

Девіз «*Perpetuum mobile*»

**ФУНКЦІОНАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ НАНОВОЛОКНИСТИХ МЕМБРАН  
НА ОСНОВІ ХІТОЗАНУ, ВИГОТОВЛЕНИХ МЕТОДОМ  
ЕЛЕКТРОПРЯДІННЯ ТА МОДИФІКОВАНИХ  
НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА**

## ЗМІСТ

Вступ.....	3
Огляд літератури .....	5
Матеріали та методи дослідження .....	7
Результат дослідження.....	12
Висновки .....	17
Список використаної літератури .....	18

## ВСТУП

Незважаючи на значні досягнення у боротьбі з інфекціями, пошук ефективних протимікробних речовин набуває життєво важливу роль у зменшенні впливу шкідливих бактерій та вірусів на здоров'я людства [1]. Серед органічних матеріалів широкого спектру дії, що мають антимікробні властивості, пильну увагу привертає хітозан [2]. Завдяки його біосумісності, нетоксичності, різнобічним хімічним та фізичним властивостям хітозан (Ch) став одним із найпривабливіших полімерів у біомедичних дослідженнях [3]. Проте, властивості хітозану залежать від структурної організації вихідного розчину полімеру, комбінації його з іншими протимікробними агентами [4], а також від способу виготовлення матеріалів на основі хітозану [5]. Доведено, що волокнисті мембрани з хітозану демонструють вищу ефективність, ніж плівки, губки або гелі [6]. У наш час електропрядіння стало одним із найпопулярніших методів отримання нановолокна з різних синтетичних та природних полімерів [7]. Однак електропрядіння розчину хітозану є дуже складним процесом завдяки його високій в'язкості та наявності вільних аміногруп, що утворює позитивно заряджений поліелектроліт у кислих умовах. Збільшення концентрації кислоти в розчині хітозану може зменшити поверхневий натяг та полегшити процес електропрядіння [8]. Дихлорметан (DCM) та трифтороцтова кислота (TFA) є найбільш підходящими розчинниками для отримання волокон хітозану з огляду на вплив розчинника на властивості розчину хітозану під час електропрядіння [9]. З іншого боку, ці розчинники впливають на структуру хітозану, що призводить до зміни механічних параметрів мембран і робить їх легко розчинними у водному середовищі [10]. Тому подальше біомедичне застосування препаратів хітозану неможливе без етапу нейтралізації із застосуванням спирту, водних розчинів гідроксиду натрію (NaOH) або карбонату натрію (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) [11] і дозволяє зробити хітозан нерозчинним та зменшити його токсичність [12].

**Метою дослідження** була оцінка антибактеріальних властивостей та цитотоксичності нановолокнистих електроспінінгових мембран Ch-AgNPs залежно від концентрації інкорпорованих AgNPs.

***Цілі дослідження:***

1. Охарактеризувати фізичні параметри модифікованих зразків та динаміку їх біодеградації.

2. Вивчити антибактеріальну активність нановолокнистих електроспінінгових мембран Ch-AgNPs залежно від концентрації інкорпорованих AgNPs.

3. Дослідити цитотоксичну активність нановолокнистих електроспінінгових мембран Ch-AgNPs залежно від концентрації інкорпорованих AgNPs на культурі клітин остеобластів людини.

## ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Електропрядіння (електроспінінг) - це метод виготовлення нановолокна, який передбачає створення струменя, зарядженого електричним струмом, з краплі розчину полімеру та збирання нановолокон на колекторі [13].

Для електропрядіння нановолокон хітозану (природний, нетоксичний полісахарид, отриманий з хітину, що володіє біосумісністю та антибактеріальною активністю) використовують трифтороцтову кислоту (TFA) та дихлорометан (DMC) [14, 15, 16]. Подальшу обробку абсолютним етанолом або сумішшю етанол-вода, придатною для підтримання волокнистої структури та отримання стабільних мембран хітозану, проводять з використанням гідроксиду натрію (NaOH) та карбонату натрію ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) [17, 18].

Антибактеріальний потенціал хітозану може бути пояснений декількома теоріями. Наприклад, низькомолекулярний хітозан, що проникає крізь клітинну стінку, пригнічує синтез мРНК та білка [19]. Протоновані амінні групи хітозану пов'язують негативно заряджені бактерії, порушуючи їх розмноження [20, 21].

Для посилення антибактеріальних властивостей матеріали срібла, такі як наночастки срібла (AgNPs), можуть бути включені в нановолокна хітозану, забезпечуючи стійке вивільнення іонів срібла ( $\text{Ag}^+$ ) [22, 23, 24]. AgNP можуть зв'язуватися з клітинною стінкою бактерії та спричиняти пошкодження мембрани, витік клітинного вмісту та загибель бактерій [25, 26]. Більше того, антибактеріальна дія AgNP на грамнегативні бактерії сильніша, ніж грампозитивні бактерії через різницю в товщині клітинної стінки між грампозитивними (30 нм) та грамнегативними бактеріями (3–4 нм) [27]. Антибактеріальний механізм AgNP можна пояснити також продукуванням високого рівня активних форм кисню та вільних радикалів, що призводить до апоптозоподібної відповіді, перекисного окислення ліпідів та пошкодження ДНК клітин [28, 29].

