ЗАТВЕРДЖУЮ
Керівник установи Грантоотримувача
В.о. директора ІЕЗ ім. Є.О. Патона
НАН України, академік НАН України

_____ Крівцун І.В.
М.П.

АНОТОВАНИЙ ЗВІТ
про виконану роботу у 2020 році в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок
Розробка нанокомпозитних полімерних біоматеріалів з ефективною противірусною та антимікробною дією і технології 3D друку виробів з них
(назва Проєкту)

Назва конкурсу: Наука для безпеки людини і суспільства
Реєстраційний номер Проєкту: 2020.01/0222

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок Розробка нанокомпозитних полімерних біоматеріалів з ефективною противірусною та антимікробною дією і технології 3D друку виробів з них (реєстраційний номер 2020.01/0222).
Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу Наука для безпеки людини і суспільства протокол від «16 – 17 вересня 2020 року № 21

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Тривалість виконання Проєкту
Початок – 29 жовтня 2020 року;
Закінчення – 2021 рік.

Загальна вартість Проєкту, грн. 9 520 500

Вартість Проєкту по роках, грн.:
1-й рік 3 000 000
2-й рік 6 520 500

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проєкту буде залучено 10 виконавців, з них:
доктори наук 3;
кандидати наук 6;
інші працівники 1.

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЇ СУБВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

Інститут електрозварювання ім. Є.О. Патона
Код ЄДРПОУ 05416923
Код КВЕД 72.19
Національна академія наук України
Оснащення: лабораторії для приготування зразків, прилади для формування філаментів та 3D виробів, прилади для дослідження структурно-морфологічних характеристик матеріалів.

Персонал: Юрженко М.В., Демченко В.Л., Мамуня Є.П., Масючок О.П., Ващук А.В.

Інститут хімії високомолекулярних сполук

Код ЄДРПОУ 05417041

Код КВЕД 72.19

Національна академія наук України

Оснащення: лабораторії для приготування зразків, прилади для вивчення фізико-хімічних та фізико-механічних властивостей нанокомпозитів.

Персонал: Демченко В.Л., Рябов С.В., Мамуня Є.П., Кобилінський С.М., Юрженко М.В.

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного

Код ЄДРПОУ 05417087

Код КВЕД 72.11, 72.19, 72.20

Національна академія наук України

Оснащення: лабораторії та методики для дослідження антимікробних, протигрибкових та противірусних властивостей нанокомпозитів.

Персонал: Рибальченко Н.П., Науменко К.С.

Національний науковий центр радіаційної медицини

Код ЄДРПОУ 04837835

Код КВЕД 72.19

Національна академія медичних наук України

Оснащення: лабораторії та методики для дослідження цитотоксичних властивостей нанокомпозитів.

Персонал: Демченко О.М.

Співробітники Інституту електрозварювання ім. Є.О. Патона будуть формувати серії монофіламентів із плівкових матеріалів та проводити 3D друк полімерних виробів в різних режимах. Методом ширококутової дифракції рентгенівських променів буде визначена структура срібловмісних нанокомпозитних матеріалів (плівок, філаментів, виробів). Методом трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) будуть визначені форма, розмір та розподіл наночастинок срібла у створених матеріалах. Співробітники Інституту хімії високомолекулярних сполук НАН України будуть синтезувати матеріали на основі біополімеру – полілактиду із солями срібла ($AgNO_3$, Ag – пальмітат, Ag – олеїнат та ін.). Буде проведено термовідновлення іонів срібла у полімерних плівках до наночастинок срібла у різних температурних режимах. Методом ІЧ-Фур'є спектроскопії буде проведена ідентифікація взаємодій між компонентами досліджуваних систем. Методом диференційної сканувальної калориметрії та термомеханічного аналізу будуть визначені температуні переходи (склування, кристалізації та плавлення кристалітів полімерної матриці вихідного полілактиду та срібловмісних нанокомпозитів на його основі, перехід полімерної матриці до в'язкотекучого стану). Механізм термохімічного відновлення буде досліджено методом піролітичної мас спектроскопії. Співробітники Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України будуть досліджувати антимікробні властивості сформованих нанокомпозитних срібловмісних біоматеріалів щодо референтних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 та дріжджоподібних грибів *Candida albicans* ATCC 885-653. Також будуть вивчати противірусну дії отриманих матеріалів щодо вірусу грипу типу А, аденовірусу людини та вірусу герпесу. Співробітники національного наукового центру радіаційної медицини НАМН України будуть досліджувати цитотоксичні властивості нанокомпозитних матеріалів за рівнем пошкодження ДНК, що проводиться методом електрофорезу окремих клітин (Comet assay) та за допомогою цитогенетичного методу досліджень.

