

Т. В. КОНЬКОВА^{1,2}, Д. Н. ОЛЕННИКОВ³, Т. А. ПЕНЗИНА², Т. В. ГАНЕНКО^{1,2},
Б. Г. СУХОВ^{1,2}, Б. А. ТРОФИМОВ¹

¹ Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН, 664033, Иркутск, ул. Лермонтова, 134, Россия, Konbuivol_2@yahoo.com, ganenko@irioch.irk.ru, bat@irioch.irk.ru

² Иркутский научный центр СО РАН, 664033, Иркутск, ул. Лермонтова, 134, Россия, penzina1968@gmail.com, sukhov@irioch.irk.ru

³ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, 670047, Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6, Россия, olennikovdn@mail.ru

СИНТЕЗ И СТРОЕНИЕ НАНОКОМПОЗИТА СЕРЕБРА И МЕЛАНИНА ГРИБА ЧАГИ *INONOTUS OBLIQUUS*

Впервые синтезирован водорастворимый наноккомпозит с наночастицами серебра, стабилизированными уникальной полимерной матрицей — доступным природным полимером — меланином гриба чаги *Inonotus obliquus*. Меланин гриба чаги является многофункциональной полимерной матрицей, которой присущи высокая электронно-акцепторная способность, наличие стабильных свободных радикалов в высоких концентрациях, ярко выраженные полупроводниковые свойства и др. В основе синтеза наноразмерного композита серебра нулевой валентности лежит образование коллоидных частиц металлического серебра из раствора нитрата серебра в дисперсионной среде, представляющей собой водно-щелочной раствор меланина. Получен образец наноккомпозита в виде черно-коричневого порошка с содержанием серебра 5,4 %. Формирование композита представляет собой самоорганизацию неорганно-органических полимерных структур, включающую регуляцию размеров гибридных фрагментов на наноразмерном уровне за счет специфической адсорбции меланина на поверхности растущих неорганических наночастиц. При этом образующаяся на этих частицах объемная (по сравнению с ядром) меланиновая оболочка препятствует дальнейшему агрегированию наночастиц, одновременно придавая им водорастворимость. При образовании наноккомпозита с нуль-валентным серебром имеет место редокс-реакция меланиновой матрицы с нитратом серебра, приводящая к восстановлению последнего. Размеры наночастиц серебра в наноккомпозите составляют 8–24 нм, с преимущественным содержанием наночастиц размерами 16–22 нм. Полученные таким образом из возобновляемого растительного сырья наноккомпозиты серебра и меланина являются перспективными для использования в биомедицине и материаловедении, так как могут проявлять синергизм выраженной противомикробной активности наносеребра с уникальными защитными (не только поглощают различные излучения, но и нейтрализуют и обезвреживают опасные для клеток свободные радикалы, образующиеся при действии ионизирующего излучения и некоторых химических веществ на живые организмы) и мощными антиоксидантными свойствами меланина, причем следует ожидать пролонгированность действия за счет наличия природной полимерной матрицы.

Ключевые слова: меланин, гриб чага, *Inonotus obliquus*, наноккомпозит, наночастицы серебра, редокс-реакция.

T. V. KON'KOVA^{1,2}, D. N. OLENNIKOV³, T. A. PENZINA², T. V. GANENKO^{1,2}, B. G. SUKHOV^{1,2}, AND B. A. TROFIMOV¹

¹ A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, 664033, Irkutsk, Favorskogo str., 134, Russia, Konbuivol_2@yahoo.com, ganenko@irioch.irk.ru, bat@irioch.irk.ru

² Irkutsk Scientific Center SB RAS, 664033, Irkutsk, Lermontova str., 134, Russia, penzina1968@gmail.com, sukhov@irioch.irk.ru

³ Institute of General and Experimental Biology SB RAS, 670047, Ulan-Ude, Sakhyanovoy str., 6, Russia, olennikovdn@mail.ru

SYNTHESIS AND STRUCTURE OF NANOCOMPOSIT OF ARGENTUM AND MELANIN COMPLEX OF THE CHAGA MUSHROOM *INONOTUS OBLIQUUS*

A water-soluble silver nanoparticles stabilized by a unique polymer matrix — available natural polymer melanin *Inonotus obliquus* was synthesized for the first time. The melanin is a multifunctional polymeric matrix whose inherent high electron-acceptor ability, presence of stable free radicals in high concentrations pronounced semiconducting properties, and others. A synthesis of nanoscale zero valent silver composite is the formation of colloidal silver metal particles from silver nitrate solution in the dispersion medium (aqueous alkaline solution of melanin). A sample of the nanocomposite was obtained as the form of a black-brown powder with a silver content of 5,4 %. The composite formation is self-organization of inorganic-organic polymer structures, including the regulation of hybrid fragments sizes on nanoscale level by specific adsorption of melanin on the surface

