

# Nghiên cứu điều chế tiểu phân nano chứa bạc để ứng dụng trong dược phẩm

Nguyễn Thị Thanh Bình\*, Vũ Đức Lợi, Bùi Thanh Tùng, Nguyễn Thanh Hải

*Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội,  
144 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam*

---

## Tóm tắt

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã tổng hợp được tiểu phân nano bạc clorid bằng phản ứng tạo kết tủa giữa bạc nitrat và natri clorid trong dung dịch nước chứa 0,7% poly(vinyl alcohol). Tiểu phân nano AgCl trong hỗn dịch chủ yếu có dạng lập phương, đường kính trung bình 80-100 nm, phân bố kích thước tương đối đồng đều. Bột đông khô thu được từ hỗn dịch này chứa các tiểu phân có dạng gần như khối cầu, đường kính trung bình 90-100 nm. Các đặc tính khác của tiểu phân như thế Zeta, độ bền với ánh sáng, bản chất hóa học, bản chất tương tác với chất ổn định cũng được xác định. Bột đông khô nano AgCl có khả năng giải phóng tốt các ion Ag<sup>+</sup> trong vòng 3 ngày, cho tác dụng kháng khuẩn trên cả *Escherichia coli* và *Staphylococcus aureus*. Thuốc mỡ thân nước AgCl 600, 750 và 1300 ppm được bào chế từ bột đông khô nano AgCl cho tác dụng tốt hơn hẳn kem bạc sulfadiazin 1% trên tất cả các chủng vi khuẩn Gram dương và Gram âm thử nghiệm.

Nhận ngày 26 tháng 7 năm 2015, Chỉnh sửa ngày 07 tháng 8 năm 2015, Chấp nhận đăng ngày 05 tháng 12 năm 2016

*Từ khóa:* Tiểu phân nano bạc clorid, poly(vinyl alcohol), tổng hợp, thuốc mỡ thân nước, kháng khuẩn.

---

## 1. 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<sup>+</sup> [1]. Ion này có khả năng tiêu diệt vi sinh vật theo nhiều cơ chế [2-4] nên rất ít khi bị đề kháng [5]. Trong lịch sử, bạc được sử dụng làm thuốc dưới nhiều dạng khác nhau [6], mỗi loại đều có ưu nhược điểm riêng. Bạc nitrat cho nồng độ ion Ag<sup>+</sup> 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 propylene 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,... [7-9]. Các hạt nano bạc với năng lượng bề mặt lớn có khả năng giải phóng từ 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 Ag<sup>+</sup> 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, điển hình là

---

\* Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-1687768293  
Email: binhnguyen@vnu.edu.vn

Silvasorb do AcryMed sản xuất, Medline Industries phân phối. Sản phẩm 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 đề tài “Nghiên cứu điều chế tiểu phân nano chứa bạc để ứng dụng trong dược phẩm” trong đó sử dụng muối bạc clorid (AgCl). Hợp chất này có độ tan và/hoặc độ ổn định cao hơn so với nhiều hợp chất khác của bạc như AgI, AgBr, Ag<sub>2</sub>S, Ag<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, Ag<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, AgN<sub>3</sub>,... hơn nữa, anion Cl<sup>-</sup> là một thành phần tự nhiên phổ biến của cơ thể nên tính tương hợp sinh học cao hơn. Đề tài đặt mục tiêu tổng hợp tiểu phân nano AgCl, xác định một số đặc tính lý hóa, khảo sát độ ổn định, đánh giá khả năng giải phóng ion Ag<sup>+</sup> *in vitro* và tác dụng kháng khuẩn của hệ. Từ đó xây dựng tiêu chuẩn cơ sở của sản phẩm điều chế được, làm tiền đề cho việc phát triển các thuốc kháng khuẩn ngoài da. Một phần kết quả của đề tài đã được công bố [10, 11, 12], bài tổng quan này trình bày toàn bộ các kết quả nghiên cứu thu được.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Tổng hợp tiểu phân nano AgCl

Hỗn dịch AgCl được tổng hợp từ phản ứng tạo kết tủa giữa bạc nitrat (AgNO<sub>3</sub>; Tianjin Yinlida Chemicals Co. Ltd) và natri clorid (NaCl; Xilong Chemical Co. Ltd) trong dung dịch nước chứa chất ổn định. Phản ứng được thực hiện trong điều kiện tránh ánh sáng theo quy trình sau: hòa tan AgNO<sub>3</sub> vào dung dịch nước của chất ổn định được khảo sát. Nhỏ từ từ dung dịch NaCl 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. Bột đông khô thu được từ hỗn dịch bằng cách sử dụng máy Alpha Christ 1-2 LD Plus theo chương trình: đông lạnh ở -80°C trong 12 giờ; làm khô sơ cấp ở -45°C, 0,01 mbar trong 24 giờ; làm khô thứ cấp trong

20 giờ, nhiệt độ cuối quá trình là 30°C, áp suất buồng không vượt quá 0,2 mbar.

### 2.2. Xác định một số đặc tính lý hóa của hệ

Đường kính tiểu phân, chỉ số đa phân tán (PDI) và thế Zeta được đo bằng máy Zetasizer Nano ZS90 Malvern, 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 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. So sánh phổ hấp thụ UV-VIS của mẫu trước và sau khi chiếu sáng cho phép đánh giá độ bền của mẫu đối với ánh sáng.

Giản đồ 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 và của bột đông khô được xác định bằng máy D8 Advanced Bruker. Giản đồ thu được giúp xác định bản chất hóa học của tiểu phân.

Phổ hồng ngoại được đo bằng máy Shimadzu IRAffinity-1S FTIR, sử dụng phương pháp dập viên với KBr. So sánh phổ hồng ngoại của bột đông khô nano AgCl với phổ hồng ngoại của chất ổn định cho phép dự đoán tương tác giữa tiểu phân AgCl và chất ổn định.

Bạc toàn phần trong các mẫu được định lượng bằng cách đo phổ hấp thụ nguyên tử với máy Shimadzu AA-6800, bước sóng 320,10 nm, dòng qua đèn 5,0 mA, ngọn lửa không khí/acetylen, tốc độ dòng khí 3,50 l/phút, tốc độ dòng acetylen 1,5 l/phút.

### 2.3. Đánh giá khả năng giải phóng ion Ag<sup>+</sup>

Khả năng giải phóng ion Ag<sup>+</sup> từ bột đông khô nano AgCl được đánh giá trong vòng 7 ngày, sử dụng màng thấm tích dạng ống Spectral/Por® 4 MWCO 12000-14000 daltons, bề rộng 25 mm. Bột đông khô được phân tán lại trong nước cất, hút một lượng hỗn dịch cho vào túi tạo thành băng cách kẹp chặt hai đầu màng thấm tích. Phần chứa hỗn dịch ngập hoàn toàn

trong dung dịch nhận. Tại các thời điểm xác định, lấy mẫu để định lượng bạc toàn phần đồng thời bổ sung vào dung dịch nhận một lượng nước cất tương đương. Khuấy trộn mạnh và tránh ánh sáng trong suốt thời gian khảo sát. Lượng ion bạc  $Q_n$  (mg) được giải phóng tại thời điểm  $t_n$  được tính bằng công thức:

$$Q_n = VC_n + v \sum_{i=1}^{n-1} C_i$$

Trong đó: V (ml): thể tích dung dịch nhận

v (ml): thể tích lấy mẫu

$C_n$  (mg/ml): nồng độ dung dịch nhận tại thời điểm  $t_n$

$C_i$  (mg/ml): nồng độ dung dịch nhận tại thời điểm lấy mẫu  $t_i$ .

#### 2.4. Bào chế thuốc mỡ thân nước AgCl

Thuốc mỡ thân nước AgCl 600, 750 và 1300 ppm (TM 600, TM 750, TM 1300) được bào chế từ bột đồng khô nano AgCl bằng phương pháp trộn đều đơn giản theo quy trình sau: polyethylene glycol 4000 và polyethylene glycol 600 (PEG 4000, PEG 600; Lotte Chemicals) tỷ lệ khối lượng 4: 10 được đun nóng đến 55-60°C, khuấy trộn nhẹ cho đến khi thu được hỗn hợp lỏng trong suốt đồng nhất. Phân tán đồng đều bột đồng khô nano AgCl vào hỗn hợp trên rồi để nguội từ từ về nhiệt độ phòng.

