



<https://doi.org/10.15407/polymerj.45.01.056>
УДК 544.23; 544.25; 678, 541(49+64):539.2:537.3

В.Л. ДЕМЧЕНКО,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, вул. Харківське шосе, 02155, Київ, Україна,
e-mail: dvaleriyl@ukr.net

ORCID: 0000-0001-9146-8984

С.В. РЯБОВ,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, вул. Харківське шосе, 02155, Київ, Україна,
e-mail: sergii.riabov@gmail.com

ORCID: 0000-0003-2996-3794

С.М. КОБИЛІНСЬКИЙ,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, вул. Харківське шосе, 02155, Київ, Україна,
e-mail: kobylynskiy@ukr.net

ORCID: 0000-0002-4915-2502

Л.А. ГОНЧАРЕНКО,

Інститут хімії високомолекулярних сполук НАН України, 48, вул. Харківське шосе, 02155, Київ, Україна,
ORCID: 0000-0003-0274-4938

М.В. ЮРЖЕНКО,

Інститут електрозварювання ім. Є.О. Патона НАН України, 11 вул. Казимира Малевича, 03150, Київ, Україна,
e-mail: 4chewip@gmail.com

ORCID: 0000-0002-5535-731X

Н.П. РИБАЛЬЧЕНКО,

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, 154, вул. Академіка Заболотного, 03143, Київ, Україна,

e-mail: nrybalchenko@ukr.net

ORCID: 0000-0002-0505-3406

К.С. НАУМЕНКО,

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, 154, вул. Академіка Заболотного, 03143, Київ, Україна,

e-mail: krystyn.naumenko@gmail.com

ORCID: 0000-0003-4635-0690

С.Д. ЗАГОРОДНЯ,

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, 154, вул. Академіка Заболотного, 03143, Київ, Україна,

e-mail: svetazagorodnya@ukr.net

ORCID: 0000-0002-0892-772X

СРІБЛОВМІСНІ НАНОМАТЕРІАЛИ: ОТРИМАННЯ, МОРФОЛОГІЯ, АНТИМІКРОБНА ТА ПРОТИВІРУСНА АКТИВНІСТЬ

Розроблено срібловмісні біоматеріали в різних формах (порошки, плівки, розчини, вироби, сформовані за технологією 3D-друку) з ефективною антимікробною та противірусною дією. Матеріали виготовлено на основі поліелектролітичних комплексів полісахаридів (пектин – хітозан, пектин – катіонний крохмаль, карбоксиметилцелюлоза – катіонний β -циклодекстрин, аніонний крохмаль – катіонний крохмаль) та біополімеру полілактиду. Наночастинки срібла в складі композитів формували екологічно безпечними способами: відновленням іонів

Цитування: Демченко В.Л., Рябов С.В., Кобилінський С.М., Гончаренко Л.А., Юрженко М.В., Рибальченко Н.П., Науменко К.С., Загородня С.Д. Срібловмісні наноматеріали: отримання, морфологія, антимікробна та противірусна активність. *Полімерний журнал*. 2023. № 1. С. 56–68. <https://doi.org/10.15407/polymerj.45.01.056>

срібла екстрактами природних речовин (зеленого чаю, м'яти, прополісу, пектину), методами термохімічного відновлення або катодного напилення наночастинок срібла зі срібної фольги на поверхню плівки. Досліджено структуру і морфологію отриманих матеріалів та їхні антимікробні, протівірусні й цитотоксичні властивості. Вивчено зв'язок між морфологією та антимікробними і протівірусними властивостями отриманих матеріалів.

Ключові слова: біоматеріали, наночастинки срібла, структура, морфологія, антимікробні та протівірусні властивості.

Вступ

Інфекційні захворювання, спричинені вірусами та мікроорганізмами, й далі залишаються однією з проблем охорони здоров'я в усьому світі, незважаючи на швидкий прогрес у створенні лікарських препаратів і розвитку фармацевтичних технологій. Дослідження та боротьба з вірусними інфекціями, зокрема з великою групою респіраторних захворювань, зумовлених вірусами, наприклад грипу, парагрипу, респіраторно-сенситивним вірусом, аденовірусами, риновірусами, коронавірусами і т.д., посідають важливе місце в сучасній медицині. Також розвиваються стійкі до безлічі антимікробних агентів мікроорганізми (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (синьогнійна паличка), дріжджоподібні гриби *Candida albicans* та ін.). Отже, нині галузі екології, медицини й харчової промисловості потребують нових матеріалів з вищою протівірусною і бактерицидною дією і меншою токсичністю для людини й довкілля.