© 2016 Конькова Т. В., Оленников Д. Н., Пензина Т. А., Ганенко Т. В.,
Сухов Б. Г., Трофимов Б. А.

of the growing inorganic nanoparticles. The bulk (as opposed to nucleus) melanin shell formed on particles prevents further aggregation of nanoparticles, while giving them water soluble properties. The redox reaction of melanin matrix with silver nitrate occurs in the nanocomposite formation. The silver nanoparticle dimensions comprise 8–24 nm, with a predominant content of nanoparticle sizes of 16–22 nm. The silver-melanin nanocomposite thus obtained from renewable raw materials is promising for use in biomedicine and materials science, as there may be synergies pronounced antimicrobial activity of nanosilver with a unique protective (not only absorb different radiations, but also neutralize and detoxify harmful to the cells free radicals formed by the action of ionizing radiation and certain chemicals on living organisms) and the powerful antioxidant properties of melanin. Wherein the prolonged action to be expected due to the presence of the natural polymer matrix.

Keywords: melanin, Chaga mushroom, *Inonotus obliquus*, nanocomposite, silver nanoparticles, redox reaction.

Полимерные наноконпозиты с наночастицами серебра являются перспективными для медицины, оптоэлектроники, нанофотоники вследствие уникальных свойств серебра в наноразмерном состоянии [1–5] и многофункциональности полимерной матрицы (высокая электронно-акцепторная способность, наличие стабильных свободных радикалов в высоких концентрациях, ярко выраженные полупроводниковые свойства и др. [6–8]).

Кроме того, нанобиоконпозиты (стабилизированные природными полимерами наноразмерные частицы) могут проявлять характерный синергизм свойств как природной стабилизирующей матрицы, так и материалов наноразмерного ядра [9]. Поэтому методы синтеза, строение и свойства таких материалов интенсивно изучаются [10–14].

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования использовали меланин, выделенный из склероциев гриба чага *Inonotus obliquus*, собранных в Прибайкальском районе Республики Бурятия (Горячинск, 14 августа 2010 г., 52°98'84" с. ш., 108°28'95" в. д.).

Чага является базидиальным видом грибов семейства Гименохетовые (Hymenochaetaceae), который широко распространен в лиственных лесах России. Стерильная форма (склероции) этого вида *I. obliquus*, который называется чага, — это лекарственное сырье, используемое в медицинской практике для лечения различных заболеваний [15]. Одной из особенностей стерильной формы данного вида является способность концентрировать олигомерные (феллигридины, иноскавины, инооблины, интерфунгины) [16] и полимерные пигменты (меланин) [17, 18].

Меланин, представляющий собой черно-коричневый порошок, выделен щелочной экстракцией по ранее описанной методике [7].

Элементный состав определяли методом рентгеновского энергодисперсионного микроанализа на электронном сканирующем микроскопе Hitachi TM 3000 с X-ray детектором SDD XFlash 430-4 и на CHNS-анализаторе Flash 2000 фирмы Thermo Scientific. ИК-спектры регистрировали на приборе «Bruker Vertex 70» в таблетках с KBr. Спектры оптического поглощения водных растворов наноконпозита снимали на спектрофотометре Perkin Elmer Lambda 35. Микрофотографии получали на электронном микроскопе Leo 906E. Рентгенографическое исследование проводили на дифрактометре Bruker D8 ADVANCE, оснащенный зеркалом Геббеля с CuK_α -излучением в режиме Locked Coupeed.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами разработан новый подход к синтезу гибридных наноразмерных материалов нуль-валентного серебра на основе уникальной стабилизирующей полимерной матрицы — доступного природного полимера [19] — меланина *I. obliquus*.

В основе синтеза наноразмерного конпозита серебра нулевой валентности лежит образование коллоидных частиц металлического серебра из раствора нитрата серебра в дисперсионной среде, представляющей собой водно-щелочной раствор меланина. Получен образец в виде черно-коричневого порошка с содержанием серебра 5,4 %.