#### 2.5. Đánh giá tác dụng kháng khuẩn

Trong các thử nghiệm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn, môi trường canh thang nuôi cấy vi khuẩn kiểm định có thành phần NaCl 0,5%, Pepton 0,5%, cao thịt 0,3%, nước cất vđ 100 ml. Môi trường thạch thường chứa NaCl 0,5%, Pepton 0,5%, cao thịt 0,3%, thạch 1,6%, nước cất vđ 100ml.

##### 2.5.1. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của tiểu phân nano AgCl

Tác dụng kháng khuẩn của tiểu phân nano AgCl được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán trên thạch trên chủng vi khuẩn Gram dương

*Staphylococcus aureus* ATCC 1128 (*S. aureus*) và chủng vi khuẩn Gram âm *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*); các nồng độ thử 460; 230; 115; 57,5 và 28,75 ppm. Kháng sinh chuẩn được sử dụng là benzathin penicillin (BZP, 20 IU/ml) đối với vi khuẩn Gram dương và streptomycin (STM, 20 IU/ml) đối với vi khuẩn Gram âm pha trong nước cất. Mẫu trắng là dung dịch của NaCl, NaNO<sub>3</sub>, và PVA trong nước cất với tỉ lệ như trong mẫu thử. Mẫu so sánh là bạc sulfadiazin (Macsen Laboratories) ở các nồng độ 1000; 500; 250; 125 và 62.5 ppm pha trong ethanol tuyệt đối.

Vi khuẩn kiểm định được cấy vào môi trường canh thang, ủ trong tủ ấm 37°C trong 18 giờ đến nồng độ 10<sup>8</sup> tế bào/ml (kiểm tra bằng pha loãng và dây dịch chuẩn). Môi trường thạch thường vô trùng (tiệt trùng 120°C/20 phút) được để nguội kết hợp làm lạnh về 45-50°C và được cấy giống vi khuẩn kiểm định với tỷ lệ 2,5 ml/100 ml. Lắc tròn để vi khuẩn kiểm định phân tán đều, rồi đổ vào đĩa Petri vô trùng với thể tích 20 ml/đĩa và để cho đông lại.

Các khoan giấy lọc (6,0-6,5 mm) vô trùng đã sấy khô được tẩm 3 lần với mẫu, sau mỗi lần tẩm sấy ở < 60°C đến khô hết dung môi, đặt lên bề mặt môi trường thạch chứa vi khuẩn kiểm định theo sơ đồ định sẵn. Ủ các đĩa Petri có mẫu trong tủ ấm ở 37°C trong 18-24 giờ rồi lấy ra đọc kết quả. Đo đường kính vòng vô khuẩn, nếu có, bằng thước kẹp Panmer độ chính xác 0,02 mm. Số thí nghiệm làm song song là 3. Kết quả được đánh giá dựa trên đường kính vòng vô khuẩn và độ lệch thực nghiệm.

##### 2.5.2. Xác định nồng độ kim khuẩn/điệt khuẩn tối thiểu của tiểu phân nano AgCl

Nồng độ kim khuẩn tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của tiểu phân nano AgCl trên *S. aureus* và *E. coli* được xác định bằng phương pháp pha loãng, dây nồng độ khảo sát: 46; 23; 15,3; 11,5; 9,2 ppm. Tiến hành như sau:

Chuẩn bị vào 5 bình nón 100 ml 18 ml môi trường thạch thường (khối lượng các thành phần được tính cho 20 ml), tiệt trùng ở 120°C trong 20 phút, để nhiệt độ giảm xuống 45-50°C rồi cho thêm 2 ml hỗn dịch nano AgCl gốc, lắc

đều rồi đổ ra đĩa Petri thu được hộp Petri có hoạt chất độ pha loãng 1/10. Thêm 2 ml hỗn dịch thử có độ pha loãng 1/3 được hộp Petri có nồng độ hoạt chất độ pha loãng 1/30. Cứ thế tiếp tục được hộp có độ pha loãng 1/40, 1/50, còn 1 bình cho 2,0 ml nước cất vô khuẩn làm chứng âm. Sấy 20 phút trong tủ ẩm ở 37°C để làm khô bề mặt môi trường. Làm thành 2 dãy hộp Petri giống nhau để thử cho *S. aureus* và *E. coli*.

Môi trường canh thang được chuẩn bị vào các ống nghiệm 5 ml, khử trùng ở 120 °C trong 20 phút. Để nguội về nhiệt độ phòng, cấy 1 vòng que cấy *S. aureus*, *E. coli* vào từng ống và ủ 18 giờ ở 37°C để thu được hỗn dịch vi khuẩn có nồng độ  $10^8$  tb/ml (đánh giá bằng pha loãng xác định CFU và so với độ đục chuẩn BaCl<sub>2</sub> 1%). Dùng dung dịch NaCl 0,9% vô khuẩn pha loãng ra để được các ống vi khuẩn có nồng độ là  $10^7$  tb/ml,  $10^6$  tb/ml,  $10^5$  tb/ml.

Từ các ống vi khuẩn có nồng độ thích hợp, dùng loop định lượng lấy 0,2 µL hỗn dịch tế bào vi khuẩn ở các nồng độ khác nhau ( $10^8$ ,  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$  tb/ml) cấy vào các hộp Petri không chứa hoạt chất theo sơ đồ định sẵn ( $10^8$ ,  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^6$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ tb/ml) tạo thành 6 vết có đường kính khoảng 1 cm, và cấy vào các hộp Petri chứa hoạt chất theo sơ đồ định sẵn ( $10^8$ ,  $10^6$ ,  $10^6$ ,  $10^6$  tb/ml). Để khô 20 phút, lật úp các hộp Petri lại và để vào tủ ẩm ở 37°C trong 18 giờ, lấy ra đọc kết quả.

Nếu từ hộp Petri không có hoạt chất sau 18 giờ ủ thấy các vết cấy vi khuẩn phát triển bình thường, chứng tỏ vi khuẩn không bị chết nên tiếp tục đọc kết quả ở các hộp mẫu thử. Ở nồng độ hoạt chất nào mà còn 1-3 khuẩn lạc mọc được xác định là MIC, còn ở nồng độ hoạt chất thấp nhất mà không có khuẩn lạc nào mọc được đó là nồng độ MBC.

2.5.3. Đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của thuốc mỡ thân nước AgCl:

Tác dụng kháng khuẩn của thuốc mỡ AgCl được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán trên thạch trên 5 chủng vi khuẩn Gram dương

*Bacillus cereus* ATCC 9946 (*B. cereus*), *Bacillus pumilus* ATCC 6633 (*B. pumillus*), *Bacillus subtilis* ATCC 10241 (*B. subtilis*), *Sarcina lutea* ATCC 9341 (*S. lutea*), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (*S. aureus*) và 4 chủng vi khuẩn Gram âm là *Escherichia coli* ATCC 8739 (*E. coli*), *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 (*S. typ*), *Shigella flexneri* DT 112 (*S. flexneri*), *Proteus mirabilis* BV 108 (*P. mirabilis*). Mẫu trắng là thuốc mỡ không chứa hoạt chất với thành phần tương tự như trong mẫu thử, mẫu so sánh là kem bạc sulfadiazin 1% (MediPharco TenaMyd Br s.r.l., lot 270515). Các khoan giấy lọc được tẩm hai mặt với chế phẩm sao cho 2 mặt khoan giấy dính đều thuốc như nhau. Cách tiến hành, đọc và đánh giá kết quả tương tự như mô tả ở mục 2.5.1.