4. ОПИС ПРОЄКТУ

4.1. Мета Проєкту

Метою проєкту є розробка та створення нових нанокомпозитних срібловмісних полімерних біоматеріалів з антимікробною та антивірусною дією на основі полілактиду і технологію 3D друку виробів з них

4.2. Основні завдання Проєкту

Для реалізації мети наукової роботи необхідно виконати такі основні завдання: 1. Створити

матеріали на основі біополімеру – полілактиду із солями срібла ($AgNO_3$, Ag – пальмітат, Ag – олеїнат та ін.); провести термовідновлення іонів срібла у полімерних плівках до наночастинок срібла; 2. Створити срібловмісні нанокомпозити шляхом механічного введення наночастинок срібла в полімерну матрицю полілактиду; 3. Створити срібловмісні нанокомпозити методом термічного розпилення наночастинок срібла в різних режимах; 4. Виготовити серії філаментів із срібловмісних нанокомпозитів, отриманих різними способами; 5. Провести 3D друк створених серій матеріалів полілактид- Ag в різних режимах; 6. Провести структурно-морфологічні дослідження полімерних нанокомпозитних біоматеріалів у вигляді плівки, філаменту та 3D виробу та вивчити їх властивості; 7. Провести дослідження противірусних та антибактеріальних властивостей отриманих срібловмісних нанокомпозитних полімерних матеріалів.

4.3. Детальний зміст Проєкту:

- Сучасний стан проблеми

Інфекційні захворювання, спричинені вірусами і мікроорганізмами, й далі залишаються однією з найбільших проблем охорони здоров'я в усьому світі, незважаючи на швидкий прогрес у створенні лікарських препаратів і розвитку фармацевтичних технологій. Високим залишається ризик виникнення ускладнень та поширення інфекцій у суспільстві. Отже, сьогодні існує гостра потреба в нових матеріалах із вищою противірусною і бактерицидною дією і меншою токсичністю для людини й довкілля. Останнім часом велику увагу привертають біоматеріали, що містять наночастинки срібла. Науковими дослідженнями доведено, що срібло знешкоджує понад 1000 видів шкідливих бактерій, вірусів і грибків (для порівняння: спектр дії будь-якого хімічного антибіотика – лише 5–10 видів). Противірусний та антимікробний ефект наночастинок срібла, які контактують із середовищем пов'язаний з їх розміром. Що дрібніша частинка, то потужнішим буде противірусний та антимікробний ефект. Сучасний фармацевтичний ринок України обмежений дорогими препаратами срібла лише іноземного промислового виробництва, а це відкриває широкі можливості для розроблення складу й технології виробництва вітчизняних противірусних та антимікробних біоматеріалів.

Тому *актуальним завданням сьогодення є розробка нових матеріалів ефективної противірусної та антимікробної дії та технологій їх виробництва.*

Аналіз світової та вітчизняної літератури показав, що нині практично відсутні дослідження із створення полімерних срібловмісних нанокомпозитів за допомогою 3D друку.

- Новизна Проєкту

3D-друк (адитивне виробництво) отримав велику увагу в останні кілька десятиліть з потенційним використанням в різних галузях промисловості. Перевагою адитивного виробництва є зниження масових і виробничих витрат, можливість отримання складних виробів з високою точністю, значне скорочення термінів виготовлення, виключення додаткових технологічних процесів і висока гнучкість конструкції. Завдяки своїм перевагам область застосування адитивного виробництва швидко розширюється, особливо в аерокосмічній та оборонній галузях, автомобілебудуванні, охороні здоров'я та виробництві споживчих товарів. Біополімер – полілактид (ПЛА) є одним з найбільш підходящих і перспективних матеріалів для 3D-друку через його фізичні властивості. Також він є екологічно чистим матеріалом, має перспективні термомеханічні властивості, ідеальну біосумісність і здатність до розкладання. Ці переваги дозволяють використовувати ПЛА в широкому діапазоні застосувань, особливо в біомедицині, для пакування харчових продуктів, а також в тканинній інженерії.

