Т.В. Конькова, С.А. Коржова, Т.Г. Ермакова, Г.Ф. Прозорова // Известия ВУЗов. Физика. – 2011. – Т. 2, No. 2. – С. 247–250.
167. Kedia, A. Solvent-Adaptable Poly(vinylpyrrolidone) Binding Induced Anisotropic Shape Control of Gold Nanostructures / A. Kedia, P. Senthil Kumar // J. Phys. Chem. C. – 2012. – V. 44, No 116. – P. 23721–23728.
168. Bi, K. Direct electron- beam patterning of transferrable plasmonic gold nanoparticles using a HAuCl₄/ PVP composite resist / K. Bi, Yi. Chen, Q. Wan, T. Ye, Qua. Xiang, M. Zheng, X. Wang, Q. Liu, G. Zhang, Yo. Li, Yu. Liud,

- H. Duan // *Nanoscale*. – 2019. – V. 11. – P. 1245–1252.
169. Tsuji, M. Shape Selective Oxidative Etching and Growth of Single-Twin Plate-Like and Multiple-Twin Decahedral and Icosahedral Gold Nanocrystals in the Presence of Au Seeds under Microwave Heating / M. Tsuji, N. Miyamae, M. Nishio, S. Hikino, N. Ishigami // *Nanoscale*. – 2007. – V. 80, No 10. – P. 2024–2038.
 170. Patel, K. Synthesis of Au, Au/Ag, Au/Pt and Au/Pd nanoparticles using the microwave-polyol method / K. Patel, S. Kapoor, D.P. Dave, T. Mukherjee // *Res Chem Intermediat.* – 2006. – V. 32. – P. 103–113.
 171. Li, Z. Galvanic-Cell-Reaction-Driven Deposition of Large-Area Au Nanourchin Arrays for Surface-Enhanced Raman Scattering / Z. Li, K. Sun, Z.B. Du, Chen, X. He // *Nanomaterials*. – 2018. – V. 8, No 4. – DOI:10.3390/nano8040265.
 172. Behera, M. Proposing a Feasible Mechanism to Support the Exhibition of Superb Colloidal Stability of Gold Nanoparticles with Poly Vinyl Pyrrolidone in the form of a Nanofluid in N, N'-Dimethyl Formamide / M. Behera // *Research J. of Nanoscience and Nanotechnology*. – 2015. – V. 5, No 2. – P. 60–73.
 173. Behera, M. Intense quenching of fluorescence intensity of poly(vinyl pyrrolidone) molecules in presence of gold nanoparticles / M. Behera, S. Ram // *Applied Nanoscience*. – 2013. – V. 3, No 6. – P. 543–548.
 174. Behera, M. Spectroscopy-based study on the interaction between gold nanoparticle and poly (vinylpyrrolidone) molecules in a non-hydrocolloid / M. Behera, S. Ram // *Int. Nano Lett.* – 2013. – V. 3, Issue 1. – P. 17/1–17/7.
 175. Behera, M. Synthesis of gold nanoparticles in presence of poly(vinyl pyrrolidone) from gold hydroxide precursor salt / M. Behera, S. Ram // *Adv. Mater. Res.* – 2012. – V. 585. – P. 115–119.
 176. Behera, M. Inquiring the mechanism of formation, encapsulation and stabilization of gold nanoparticles by poly(vinyl pyrrolidone) molecules in 1-butanol / M. Behera, S. Ram // *Applied Nanosc.* – 2014. – V. 4. – P. 247–254.