### 3. Kết quả và bàn luận

#### 3.1. Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp tiểu phân nano AgCl

##### 3.1.1. Ảnh hưởng của loại chất ổn định đến kích thước và thế Zeta của tiểu phân AgCl

Trong thử nghiệm đầu tiên, các chất ổn định Beta-cyclodextrin ( $\beta$ -CD), Polyvinyl alcohol 5,5-6,2 cps (PVA), Hydroxypropyl methylcellulose E6 (HPMC E6), Carbomer 934 và Polyvinylpyrrolidon K30 (PVP K30) được sử dụng trong điều chế hỗn dịch AgCl. Lượng AgNO<sub>3</sub> sử dụng là 0,0204g (0,12 mmol). Tỷ lệ mol NaCl : AgNO<sub>3</sub> là 2: 1 để đảm bảo chuyển toàn bộ AgNO<sub>3</sub> thành AgCl. Tỷ lệ mol  $\beta$ -CD: AgNO<sub>3</sub> là 4: 1. Khối lượng các chất ổn định khác được lấy bằng  $\beta$ -CD, các chất này tạo dung dịch có nồng độ 1,5% (kl/kl). Lượng nước cất sử dụng là 35 ml để đảm bảo hòa tan hoàn toàn chất có độ tan kém nhất là  $\beta$ -CD. Đường kính, chỉ số đa phân tán và thế Zeta của hỗn dịch AgCl 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 ổn định	Đường kính (nm)	Peak 1 (nm)	Peak 2 (nm)	% Peak 1	% Peak 2	PDI	Thế Zeta (mV)
M1	$\beta$ -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	HPMC E6	274,2	321,8	0	100	0	0,209	-9,4
M4	Carbomer 934	201,4	237,8	0	100	0	0,148	-14,7
M5	PVP K30	82,3	94,3	0	100	0	0,131	-17,1

Kết quả cho thấy các tiểu phân AgCl được bào chế với PVA (M2) và PVP K30 (M5) có đường kính trung bình nhỏ hơn đáng kể so với các chất ổn định 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 peak phụ ở khoảng 5000 và 5200 nm. Thế Zeta âm của hỗn dịch có thể là do lớp ion âm Cl<sup>-</sup> hấp phụ lên bề mặt tiểu phân. Từ các kết quả này, PVA và PVP K30 được chọn để khảo sát tiếp ảnh hưởng của

nồng độ chất ổn định đến kích thước và thế Zeta của tiểu phân.

### 3.1.2. Ảnh hưởng của nồng độ PVA đến kích thước và thế Zeta của tiểu phân AgCl

Trong thử nghiệm tiếp theo, hỗn dịch AgCl được bào chế với nồng độ PVA tăng dần từ 0,1 đến 3,0% (kl/kl), 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 tại các nồng độ PVA khác nhau

Mẫu	Nồng độ PVA (%)	Đường kính (nm)	Peak 1 (nm)	Peak 2 (nm)	% Peak 1	% Peak 2	PDI	Thế Zeta (mV)
M6	0,1	116,5	142,5	0	100	0	0,19	-17,9
M7	0,2	98,9	110,8	0	100	0	0,149	-17,1
M8	0,4	84,3	94,6	4910	98,8	1,2	0,166	-19,4
M9	0,7	80,5	77,7	0	100	0	0,251	-21,7
M10	1,5	85,7	83,1	5208	96,9	3,1	0,238	-13,2
M11	3,0	92,8	112,5	0	100	0	0,207	-20,1

Kết quả thu được cho thấy khi nồng độ PVA tăng từ 0,1 đến 3,0%, 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 nồng độ PVA tăng từ 0,7 đến 3,0%, kích thước tiểu phân 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 được dự đoán có độ ổn định không cao (thế Zeta nằm trong khoảng  $\pm 10$  đến  $\pm 30$  mV). Trong các mẫu được khảo sát, M9 chứa 0,7% PVA có kích thước tiểu phân trung bình thấp nhất, giá trị tuyệt đối của thế Zeta lớn nhất, chỉ có 1 peak ở khoảng 80 nm.

### 3.1.3. Ảnh hưởng của nồng độ PVP K30 đến kích thước và thế Zeta của tiểu phân AgCl

Hỗn dịch AgCl được bào chế với nồng độ PVP K30 tăng dần từ 0,1 đến 3,0% (kl/kl), các thành phần khác giữ nguyên. Kết quả được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Đường kính, PDI và thế Zeta của tiểu phân AgCl tại các nồng độ PVP K30 khác nhau

Mẫu	Nồng độ PVP K30 (%)	Đường kính (nm)	Peak 1 (nm)	Peak 2 (nm)	% Peak 1	% Peak 2	PDI	Thế Zeta (mV)
M12	0,1	106,7	119,7	0	100	0	0,152	-26
M13	0,2	80,68	91,51	0	100	0	0,162	-13,6
M14	0,4	75,68	85,22	0	100	0	0,114	-26,6
M15	0,7	81,11	92,87	0	100	0	0,145	-7,19
M16	1,5	82,3	94,28	0	100	0	0,131	-17,1
M17	3,0	87,26	104,6	0	100	0	0,175	-18,9

Cũng như PVA, khi sử dụng PVP K30 làm chất ổn định, ban đầu kích thước tiểu phân giảm dần khi tăng nồng độ chất ổn định. Tuy nhiên khi nồng độ PVP K30 tăng cao lại làm tăng kích thước tiểu phân. Trong các mẫu khảo sát, M14 (chứa 0,4% PVP K30) là mẫu tốt nhất với kích thước tiểu phân trung bình nhỏ nhất (75,68 nm), PDI nhỏ nhất (0,114) và giá trị tuyệt đối của thế Zeta lớn nhất (-26,6 mV).

Như vậy ảnh hưởng của một số chất ổn định đến kích thước và thế Zeta của tiểu phân AgCl đã được khảo sát. Tiểu phân nano AgCl được tổng hợp từ phản ứng tạo kết tủa giữa AgNO<sub>3</sub> và

NaCl trong dung dịch nước chứa 0,7% PVA hoặc 0,4% PVP K30 có đường kính trung bình khoảng 80 nm, phân bố kích thước tương đối đồng đều. Hai mẫu này được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.1.4. Lựa chọn chất ổn định và công thức bào chế

Để tăng lượng mẫu dùng cho các thử nghiệm sau, 2 mẫu M9 với chất ổn định PVA (0,7%) và M14 với chất ổn định PVP K30 (0,4%) được bào chế với lượng mẫu tăng gấp 6 lần. Kích thước, chỉ số đa phân tán và thế Zeta của các tiểu phân được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Đường kính, PDI và thế Zeta của tiểu phân AgCl trong các hỗn dịch sử dụng 0,7% PVA (M18) và 0,4% PVP K30 (M19) với lượng mẫu tăng gấp 6 lần

Mẫu	Đường kính (nm)	Peak 1 (nm)	Peak 2 (nm)	Peak 3 (nm)	% peak 1	% peak 2	% peak 3	PDI	Thế Zeta (mV)
M18	88,24	97,96	0	0	100	0	0	0,117	-11,3
M19	284,8	296	78,25	5560	95,7	3,3	1,0	0,337	-38,1

Kết quả cho thấy trong khi M18 có kích thước tiểu phân và PDI thay đổi không đáng kể so với M9 thì M19 lại có kích thước tiểu phân và PDI tăng cao rõ rệt so với M14. Trong quá trình phản ứng ở M19 có sự kết tụ tạo tiểu phân kích thước. Từ đó, công thức của M18 được lựa chọn để bào chế tiểu phân nano AgCl dưới dạng hỗn dịch và dạng bột đông khô theo phương pháp mô tả ở mục 2.1. Các đặc tính của tiểu phân nano AgCl trong hai dạng này được mô tả dưới đây.

### 3.2. Một số tính chất lý hóa của tiểu phân nano AgCl trong hỗn dịch

3.2.1. Kích thước, chỉ số đa phân tán và thế Zeta

Các tiểu phân nano AgCl có đường kính trung bình khoảng 80-100nm, phân bố kích thước tương đối hẹp với giá trị PDI thấp (<0,2). Các tiểu phân này có thế Zeta trong khoảng -10 đến -20 mV.