Полімерні нанокомпозитні біоматеріали із наночастинками срібла, що будуть створені на основі біополімеру – полілактиду, володіють противірусними та антибактеріальними властивостями, а отже можуть використовуватись в медицині, харчовій та космічній галузях .

В даному проекті буде розроблена технологія 3D друку срібловмісними нанокомпозитними біоматеріалами з противірусною та антимікробною дією, яка може використовуватися в медицині, харчовій та космічній галузях у вигляді широкого набору виробів.

- Методологія дослідження

На першому етапі будуть створені полімерні плівки на основі біополімеру – полілактиду та наночастинок срібла. Наночастинки срібла в полімерну плівку будуть вводитись трьома способами: 1. шляхом термовідновлення іонів срібла із попередньо введеної солі срібла в полімерну матрицю. 2. шляхом механічного введення наночастинок срібла в полімерну матрицю

полілактиду. 3. методом термічного розпилення наночастинок срібла. Буде досліджено вплив методу формування нанокомпозитів на розмір наночастинок срібла і їх противірусну та антимікробну активність. На другому етапі із полімерних плівок будуть сформовані серії філаментів. На третьому етапі буде проведено 3D друк створеними різними серіями філаментів полілактид-Ag в різних режимах. Будуть проведені дослідження структури, морфології, фізико-механічних характеристик і антивірусних та антимікробних властивостей нанокомпозитних срібловмісних біополімерів (плівок, філаментів, виробів). Для дослідження полімерних нанокомпозитних матеріалів будуть використані сучасні методидослідження: ІЧ-Фур'є спектроскопія, електронна трансмісійна мікроскопія, ширококутова дифракція та малокутове розсіяння рентгенівських променів, диференціальна сканувальна калориметрія (ДСК), термомеханічний аналіз, термо-гравіметричний аналіз, мас-спектроскопія, спеціальні методи досліджень противірусної та антимікробної дії.

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в поточному році/ в рамках реалізації Проєкту, зокрема:

5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проєкту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик)

Були синтезовані матеріали на основі біополімеру – полілактиду із солями срібла. Проведено ітентифікацію термовідновлення іонів срібла у полімерних плівках до наночастинок срібла у різних температурних режимах методом ширококутового розсіювання рентгенівських променів. Методом ширококутової рентгенографії було досліджено особливості структурної організації полімерних срібловмісних нанокомпозитів, сформованих методом термохімічного відновлення іонів Ag^+ у полімерних плівках типу «ПЛА – AgPalm – поліетиленімін» та «ПЛА – AgPalm – хітозан», в інтервалі температур від 100° С до 170° С та встановлено, оптимальні параметри при термохімічному відновленні іонів срібла в полімерних плівках T=160 °С і тривалість відновлення t=5 хв. Показано, що при підвищенні температури нагрівання плівок нанокомпозитів зростає їх ступінь кристалічності, а при T =150–160 °С різко падає, що пов'язано із плавлення кристалічної фази полілактиду. Встановлено, що середній розмір наночастинок срібла у полімерній матриці при застосуванні поліетиленіміну у якості відновника і стабілізатора становить 6,7 нм і розмір наночастинок срібла лежить у досить широкому діапазоні, в той час як при застосуванні хітозану розмір наночастинок у полімерній матриці становить 4,2 нм і знаходиться в досить вузькому діапазоні. Були визначені температуні переходи (склування, кристалізації та плавлення кристалітів полімерної матриці вихідного полілактиду та срібловмісних нанокомпозитів на його основі, перехід полімерної матриці до в'язкотекучого стану). Методом ІЧ-Фур'є спектроскопії була проведена ідентифікація взаємодій між компонентами досліджуваних систем (ПЛА, хітозан, ПЕІ, AgPalm, Ag).