177. Behera, M. Synthesis and characterization of core-shell gold nanoparticles with poly(vinyl pyrrolidone) from a new precursor salt. / M. Behera, S. Ram // *Applied Nanosc.* – 2013. – V. 3. – P. 83–87.
178. Ram, S. Modulating Up-Energy Transfer and Violet-Blue Light Emission in Gold Nanoparticles with Surface Adsorption of Poly(vinyl pyrrolidone) Molecules / S. Ram, H.-J. Fecht // *J. Phys. Chem. C.* – 2011. – V. 115, No 16. – P. 7817–7828.
179. Celentano, M. Diffusion limited green synthesis of ultra-small gold nanoparticles at room temperature / M. Celentano, A. Jakhmola, M. Profeta, E. Battista, D. Guarnieri, F. Gentile, P.A. Netti, R. Vecchione // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. and Engineering Aspects.* – 2018. – V. 558. – P. 548–557.
180. Celentano, M. Irreversible photo-Fenton-like triggered agglomeration of ultra-small gold nanoparticles capped with crosslinkable materials / M. Celentano, A. Jakhmola, P.A. Netti, R. Vecchione // *Nanoscale Adv.* – 2019. – V. 1. – P. 2146–2150.
181. Nehra, K. Enhanced catalytic and SERS performance of shape/size controlled anisotropic gold nanostructures / K. Nehra, S. K. Pandian, M. S. Satya Bharatib, V. Rao Soma // *New J.Chem.* – 2019. – V. 43. – P. 3835–3847.
182. Zhang, J. Thermally responsive gold nanocatalysts based on a modified poly-vinylpyrrolidone / J. Zhang, Yu. Yuan, K.J. Kilpin, Yu. Kou, P.J. Dyson, N. Yan // *J. Molec. Catalysis A: Chem.* – 2013. – V. 371. – P. 29–35.
183. Seoudi, R. Synthesis, characterization and vibrational spectroscopic studies of different particle size of gold nanoparticle capped with polyvinylpyrrolidone / R. Seoudi, A.A. Fouda, D.A. Elmenshawy // *Physica B.* – 2010. – V. 405. – P. 906–911.
184. Wang, Yo. Fabrication of Au/PVP nanofiber composites by electrospinning / Yo. Wang, Ya. Li, G. Sun, G. Zhang, H. Liu, J. Du, S. Yang, J. Bai, Q. Yang // *J. Appl. Polym. Sci.* – 2007. – V. 105, Issue 6. – P. 3618–3622.
185. Boomi, P. Evaluation of Antibacterial and Anticancer Potential of

- PolyanilineBimetal Nanocomposites Synthesized from Chemical Reduction Method / P. Boomi, G. Prabu Poorani, S. Palanisamy, S. Selvam, G. Ramanathan, S. Ravikumar, H. Barabadi, H. G. Prabu, J. Jeyakanthan, M. Saravanan // J. Cluster Sci. – 2019. – V. 30, No 3. – P. 715–726.
186. Пат. 29004, РК, МПК В 01 J (23/52; 37/02). Способ нанесения полимерпротектированных наночастиц золота на неорганические оксиды / С.Е. Кудайбергенов, Б.С. Селенова, Н.Н. Есмурзаева Э.К. Байгазиева, Ж.А. Нурахметова, Г.С. Татыханова; Патентооладатель РГП ПХВ «КазНТУ им. К.И. Сатпаева» Минобрнауки Республики Казахстан. – No 2013/1389.1; заявл. 18.10.2013; опубл. 15.10.2014, Бюл. 10. – 4 с.
 187. Lu, An-Hui. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application / An-Hui Lu, E.L. Salabas., Ferdi Schüth // Angewandte Chemie International Edition – 2007. – V. 46. – P. 1222–1244.
 188. Cardoso, V.F. Advances in Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications / V. F. Cardoso, A. Francesko, C. Ribeiro, M. Bañobre-López, P. Martins, S. Lanceros-Mendez // Adv. Healthcare Mater. – 2017. – No 1700845. – 35 p.
 189. Shvedchenko, D.O. Mechanism of formation of silver nanoparticles in MAG–DMAEMA copolymer aqueous solutions / D.O. Shvedchenko, T.N. Nekrasova, O.V. Nazarova, Ph.A. Buffat, E.I. Suvorova // J. Nanopart. Res. – 2015. – V. 17. – P. 275 (13 p.).
 190. Chen, L. Biodegradable Nanoagents with Short Biological Half-Life for SPECT/PAI/MRI Multimodality Imaging and PTT Therapy of Tumors / L. Chen, J. Chen, Sh. Qiu, L. Wen, Ya. Wu, Y. Hou, Yo. Wang, J. Zeng, Yu. Feng, Zh. Li, H. Shan, M. Gao // Small. – 2018. – V. 14. – P. 1702700 (10 p.).
 191. Jiang, C. Impact of iron-based nanoparticles on microbial denitrification by Paracoccus sp. strain YF1 / C. Jiang, Y. Liu, Z. Chen, M. Megharaj, R. Naidu // Aquat. Toxicol. – 2013. – V. 142–143. – P. 329–335.
 192. Liu, Y. Influence of zero-valent iron nanoparticles on nitrate removal by Paracoccus sp. / Y. Liu, S. Li, Z. Chen, M. Megharaj, R. Naidu // Chemosphere.