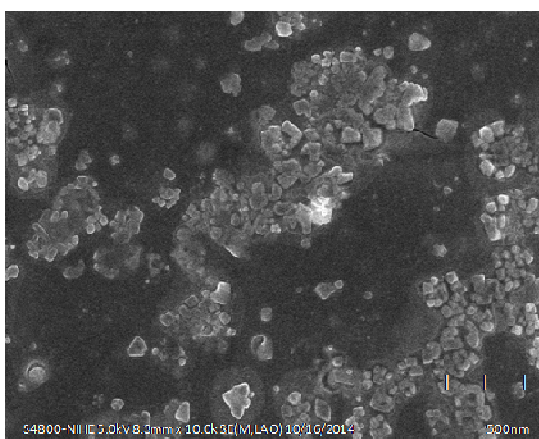
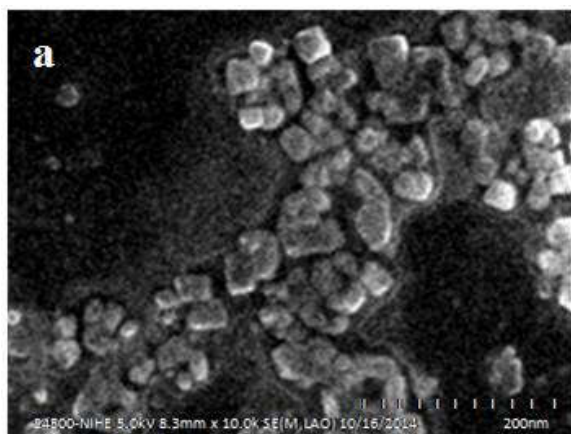
#### 3.2.2. Hình dạng tiểu phân

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

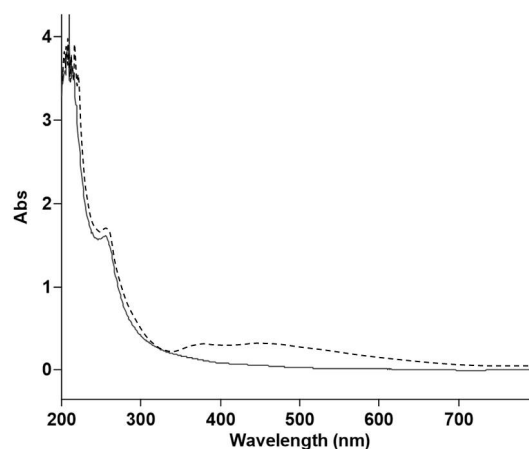
#### 3.2.3. Độ bền với ánh sáng

Hỗn dịch AgCl 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 AgCl 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 ( $\approx 240$  nm) và 3,25 eV ( $\approx 380$  nm). Peak 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 [13]. AgCl có thể đã chuyển thành Ag khi tiếp xúc với ánh sáng, bám tụ trên bề mặt tiểu phân gây ra hiện tượng này [14] (Hình 2).



Hình 1. Hình dạng tiểu phân AgCl quan sát bằng kính hiển vi điện từ quét.



Hình 2. Phổ hấp thụ UV-VIS của hỗn dịch ngay sau khi bào chế (đường nét liền) và sau khi chiếu UV 254 nm trong 5 giờ (đường nét đứt).

### 3.2.4. Bản chất hóa học của tiểu phân

Trên giản đồ X ray của tiểu phân thu được có các peak xuất hiện ở  $2\theta$ : 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.

### 3.3. Một số tính chất lý hóa của tiểu phân nano AgCl trong bột đông khô

#### 3.3.1. Kích thước, chỉ số đa phân tán và thế Zeta

Khi phân tán lại bột đông khô vào nước cất thu được hỗn dịch chứa các tiểu phân có đường kính trung bình khoảng 90-100 nm, phân bố kích thước tương đối đều với giá trị PDI khoảng 0,2-0,3. Các tiểu phân này có thế Zeta khoảng -10 mV.

**3.3.2. Hình dạng tiểu phân:** So sánh ảnh chụp SEM của bột đông khô nano AgCl và PVA đông khô có thể nhận thấy các tiểu phân AgCl có dạng gần như khối cầu thay vì dạng lập phương như trong hỗn dịch. Đó có thể là do lớp PVA bao bọc bên ngoài các tiểu phân AgCl tạo nên.

#### 3.3.3. Bản chất hóa học của tiểu phân

Trên phổ XRD của bột đông khô thu được có các peak xuất hiện ở  $2\theta$ : 27,97°; 32,32°; 46,24°; 54,79°; 57,55°; 67,63°; 74,50°; 76,54°

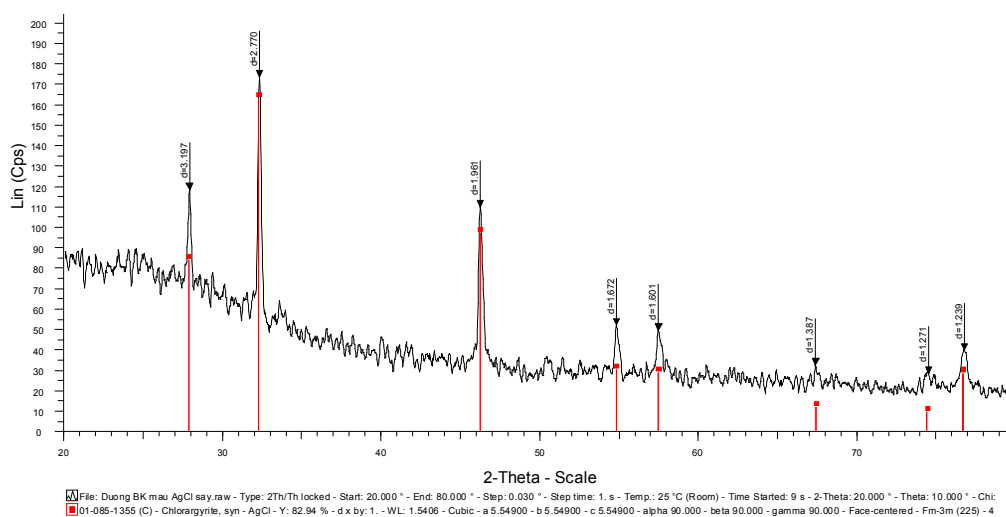
lần lượt tương ứng với (111), (200), (220), (311), (222), (400), (331) và (420) xác nhận sự hiện diện của AgCl. Như vậy quá trình đông khô không làm thay đổi bản chất hóa học của tiểu phân (Hình 5).

### 3.3.4. Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến:

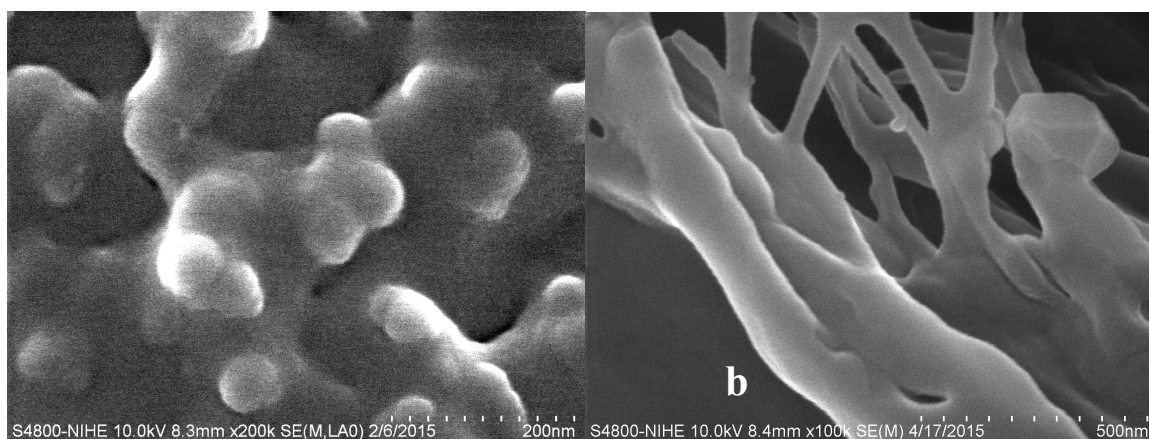
Phân tán lại 0,0410 g bột đông khô trong 5 ml nước cất. Pha loãng 10 lần trong cùng dung môi rồi đo phổ hấp thụ UV-VIS của hỗn dịch thu được trong vùng 200-800 nm. Kết quả cho thấy các tiểu phân AgCl chỉ hấp thụ mạnh trong vùng bước sóng dưới 400 nm, không có đỉnh hấp thụ nào trong khoảng 400-800 nm (Hình 6).

### 3.3.5. Tương tác giữa tiểu phân và chất ổn định:

Trên phổ hồng ngoại của bột đông khô nano AgCl và của PVA đông khô đều có các đỉnh hấp thụ mạnh tại  $3319\text{ cm}^{-1}$ ,  $2940\text{ cm}^{-1}$ ,  $1734\text{ cm}^{-1}$ ,  $1090\text{ cm}^{-1}$ . Các đỉnh này lần lượt đặc trưng cho nhóm  $-\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ,  $\text{C}=\text{O}$  và nhóm polyvinyl tận mạch. Không có sự khác nhau đáng kể giữa hai phổ này từ đó 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 (Hình 7).