Форма матеріалів з хітозану (плівки, гідрогелі, губки) або їх поєднання з іншими складовими мають різні антимікробні властивості та біосумісність [30].

Біосумісність є життєво важливою вимогою для застосування в медицині, яку можна забезпечити не лише шляхом зміни морфології та поверхневих характеристик AgNPs, але також шляхом поверхневих модифікацій біомолекулами, полімерами або іонами металів з метою зменшення ефекту токсичності [31, 32].

Проте протимікробна дія електроспінінгових хітозанових мембран невизначена, особливо у поєднанні Ch з AgNPs. Цей аспект вимагає вивчення цитотоксичності та антибактеріальних властивостей в залежності від використаних концентрацій срібла.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

### Виготовлення хітозанових мембран методом електропрядіння

Розчин хітозану (3,5%) готували розчиненням порошку хітозану (молекулярна вага 50-190 кДа, ступінь деацетилювання 75-85%, в'язкість 20-300 сР) у співвідношенні суміші розчинів TFA/DCM (трифтороцтова кислота /дихлорометан) рівний 9:1. Використані AgNPs були виготовлені методом «морого» синтезу (NanoWave, Гданськ, Польща). Наночастки додавали до Ch-TFA/DCM розчину і перемішували на магнітній мішалці протягом ночі при кімнатній температурі. Концентрацію AgNPs розраховували відповідно до мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) наночасток, визначеної заздалегідь для *S. aureus* та *E. coli* (2,5 та 1,25 мкг/мл, відповідно) [33]. Ch-TFA/DCM розчини, розроблені для цього дослідження, містили таку кількість наночастинок: 0,625 мкг/мл, 1,25 мкг/мл, 2,5 мкг/мл і 5 мкг/мл, що відповідало від ½ до 2 МІК AgNPs.

Нановолокнисті мембрани з хітозану виготовляли на покритому алюмінієвою фольгою колекторі системи для електропрядіння (Linari Engineering s.r.l., Італія) (рис. 1). Відстань між голкою та колектором становила 15 см, швидкість подачі розчину 1,0 мл/год, прикладена напруга 21 кВ. Виготовлені мембрани сушили у вакуумній печі при 30 °С протягом 24 годин для видалення залишкових розчинників.



Рисунок 1 – Система електропрядіння: 1 – шприц з розчином хітозану; 2 – колектор з нановолокнами

З метою надання мембранам водонерозчинних властивостей їх нейтралізували в розчині лугу (70% етанол/30% водний розчин) - 1М гідроксиду натрію (NaOH) протягом 24 год з наступним промиванням дистильованою водою та сушінням протягом 1 доби при кімнатній температурі. Зразки стерилізували у 70% розчині етанолу протягом 1 год, потім тричі промивали стерильним забуференим фосфатом сольовим розчином (PBS).

### **Дослідження біодеградації**

Мембрани розрізали на зразки розміром 1,5 см×1,5 см, а потім замочували у забуференому фосфатом сольовому розчині (PBS) при нейтральному рН протягом 20 і 60 хв. Потім зразки виймали за допомогою пінцета, а надлишки води видаляли фільтрувальним папером і сушили при кімнатній температурі протягом 24 годин. Ступінь набухання (СН) розраховували за наступним рівнянням (1) [34]:

$$\text{СН (\%)} = (\text{Мн} - \text{Мс}) / \text{Мн} \times 100 \quad (1),$$

де Мн (г) - маса набряклих мембран, а Мс (г) - маса зразків після сушіння при кімнатній температурі.

Втрати ваги (ВВ) зразків (1,5x1,5 см) проводили до та після занурення в PBS. Мембрани хітозану замочували протягом 1, 3, 7 і 28 діб. Потім зразки промивали і сушили протягом ночі при кімнатній температурі для видалення поглиненої води. Для розрахунку відсотка втрати ваги використовували наступне рівняння (2) [35]:

$$\text{ВВ (\%)} = (\text{Мн} - \text{Мс}) / \text{Мс} \times 100 \quad (2),$$

де Мн (г) - маса набряклих нановолокнистих матів, а Мс (г) - маса зразків після сушіння при кімнатній температурі.



## Дослідження цитотоксичності на культурі клітин

Клітини (тип клітин U2OS) висівали на зразки розміром 0,5 см<sup>2</sup> при щільності висіву клітин  $1 \times 10^4$  клітини/лунку і 2 мл середовища Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F-12) додавали в кожен лунку. Життєздатність клітин оцінювали через 1, 3 та 7 днів. Лунки, що містили лише клітини без зразків та зразки без клітин інкубували так само і використовували як контролю. У призначений час до кожної лунки додавали фарбник Alamar Blue, Invitrogen у кількості, що дорівнює 10% від середнього об'єму, та інкубували протягом 8 годин при 37 °С у темряві. Оптичну щільність (OD) кожного зразка вимірювали при 570 та 595 нм за допомогою планшетного зчитувача (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США) (рис. 2). Через 3 дні зразки збирали і фіксували 2,5% глутаральдегідом (0,1 М PBS) протягом 40 хвилин, двічі. Потім закріплені клітини зневоднювали зануренням у зростаючу концентрацію етанолу у воді (50–96%) на 30 хв при кожній концентрації. SEM використовували для візуалізації морфології клітин на поверхнях зразків.