Формирование конпозита представляет собой самоорганизацию неорганo-органических полимерных структур, включающую регуляцию размеров гибридных фрагментов на наноразмерном уровне за счет специфической адсорбции меланина на поверхности растущих неорганических наночастиц [20]. При этом образующаяся на частицах объемная (по сравнению с ядром) меланиновая оболочка препятствует дальнейшему агрегированию наночастиц, одновременно придавая им водорастворимость. При образовании наноконпозита с нуль-валентным серебром имеет место редокс-реакция мелани-

новой матрицы с нитратом серебра, приводящая к восстановлению последнего. Изменение морфологии особенно заметно на микрофотографиях (рис. 1).

Рентгенографическое исследование нанокompозита, содержащего наночастицы серебра, показывает, что меланин находится в рентгеноаморфном состоянии, а сфероиды серебра имеют кристаллическую металлическую структуру. Средний размер кристаллитов составляет 30 нм (рис. 2).

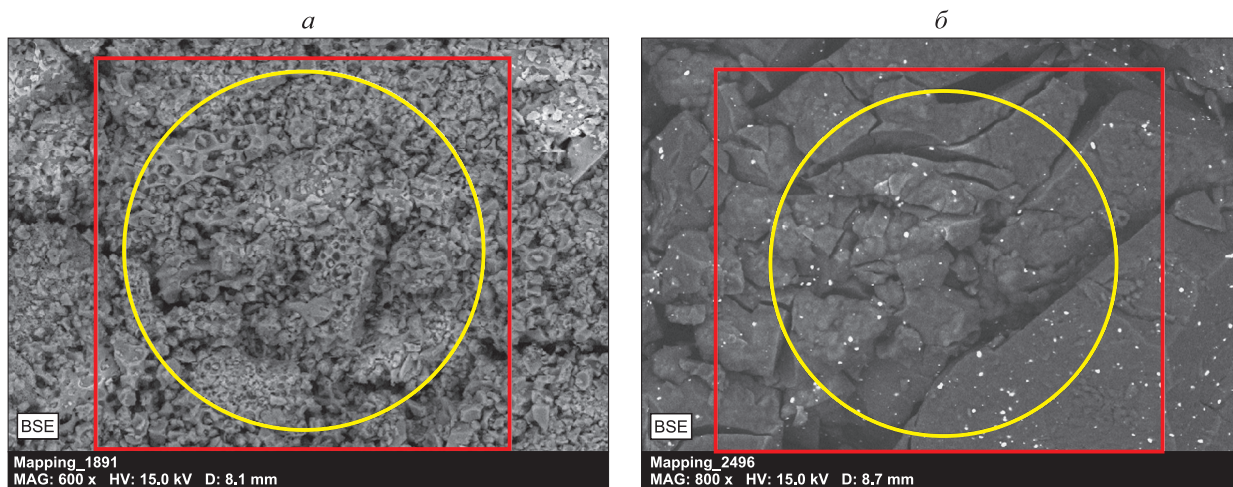


Рис. 1. Морфология исходного меланина *I. obliquus* (а) и его нанокompозита (б) по данным сканирующей электронной микроскопии.

