Nghiên cứu tổng hợp tiểu phân nano bạc clorid

Trịnh Ngọc Dương[1], Chử Thị Thu Huyền[1], Nguyễn Thị Thanh Bình[1*]
Phạm Thanh Phúc[2], Vũ Đức Lợi[1], Nguyễn Thanh Hải[1]
[1]Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội
[2]Khoa Dược - Bệnh viện K
*E-mail: binhnguyen@vnu.edu.vn

Summary

Nano particles of silver chloride were prepared by precipitation reaction of sodium chloride on silver nitrate in aqueous solutions of several stabilizators. Polyvinyl alcohol (about 0.72%) was found to be a good agent for the formation of AgCl nano grains. The average particle size was about 80 nm and the obtained suspensions were polydisperse with Polydispersity Index of 0.251. Other characteristics of the obtained AgCl nanoparticles such as Zeta potential, morphology, light stabilizing, chemical nature and interaction with the stabilizators were also studied.

***Keywords**: Silver chloride nanoparticles.*

Đặt vấn đề

Bạc là một trong những nguyên tố có tính kháng khuẩn mạnh nhất trong tự nhiên. Đặc tính kháng khuẩn của bạc bắt nguồn từ tính chất hóa học của các ion Ag^+. Ion này có khả năng liên kết mạnh với peptidoglican của vách tế bào vi khuẩn và gây phân giải màng tế bào. Ag^+ có thể đi vào bên trong tế bào và phản ứng với nhóm mercapto –SH của phân tử enzym chuyển hóa oxy, vô hiệu hóa men này dẫn đến ức chế quá trình hô hấp của tế bào, làm cho vi khuẩn bị tê liệt. Ag^+ có khả năng liên kết với các base của DNA và trung hòa điện tích của gốc phosphat do đó ngăn chặn quá trình sao chép DNA. Ngoài ra Ag^+ còn tương tác với nhóm mercapto trên bề mặt hoặc bên trong vi khuẩn làm bất hoạt enzym phosphomannose isomerase và gây biến tính ribosome dẫn đến ức chế tổng hợp protein. Do tác dụng theo nhiều cơ chế khác nhau như vậy mà tỉ lệ đề kháng của vi khuẩn đối với bạc là rất thấp [1,2].

Trong lịch sử, bạc được sử dụng làm thuốc dưới nhiều dạng khác nhau, mỗi loại đều có ưu nhược điểm riêng. Bạc nitrat cho nồng độ ion Ag^+ cao nhưng dung dịch không ổn định. Ở nồng độ cao hơn 1%, dung dịch bạc nitrat có khả năng gây độc với tế bào và các mô; nitrat làm giảm khả năng liền vết thương và khi bị khử thành nitrit sẽ tạo ra các chất oxi hóa gây độc tế bào, giảm khả năng tái tạo tế bào biểu mô. Bạc protacgon có màu không được ưa chuộng, độ ổn định thấp. Bạc sulfadiazin sử dụng dưới dạng kem khó vệ sinh vết thương, thời gian tác dụng ngắn. Sản phẩm có thể làm giảm khả năng tái tạo biểu mô còn độc tính đối với tủy xương chủ yếu là do propylen glycol có trong dạng thuốc gây nên.

Nhờ ứng dụng công nghệ nano, tiểu phân nano bạc đã được tổng hợp và hiện đang được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực như y tế, môi trường, điện tử ... Các hạt nano bạc với năng lượng bề mặt lớn có khả năng giải phóng tử từ các ion bạc vào trong dung dịch, nhờ vậy nano bạc có hiệu lực khử khuẩn kéo dài hơn so với keo bạc. Tuy nhiên dạng tiểu phân nano của bạc nguyên tố có nhược điểm là khả năng giải phóng ion bạc thấp. Gần đây các nhà khoa học đã phát triển thành công thuốc sử dụng muối ít tan của bạc dưới dạng vi mạng kim loại cho mục đích chống nhiễm khuẩn. Các thuốc này có ưu điểm là kiểm soát được tốc độ giải phóng ion bạc ở mức tối ưu, trong thời gian dài. Các nghiên cứu theo hướng này hiện chưa được triển khai trong nước.