Рисунок 2 – Визначення цитотоксичності досліджуваних зразків із використанням фарбника Alamar Blue: 1 - планшетний зчитувач; 2 – планшет з фарбником Alamar Blue

### **Дослідження антибактеріальних властивостей**

*E. coli* та *S. aureus* були обрані для оцінки антибактеріальної активності Ch-TFA/DCM мембран. Штами культивували у поживному бульйоні при 37 °С протягом 24 годин. Зразки мембран розміром 0,5 см<sup>2</sup> готували в асептичних умовах і поміщали в стерильний 24-лунковий пластиковий планшет з 2 мл попередньо приготованої бактеріальної суспензії ( $1 \times 10^5$  КУО/мл) (рис. 3). Бактерії, суспендовані в поживному бульйоні, використовували в якості контролю. Після інкубації протягом 2, 4, 6 та 8 год поживний агар інокулювали аліквотами по 10 мкл з кожної лунки, а потім інкубували при 37 °С протягом 12 годин для подальшого підрахунку бактеріальних колоній (КУО/мл) з подальшим перерахунком у log 10 (рис. 3). Підготовка зразків для SEM проводилась за тією ж методикою, що і для культур клітин.

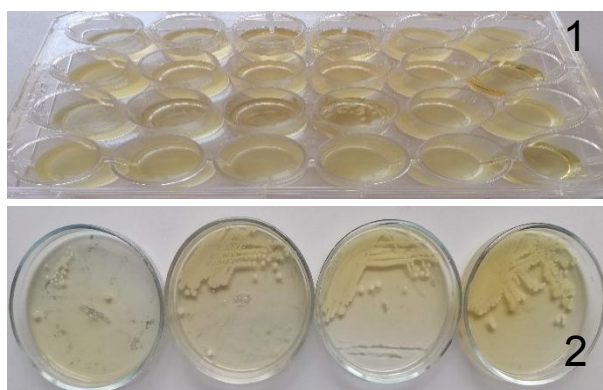


Рисунок 3 – Визначення антибактеріальних властивостей: 1 - 24-лунковий пластиковий планшет з бактеріальною суспензією; 2 - чашки Петрі з колоніями бактерій на поживному агарі

### **Скануюча електронна мікроскопія**

Будова волокон хітозанових мембран, прикріплення клітин та колонізація бактеріями спостерігалися за допомогою FEI Inspect S50B SEM (FEI, Брно, Чеська Республіка). Зразки напилювали під вакуумом вуглецем за допомогою вакуумної установки ВУП-5М (SELMІ, Суми, Україна). Діаметр волокна та пористість вимірювали за допомогою програмного забезпечення Image J.

Частотні гістограми розподілу діаметру волокна були побудовані за допомогою програмного забезпечення Excel.

### **Статистичний аналіз**

Односторонній дисперсійний аналіз (ANOVA) проводили за допомогою програмного забезпечення Statistica® v.8. Результати були виражені як середнє значення  $\pm$  стандартне відхилення. Значення  $p$  менше 0,05 вважалося значущим. Всі тести проводились тричі.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

### Скануюча електронна мікроскопія

Скануюча електронна мікроскопія продемонструвала утворення високопористої мембрани із випадково орієнтованими волокнами діаметром  $200 \pm 10$  нм. Дефектів та склеювання волокон виявлено не було (рис. 4). Нейтралізація лужним розчином (70% етанол/30% водний розчин) призводила до збільшення діаметра волокна до  $300 \pm 10$  нм та зменшення пористості з 7,9% до 4,5%. Набухання волокон було основним показником структурних змін.

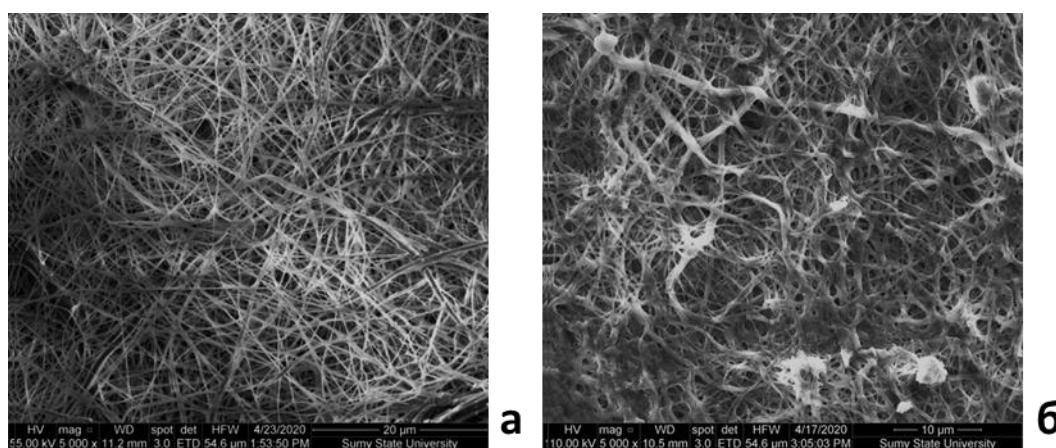


Рисунок 4 – Волокнисті мембрани Ch-TFA/DCM до (а) та після обробки 1M NaOH 70% етанолу/30% водним розчином (б)