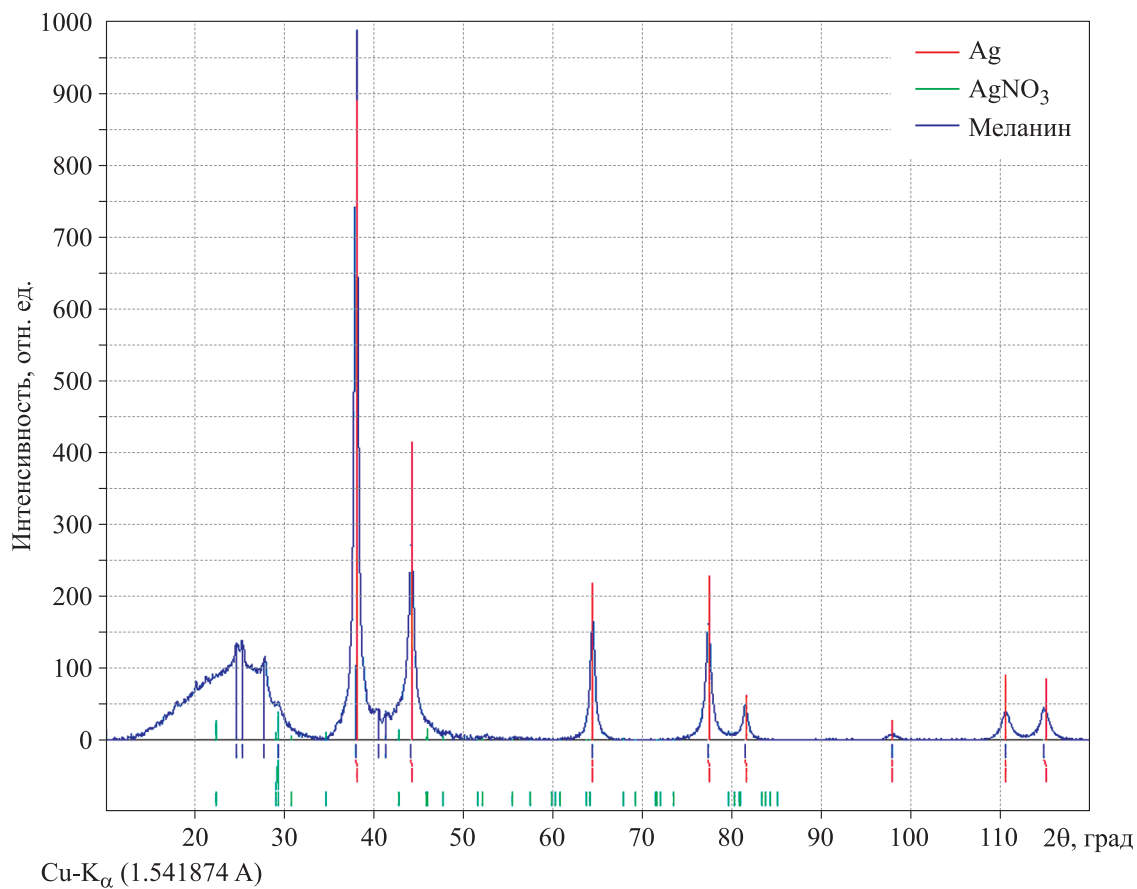


Рис. 2. Рентгеновская дифрактограмма нанокompозита серебра и меланина *I. obliquus*.

По данным просвечивающей электронной микроскопии, размеры наночастиц серебра в нанокompозите составляют 8–24 нм, при этом большинство наночастиц (58 %) имеют размеры 16–22 нм, что неплохо коррелирует с данными рентгенофазового анализа (средняя область когерентного рассеяния нанокристаллитов серебра 11–32 нм).

Синтезированный новый нанокompозит является перспективной субстанцией для дальнейшего изучения биомедицинских свойств. Так, серебросодержащие производные меланина могут проявлять синергизм выраженной противомикробной активности с уникальными защитными свойствами: не только поглощают различные излучения, но и нейтрализуют и обезвреживают опасные для клеток свободные радикалы, образующиеся при действии ионизирующего излучения и некоторых химических веществ на живые организмы, и мощными антиоксидантными свойствами меланина, причем следует ожидать пролонгированность действия за счет наличия природной полимерной матрицы.

Синтез нанокompозита. К раствору 1,0 г меланина в 2 мл воды при интенсивном перемешивании приливали небольшими порциями 2 мл водного раствора, содержащего 0,08 г AgNO₃, интенсивно перемешивали 40 мин при комнатной температуре, добавляли 30%-й водный раствор гидроксида аммония до pH 10–11, кипятили на водяной бане 15 мин. Целевой продукт очищали от низкомолекулярных примесей двукратным переосаждением из ацетона, высушивали в вакууме над CaCl₂. Получен образец в виде черно-коричневого порошка (выход 89 %) с содержанием серебра 5,4 %.

Таким образом, на основе возобновляемого сырья синтезирован новый водорастворимый нанобиокompозит грибного меланина и наночастиц серебра со средними размерами 30 нм, перспективный для разработки биосовместимых компонентов полимерных материалов, которые могут найти широкое применение в различных областях медицины и биологии, химии, техники, нелинейной оптики.