Nhằm tạo tiền đề cho việc phát triển các thuốc kháng khuẩn từ muối ít tan của bạc, chúng tôi tiến hành nghiên cứu tổng hợp tiểu phân nano bạc clorid và xác định một số đặc tính của hệ nano điều chế được.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu

Nguyên liệu sử dụng là bạc nitrat, natri clorid, beta-cyclodextrin, polyvinyl alcohol, methocel E6,

carbomer 934 đạt tiêu chuẩn dược dụng và nước cất 2 lần.

Thiết bị

Các máy móc, thiết bị được sử dụng chủ yếu là máy khuấy từ, máy siêu âm, máy quang phổ tử ngoại – khả kiến, máy ly tâm, kính hiển vi điện tử quét, máy quang phổ hồng ngoại, máy đo phổ nhiễu xạ tia X, máy đo kích thước tiểu phân và thế Zeta.

Phương pháp nghiên cứu

Tiểu phân bạc clorid được tổng hợp từ phản ứng tạo kết tủa giữa bạc nitrat và natri clorid trong dung dịch nước của chất ổn định. Phản ứng được thực hiện trong điều kiện tránh ánh sáng theo quy trình sau: hòa tan bạc nitrat vào dung dịch nước của chất ổn định được khảo sát. Nhỏ từ từ dung dịch natri clorid 0,1 M vào, tốc độ nhỏ 0,5 ml/phút, vừa nhỏ vừa khuấy trộn ở tốc độ 500 vòng/phút. Tiếp tục khuấy duy trì trong 1 giờ.

Đường kính tiểu phân, chỉ số đa phân tán (PDI) và thế Zeta được đo bằng máy Zetasizer Nano ZS90 Malverin, chỉ số khúc xạ 1,34, độ hấp thụ 0,001. Hình dạng tiểu phân được xác định bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) S4800-NIHE, điện thế gia tốc là 5,0 kV. Phổ hấp thụ UV-VIS được đo bằng máy Cary UV-60 với cuvet thạch anh 1 cm trong vùng bước sóng từ 200 đến 800 nm. Các mẫu đều được pha loãng 10 lần bằng nước cất.

Phổ nhiễu xạ tia X của tủa thu được khi ly tâm hỗn dịch ở nhiệt độ phòng với tốc độ 5.000 vòng/phút trong 20 phút được đo bằng máy D8 Advenced Brucker. Phổ hồng ngoại được đo bằng máy Shimadzu IRAffinity-1S FTIR, sử dụng phương pháp dập viên với KBr.

Các thí nghiệm được thực hiện tại các phòng thí nghiệm của Trường ĐH Dược Hà Nội, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Kết quả và bàn luận

Ảnh hưởng của loại chất ổn định đến sự hình thành tiểu phân bạc clorid

Trong thử nghiệm đầu tiên, các tác nhân ổn định beta-cyclodextrin (β-CD), polyvinyl alcohol (PVA), polyethylene glycol 400 (PEG 400), methocel E6, carbomer 934 lần lượt được sử dụng để điều chế hỗn dịch bạc clorid. Đây là các chất được sử dụng trong công nghiệp dược, có tác dụng tăng độ ổn định hỗn dịch bằng cách làm tăng độ nhớt dung dịch, giảm kết tụ tiểu phân. Lượng bạc sử dụng là 0,0204 g (0,12 mmol). Số mol natri clorid gấp đôi bạc nitrat để đảm bảo chuyển toàn bộ bạc nitrat thành bạc clorid. Tỉ lệ mol beta-cyclodextrin : bạc nitrat là 4:1. Các chất ổn định khác không có khối lượng mol xác định nên được lấy bằng khối lượng beta-cyclodextrin (0,5448 g). Các chất này tạo dung dịch có nồng độ khoảng 1,4% (kl/kl). Lượng nước cất sử dụng là 35 ml để đảm bảo hòa tan hoàn toàn chất có độ tan kém nhất là beta-cyclodextrin. Đường kính, chỉ số đa phân tán và thế Zeta của hỗn dịch bạc clorid được điều chế với các chất ổn định khác nhau được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1: *Đường kính, PDI và thế Zeta của tiểu phân AgCl bào chế với một số chất ổn định*