Hình 3. Giải đồ X ray của tiểu phân nano AgCl.



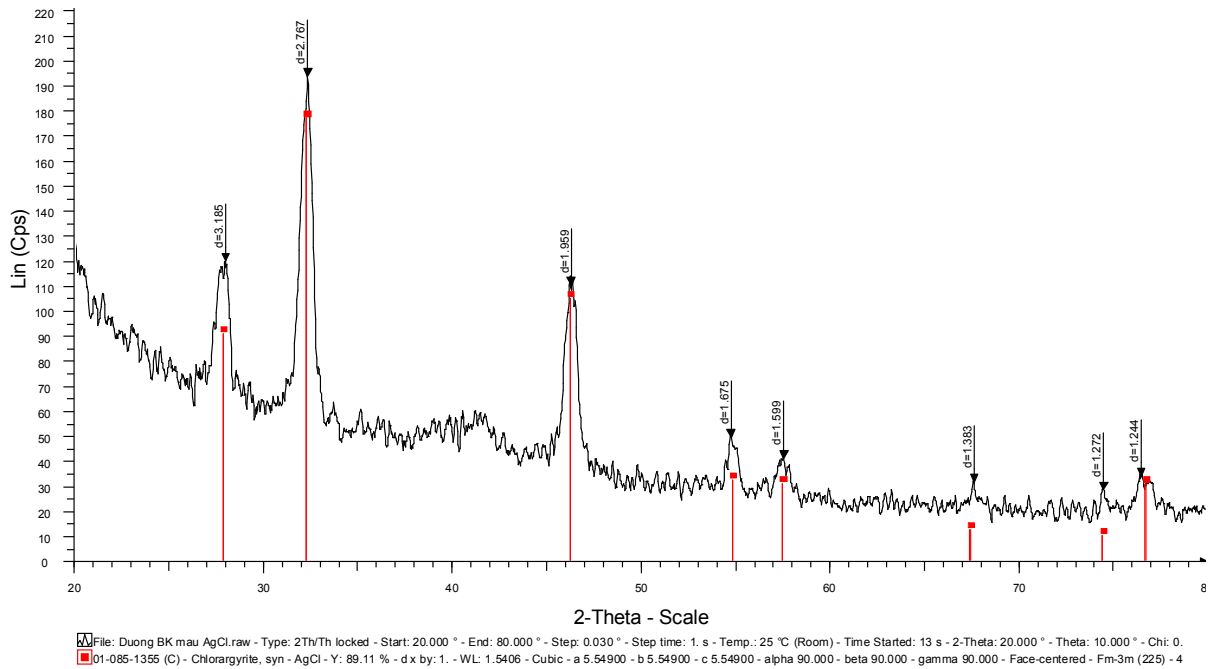
Hình 4. Hình ảnh chụp SEM của bột đông khô nano AgCl (a) và của PVA đông khô (b).



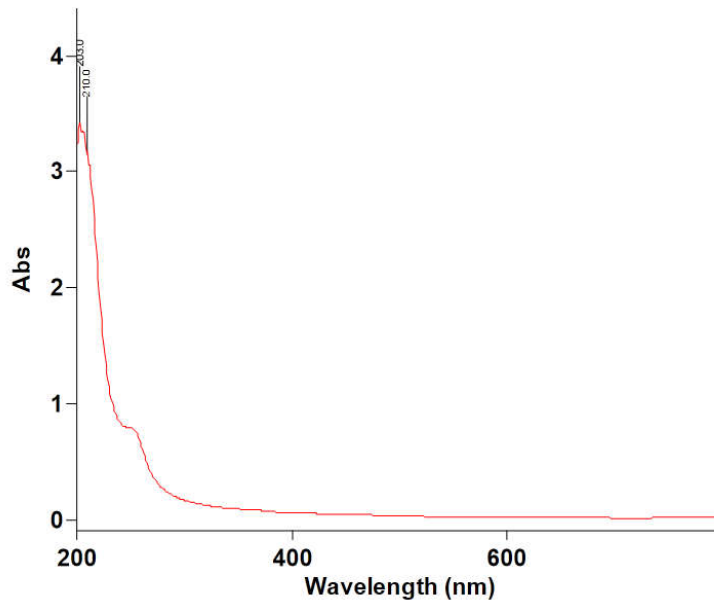
### 3.4. Độ ổn định của hỗn dịch và bột đông khô nano AgCl

Hỗn dịch và bột đông khô nano AgCl được bảo quản ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng, đo

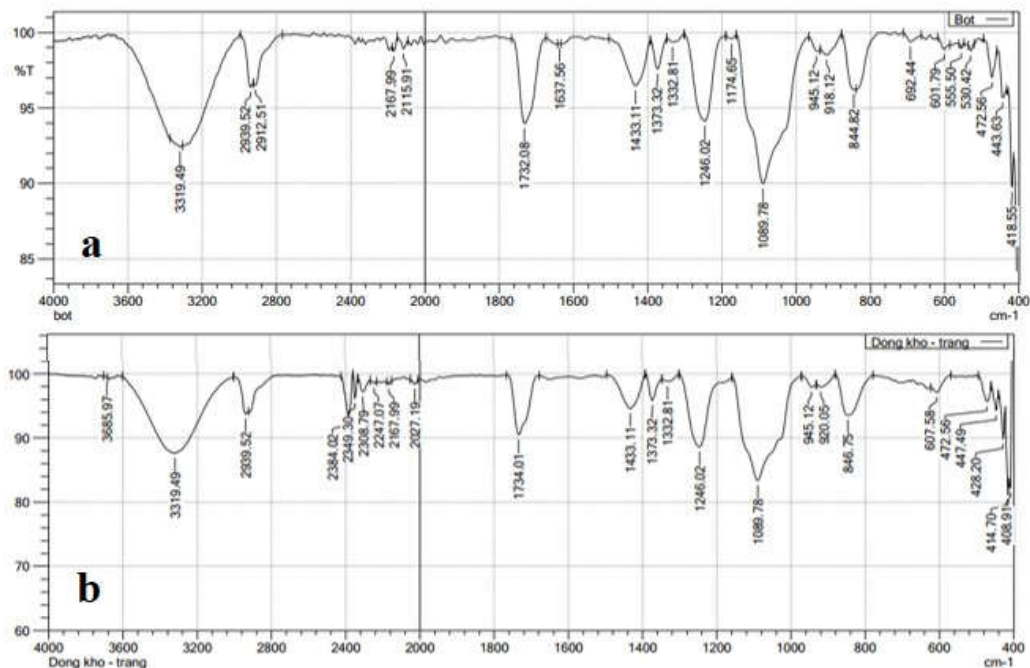
đường kính trung bình và chỉ số đa phân tán tại các thời điểm khác nhau trong vòng 6 tháng kể từ ngày bào chế. Kết quả được thể hiện trong bảng 5.



Hình 5. Phổ XRD của bột đông khô nano AgCl.



Hình 6. Phổ hấp thụ UV-VIS của bột đông khô nano AgCl phân tán lại trong nước.



Hình 7. Phổ hồng ngoại của bột đông khô nano AgCl (a) và của PVA đông khô (b).

Bảng 5. Đường kính và PDI của tiểu phân AgCl trong hỗn dịch và bột đông khô theo thời gian

Thời gian (ngày)	Hỗn dịch nano AgCl		Bột đông khô nano AgCl	
	Đường kính (nm)	PDI	Đường kính (nm)	PDI
0	93,7	0,210	98,6	0,217
2	94,8	0,289	93,57	0,279
4	109,8	0,293	100,7	0,249
7	110,6	0,296	96,7	0,277
14	122,5	0,323	102,8	0,297
30	244,7; #	0,329; #	92,2	0,226
60	351,7; #	0,356; #	93,5	0,234
90	-	-	97,8	0,215
120	-	-	103,6	0,257
150	-	-	101,5	0,292
180	-	-	98,9	0,287

# : chất lượng phép đo không đạt yêu cầu

- : Không tiếp tục theo dõi

Có thể nhận thấy hỗn dịch AgCl chỉ ổn định trong khoảng 2-4 tuần. Kích thước tiểu phân và PDI tăng dần chứng tỏ có sự kết tụ, tạo tiểu phân to hơn. Bột đông khô AgCl có độ ổn định cao hơn hẳn so với dạng hỗn dịch, đường kính tiểu phân trung bình duy trì ở 90-110 nm trong ít nhất 6 tháng với PDI < 0,3. Từ kết quả thu được chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng giải phóng ion Ag<sup>+</sup> *in vitro* của bột đông khô nano AgCl, đánh giá tác dụng kháng khuẩn và xây

dựng tiêu chuẩn cơ sở, hướng tới phát triển các dược phẩm từ sản phẩm này.