Додавання AgNPs до розчину не впливало на морфологію мембран. Наявність AgNPs суттєво впливало на діаметр волокна та пористість, які зменшувалися відповідно до  $160 \pm 1,3$  нм та 2,41%. Хан та ін. продемонстрував, що введення срібла в розчин для електропрядіння призводить до збільшення його провідності та зменшення діаметра волокна після процесу прядіння [36]. Проте обробка 70% етанолом / 30% води призводить до збільшення як діаметра волокна, так і зменшення пористості так само, як у мембранах, що не містять AgNP (рис. 5).

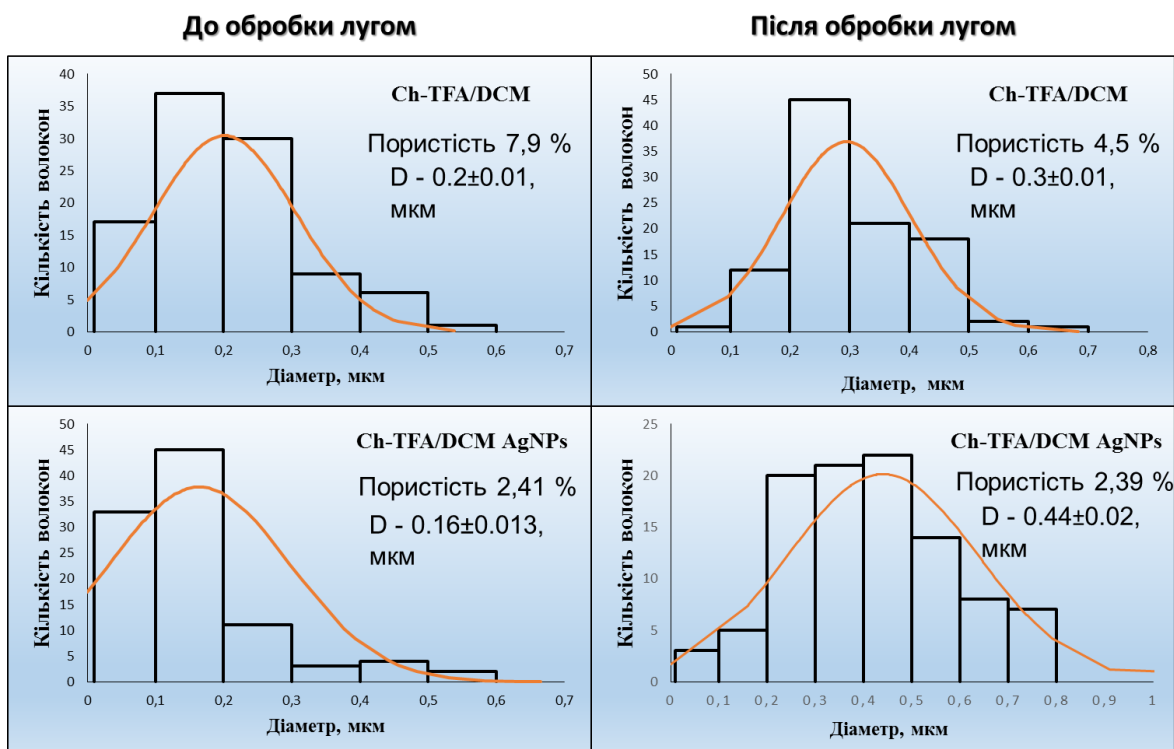


Рисунок 5 – Пористість волокна, середній діаметр волокна (D) та розподіл діаметру волокна Ch-TFA/DCM мембран до обробки та після обробки лугом

### Дослідження біодеградації

Кінетика деградації волокнистих мембран після нейтралізації сумішшю етанол-вода та після видалення надлишку розчинної солі TFA/DCM показала, що нейтралізація 1M NaOH є доцільною для збереження структури нановолокна (рис. 6). Здебільшого отримані нановолокна зберігали морфологію після багаторазового занурення в буферний розчин PBS. Здатність до набухання волокнистих мембран була майже на однакових рівнях через 20 хв і 60 хв після занурення. Втрати маси нановолокнистих зразків під час занурення в PBS помірно збільшувались протягом перших трьох днів і помітно зростали на 1-й тиждень. Суттєва різниця у втраті ваги спостерігалася лише між 3-м днем та 28-м днем експерименту ( $p \leq 0,01$ ). Не було визначено відмінностей у швидкості деградації серед зразків з різним вмістом AgNPs.