Mẫu	Chất bền hoá	Đường kính (nm)	Pic 1 (nm)	Pic 2 (nm)	% Pic 1	% Pic 2	PDI	Thế Zeta (mV)
M1	β-CD	324,4	322,5	5062	95	5	0,229	-20,8
M2	PVA	85,7	83,11	5208	96,9	3,1	0,238	-13,2
M3	PEG 400	-	-	-	-	-	-	-
M4	Methocel E6	274,2	321,8	0	100	0	0,209	-9,44
M5	Carbomer 934	201,4	237,8	0	100	0	0,148	-14,7

"-": Không xác định do tạo tủa to

Kết quả cho thấy các tiểu phân AgCl được bào chế với PVA (M2) có đường kính trung bình nhỏ hơn đáng kể so với các chất bền hoá còn lại. Giá trị PDI của các mẫu đều nhỏ hơn 0,5 cho thấy phân bố kích thước tương đối đều. PDI của M1 và M2 cao hơn các mẫu khác do xuất hiện pic phụ ở khoảng 5000 - 5200 nm. Thế Zeta âm của hỗn dịch có thể là do lớp ion âm Cl^- hấp phụ lên bề mặt tiểu phân. Từ các kết quả này, PVA được chọn để khảo sát tiếp ảnh hưởng của nồng độ chất ổn định đến đặc tính tiểu phân.

Ảnh hưởng của nồng độ PVA đến sự hình thành tiểu phân bạc clorid

Trong thử nghiệm tiếp theo, hỗn dịch bạc clorid được bào chế với lượng PVA tăng dần từ 0,0340 g đến 1,0897 g, các thành phần khác giữ nguyên. Đường kính tiểu phân, chỉ số đa phân tán, thế Zeta của các mẫu được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2: *Đường kính, PDI và thế Zeta của tiểu phân AgCl bào chế với các nồng độ PVA khác nhau*

Mẫu	*Lượng PVA (g)*	*Đường kính (nm)*	*Pic 1 (nm)*	*Pic 2 (nm)*	*% Pic 1*	*% Pic 2*	*PDI*	*Thế Zeta (mV)*
M6	0,0340	116,5	142,5	0	100	0	0,190	-17,9
M7	0,0681	98,9	110,8	0	100	0	0,149	-17,1
M8	0,1362	84,3	94,56	4910	98,8	1,2	0,166	-19,4
M9	0,2724	80,51	77,66	0	100	0	0,251	-21,7
M10	0,5448	85,7	83,11	5208	96,9	3,1	0,238	-13,2
M11	1,0896	92,85	112,5	0	100	0	0,207	-20,1

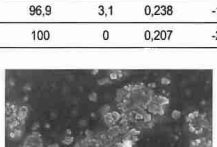
Kết quả thu được cho thấy khi lượng PVA tăng từ 0,0340 g đến 0,2724 g, kích thước tiểu phân giảm dần. Điều này có thể là do ở nồng độ PVA thấp, độ nhớt của môi trường nhỏ, khả năng bao phủ, tạo lớp áo ngăn cản các tiểu phân kết tụ của PVA thấp nên kích thước tiểu phân tăng. Tuy nhiên khi lượng PVA tăng từ 0,2724 g đến 1,0896 g, kích thước tiểu phân lại tăng dần. Có thể là do lượng PVA quá nhiều làm tăng độ nhớt của môi trường, giảm khả năng phân tán của tiểu phân và do đó làm tăng kích thước tiểu phân. PDI của các mẫu dao động từ 0,149 đến 0,251 cho thấy sự phân bố kích thước tiểu phân tương đối đồng đều. Các hỗn dịch tương đối không ổn định (thế Zeta nằm trong khoảng ± 10 đến ± 30 mV). Tuy nhiên về lâu dài, có thể dùng phương pháp đông khô để tăng độ bền cho tiểu phân.