- 2014. – V. 108. – P. 426–432.
193. Lee, N. Iron oxide based nanoparticles for multimodal imaging and magnetoresponsive therapy / N. Lee, D. Yoo, D. Ling, M. H. Cho, T. Hyeon, J. Cheon // *Chem. Rev.* – 2015. – V. 115. – P. 10637–10689.
194. Nikiforov, V.N. Biomedical Applications of Magnetic Nanoparticles / V.N. Nikiforov, E.Yu. Filinova; ed. S.P. Gubin. – *Magnetic Nanoparticles*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Moscow, 2009 – 457 p.
195. Malekigorji, M. The use of iron oxide nanoparticles for pancreatic cancer therapy / M. Malekigorji, A.D. Curtis, C. Hoskins // *J. Nanomed. Res.* – 2014. – V. 1, No 1. – 13 p.
196. Прозорова, Г.Ф. Полимерные нанокомпозиты с наночастицами оксидов железа / Г.Ф. Прозорова, С.А. Коржова, А.И. Емельянов, А.С. Поздняков // *Журнал прикладной химии.* – 2013. – Т. 13, No 9. – С. 1486–1489.
197. Kavasa, H. Synthesis and conductivity evaluation of PVTri–Fe₃O₄ / H. Kavasa, Z. Durmus, A. Baykal, A. Aslan, A. Bozkurt, M.S. Toprak // *J. Non-Crystalline Solids.* 2010. – V. 356, No 9–10. – P. 484–489.
198. Uzun, L. Removal of heavy-metal ions by magnetic beads containing triazole chelating groups / L. Uzun, A. Kara, B. Osman, E. Yılmaz, N. Beşirli, A. Denizli // *J. Appl. Polymer Sci.* – 2009. – V. 114. – P. 2246–2253.
199. Lee, H.-Y. Synthesis and characterization of PVP-coated large core iron oxide nanoparticles as an MRI contrast agent / H.-Y. Lee, S.-H. Lee, Ch. Xu, J. Xie, J.-H. Lee, B. Wu, A. L. Koh, X. Wang, R. Sinclair, Sh. X. Wang, D. G. Nishimura, S. Biswal, Sh. Sun, S. H. Cho, X. Chen // *Nanotechnology.* 2008. – V. 19, No 16. – 6p.
200. Lee, H.Y. Preparation and magnetic resonance imaging effect of polyvinylpyrrolidone-coated iron oxide nanoparticles / H.Y. Lee, N.H. Lim, J.A. Seo, S. H. Yuk, B. K. Kwak, G. Khang, H. B. Lee, S. H. Cho // *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* – 2006. – V. 79, No 1. – 142–50.
201. Huang, H. Labeling transplanted mice islet with polyvinylpyrrolidone coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles for detection by magnetic