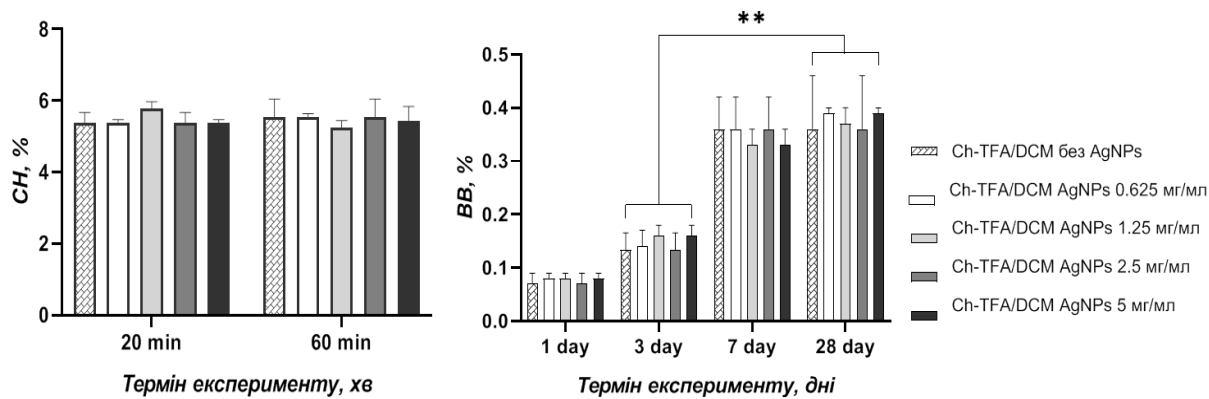


Рисунок 6 – Кінетика деградації (CH та BV) волокнистих Ch-TFA/DCM і мембран з наночастинками срібла. Зірочки вказують на статистично значущі відмінності між двома групами

### Дослідження цитотоксичності на культурі клітин

Значення оптичної щільності (ОГ), що відображають кількість клітин на мембранах, підтвердили подібну динаміку росту клітин у відповідні часові точки культивування незважаючи на кількість срібла (рис. 7). Тим не менше, через 3 і 7 днів значення ОГ для ненавантажених наночастками зразків було вищим, ніж для зразків, що містять срібло. Клітини, культивовані на ненавантажених AgNPs мембранах протягом 7 днів, продемонстрували приблизно в 2 рази вищу життєздатність, ніж у 1 день. Однак виявлено, що життєздатність клітин на зразках зі сріблом, була вищою в динаміці вирощування. Ці дані свідчать про те, що проліферація клітин після прикріплення залежала від кількості AgNPs, але застосовані концентрації срібла не пригнічували проліферативну активність остеобластів.

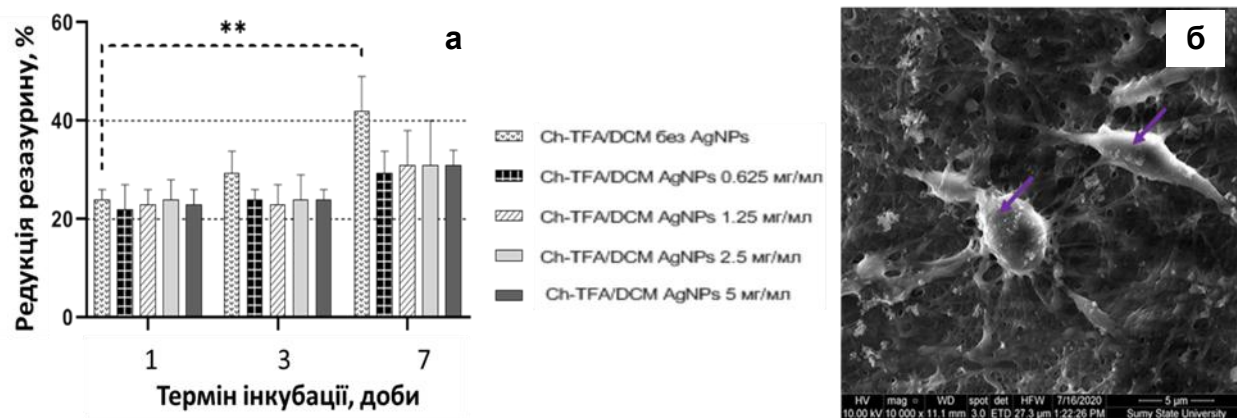


Рисунок 7 – Динаміка редукції резазурину залежно від концентрації наночасток у зразках (а), \*\*  $p < 0,01$ ; SEM клітин на поверхні мембрани з максимальною кількістю AgNPs через 7 днів після засівання клітин (б), фіолетові стрілки вказують на клітини

### Дослідження антибактеріальних властивостей

Згідно з результатами бактеріологічного дослідження (рис. 8) включення наночастинок срібла в мембрани Ch-TFA/DCM спричинило посилення антимікробної активності щодо обох випробуваних мікроорганізмів. Проте всі типи випробовуваних мембран мали вищу антимікробну активність щодо грамнегативних бактерій порівняно з грампозитивними мікробами через 2 години дослідження. Тим не менш, через 4 години спільного культивування з мембранами, що містять AgNPs, швидкість зменшення кількості *S. aureus* була порівняно вищою, ніж для *E. coli*. Тривале культивування призводило до втрати антимікробної активності, і всі мембрани продемонстрували подібні результати до  $8 \log_{10}$  КУО через 8 годин (рис. 9).



