

ЗАТВЕРДЖУЮ
Керівник підприємства/установи/організації
(Грантоотримувача)
(посада) директор _____



АНОТОВАНИЙ ЗВІТ
про виконану роботу в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок

Розробка нано-антиоксидантів на основі графену для терапії серцево-судинних захворювань
(назва Проєкту)

Назва конкурсу: Наука для безпеки людини та суспільства
Реєстраційний номер Проєкту: 2020.01/0107

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок (реєстраційний номер та назва Проєкту) 2020.01/0107; Розробка нано-антиоксидантів на основі графену для терапії серцево-судинних захворювань

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця конкурсу Наука для безпеки людини та суспільства (назва конкурсу) протокол від «16-17» вересня 2020 року № 21

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Загальна тривалість виконання Проєкту 2020 рік – 2021 рік

Початок – 6 листопада 2020 року (дата укладання Договору про виконання наукових досліджень і розробок);

Закінчення – 15 грудня 2021 року.

Загальна вартість Проєкту, грн.

6285283 (шість мільйонів двісті вісімдесят п'ять тисяч двісті вісімдесят три) грн.

Вартість Проєкту по роках, грн.:

1-й рік 2688544 (два мільйони шістсот вісімдесят вісім тисяч п'ятсот сорок чотири) грн.

2-й рік 3596739 (три мільйони п'ятсот дев'яносто шість тисяч сімсот тридцять дев'ять) грн.

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проєкту буде залучено 9 виконавців, з них:

доктори наук 2 ;

кандидати наук 5 ;

інші працівники 2 .

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(Ї) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЄКТУ

Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка, код за ЄДРПОУ 03291669, Види економічної діяльності за КВЕД – 72.19, НАН України. Наукові напрями Інституту: теорія хімічної будови і реакційної здатності поверхні твердих тіл; медико-біологічні та біохімічні проблеми поверхні; фізико-хімія поверхневих явищ; хімія, фізика і технології наноматеріалів. В рамках проекту в ІХП досліджено структурні властивості вихідних та модифікованих нано-антиоксидантів на основі графену, зокрема: СЕМ мікроскопія високої роздільної здатності для аналізу морфології та розмірів зразків графену; рентгеноструктурний аналіз для фазової ідентифікації, текстури та кристалічності зразків; вимірювання площі поверхні зразків методом БЕТ; РАМАН-спектроскопія для аналізу чистоти отриманих графенів та дефектів його структури. Хімію поверхні отриманих зразків досліджено за допомогою ТПД-МС та РФЕС методів. Квантово-хімічні розрахунки проводилися за допомогою кластерів та програмного забезпечення, наявного в ІХП.

Інститут фізіології імені О.О.Богомольця, код за ЄДРПОУ 05417093, Види економічної діяльності за КВЕД – 2010, НАН України, забезпечує наявність експериментальних тварин, що утримуються у віварії, наявність лабораторій і відповідного обладнання (апарат Лангендорфа, трансдюсер сигналу, компютери зі спеціальним програмним забезпеченням, газоаналізатор, рН-метр, спекрофотометри, центрифуги, базові реактиви і таст-набори).

4. ОПИС ПРОЄКТУ

4.1. Мета Проєкту (до 200 знаків)

Розробити високоефективні антиоксиданти на основі нанорозмірних графенів, перевірити їхню антиоксидантну здатність в реакціях вловлювання активних форм кисню та азоту з використанням моделі ішемії/реперфузії.

4.2. Основні завдання Проєкту (до 400 знаків)

1. Розробити метод синтезу нано-антиоксидантів на основі графену; 2. Вивчити активність нових антиоксидантів як ефективних вловлювачів активних форм кисню та азоту; 3. Оцінити кардіопротекторні властивості наноматеріалів для лікування ішемічно-реперфузійного пошкодження; 4. Провести морфологічний контроль тканин серця щурів; 5. Відтворити механізм реакції вловлення активних форм кисню та азоту синтезованими зразками.

4.3. Детальний зміст Проєкту:

- Сучасний стан проблеми (до 400 знаків)

Ішемічно-реперфузійне пошкодження – це патологічний стан, який виникає при серцево-судинних захворюваннях, спричинений активними формами кисню. Розробка нових екзогенних антиоксидантів є актуальним завданням через їхню потенційну дію в профілактиці та терапії хвороб, а вуглецевмісні наноматеріали, зокрема графен, можуть поглинати активні форми кисню, завдяки своїм електронно- та протонодонорним властивостям.

- Новизна Проєкту (до 400 знаків)

Дослідження нанорозмірних матеріалів на основі графену для біомедичного застосування знаходяться на ранніх стадіях, а отже, існує необхідність у систематичних, комплексних та фундаментальних роботах у цій галузі як в українській так і світовій науковій практиці. Крім того, результати проекту можуть стати чудовим стартом для подальшої розробки і впровадження отриманих матеріалів у біомедичну науку та клінічні випробування.