Останнім часом найбільшу увагу привертають полімерні нанокompatитні матеріали, що містять наночастинки металів, таких як срібло, мідь та оксид цинку, завдяки вираженим фармакологічним ефектам, зокрема протимікробному, протівірусному, протизапальному, імуномодулювальному, та високій стабільності в екстремальних умовах [1–3]. Перспективними полімерами для створення антимікробних і протівірусних срібловмісних нанокompatитів є поліелектроліти природного походження, а також полілактид (ПЛА). Полілактид має значні переваги перед іншими полімерами – високу механічну міцність, біосумісність, нетоксичність [4, 5]. ПЛА виробляється з крохмалю, отриманого з біологічних джерел, таких як кукурудза, цукрові буряки, цукрова тростина, пшениця, картопля, рис тощо. Ці переваги дають змогу використовувати ПЛА для біоме-

дицини цілей, пакування харчових продуктів і для технології 3D-друку. У роботі [6] досліджено структуру та властивості нанокompatиту ПЛА-Ag-хітозан (де іони Ag^+ були відновлені бензоксазином), але розмір утворених частинок Ag та його вплив на антимікробні властивості не встановлено. Наші попередні дослідження [7] показали, що термохімічне відновлення іонів Ag^+ за наявності синтетичного полімеру поліетиленіміну (ПЕІ) як відновника та стабілізатора наночастинок відбувалося вище $100\text{ }^\circ\text{C}$ при тривалості нагрівання плівок 5 хв. Нанокompatити продемонстрували антимікробну дію щодо штамів *S. aureus* і *E. coli*, а також протівірусну активність щодо вірусу простого герпесу типу 1, вірусу грипу А та аденовірусу серотипу 2.

Серед способів отримання полімерних срібловмісних нанокompatитів можна виділити диспергувальні методи (подрібнення частинок срібла з подальшим введенням у полімерну матрицю) і методи відновлення іонів Ag^+ безпосередньо в полімерній матриці [8]. Як свідчить аналіз літератури, відновлення іонів Ag^+ у полімерній матриці є одним з перспективних напрямів отримання срібловмісних полімерних нанокompatитів, що дає змогу контролювати розміри й морфологію наночастинок [9].

Найбільш поширеними методами синтезу срібловмісних нанокompatитів є хімічне [10], термохімічне [11], радіаційно-хімічне відновлення [12] та використання рослинних екстрактів для відновлення іонів Ag^+ у полімерних матрицях [13]. При хімічному синтезі використовують такі відновники як гідразин [10], борогідрид натрію [14, 15], диметилформамід [16] та ін. Це простий та ефективний спосіб створення нанокompatитів з контрольованою структурою, проте його проблемою є хімічні домішки, які залишаються у зразках після відновлення. Радіаційно-хімічне відновлення іонів Ag^+ дає змогу отримувати срібловмісні

нанокомпозити без використання хімічних відновників, але потребує використання спеціального обладнання для генерування рентгеновського випромінювання [9, 12]. Ефективним, недорогим і екологічним способом формування срібловмісних нанокомпозитів є термохімічне відновлення іонів срібла [2, 11]. Останнім часом значного поширення набув спосіб отримання срібловмісних нанокомпозитів відновленням іонів Ag^+ за наявності полімерних стабілізаторів з використанням рослинних екстрактів («зелений синтез») [17, 18]. Такі роботи переважно присвячені дослідженню процесів формування наночастинок у розчинах [19–21].

У цій роботі пропонуються сучасні підходи до формування біополімерних наноматеріалів, які відзначаються ефективною антимікробною та противірусною дією, простотою отримання і невисокою вартістю. Виробництво таких композитів є енергозбережним і не завдає шкоди довкіллю. Матеріали можна отримувати у формі порошків, придатних для формування таблеток, пластин тощо, захисних антимікробних плівок і покриттів, розчинів для просочування тканини, бинтів, серветок та інших перев'язувальних засобів, готових виробів медичного, фармацевтичного та мікробіологічного призначення.