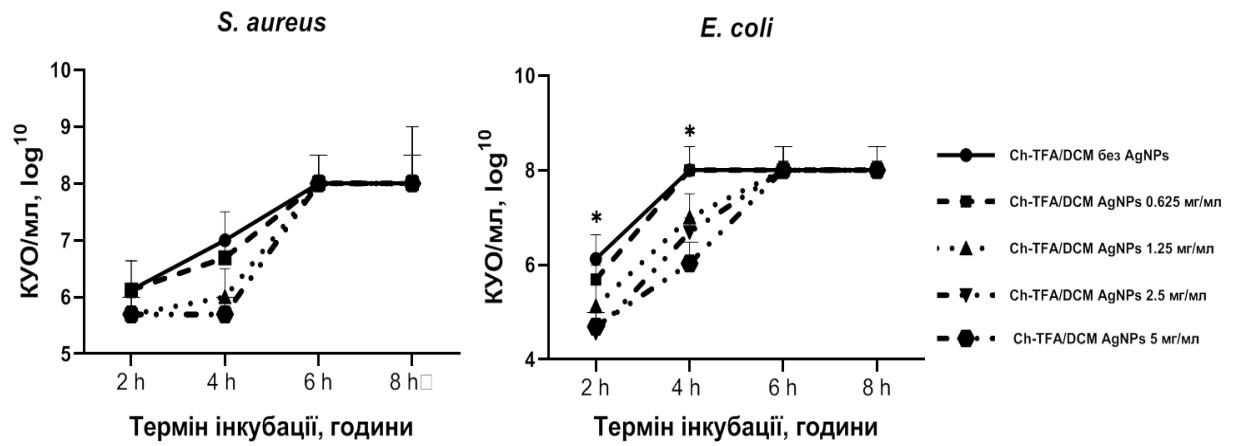


Рисунок 8 – Динаміка антибактеріальної ефективності Ch-TFA/DCM мембран з різною кількістю AgNPs проти *S. aureus* та *E. coli*, КУО/мл

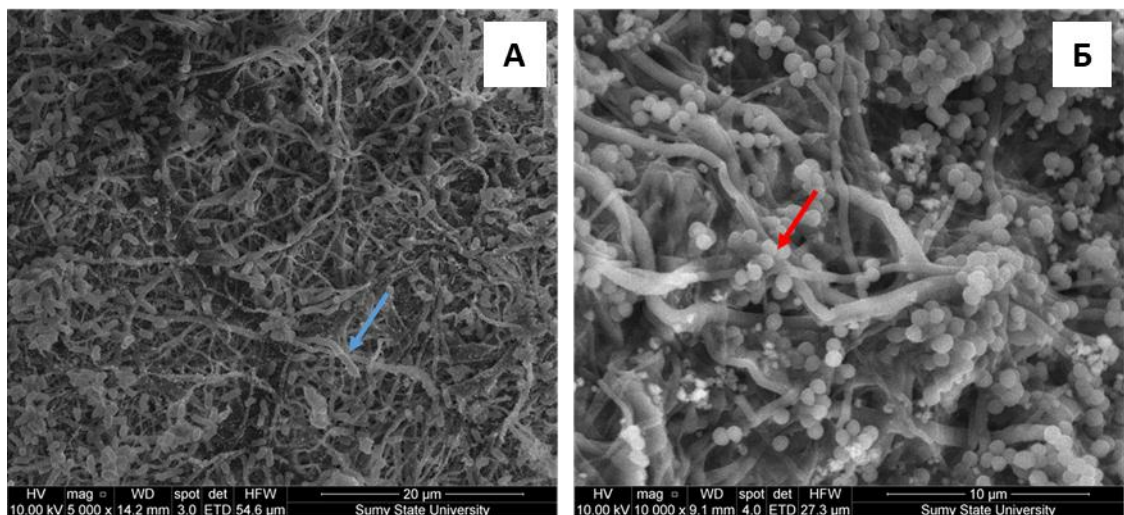


Рисунок 9 – Зображення SEM бактеріального росту на Ch-TFA/DCM мембранах після 8 годин спільного культивування з *E. coli* (А) та *S. aureus* (Б). Стрілки вказують на бактеріальні клітини