### 3.5. Khả năng giải phóng ion Ag<sup>+</sup> *in vitro* của bột đông khô nano AgCl

Phân tán lại 0,041 g bột đông khô trong 5 ml nước cất thu được hỗn dịch có hàm lượng bạc toàn phần là 0,346 mg/ml. Hút 1 ml hỗn dịch này cho vào túi thử nghiệm. Thử tích dung dịch nhận

là 550 ml. Lấy mẫu tại các thời điểm 6, 24, 48, 72, 168 giờ, thể tích mẫu 10 ml. Kết quả thử nghiệm được trình bày trong bảng 6 và hình 8.

Thử nghiệm đã chứng tỏ bột đồng khô nano AgCl có khả năng giải phóng ion  $Ag^+$  *in vitro* kéo dài trong 3 ngày. Tổng lượng  $Ag^+$  giải phóng là hơn 60%.

### 3.6. Tác dụng kháng khuẩn của tiểu phân nano AgCl

#### 3.6.1. Hoạt tính kháng khuẩn của tiểu phân nano AgCl

Kết quả đánh giá hoạt tính kháng khuẩn của tiểu phân nano AgCl trên hai chủng vi khuẩn *S. aureus* và *E. coli* bằng phương pháp khuếch tán trên thạch được trình bày trong hình 9 và bảng 7.

Đường kính vòng vô khuẩn của kháng sinh chuẩn BZP đối với *S. aureus* đo được là 16,51 mm ( $s = 0,50$ ) và của STM đối với *E. coli*

là 8,53 mm ( $s = 0,36$ ). Các mẫu trắng không có tác dụng ức chế hai chủng vi khuẩn trên.

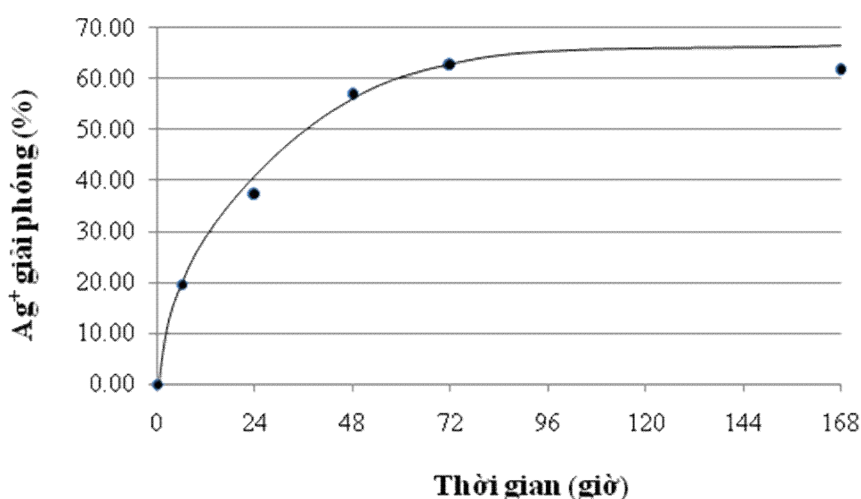
Có thể nhận thấy, tương tự như bạc sulfadiazin, tiểu phân nano AgCl thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trên cả vi khuẩn Gram (+) và Gram (-). Tác dụng kháng khuẩn tăng dần theo nồng độ AgCl. Đường kính vòng vô khuẩn khi thử nghiệm với *E. coli* lớn hơn so với *S. aureus* cho thấy *E. coli* nhạy cảm với tiểu phân nano AgCl hơn.

#### 3.6.2. Nồng độ kìm khuẩn tối thiểu và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu của tiểu phân nano AgCl

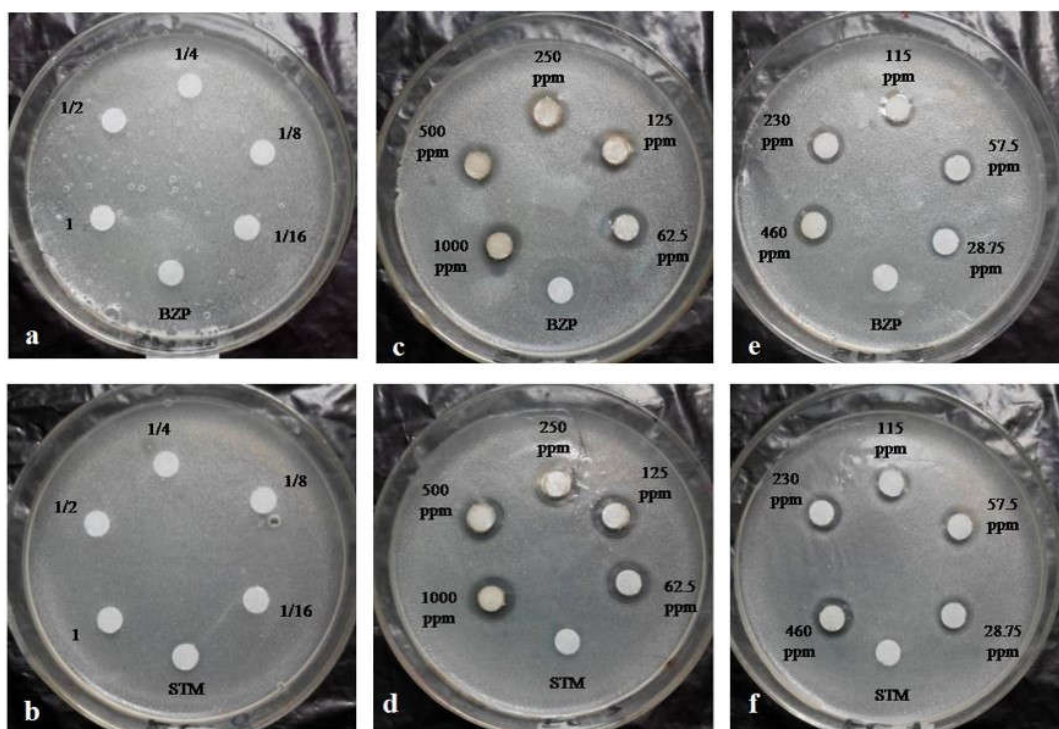
Nồng độ kìm khuẩn tối thiểu (MIC) và nồng độ diệt khuẩn tối thiểu (MBC) của tiểu phân nano AgCl đối với *S. aureus* và *E. coli* được xác định bằng phương pháp pha loãng. Sau 18 giờ ủ, các vết cấy vi khuẩn trong đĩa Petri không có hoạt chất phát triển bình thường, tiếp tục đọc kết quả ở các đĩa chứa hoạt chất (Hình 10).

Bảng 6. Lượng ion  $Ag^+$  giải phóng từ bột đồng khô nano AgCl theo thời gian

t (giờ)	C (mg/ml)	Q (mg)	Tỉ lệ $Ag^+$ giải phóng (%)
6	$0,124 \times 10^{-3}$	0,068	19,63
24	$0,232 \times 10^{-3}$	0,129	37,20
48	$0,351 \times 10^{-3}$	0,197	56,82
72	$0,380 \times 10^{-3}$	0,216	62,49
168	$0,367 \times 10^{-3}$	0,213	61,53



Hình 8. Khả năng giải phóng ion  $Ag^+$  của bột đồng khô nano AgCl theo thời gian.