- resonance imaging / H. Huang, Q. Xie, M. Kang, B. Zhang, H. Zhang, J. Chen, Ch. Zhai, D. Yang, B. Jiang, Yu. Wu // *Nanotechnology*. – 2009. – V. 20, No 36. – 9p.
202. Sun, P. Synthesis and gas sensing properties of bundle-like α -Fe₂O₃ nanorods / P. Sun, L. You, D. Wang, Ya. Sun, J. Ma, G. Lu // *Sensors and Actuators B: Chem.* – 2011. – V. 156, No 1. – P. 368–374.
 203. Lu, X. Superdispersible PVP-Coated Fe₃O₄ Nanocrystals Prepared by a «One-Pot» Reaction / X. Lu, M. Niu, R. Qiao, M. Gao // *J. Phys. Chem. B.* – 2008. – V. 112, No 46. – P. 14390–14394.
 204. Zhang, B. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles prepared by using an improved polyol method / B. Zhang, Zh. Tu, F. Zhao, J. Wang // *Appl. Surface Sci.* – 2013. – V. 266, No 1. – P. 375–379.
 205. Tu, Zh. Synthesis of poly(ethylene glycol) and poly(vinyl pyrrolidone) co-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticle as a pH-sensitive release drug carrier / Zh. Tu, B. Zhang, G. Yang, M. Wang, F. Zhao, D. Sheng, J. Wang // *Colloids and Surfaces A: Phys.-chem. and Engineering Aspects*. – 2013. – V. 436, No 5. – P. 854–861.
 206. Jurkin, T. Gamma-irradiation synthesis of iron oxide nanoparticles in the presence of PEO, PVP or CTAB / T. Jurkin, M. Gotić, G. Štefanić, I. Pucić // *Radiat. Physics and Chemistry*. – 2016. – V. 124. – P. 75–83.
 207. Ying, X. Ultrasonic-assisted Synthesis of Fe Nanoparticles in the Presence of Poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) / X. Ying, Zh. Xiaoyana, Hs. Yiming, F. Yuzhi // *Chin. J. Chem.* – 2011. – V. 29. – P. 1829–1836.
 208. Горбунова М.Н. Радиальная сополимеризация N-замещенных 2-азанорборненов-5 с N-винилпирролидоном / М.Н. Горбунова, И.А. Борисова // *Высокомолекулярные соединения, сер. Б.* – 2020. – Т. 62, № 1. – С. 35–43.
 209. Шелковников В.В. Фотополимерный материал на основе органическо-неорганической золь-гель матрицы для голографии / В.В. Шелковников, В.В. Русских, Е.В. Васильев, В.И.Ковалевский, Е.Ф. Пен // *Журнал*

прикладной спектроскопии. – 2005. – Т. 72, № 4. – С. 551–556.

210. Балашов М.С. Определение количественного и качественного состава ненасыщенных полиэфирных смол методом ЯМР спектроскопии / М.С. Балашов, К.А. Киршанов, Р.В. Томс, Н.В.Суворов, А.Ю. Гервальд // Пластические массы. – 2022. – Т. 1(1-2). – С.28-33.
211. Исследование кинетики радикальной полимеризации стирола: методические указания к выполнению лабораторной работы по дисциплине «Инновационное развитие химической технологии» для студентов I курса, обучающихся по направлению 240100 «Химическая технология», квалификация – магистр / сост. Л.И. Бондалетова. – Томск: Изд-во ТПУ, 2011. – 24 с.
212. Figueiredo, H. Immobilization of Fe(III) complexes of pyridazine derivatives prepared from biosorbents supported on zeolites / H. Figueiredo, B. Silva, M.M.M. Raposo, A.M. Fonseca, I.C. Neves, C. Quintelas, T. Tavares // Microporous and Mesoporous Materials. – 2008. – V. 109. – P. 163–171.
213. Chakrabarti, S. Synthesis of γ -Fe₂O₃ nanoparticles coated on silica spheres: Structural and magnetic properties / S. Chakrabarti, S.K. Mandal, B.K. Nath, D. Das, D. Ganguli, S. Chaudhuri // Eur. Phys. J. B. – 2003. – V. 34. – P. 163–171.
214. Vereshchagina, T.A. The Nature and Properties of Iron-Containing Nanoparticles Dispersed in an Aluminosilicate Matrix of Cenospheres / T.A. Vereshchagina, N.N. Anshits, N.G. Maksimov, S.N. Vereshchagin, O.A. Bayukov, A.G. Anshits // Glass Physics and Chemistry. – 2004. – V. 30, No 3. – P. 247–256.
215. Reimhult, E. Stabilization and Characterization of Iron Oxide Superparamagnetic Core-Shell Nanoparticles for Biomedical Applications, Ch. 12 in Handbook of Nanomaterials and Properties, B. Bhushan *et.al.* (Eds.) / E. Reimhult, E. Amstad // Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. – 2014. – P. 355–387
216. Raghunath, A. Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a promise for