## ВИСНОВКИ

Процедура нейтралізації нановолокнистих мембран хітозану, виготовлених з розчинів хітозану в суміші TFA/DCM з використанням 1M NaOH для нейтралізації, зберігає структуру нановолокна, що забезпечує їх нерозчинність у нейтральних або слабких основних водних середовищах. Антибактеріальні властивості мембран збільшувалися із зростанням концентрації інкорпорованих наночастинок срібла, проте зростання активності спостерігалось в різний час дослідження і мало різну ступінь для грамнегативних та грампозитивних бактерій відповідно до антибактеріальних властивостей AgNPs та хітозану. Нижчий рівень проліферації клітин у зразках, що містять срібло, був викликаний впливом AgNPs, але токсичність не зростала із прогресуванням концентрації срібла. Це підтверджує, що Ch-TFA/DCM мембрани з наночастинами срібла у концентраціях, що не перевищують 2 МІК, можуть розглядатися як перспективні матеріали для тканинної інженерії з відповідним рівнем біосумісності клітин та високою антимікробною здатністю.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. R. P. Gonçalves, W. H. Ferreira, R. F. Gouvêa, and C. T. Andrade, “Effect of chitosan on the properties of electrospun fibers from mixed poly(Vinyl Alcohol)/Chitosan solutions,” *Mater. Res.*, vol. 20, no. 4, pp. 984–993, 2017.
2. L. R. Manea, L. Hristian, A. L. Leon, and A. Popa, “Recent advances of basic materials to obtain electrospun polymeric nanofibers for medical applications,” *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 145, no. 3, 2016.
3. R. Jayakumar, S. V., T. Furuike, and H. Tamur, “Perspectives of Chitin and Chitosan Nanofibrous Scaffolds in Tissue Engineering,” *Tissue Eng.*, 2010.
4. W. T. Lin *et al.*, “Inhibited bacterial adhesion and biofilm formation on quaternized chitosan-loaded titania nanotubes with various diameters,” *Materials (Basel)*, vol. 9, no. 3, 2016.
5. R. C. Goy, D. De Britto, and O. B. G. Assis, “A review of the antimicrobial activity of chitosan,” *Polimeros*, vol. 19, no. 3, pp. 241–247, 2009.
6. M. Hosseinnejad and S. M. Jafari, “Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 85, pp. 467–475, 2016.
7. J. Champer, J. Patel, N. Fernando, E. Salehi, V. Wong, and J. Kim, “Chitosan against cutaneous pathogens,” *AMB Express*, vol. 3, pp. 1–8, 2013.
8. V. Sencadas *et al.*, “Determination of the parameters affecting electrospun chitosan fiber size distribution and morphology,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 87, no. 2, pp. 1295–1301, 2012.
9. P. Sangsanoh and P. Supaphol, “Stability improvement of electrospun chitosan nanofibrous membranes in neutral or weak basic aqueous solutions,” *Biomacromolecules*, vol. 7, no. 10, pp. 2710–2714, 2006.
10. J. M. Frick, A. Ambrosi, L. D. Pollo, and I. C. Tessaro, “Influence of Glutaraldehyde Crosslinking and Alkaline Post-treatment on the Properties of Chitosan-Based Films,” *J. Polym. Environ.*, vol. 26, no. 7, pp. 2748–2757, 2018.
11. M. Arkoun, F. Daigle, M. C. Heuzey, and A. Aji, “Antibacterial

electrospun chitosan-based nanofibers: A bacterial membrane perforator,” *Food Sci. Nutr.*, vol. 5, no. 4, pp. 865–874.

12. S. Jin *et al.*, “Electrospun silver ion-loaded calcium phosphate/ chitosan antibacterial composite fibrous membranes for guided bone regeneration,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 13, pp. 4591–4605, 2018.

13. R. P. Gonçalves, W. H. Ferreira, R. F. Gouvêa, and C. T. Andrade, “Effect of chitosan on the properties of electrospun fibers from mixed poly(Vinyl Alcohol)/Chitosan solutions,” *Mater. Res.*, vol. 20, no. 4, pp. 984–993, 2017.

14. W. T. Lin *et al.*, “Inhibited bacterial adhesion and biofilm formation on quaternized chitosan-loaded titania nanotubes with various diameters,” *Materials (Basel)*, vol. 9, no. 3, 2016.

15. V. Sencadas *et al.*, “Determination of the parameters affecting electrospun chitosan fiber size distribution and morphology,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 87, no. 2, pp. 1295–1301, 2012.

16. H. Homayoni, S. A. H. Ravandi, and M. Valizadeh, “Electrospinning of chitosan nanofibers: Processing optimization,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 77, no. 3, pp. 656–661, 2009.

17. Y. Huang, S. Onyeri, M. Siewe, A. Moshfeghian, and S. V. Madihally, “In vitro characterization of chitosan-gelatin scaffolds for tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 36, pp. 7616–7627, 2005.

18. P. Sangsanoh and P. Supaphol, “Stability improvement of electrospun chitosan nanofibrous membranes in neutral or weak basic aqueous solutions,” *Biomacromolecules*, vol. 7, no. 10, pp. 2710–2714, 2006.

19. M. Hosseinnjad and S. M. Jafari, “Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 85, pp. 467–475, 2016.

20. J. Champer, J. Patel, N. Fernando, E. Salehi, V. Wong, and J. Kim, “Chitosan against cutaneous pathogens,” *AMB Express*, vol. 3, pp. 1–8, 2013.

21. T. Wang, X. K. Zhu, X. T. Xue, and D. Y. Wu, “Hydrogel sheets of chitosan, honey and gelatin as burn wound dressings,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 88,

no. 1, pp. 75–83, 2012.

22. S. Jin *et al.*, “Electrospun silver ion-loaded calcium phosphate/ chitosan antibacterial composite fibrous membranes for guided bone regeneration,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 13, pp. 4591–4605, 2018.

23. J. Lopez-Esparza, L. Francisco Espinosa-Cristobal, A. Donohue-Cornejo, and S. Y. Reyes-Lopez, “Antimicrobial activity of silver nanoparticles in polycaprolactone nanofibers against gram-positive and gram-negative bacteria,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 55, no. 49, pp. 12532–12538, 2016.