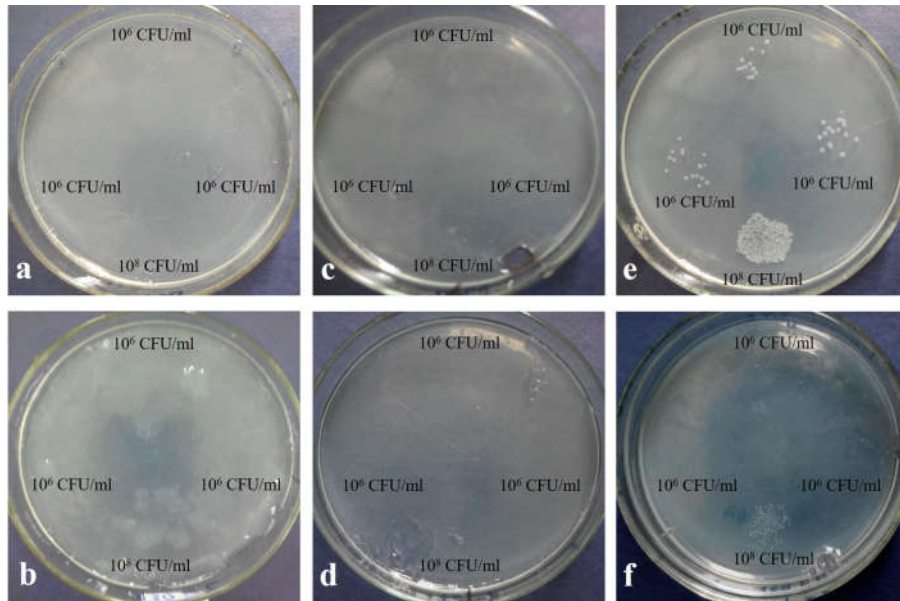
Hình 9. Hoạt tính kháng khuẩn của tiểu phân nano AgCl và bạc sulfadiazine đối với *S. aureus* (trên) và *E. coli* (dưới). (a), (b) mẫu trắng; (c), (d) bạc sulfadiazine; (e), (f) tiểu phân nano AgCl.

Bảng 7. Đường kính vòng vô khuẩn của tiểu phân nano AgCl và bạc sulfadiazin đối với *S. aureus* và *E. coli*

Chủng vi sinh vật	Tiểu phân nano AgCl			Bạc sulfadiazin			Mẫu trắng		
	C (ppm)	D (mm)	s	C (ppm)	D (mm)	s	Độ pha loãng	D (mm)	s
<i>S. aureus</i>	460	10,64	0,31	1000	11,05	0,50	1	0	-
	230	9,86	0,24	500	10,60	0,39	1/2	0	-
	115	9,51	0,47	250	10,39	0,15	1/4	0	-
	57,5	9,03	0,05	125	10,48	0,16	1/8	0	-
	28,75	8,35	0,28	62,5	10,46	0,22	1/16	0	-
<i>E. coli</i>	460	10,49	0,50	1000	11,95	0,73	1	0	-
	230	10,37	0,22	500	11,60	1,08	1/2	0	-
	115	9,82	0,31	250	11,77	0,34	1/4	0	-
	57,5	9,35	0,41	125	11,91	0,36	1/8	0	-
	28,75	9,01	0,01	62,5	11,11	0,58	1/16	0	-

Bảng 8. Nồng độ tìm khuẩn và diệt khuẩn tối thiểu của tiểu phân nano AgCl đối với *S. aureus* và *E. coli* ở các mật độ tế bào khác nhau

Chủng vi sinh vật	Mật độ tế bào (CFU/ml)	MIC (ppm)	MBC (ppm)
<i>S. aureus</i>	$10^6$	9,2-11,5	11,5
	$10^8$	11,5-15,3	15,3
<i>E. coli</i>	$10^6$	9,2-11,5	11,5
	$10^8$	9,2-11,5	11,5

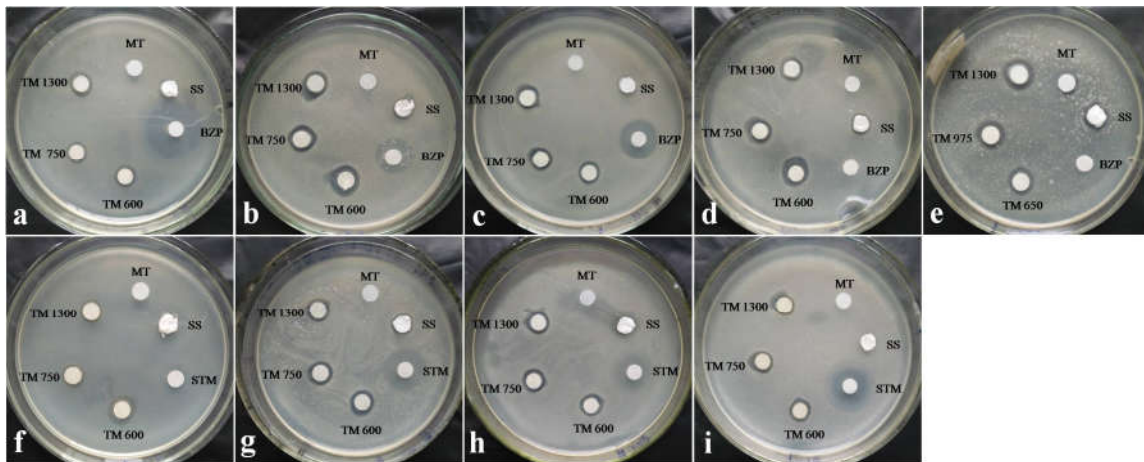


Hình 10. Vi khuẩn *S. aureus* (trên) và *E. coli* (dưới) được ủ với các nồng độ AgCl khác nhau. (a), (b) 15,3 ppm; (c) 11,5 ppm; (e), (f) 9,2 ppm

Tại mật độ  $10^6$  CFU/mL, tiểu phân nano AgCl có MIC là 9,2-11,5 ppm và MBC là 11,5 ppm trên cả 2 chủng vi khuẩn thử nghiệm. Tại mật độ  $10^8$  CFU/mL, MIC và MBC đối với *S. aureus* tăng lên trong khi các giá trị này đối với *E. coli* không đổi. Điều này một lần nữa chứng tỏ *E. coli* nhạy cảm với tiểu phân nano AgCl hơn *S. aureus*, phù hợp với kết quả thu được trong thử nghiệm đánh giá hoạt tính kháng khuẩn.

### 3.7. Tác dụng kháng khuẩn của thuốc mỡ thân nước AgCl

Tác dụng kháng khuẩn của thuốc mỡ AgCl 600, 750 và 1300 ppm so với kem bạc sulfadiazin 1% (SS) và mẫu trắng (MT) trên một số chủng vi khuẩn Gram (+) và Gram (-) được trình bày trong hình 11 và bảng 9.



Hình 11. Hoạt tính kháng khuẩn của thuốc mỡ AgCl 600, 750, 1300 ppm và kem bạc sulfadiazin 1% đối với một số chủng vi khuẩn. Gram (+): (a) *S. aureus*, (b) *B. subtilis*, (c) *B. cereus*, (d) *B. pumilus*, (e) *S. lutea*. Gram (-): (f) *E. coli*, (g) *P. mirabilis*, (h) *S. flexneri*, (i) *S. typhimurium*.

Bảng 9. Đường kính vòng vô khuẩn của thuốc mỡ AgCl 600, 750, 1300 ppm và kem bạc sulfadiazin 1% đối với một số chủng vi khuẩn

Gram +	<i>S. aureus</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>B. cereus</i>		<i>B. pumilus</i>		<i>S. lutea</i>	
Mẫu	D (mm)	s	D (mm)	s	D (mm)	s	D (mm)	s	D (mm)	s
TM 600	10,13	0,15	12,30	0,87	10,67	1,00	10,03	1,00	11,65	1,01
TM 750	10,44	0,10	10,89	0,35	10,37	0,50	10,20	0,60	12,00	0,62
TM 1300	10,80	0,35	10,81	0,60	10,96	0,44	10,11	0,89	12,47	0,40
MT	0	0	8,33	0,12	0	0	0	0	0	0
SS	9,48	0,38	9,25	0,06	8,87	0,42	9,51	0,94	10,31	0,10
BZP	25,64	0,92	15,91	0,71	17,50	0,98	0	0	0	0
Gram -	<i>E. coli</i>		<i>P. mirabilis</i>		<i>S. flexneri</i>		<i>S. typhimurium</i>			
Mẫu	D (mm)	s	D (mm)	s	D (mm)	s	D (mm)	s		
TM 600	10,17	0,15	11,19	0,34	10,58	0,33	10,13	0,55		
TM 750	9,76	0,36	11,57	0,95	10,79	0,53	9,00	0,95		
TM 1300	9,70	0,36	11,08	0,39	10,52	0,34	9,11	0,55		
MT	0	0	0	0	0	0	0	0		
SS	8,01	0,01	9,05	0,20	8,91	0,25	8,07	0,63		
STM	9,03	0,39	16,01	0,67	14,58	0,62	13,87	1,00		

Có thể nhận thấy thuốc mỡ AgCl ở các nồng độ khảo sát đều có hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn hẳn so với kem bạc sulfadiazine 1% trên tất cả các chủng vi khuẩn thử nghiệm. Đối với vi khuẩn Gram (+), tác dụng phân tán ngẫu nhiên, không biểu hiện theo khuynh hướng rõ ràng nào còn đối với vi khuẩn Gram (-), thuốc mỡ AgCl có nồng độ 600 ppm lại cho tác dụng tốt nhất. Điều này có thể liên quan đến khả năng phân tán của bột đông khô nano AgCl, kích thước tiểu phân và do đó khả năng xâm nhập của tiểu phân vào tế bào vi khuẩn, khả năng giải phóng ion  $Ag^+$  từ dạng bào chế ở các nồng độ khác nhau. Mẫu trắng hầu như không có tác dụng.