- the future / A. Raghunath, E. Perumal // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2017. – V. 49, No 2. – P. 137–152.
217. Hasani, A. Metal nanoparticles and consequences on multi-drug resistant bacteria: reviving their role / A. Hasani, M. Madhi, P. Gholizadeh, J. Sh. Mojarad, M.A. Rezaee, G. Zarrini, H.S. Kafil // SN Appl. Sci. – 2019. – No 1 (360). – 13 p.
218. Бабушкина И.В. Изучение антибактериального действия наночастиц меди и железа на клинические штаммы *Staphylococcus aureus* / И.В. Бабушкина, Б.В. Бородулин, Г.В. Коршунов, В.М. Пучиньян // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2010. – V. 6, No 1. – P. 11–14.
219. Gurunathan, S. Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria / S. Gurunathan, J.W. Han, D.N. Kwon, J.H. Kim // Nanoscale Res. Lett. – 2014. – V. 9, No 373. – 17 p.
220. Ермакова Т. Г. Винилирование 1,2,4-триазола / Т. Г. Ермакова, Л. А. Татарова, Н. П. Кузнецова // Журнал общей химии. – 1997. – Т. 67, № 5. – С. 859–861.
221. Торопцева, А.М. Лабораторный практикум по химии и технологии высокомолекулярных соединений / А.М. Торопцева, К.В. Белгородская, В.М. Бондаренко. – Л.: Химия. – 1972. – 416 с.
222. Lopez, R.G. Chitosan-coated magnetic nanoparticles prepared in one step by reverse microemulsion precipitation / R.G. Lopez, M.G. Pineda, G. Hurtado, R.D. de León, S. Fernández, H. Saade, D. Bueno // International Journal of Molecular Sciences. – 2013. – V. 14, No 10. – 19636–19650.
223. Гунар, О.В. Методы определения антимикробного действия лекарственных средств / О.В. Гунар, К.А. Каграманова // Химико-фармацевтический журнал. – 2005. – Т. 39, No 5. – С. 53–56.
224. Каграманова, К.А. Изменение No 2 к статье ГФ XI изд. «Методы микробиологического контроля лекарственных средств» /

- К.А.Каграманова, Н.И.Каламова, О.В. Гунар // Ремедиум. Ведомости Научного Центра экспертизы и государственного контроля лекарственных средств МЗ РФ (НЦ ЭГКЛС). – 2002. – Т. 9, No 1. – С. 33–39.
225. Документ СП 1.3.1285-03 Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности) 15.04.2003 N 42 (Приложение No 4: Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных).
226. Каркищенко, Н.Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях под редакцией / ред. С.В. Грачева. – Москва, 2010.
227. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях ETS N 123 (Страсбург, 18 марта 1986 г.)
228. Дубровина, В.И. Методические рекомендации по определению функционального состояния фагоцитов в качестве показателя неспецифической защиты организма / В.И. Дубровина, Ж.А. Коновалова, О.Б. Колесникова. – Иркутский НИПЧИ; 2008.
229. Roozen, N.J.M. Development of a semi-selective medium and an immunofluorescence colony-staining procedure for the detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in cattle manure slurry / N.J.M. Roozen, J.W.L. Van Vuurde // Netherlands J. Plant Pathology. – 1991. – V. 97, No 5. – P. 321–334.
230. Florack, D.E. Analysis of the toxicity of purothionins and hordothionins for plant pathogenic bacteria / D.E. Florack, B. Visser, P.M. De Vries, J.W.L. Van Vuurde, W.J. Stiekema // Netherlands J. Plant Pathology. – 1993. – V. 99, No 5–6. – P. 259–268.
231. Davidson, C.M. Medium for the selective enumeration of lactic acid bacteria from foods / C.M. Davidson, F. Cronin // Applied Microbiology. – 1973. – V. 26, No 3. – P. 439.

232. McCoy, R.H. Peptone beef extract glycogen agar, a selective and differential *Aeromonas* medium / R.H. McCoy, K.S. Pilcher // J. Fisheries Board of Canada. – 1974. – V. 31, No 9. – P. 1553–1555.
233. Essenberg, M. Identification and effects on *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* of two phytoalexins from leaves and cotyledons of resistant cotton / M. Essenberg, M.d`A. Doherty, B.K. Hamilton, V.T. Henning, E.C. Cover, S.J. McFaul, W.M. Johnson // Phytopathology. – 1982. – V. 72, No 10. – P. 1349–1356.
234. Ming, D. Selective recovery of *Xanthomonas* spp. from rice seed / D. Ming, H. Ye, N.W. Schaad, D.A. Roth // Phytopathology. – 1991. – Vol. 81, No 11. – P. 1358–1363.