Експериментальна частина

Формування матеріалів

Срібловмісні біополімерні порошкові наноматеріали. Для отримання срібловмісних порошкових наноматеріалів спочатку шляхом змішування водних розчинів аніонного й катіонного поліелектролітів були сформовані поліелектролітні комплекси (ПЕК): пектин – хітозан, пектин – катіонний крохмаль, карбоксиметилцелюлоза (КМЦ) – катіонний

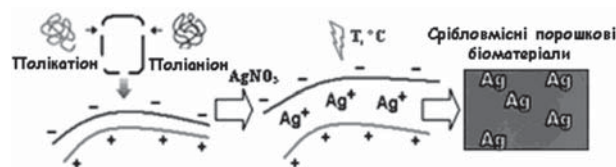


Рис. 1. Схема формування срібловмісних порошкових наноматеріалів

β -циклодекстрин, аніонний крохмаль – катіонний крохмаль (рис. 1).

На наступному етапі були отримані зразки поліелектроліт-металічних комплексів (ПМК) шляхом занурення зразків ПЕК у водні розчини солей срібла.

Виготовлення срібловмісних порошкових наноматеріалів здійснювали шляхом термохімічного відновлення іонів срібла в поліелектроліт-металічних комплексах. Термохімічне відновлення іонів срібла забезпечувалося нагріванням зразків ПМК в інтервалі температур 100–160 °С протягом 30 хв. Вміст Ag в об'ємі зразків варіювався від 0,1 до 20 мас. %.

Плівкові полімерні системи ПЛА–Ag-екстракт зеленого чаю. Наноматеріали виготовляли шляхом відновлення іонів Ag^+ за допомогою екстракту зеленого чаю в суспензії ПЛА–AgPalm при $T = 60 \pm 1$ °С протягом $t = 30$ хв (рис. 2). Отримано полімерні плівки завтовшки 110 мкм за вмісту срібла 1, 2 і 4 мас. %.

Плівкові полімерні системи ПЛА–Ag-хітозан. Відновлення іонів Ag^+ у полімерних плівках ПЛА–AgPalm–хітозан проводили, витримуючи їх за $T = 160$ °С протягом 5 хв (рис. 3). Зразки нагрівали за допомогою прецизійного термостата ВРТ-3. Точність контролю температури становила $\pm 0,5$ °С. Вміст Ag в об'ємі плівок варіювався від 1 до 4 мас. %, їхня товщина становила 110 мкм.

Плівкові полімерні системи ПЛА–Ag, отримані методом напилення. Наступна серія срібловмісних наноматеріалів була виготовлена

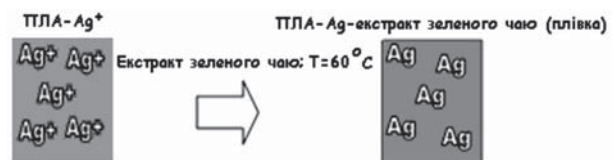


Рис. 2. Схема виготовлення срібловмісних плівкових наноматеріалів з використанням екстракту зеленого чаю



Рис. 3. Схема приготування срібловмісних плівкових матеріалів з використанням хітозану

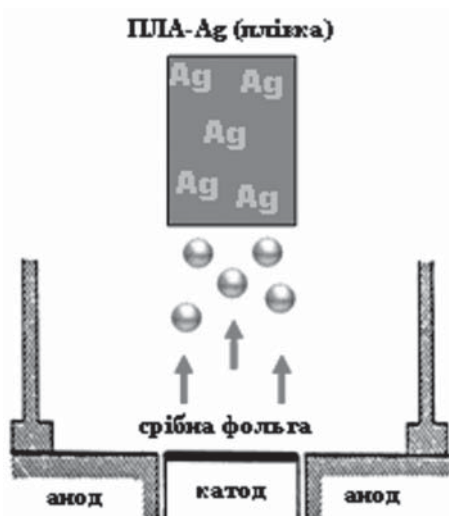


Рис. 4. Схема наповнення наночастинок срібла на поверхню полімерної плівки

шляхом наповнення наночастинок срібла зі срібної фольги на поверхню полілактидної плівки за допомогою пристрою іонного наповнення FC-1100 (рис. 4). Плівку ПЛА завтовшки 50 мкм розміром 40 на 40 мм розміщували на відстані 6 мм над поверхнею срібної фольги діаметром 46 мм. Наповнення проводили у вакуумі (вакуум $1,3 \cdot 10^{-1}$ Па) за параметрів 1,2 кВ і 5 мА протягом 1, 3 і 5 хв. Температура дослідження $T = 20 \pm 2$ °С.