#### 4. Kết luận

Như vậy hỗn dịch nano AgCl đã được tổng hợp thành công nhờ phản ứng tạo kết tủa giữa  $AgNO_3$  và NaCl tỷ lệ mol 1 : 2 trong dung dịch nước chứa 0,7% PVA tại nhiệt độ phòng. So với các phương pháp được sử dụng trước đây như vi nhũ tương, sóng siêu âm, matrix-based [14, 15, 16], phương pháp được phát triển trong nghiên cứu này đơn giản và an toàn hơn.

Các tiểu phân nano AgCl trong hỗn dịch chủ yếu có dạng lập phương, đường kính trung

binh khoảng 80-100 nm, phân bố kích thước tương đối đồng đều. Bột thu được khi đông khô hỗn dịch này chứa các tiểu phân nano AgCl có dạng gần như hình cầu, đường kính trung bình khoảng 90-100 nm, phân bố kích thước tương đối đồng đều. Các đặc tính khác của tiểu phân như thế Zeta, độ bền với ánh sáng, bản chất hóa học, bản chất tương tác với chất ổn định cũng được xác định. So với dạng hỗn dịch, bột đông khô nano AgCl có độ ổn định cao hơn, kích thước tiểu phân không thay đổi nhiều trong vòng 6 tháng.

Tác dụng diệt khuẩn của bạc và các hợp chất của nó liên quan trực tiếp đến khả năng giải phóng ion  $Ag^+$ . Tiểu phân nano AgCl điều chế được có khả năng giải phóng tốt các ion  $Ag^+$  *in vitro* trong vòng 3 ngày, có tác dụng kháng khuẩn trên cả vi khuẩn Gram (+) (*S. aureus*) và Gram (-) (*E. Coli*) với MIC và MBC đã được xác định, hứa hẹn là một tác nhân kháng khuẩn tốt, cho tác dụng kéo dài.

Thuốc mỡ thân nước AgCl 600, 750 và 1300 ppm được bào chế từ bột đông khô nano AgCl cho tác dụng tốt hơn hẳn kem bạc sulfadiazin 1% trên tất cả các chủng vi khuẩn Gram (+) và Gram (-) thử nghiệm. Đây là một kết quả khả quan, cho phép tin tưởng vào sự ra đời của các thuốc kháng khuẩn ngoài da có hiệu lực cao từ AgCl.

### Lời cảm ơn

Các tác giả xin cảm ơn Đại học Quốc gia Hà Nội đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu (đề tài mã số QG.14.58).

### Tài liệu tham khảo

- [1] Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications, *Trends Biotechnol*, 28 (11) (2010) 580.
- [2] Ratte H T., Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review, *Environ, Toxicol, Chem*, 18 (1) (1999) 89.
- [3] Sambhy V, Macbride M M, Peterson B R, Sen A. Silver Bromide Nanoparticle/Polymer Composites: Action Tunable Antimicrobial Materials. *J. Am. Chem. Soc*, 128 (30) (2006) 9798.
- [4] Castellano J J, Shafii S M, Ko F, Donate G, Wright T E, Mannari R J, Payne W G, Smith D J, Robson M C. Comparative evaluation of silver-containing antimicrobial dressings and drugs. *International Wound Journal*, 4 (2007) 114.
- [5] Choi O, Deng K K, Kim N J, Ross L, Surampalli R Y, Hu Z. The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth. *Water Res*, 42 (12) (2008) 3066.
- [6] Atiyeh B S, Costagliola M, Hayek S N, Dibo S A. Effect of silver on burn wound infection control and healing: review of the literature. *Burns J. Int. Soc. Burn. Inj*, 33 (2) (2007) 139.
- [7] Bai J, Li Y, Li M, Wang S, Zhang C, Yang Q. Electrospinning method for the preparation of silver chloride nanoparticles in PVP nanofiber. *Appl. Surf. Sci*, 254 (15) (2008) 4520.
- [8] Vasilev K, Cook J, Griesser H J. Antibacterial surfaces for biomedical devices. *Expert Rev. Med. Devices.*, 6(5) (2009) 553.
- [9] Alexander J. W. History of the Medical Use of Silver. *Surgical Infections*, 10 (3) (2009) 289.
- [10] Trinh N D, Nguyen T T B, Nguyen T H. Preparation and characterization of silver chloride nanoparticles as an antibacterial agent. *Adv. Nat. Sci.: Nanosci, Nanotechnol*, 6 (2015) 045011.
- [11] Trịnh Ngọc Dương, Chử Thị Thu Huyền, Nguyễn Thị Thanh Bình, Phạm Thanh Phúc, Vũ Đức Lợi, Nguyễn Thanh Hải. Nghiên cứu tổng hợp tiêu phân nano bạc clorid. *Tạp chí Dược học*, 472 (2015) 60.
- [12] Trịnh Ngọc Dương, Nguyễn Thị Thanh Bình, Chengsavang Siatoutho, Nguyễn Thanh Hải. Điều chế, theo dõi độ ổn định và đánh giá khả năng giải phóng ion bạc in vitro của bột đồng khô nano bạc clorid, *Tạp chí Dược học*, 475 (2015) 14.
- [13] Henglein A. Physicochemical properties of small metal particles in solution: "microelectrode" reactions, chemisorption, composite metal particles, and the atom-to-metal transition. *J. Phys. Chem*, 97 (21) (1993) 5457.
- [14] Kim S, Chung H, Kwon J H, Yoon H G, Kim W. Facile Synthesis of Silver Chloride Nanocubes and Their Derivatives. *Bull. Korean Chem. Soc*, 31 (10) (2010) 2918.
- [15] Bagwe R P, Khilar K C. Effects of the Intermicellar Exchange Rate and Cations on the Size of Silver Chloride Nanoparticles Formed in Reverse Micelles of AOT. *Langmuir*, 13 (24) (1997) 6432.
- [16] Reddy V R, Currao A, Calzaferri G. Zeolite A and zeolite L monolayers modified with AgCl as photocatalyst for water oxidation to O<sub>2</sub>. *J. Mater. Chem*, 17 (2007) 3603.

## Synthesis of Silver-Containing Nanoparticles for Application in Pharmaceutical Products

Nguyen Thi Thanh Binh, Vu Duc Loi, Bui Thanh Tung, Nguyen Thanh Hai

*VNU School of Medicine and Pharmacy, 144 Xuan Thuy, Cau Giay, Hanoi, Vietnam*

**Abstract:** Silver chloride nanoparticles were prepared by precipitating from the reaction of silver nitrate with sodium chloride in aqueous solution containing 0.7% poly(vinyl alcohol). The particles

had cubic shape in suspension. They were quite polydisperse with 80-100 nm of average size. However, the particles had spherical shape with 90-100 nm of average diameter in lyophilized powder. We also investigated different characteristics of the nanoparticles including Zeta potential, photostability, chemical properties, interaction with stabilizing agent. The lyophilized silver chloride nanoparticles may release  $\text{Ag}^+$  ion for 3 days and showed strong antibacterial activities against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Hydrophilic ointments containing 600, 750 and 1300 ppm silver chloride were prepared from lyophilized silver chloride nanoparticles. These formulations showed higher antibacterial activities against Gram-positive and Gram-negative bacteria than 1% silver sulfadiazine cream which is used as reference.

*Keywords:* Silver chloride, nanoparticles, poly(vinyl alcohol), hydrophilic ointment, antibacterial.