Работа выполнена в рамках Интеграционной программы ИИЦ СО РАН «Фундаментальные исследования и прорывные технологии как основа опережающего развития Байкальского региона и его межрегиональных связей».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Помогайло А. Д., Розенберг А. С., Уфлянд И. Е. Наночастицы металлов в полимерах. — М.: Химия, 2000. — 672 с.
2. Rao C. N. R., Müller A., Cheetham A. K. The Chemistry of Nanomaterials. — Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2004. — 741 p.
3. Благитко Е. М., Бурмистров В. П., Колесников А. П. и др. Серебро в медицине. — Новосибирск: Наука-Центр, 2004. — 256 с.
4. Фадеева Т. В., Шурыгина И. А., Сухов Б. Г., Рай М. К. и др. Взаимосвязь между строением и антимикробной активностью нанокompозитов серебра // Изв. РАН. Сер. физ. — 2015. — Т. 79, № 2. — С. 297–299.
5. Прозорова Г. Ф., Коржова С. А., Конькова Т. В., Поздняков А. С. и др. Антимикробная активность нанокompозитов серебра и поли-1-винил-1,2,4-триазола // Изв. РАН. Сер. хим. — 2011. — Т. 60, № 4. — С. 657–662.
6. Боршевская М. И., Васильева С. М. Развитие представлений о биохимии и фармакологии меланиновых пигментов // Вопр. мед. химии. — 1999. — Т. 45, № 1. — С. 13–23.
7. Olenikov D. N., Tankhaeva L. M., Rokhin A. V. et al. Physicochemical properties and antioxidant activity of melanin fractions from *Inonotus obliquus sclerotia* // Chemistry of Natural Compounds. — 2012. — Vol. 48, N 3. — P. 396–403.
8. Solano F. Melanins: skin pigments and much more-types, structural models, biological functions, and formation routes // New Journ. Science. — 2014. — Vol. 2014. — P. 1–28.
9. Помогайло А. Д. Гибридные полимер-неорганические нанокompозиты // Успехи химии. — 2000. — Т. 69, № 1. — С. 60–85.
10. Kiran G. S., Dhasayan A., Lipton A. N. et al. Melanin-templated rapid synthesis of silver nanostructures // Journ. Nanobiotechnology. — 2014. — Vol. 12:18.
11. Liopo A., Su R., Oraevsky A. A. Melanin nanoparticles as a novel contrast agent for optoacoustic tomography // Photoacoustics. — 2015. — Vol. 3. — P. 35–43.
12. Zhang R., Fan Q., Yang M. et al. Engineering melanin nanoparticles as an efficient drug-delivery system for imaging-guided chemotherapy // Adv. Mater. — 2015. — Vol. 27. — P. 5063–5069.
13. Ju K.-Y., Kang J., Pyo J. et al. pH-Induced aggregated melanin nanoparticles for photoacoustic signal amplification // Nanoscale. — 2016. — Vol. 8. — P. 14448–14456.
14. Dobrovolskaia M. A., McNeil S. E. Handbook of immunological properties of engineered nanomaterials // Frontiers in Nanobiomedical Res. — Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2013. — Vol. 1. — 721 p.

15. **Balandaykin M. E., Zmitrovich I. V.** Review on chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus* (higher basidiomycetes): Realm of medicinal applications and approaches on estimating its resource potential // Intern. Journ. Medicinal Mushrooms. — 2015. — Vol. 17, N 2. — P. 95–104.
16. **Zheng W., Miao K., Liu Y. et al.** Chemical diversity of biologically active metabolites in the sclerotia of *Inonotus obliquus* and submerged culture strategies for up-regulating their production // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2010. — Vol. 87, N 4. — P. 1237–1254.
17. **Shivrina A. N.** Chemical and spectrophotometric characteristics of water-soluble humus-like compounds formed by the fungus *Inonotus obliquus* (Pers) Pil. // Pochvovedenie. — 1962. — Vol. 11. — P. 51.
18. **Kukulyanskaya T. A., Kurchenko N. V., Kurchenko V. P. et al.** Physicochemical properties of melanins produced by the sterile form of *Inonotus obliquus* (“Chagi”) in natural and cultivated fungus // Appl. Biochem. Microbiol. — 2002. — Vol. 38, N 1. — P. 58–61.
19. **Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР** / Ред. П. С. Чикова. — М.: Картография, 1983. — 340 с.
20. **Литманович А. А., Паписов И. М.** Влияние длины макромолекул на размер частиц металла, восстановленного в полимерном растворе // Высокомолекуляр. соединения. Сер. Б. — 1997. — Т. 39, № 2. — С. 323–326.

Поступила в редакцию 20 октября 2016 г.