Були сформувати серії монофіламентів із плівкових матеріалів та проведено 3D друк полімерних виробів в різних режимах. Методом ширококутової дифракції рентгенівських променів буде визначена структура срібловмісних нанокомпозитних матеріалів (філаментів, виробів). Методом трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ) були визначені форма, розмір та розподіл наночастинок срібла у створених монофіламентах та виробах, отриманих за технологією 3D друку. Виявлено, що структура та морфологія філаментів та виробів є подібною до структури і морфології синтезованих плівок срібловмісних нанокомпозитів.

Проведено дослідження антимікробної та противірусної активності срібловмісних нанокомпозитів отриманих шляхом термохімічного відновлення іонів срібла в полімерних плівках на основі біополімеру полілактиду і синтетичного полімеру – поліетиленіміну та на основі біополімеру – полілактиду і полімеру природнього походження - хітозану в різних температурних режимах за різної тривалості відновлення іонів срібла, а також філаментів та виробів, отриманих за технологією 3D друку щодо грам позитивних референтних штамів

умовно-патогенних мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, грам негативних – *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, дріжджоподібних грибів *Candida albicans* ATCC 885-653 та вірусів герпесу, грипу та аденовірусу. Показано, що сформовані срібловмісні нанокомпозити, філаменти та вироби, отримані за технологією 3D характеризуються антимікробною та противірусною активністю. Визначено, цитотоксичну дію срібловмісних нанокомпозитів. Показано, що зі збільшенням вмісту іонів срібла до 4% вони проявляли вищу противірусну дію щодо вірусу грипу типу А, аденовірусу людини та вірусу герпесу, незалежно від основи композиту (поліетиленіміну та хітозану).

Проведено дослідження мутагенної дії срібловмісних нанокомпозитів отриманих шляхом термохімічного відновлення іонів срібла в полімерних плівках на основі біополімеру полілактиду і синтетичного полімеру – поліетиленіміну та на основі біополімеру – полілактиду і полімеру природнього походження - хітозану в різних температурних режимах за різної тривалості відновлення іонів срібла, а також філаментів та виробів. Підібрано оптимальний розмір срібловмісних матеріалів для досліджень. Аналіз цитогенетичних даних показав, що полімери на основі полілактиду і хітозану при збільшенні концентрації наночастинок срібла не проявили мутагену дію. Частота аберацій хромосом не перевищувала 4% для даних зразків, спектр представлений аберраціями хроматидного типу. У срібловмісних матеріалів на основі біополімеру полілактиду і синтетичного полімеру – поліетиленіміну виявлено не значну мутагенну дію. Частота аберацій хромосом не перевищувала 6%, спектр аберацій представлений одиночними та парними фрагментами та у двох випадках – обмінами, що характерно для дії хімічний мутагенів. Методом кометного електрофорезу було досліджено апоптогену активність ЛПК. Було показано, що не залежно від варіанту зразку та наповненості сріблом частота апоптозів становила 1% - що відповідає середньопопуляційним значенням контролю.

Було вивчено зв'язок між структурою, морфологією та противірусними, антимікробними і цитотоксичними властивостями полімерних нанокомпозитних матеріалів.

5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами

Перевага запропонованої розробки над існуючими матеріалами і технологіями полягає в тому, що для отримання нанокомпозитних полімерних матеріалів буде використано екологічно чистий біополімер – полілактид, що має біосумісні властивості, а синтез наночастинок срібла буде здійснено методами „зеленої" хімії (термовідновленням іонів срібла).

5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проєкту для економіки та суспільства (стосується проєктів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)

5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проєкту в суспільній практиці.

Реалізація проекту дасть змогу сприяти вирішенню важливої медико-біологічної та соціальної проблеми бурхливого розвитку та швидкого поширення інфекцій у суспільстві. Результати цього етапу роботи може бути основою для інноваційних проектів щодо заміни дорогих синтетичних нанокомпозитних матеріалів противірусної та антимікробної дії на ефективні біосумісні та екологічно безпечні полімерні матеріали природного походження, що в свою чергу поліпшить екологічну ситуацію в Україні. Результати даного етапу роботи будуть опубліковані в вітчизняних та закордонних наукових журналах.

Примітка: Анотований звіт не повинен містити відомостей, заборонених до відкритого опублікування.

Науковий керівник Проєкту
Завідувач відділу зварювання пластмас
ІЕЗ ім. Є.О. Патона НАН України _____ М.В. Юрженко