- Методологія дослідження (до 400 знаків)

Синтез графену високої чистоти проводили електрохімічним способом. Отримані оксиди графену модифікували шляхом допування гетероатомами азоту, сірки, селену, а також шляхом іммобілізації Mn-порфірину та ферменту супероксид-дисмутази. Структурні властивості та хімія поверхні зразків було досліджено із використанням ряду аналітичних методів, зокрема рентгеноструктурний аналіз, СЕМ, КР, РФЕС, ТПД-МС, лазерно-кореляційна спектроскопія, УФ, фотолюмінісцентна спектроскопія, титрування за Бьому, вольюмометрія, квантово-хімічні методи дослідження. Активність зразків *in vitro* було досліджено в реакціях вловлювання DPPH, OH- та супероксид-радикалів. Ішемію/реперфузію ізольованого серця за методом Лангендорфа було використано як методику дослідження резистентності міокарда.

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)

В результаті реалізації проєкту було розроблено серію нових високоефективних антиоксидантів на основі нанорозмірних графенів та перевірено їх потенційну дію як потужних серцево-судинний протекторів, а також досліджено їхню антиоксидантну здатність в реакціях вловлювання активних форм кисню *in vitro* та *in situ* з використанням моделі ішемії/реперфузії у доклінічних дослідженнях. За допомогою квантово-хімічних методів було досліджено основні принципи механізму дії оксидів графену як вловлювачів вільних радикалів.

Зокрема, детально вивчено та оптимізовано метод синтезу нано-антиоксидантів на основі графену та проаналізовано їхню структуру та хімію поверхні. Проведено модифікування зразків оксиду графену шляхом відновлення, допування атомами N, ковалентного приєднання тіолових (-SH) груп, а також груп із вмістом селену та хелатних комплексів. На поверхню вихідних зразків успішно іммобілізовано фермент СОД шляхом фізичної адсорбції та хімічної іммобілізації. Було показано, що синтезовані наночастинки мають чітку кристалічну структуру та велику кількість кисневмісних функціональних груп, що сприяє їх розчиненню у фізіологічних розчинах, а отже, збільшує їхню біосумісність. Модифіковані зразки мають у своєму складі гетероатоми азоту, сірки, селену і мангану, про що свідчать дані ІЧ-спектроскопії.

Досліджено активність нових антиоксидантів на основі графену як ефективних вловлювачів активних форм кисню, зокрема O₂·⁻, HO·, та DPPH радикалу. Показано, що активність вихідних зразків не поступається модифікованим, проте найвищу ефективність проявляють оксиди графену із іммобілізованим на його поверхні Mn-порфіриновим комплексом.

Проведено детальну оцінку кардіопротекторних властивостей наноматеріалів на основі графену для лікування ішемічно-реперфузійного пошкодження. Вибрано тип та дозу нано-антиоксидантів, що мають найпотужніший кардіопротекторний ефект. Досліджено вміст метаболітів, що характеризують розвиток окисно-нітрозативного стресу, продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активні форми нітрогену в серцевій тканині. Всі зразки графену ефективно попереджали розвиток реперфузійних порушень функції ізольованого серця, спричинених експериментальним моделюванням ішемії-реперфузії. При цьому найбільш виразний вплив на відновлення коронарного потоку у вигляді 30% приросту здійснював N-GrO, що робить його чудовим кандидатом для розробки препаратів для корекції судинної дисфункції. Всі досліджувані графени проявляли антирадикальну та антиоксидантну дію: знижували швидкість генерації АФК та вміст маркерів ПОЛ (діє нових кон'югатів, малонового діальдегіду, лейкотриєну) в гомогенатах ішемізованих сердець. Це дає підстави вважати дані зразки перспективними для подальшого дослідження їх кардіо/ангіо протекторних властивостей, з метою розробки засобів для профілактики ішемічних/гіпоксичних станів, так і для лікування серцево-судинної та інших патологій, пов'язаних із прогресією окисного стресу таких як цукровий діабет, хвороба Паркінсона та інші.

Відтворено механізм реакції вловлення активних форм кисню та вивчено роль хімії поверхні антиоксидантів на основі графену із використанням кванто-хімічних методів моделювання. Отримані результати квантово-хімічних досліджень добре узгоджуються із

емпіричними даними. Енергетичний ефект взаємодії супероксидного радикала з Mn-порфірином в присутності графеноподібної матриці є від'ємною величиною, що свідчить про високу термодинамічну ймовірність утворення такого комплексу та перебіг реакції вловлювання супероксидрадикала на його поверхні.

За результатами отриманими під час реалізації проекту опубліковано 8 наукових публікацій, і 1 знаходиться на рецензуванні.