Срібловмісні розчини. Срібловмісні розчини готували шляхом відновлення іонів Ag^+ екстрактами зеленого чаю, прополісу, м'яти та пектину (рис. 5). Концентрація наносрібла у всіх досліджуваних розчинах становила 20 ppm.

Срібловмісні біополімерні вироби, виготовлені за технологією 3D-друку. Для друкування готових виробів медичного, фармацевтичного та мікробіологічного призначення за

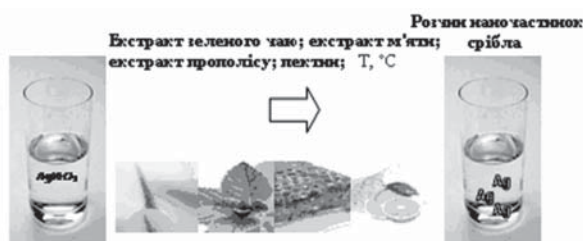


Рис. 5. Схема приготування срібловмісних розчинів

3D-технологією використовували полімерні системи ПЛА-Ag-хітозан та ПЛА-Ag-екстракт зеленого чаю, розглянуті у підрозділі вище. Спочатку виготовляли філаменти діаметром $d=1,75 \pm 0,05$ мм у вихідній фільтрі екструдера шляхом плавлення плівок ПЛА за температури 160 ± 1 °С. Концентрація наночастинок срібла у філаментах була такою ж, як і у вихідних плівках ПЛА. Згодом з отриманого філаменту формували вироби за технологією 3D-друку за температури фільтри друкувальної головки 160 ± 1 °С.

Методи дослідження

Всі отримані матеріали досліджували методом ширококутової рентгенографії на дифрактометрі XRD-7000 (Shimadzu, Японія), рентгенооптична схема якого виконана за методом Дебая-Шеррера на проходження первинного пучка через досліджуваний зразок, з використанням CuK α -випромінювання ($\lambda = 1,54$ Å) і графітового монохроматора.

Морфологію наноматеріалів (розмір, форму та розподіл наночастинок у полімерній матриці) вивчали за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа JEM-1230 (JEOL, Японія).

Антимікробну активність матеріалів досліджували щодо штамів умовно-патогенних мікроорганізмів: грам-позитивні *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, грамнегативні – *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 та дріжджоподібні гриби *Candida albicans* ATCC 885-653.

Противірусну активність зразків вивчали щодо вірусу грипу типу А (ВГА), H1N1, штаму A/FM/1/47, вірусу простого герпесу 1 типу (ВПГ-1), штаму US та аденовірусу людини 2 типу (Ад-2). Цитотоксичну дію зразків досліджували на клітинах MDCK, ВНК-21 та Нер-2.

Результати дослідження та їх обговорення

Відновлення іонів Ag^+ та наявність наночастинок срібла в усіх досліджуваних матеріалах контролювали за допомогою ширококутового розсіювання рентгенівських променів.

Срібловмісні біополімерні порошкові наноматеріали. Аналіз мікрофотографій показав, що середній розмір наночастинок Ag у полімерних