24. H. Celebi, M. Gurbuz, S. Koparal, and A. Dogan, “Development of antibacterial electrospun chitosan/poly(vinyl alcohol) nanofibers containing silver ion-incorporated HAP nanoparticles,” *Compos. Interfaces*, vol. 20, no. 9, pp. 799–812, 2013.

25. B. Khalandi *et al.*, “A Review on Potential Role of Silver Nanoparticles and Possible Mechanisms of their Actions on Bacteria,” *Drug Res. (Stuttg.)*, vol. 67, no. 2, pp. 70–76, 2017.

26. A. Abbaszadegan *et al.*, “The effect of charge at the surface of silver nanoparticles on antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria: A preliminary study,” *J. Nanomater.*, vol. 2015.

27. T. Chatterjee, B. K. Chatterjee, D. Majumdar, and P. Chakrabarti, “Antibacterial effect of silver nanoparticles and the modeling of bacterial growth kinetics using a modified Gompertz model,” *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.*, vol. 1850, no. 2, pp. 299–306, 2015.

28. E. Z. Gomaa, “Silver nanoparticles as an antimicrobial agent: A case study on Staphylococcus aureus and escherichia coli as models for gram-positive and gram-negative bacteria,” *J. Gen. Appl. Microbiol.*, vol. 63, no. 1, pp. 36–43, 2017.

29. W. Lee, K. J. Kim, and D. G. Lee, “A novel mechanism for the antibacterial effect of silver nanoparticles on Escherichia coli,” *BioMetals*, vol. 27, no. 6, pp. 1191–1201, 2014.

30. R. Jayakumar, S. V., T. Furuike, and H. Tamur, “Perspectives of Chitin and Chitosan Nanofibrous Scaffolds in Tissue Engineering,” *Tissue Eng.*, 2010.

31. S. Prabhu and E. K. Poulouse, “Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects,” *Int. Nano Lett.*, vol. 2, no. 1, 2012.
32. N. Kumar *et al.*, “Biocompatible agarose-chitosan coated silver nanoparticle composite for soft tissue engineering applications,” *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.*, vol. 46, no. 3, pp. 637–649, 2018.
33. O. Oleshko *et al.*, “In vitro biological characterization of silver-doped anodic oxide coating on titanium,” *Materials (Basel)*, vol. 13, no. 19, pp. 1–12, 2020.
34. P. Nitti *et al.*, “Influence of nanofiber orientation on morphological and mechanical properties of electrospun chitosan mats,” *J. Healthc. Eng.*, vol. 2018, 2018.
35. I. Laidmäe, K. Ērglis, A. Cēbers, P. A. Janmey, and R. Uibo, “Salmon fibrinogen and chitosan scaffold for tissue engineering: in vitro and in vivo evaluation,” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, vol. 29, no. 12, 2018.
36. S. J. Lee *et al.*, “Electrospun chitosan nanofibers with controlled levels of silver nanoparticles. Preparation, characterization and antibacterial activity,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 111, pp. 530–537, 2014.

## **Анотація**

наукової роботи під девізом “ *Perpetuum mobile* ”

(Вічний рух)

**Актуальність.** З швидким розвитком антибіотикорезистентності, виникає потреба в нових матеріалах які мають антибактеріальні властивості, гарну біодеградацію та низьку цитотоксичність. Одним з таких матеріалів є електроспінінгові хітозанові мембрани вони проявляють високий антибактеріальний потенціал в поєднанні з наночастинками Ag.

Проте протимікробна дія електроспінінгових хітозанових мембран невизначена, особливо у поєднанні Ch з AgNPs. Цей аспект вимагає вивчення цитотоксичності та антибактеріальних властивостей в залежності від використаних концентрацій срібла

**Метою дослідження** була оцінка антибактеріальних властивостей та цитотоксичності нановолокнистих електроспінінгових мембран Ch-AgNPs залежно від концентрації інкорпорованих AgNPs.

### **Завдання:**

1. Охарактеризувати фізичні параметри модифікованих зразків.
2. Вивчити антибактеріальну активність нановолокнистих електроспінінгових мембран Ch-AgNPs залежно від концентрації інкорпорованих AgNPs.
3. Дослідити цитотоксичну активність нановолокнистих електроспінінгових мембран Ch-AgNPs залежно від концентрації інкорпорованих AgNPs на культурі клітин остеобластів людини.

### **Загальна характеристика наукової роботи.**

Наукова робота складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів, результатів дослідження, висновків, списку літератури. Робота представлена на 21 сторінці, ілюстрована 9 малюнками, 2 рівняннями. Список літератури містить 36 посилань.

**Новизна роботи:** Експериментально вивчено антибактеріальні властивості та цитотоксичність нановолокнистих електроспінінгових мембран Ch-AgNPs залежно від концентрації інкорпорованих AgNPs.

**Практична і теоретична значущість роботи:**

Дані отримані під час досліджень можуть бути використані для створення нових електроспінінгових хітозанових мембран Ch з AgNPs, для подальшого використання в біоінженерії та медицині.

**Ключові слова:** електроспінінг, хітозан, мембрана, антимікробна речовина, наночастинки срібла.