1. Войтко К.В., Бакалінська О.М., Гошовська Ю.В., Семенов Ю.І., Картель М.Т. Каталазоподібні властивості багат шарових оксидів графену та їх модифікованих форм. Поверхня 2020; 12(27):251. doi.org/10.15407/Surface.2020.12.251
2. Р.А. Федічкіна, Ю.В. Гошовська, І.Ю. Охай, К.В. Войтко, В.Ф. Сагач. Вплив екзогенного глутатіону на кардіодинаміку і відкриття мітохондріальної пори при ішемії-реперфузії серця щурів. Фізіологічний журнал 2021; 61 (1): 3. doi.org/10.15407/fz67.01.003
3. K.V. Voitko, O.M. Bakalinska, Yu.I. Sementsov, Yu.V. Goshovska. Perspectives of the usage of nano-antioxidants for cardiovascular diseases therapy. Ukrainian conference with international participation «Chemistry, Physics and Technology of Surface». 26-27 May 2021, Kyiv – Ukraine. P. 212.
4. E.M. Demianenko, K.V. Voitko, A.M. Grinko, S.V. Zhuravskiy, Yu.I. Sementsov. Quantum chemical study of the superoxide radical interaction with initial and O, N-modified graphene-like plane. Ukrainian conference with international participation «Chemistry, Physics and Technology of Surface». 26-27 May 2021, Kyiv – Ukraine. P. 56.
5. Y.V. Goshovska, K.V. Voitko, Y.P. Korkach, O.M. Bakalinska, V.F. Sagach. Evaluation of cardioprotective action of nano-antioxidants based on graphene oxide and its nitrogen-containing derivatives / Ukrainian conference with international participation «Chemistry, Physics and Technology of Surface». 26-27 May 2021, Kyiv – Ukraine. P. 77.
6. Yulia V Goshovska, Kateryna V Voitko, Yulia P Korkach, Vadym F Sagach. Cardioprotective effect of graphene oxide pretreatment against reperfusion injury in rats. 2021 IEEE 11th International Conference on "Nanomaterials: Applications & Properties" (NAP-2021), 6-11 Sept, Odesa, Ukraine
7. Kateryna Voitko, Sergiy Zhuravskiy, Alina Grinko. Free radical scavenging properties of the novel graphene-based nano-antioxidants. 2021 IEEE 11th International Conference on "Nanomaterials: Applications & Properties" (NAP-2021), 6-11 Sept, Odesa, Ukraine
8. Kateryna Voitko, Yulia Grebelna, Serhii Zhuravskiy, Kateryna Ivanenko, Tetyana Kulyk, Mykola Kartel, Yurii Sementsov. Changes in the structure and properties of graphene oxide surface during reduction and modification – прийнято до друку у журнал Chemistry, physics and technology of surface.
9. K.V. Voitko, Y.V. Goshovska, E.M. Demyanenko, Yu.I. Sementsov, S.V. Zhuravskiy, L.A. Mys, Sagach V.F. Free radical scavenging and cardioprotective properties of graphene oxide: in situ study and quantum-chemical approach – under review in ACS Applied Nano Materials.

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

Дослідження, що проводилось в рамках проекту має комплексний характер, на відміну від вузько направленими робіт, що стосуються лише синтезу графену високої чистоти для біомедичного використання, або його активності щодо вловлення вільних радикалів, або його потенційного використання як нових антиоксидантів, або просто токсикологічних проблем пов'язаних із використанням графенів. Отримані результати відображають замкнений цикл доклінічних досліджень (від синтезу до кванто-хімічних розрахунків), що є важливим для різних наукових галузей.

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

Отримані результати є відмінною базою для подальших доклінічних дослідженням на цілих тваринах, а також клінічних випробувань щодо лікування серцево-судинних захворювань із

використанням нанорозмірних кардіопротекторних препаратів на основі оксиди графену та його похідних.

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

Запропонований проєкт є фундаментальним дослідженням, і, насамперед, отримані результати є предметом подальших наукових досліджень у галузі біохімії, фізіології та біомедицини та за її межами. Одночасно можуть бути проведені клінічні дослідження в яких результати використання нових нанорозмірних антиоксидантів покладуть початок майбутнім прикладним дослідженням в цій галузі. Добре відомо, що окислювальний стрес є основним фактором виникнення ішемії/реперфузії. Тому новітні антиоксиданти покликані в першу чергу зменшити реперфузійні пошкодження та покращити серцеву функцію після інфаркту. Тому доклінічні дослідження розроблених препаратів, що здатні зменшити розмір інфаркту та поліпшити постішемичну функцію серця на тваринних моделях гострого інфаркту міокарда, є важливими для лікування серцево-судинних захворювань. Графен відкриває нові можливості в галузі клітинної біомедицини. Нові розроблені антиоксиданти на основі графену, що мають функціональні групи селективні щодо вловлення вільних кисневмісних радикалів та пероксонітритів виявляють покращену кардіопротекторну здатність порівняно зі звичайним антиоксидантом. У випадку коли розроблений антиоксидант буде успішно впроваджений для лікування гострих ішемічних станів, необхідно також вивчити їх потенціал як профілактичного препарату для серцево-судинних та/або інших захворювань, спричинених вільними радикалами.

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

Науковий керівник Проєкту

(посада)

(Власне ім'я та ПРІЗВИЩЕ)

(підпис)