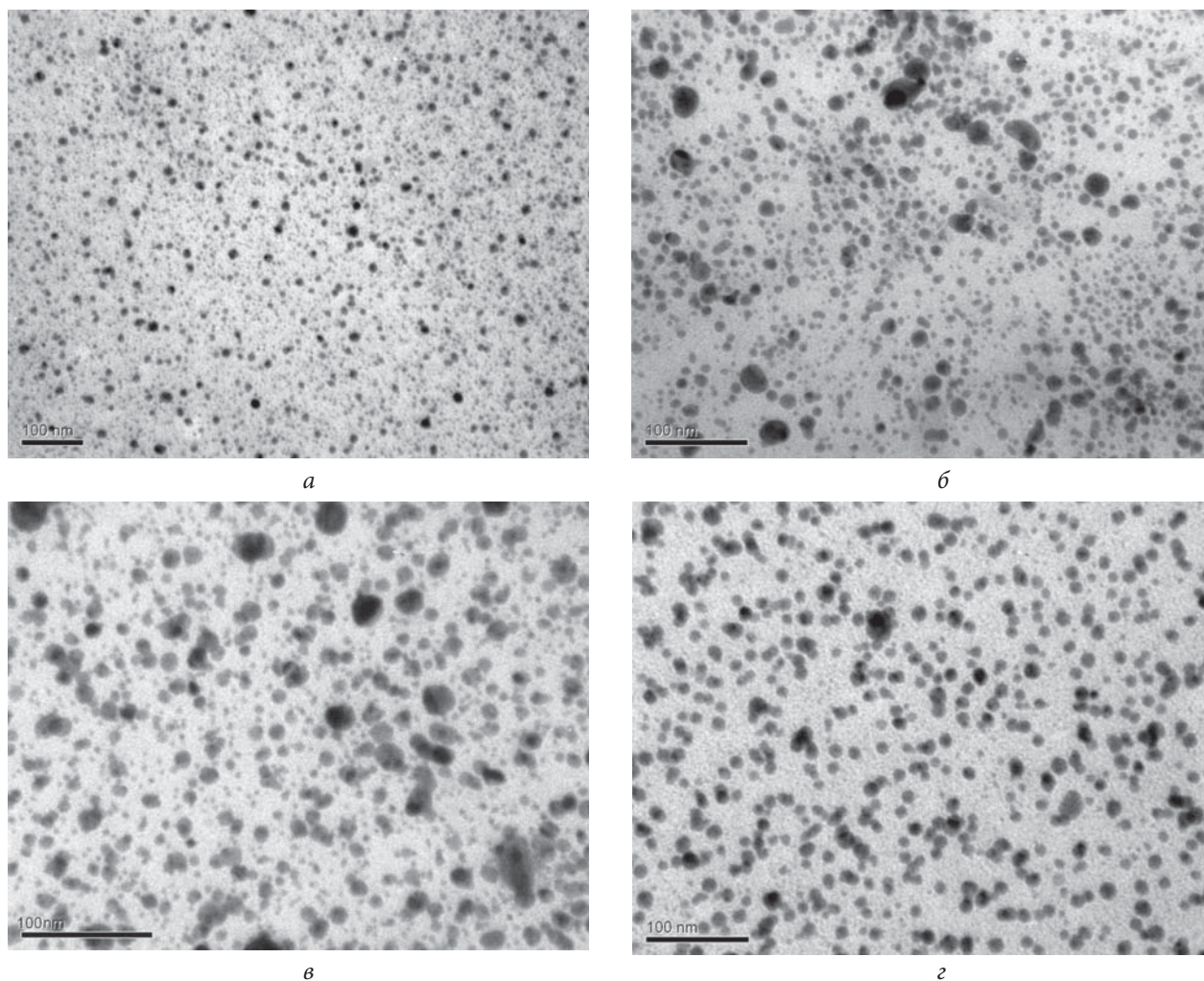


Рис. 6. Мікрофотографії TEM нанокompatивів пектин–Ag–хітозан (а), пектин–Ag–катіонний крохмаль (б), КМЦ–Ag–катіонний β -ЦД (в), аніонний крохмаль–Ag–катіонний крохмаль (г), отриманих термохімічним відновленням іонів Ag^+ у ПМК за $T = 150^\circ\text{C}$ протягом 30 хв

матрицях пектин–хітозан, пектин – катіонний крохмаль, КМЦ – катіонний β -ЦД, аніонний крохмаль – катіонний крохмаль становить 4,7; 5,3; 6,3 та 9 нм відповідно (рис. 6).

Встановлено, що антимікробна активність срібловмісних порошкових наноматеріалів залежить від розміру наночастинок, які утворюються при відновленні іонів срібла. Так, найвищу антимікробну активність демонструють нанокompatиві пектин–Ag–хітозан (середній розмір наночастинок 4,7 нм), а найнижчу – зразок аніонний крохмаль–Ag–катіонний крохмаль (середній розмір наночастинок 9 нм). Для зразків нанокompatивів пектин–Ag–хітозан діаметр зони інгібування *S. aureus* становив $19,7 \pm 0,9$ мм, а *E. coli* – $32,6 \pm 1,2$ мм. Зона інгібування навколо зразків нанокompatивів

аніонний крохмаль–Ag–катіонний крохмаль становила $17,0 \pm 0,7$ мм для *S. aureus* та $22,6 \pm 0,8$ мм для *E. coli*.

Як показано на рис. 7, нанокompatиві на основі пектину та хітозану за вмісту наносрібла $\phi = 20$ мас. % чинять високу віруліцидну дію.