Trong các mẫu được khảo sát, M9 chứa 0,72% PVA có kích thước tiểu phân trung bình thấp nhất, giá trị tuyệt đối của thế Zeta lớn nhất, hơn nữa chỉ có 1 pic ở khoảng 80 nm.

Một số tính chất lý hóa của tiểu phân nano bạc clorid sử dụng PVA làm chất ổn định

Hình dạng tiểu phân

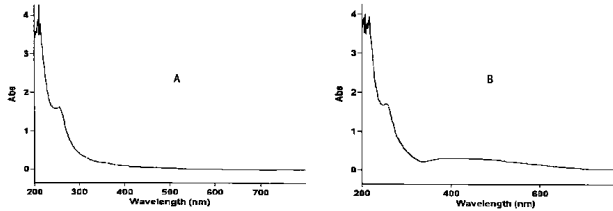
Ảnh chụp SEM của hỗn dịch (hình 1) cho thấy các tiểu phân có nhiều hình dạng nhưng chủ yếu là hình lập phương. Các tiểu phân không được sắc cạnh có thể là do chúng được bao bọc bởi PVA.



Hình 1: *Hình dạng tiểu phân bạc clorid quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét*

Độ bền với ánh sáng

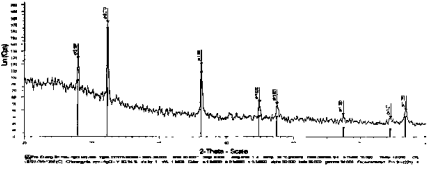
Hỗn dịch bạc clorid được cho tiếp xúc với tia UV 254 nm trong vòng 5 giờ. Hỗn dịch chuyển dần từ màu trắng ánh xanh trong sang màu tím than. So sánh phổ hấp thụ UV-Vis của hỗn dịch ngay sau khi bào chế và sau khi chiếu sáng có thể nhận thấy hỗn dịch nano bạc clorid mới bào chế chỉ hấp thụ mạnh trong vùng bước sóng nhỏ hơn 300 nm. Sau khi cho tiếp xúc với tia UV 254 nm, khả năng hấp thụ của hỗn dịch trong vùng 300-600 nm tăng lên đáng kể. AgCl không có khả năng hấp thụ bước sóng trên 400 nm vì có năng lượng vùng cấm (band gap) trực tiếp và gián tiếp lần lượt là 5,15 eV (≈ 240 nm) và 3,25 eV (≈ 380 nm). Pic hấp thụ rộng ở trong vùng 300 - 600 nm xuất hiện là do cộng hưởng plasmon bề mặt, một hiện tượng hay gặp ở các tiểu phân nano kim loại có kích thước từ 2 đến 100 nm [3]. AgCl có thể đã chuyển thành Ag khi tiếp xúc với ánh sáng, bám tụ trên bề mặt tiểu phân nano gây ra hiện tượng này [4].



Hình 2: *Phổ hấp thụ UV-VIS của hỗn dịch ngay sau khi bào chế (A) và sau khi chiếu UV 254 nm trong 5 giờ (B)*

Bản chất hóa học của tiểu phân

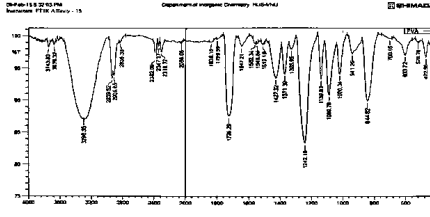
Trên phổ X ray của tiểu phân thu được có các pic xuất hiện ở 2θ: 27,91°; 32,32°; 46,27°; 54,85°; 57,49°; 67,42°; 74,53°, 76,84° lần lượt tương ứng với (111), (200), (220), (311), (222), (400), (331) và (420) xác nhận sự hiện diện của AgCl.



Hình 3: *Phổ X ray của tiểu phân nano bạc clorid*

Tương tác giữa tiểu phân và chất ổn định

Không thấy có sự khác biệt giữa phổ IR của tiểu phân nano bạc clorid thu được và phổ hồng ngoại của PVA [5]. Như vậy có thể sơ bộ kết luận tương tác giữa tiểu phân AgCl và PVA là tương tác vật lý, không có tương tác hóa học.