Інфекційний титр вірусу грипу становить $3,18 \log_{10} \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$, тоді як контрольний титр вірусу становив $6,85 \log_{10} \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$ (ТЦД₅₀ – тканинна цитопатогенна доза вірусу, що спричиняє ураження 50 % моношару клітин). Слід зазначити, що після інкубації з порошковими наноматеріалами, що містять $\phi = 5$ мас. % і $\phi = 10$ мас. % наносрібла, спостерігалася незначна стимуляція розвитку цитопатичної дії (ЦПД) вірусу грипу ($7,34 \log_{10} \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$ і $7,12 \log_{10} \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$).

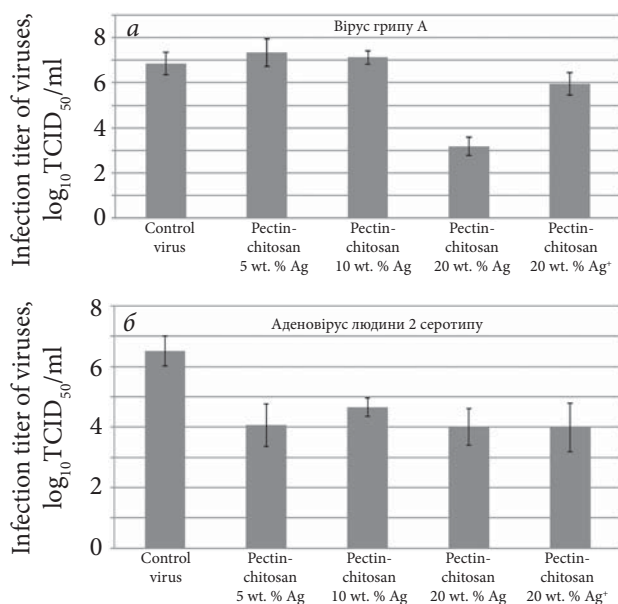


Рис. 7. Вплив Ag-вмісних наноконкомпозитів на інфекційний титр вірусу грипу (а) та аденовірусу людини 2 серотипу (б)

Наноконкомпозити пектин–Ag–хітозан також мають високу віруліцидну активність щодо аденовірусу людини серотипу 2. Усі тестові зразки інгібували ЦПД на 2 або більше \log_{10} ТЦД₅₀/мл. Так, інфекційний титр вірусу після інкубації з наноконкомпозитами коливався від $3,98 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл до $4,65 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл,

тоді як контрольний показник вірусу становив $6,51 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл.

Плівкові полімерні системи ПЛА–Ag–екстракт зеленого чаю. При формуванні срібловмісних плівкових наноматеріалів з використанням екстракту зеленого чаю середній розмір наночастинок становить 3,7 нм (рис. 8).

Як показали результати мікробіологічного дослідження (табл. 1), наноконкомпозити ПЛА – 4 мас.% Ag відзначаються високою антимікробною активністю щодо мікроорганізмів *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та *C. albicans*. Діаметр зон затримки росту становив $11,9 \pm 0,8$ мм для *S. aureus*, $13,1 \pm 1,4$ мм для *E. coli*, $14,9 \pm 1,2$ мм для *P. aeruginosa* і $10,6 \pm 0,7$ мм для *C. albicans*.

Водночас виявлено, що наноматеріали, синтезовані з використанням екстракту зеленого чаю, чинять слабку противірусну дію.

Плівкові полімерні системи ПЛА–Ag–хітозан. Аналіз мікрофотографій показав, що середній розмір наночастинок Ag у полімерній матриці ПЛА–Ag–хітозан дорівнює 4,2 нм. Розподіл наночастинок у полімерній матриці є достатньо рівномірним (рис. 9).

Результати дослідження антимікробної активності наноматеріалів ПЛА–Ag–хітозан продемонстрували високу ефективність щодо мікроорганізмів *S. aureus* та *E. coli* (рис. 10). Виявлено, що антимікробна дія зразків зростає зі збільшенням вмісту наночастинок. Найвищу активність виявили наноматеріали за вмісту

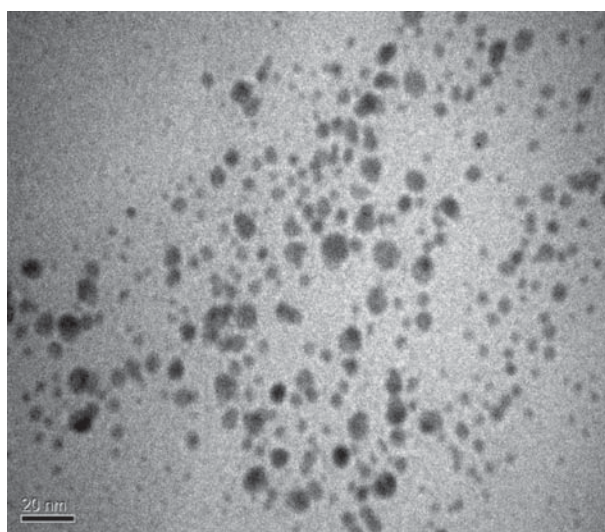
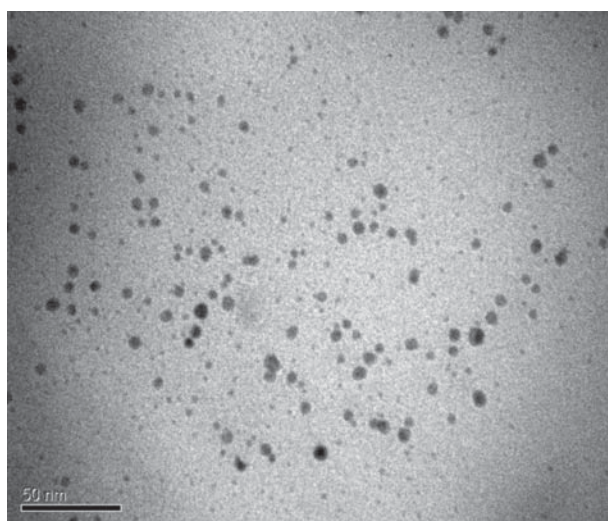


Рис. 8. Мікрофотографії ТЕМ наноконкомпозиту ПЛА–4 мас.% Ag

Таблиця 1. Антимікробна активність срібловмісних нанокompatитів

Полімерна система	Діаметр зон затримки росту, мм			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
ПЛА	0	0	0	0
ПЛА – екстракт чаю	0	0	0	0
ПЛА – 1 мас.% Ag	10,7±0,4	11,0±0,5	0	0
ПЛА – 2 мас.% Ag	11,0±0,6	11,8±1,1	10,9±0,6	0
ПЛА – 4 мас.% Ag	11,9±0,8	13,1±1,4	14,9±1,2	10,6±0,7

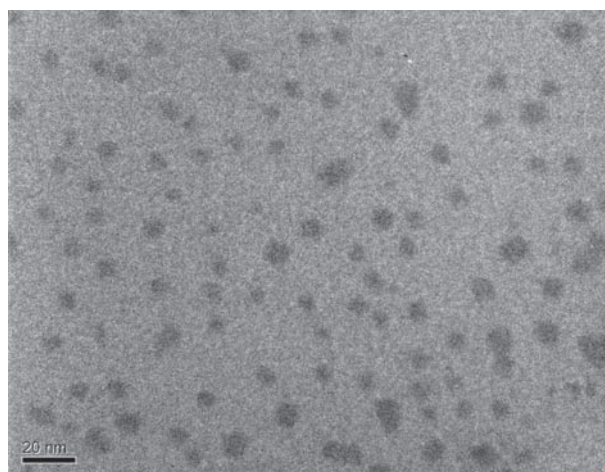
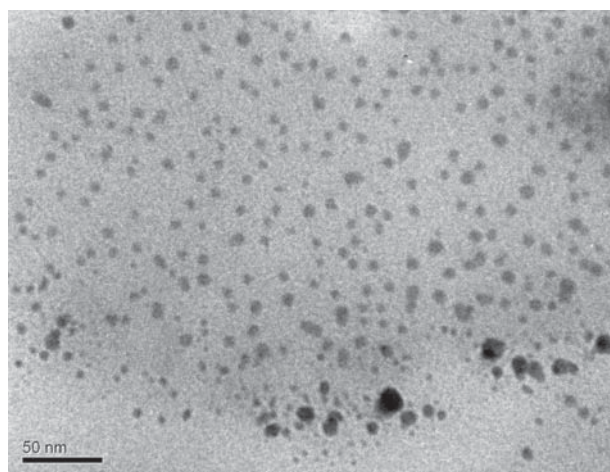


Рис. 9. Мікрофотографії ТЕМ нанокompatиту ПЛА – 4 мас. % Ag – хітозан, сформованого за $T = 160\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 5 хв

срібла 4 мас. %. Для зразка ПЛА–4 мас.% Ag–хітозан діаметр зони затримки росту *S. aureus* становив $25,8\pm 1,2$ мм, а *E. coli* – $25,0\pm 1,2$ мм (табл. 2).