IR: ν_{max}(film)/cm^{-1} 3744, 3676, 3296, 2940, 2909, 2835, 2382, 2347, 2311, 1647, 1562, 1549, 1512, 1427, 1371, 1329, 1242, 1140, 1090, 1020, 941, 845, 700, 604, 521, 472, 420

Hình 4: *Phổ hồng ngoại của tiểu phân nano bạc clorid*

Kết luận

Trong nghiên cứu này, tiểu phân nano bạc clorid đã được tổng hợp thành công nhờ phản ứng tạo kết tủa giữa bạc nitrat và natri clorid trong dung dịch nước của PVA. Các tiểu phân thu được có đường kính trung bình khoảng 80 nm, phân bố kích thước tương đối đồng đều. Các đặc tính khác của tiểu phân như thế Zeta, hình dạng, độ bền với ánh sáng, bản chất hóa học, tương tác với chất ổn định cũng được xác định. Từ các kết quả thu được, chúng tôi đề nghị tiếp tục các nghiên cứu nhằm đánh giá độ ổn định, khả năng giải phóng ion Ag^+ và hoạt tính kháng khuẩn của tiểu phân nano bạc clorid, hướng tới phát triển một thuốc chống nhiễm khuẩn từ muối bạc này.

Lời cảm ơn: *Các tác giả xin cảm ơn Ban Chủ nhiệm đề tài Khoa học công nghệ cấp Đại học Quốc gia Hà Nội, mã số QG.14.58 đã tài trợ cho nghiên cứu.*

Tài liệu tham khảo

1. Chaloupka K., Malam Y., Seifalian A..M. (2010), "Nanosilver as a new generation of nanoproduct in biomedical applications", *Trends Biotechnol.*, 28(11), 580-588.

2. Atiyeh B. S., Costagliola M., Hayek S. N., Dibo S. A. (2007), "Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature", *Burns. J. Int. Soc. Burn. Inj.*, 33(2), 139–148.

3. Henglein A. (1993), "Physicochemical properties of small metal particles in solution: "microelectrode" reactions, chemisorption, composite metal particles, and the atom-to-metal transition", *Journal of Physical Chemistry*, vol. 97, no. 21, pp. 5457–5471.

4. Seungwook K., Haegeun C., Jong H. K., Ho G. Y., Woong K. (2010), "Facile synthesis of AgCl nanocubes and their derivatives", *Bull. Korean Chem. Soc.*, 31(10), 2918-2922.

5. Elkan R. B., Robert K. (1948), "The infrared spectrum of polyvinyl alcohol", *J. Am. Chem. Soc.*, 70(2), 862–864.

(Ngày nhận bài: 22/05/2015 - Ngày duyệt đăng: 04/08/2015)

√ Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của kháng sinh moxifloxacin hydrochlorid tổng hợp tại Việt Nam

Nguyễn Thị Hồng Vinh[1], Nguyễn Thị Minh Hằng[2], Lê Nguyễn Thành[2*]

[1]Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

[2]Viện Hóa sinh biển – Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

[*]E-mail: lethanh@mail.vast.vn

Summary

The moxifloxacin hydrochloride synthesized at the Institute of Marine Biochemistry was evaluated for acute and subchronic toxicity in mice and rabbits. The LD_{50} of Moxifloxacin hydrochloride in mice was 2.386 ± 0.211 g/kg body weight for oral single dose. In the subchronic study, rabbits were administrated moxifloxacin hydrochloride at the daily doses of 24.8 mg and 74.4 mg/kg/day for a course of successive 28 days. After 14 and 28 days, blood and tissue samples were taken for hematological, biochemical and histopathological determinations. Most of hematological, biochemical parameters showed non-significant difference between the treated and control groups, except ALT, which was increased in the group of rabbit taken the dose of 74.4 mg/kg/day for 28 days. However, 14 days after the last oral administration, ALT was reduced without significant difference between treatment and control groups.

Keywords: *Moxifloxacin hydrochloride, acute toxicity, subchronic toxicity.*