Як показано в табл. 3, наноматеріали ПЛА – 4 мас.% Ag – хітозан проявляють високу противірусну активність і повністю пригнічують цитопатичну дію вірусу герпесу 1 типу

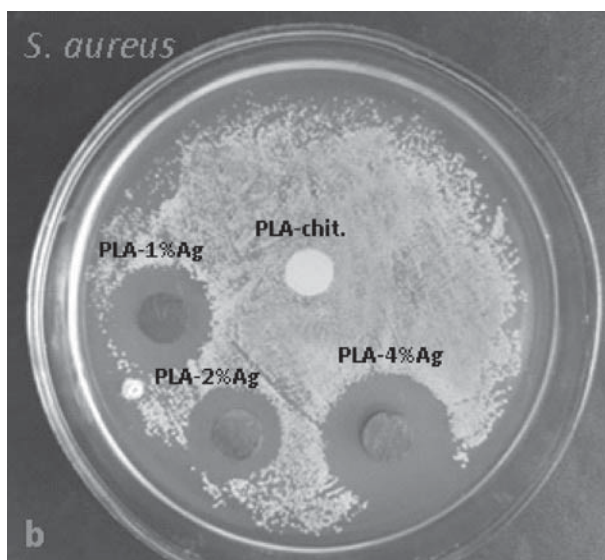
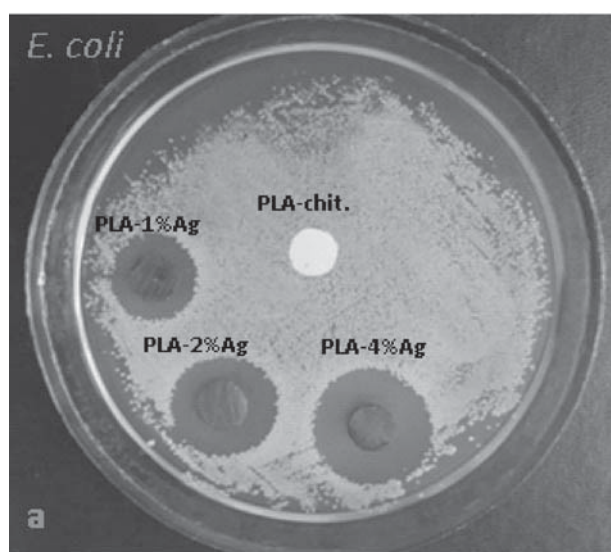


Рис. 10. Антимікробна активність зразка ПЛА–Ag–хітозан

Таблиця 2. Антимікробна активність срібловмісних наноматеріалів

Полімерна система	Діаметр зон затримки росту, мм	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
ПЛА	0	0
ПЛА-хітозан	0	0
ПЛА – 1 мас.%Ag – хітозан	20,5±1,0	17,0±0,8
ПЛА – 2 мас.%Ag – хітозан	20,5±1,1	21,6±1,1
ПЛА – 4 мас.%Ag – хітозан	25,8±1,2	25,0±1,2

Таблиця 3. Противірусна активність зразків

Полімерна система	Інгібування інфекційного титру, \log_{10} ТЦД ₅₀ /мл		
	Вірус грипу	Вірус герпесу 1 типу	Аденовірус
ПЛА	0,30±0,03	0,03±0,02	0,12±0,06
ПЛА–1 мас.%Ag–хітозан	0	0,11±0,04	0
ПЛА–2 мас.%Ag–хітозан	0,40±0,05	0,02±0,05	0,20±0,02
ПЛА–4 мас.%Ag–хітозан	0,90±0,07	5,12±0,50	1,01±0,01

на $5,12 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл. Вони інгібують розвиток ЦПД вірусу грипу та аденовірусу на $0,60 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл і $1,07 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл (відносна противірусна активність). Слід підкреслити, що зниження вмісту срібла в нанокompозитах призводить до втрати противірусної активності.

Плівкові полімерні системи ПЛА-Ag, отримані методом напилення. Аналіз мікрофотографій плівок показав, що при напиленні срібла на поверхню біополімеру полілактиду утворюється шар металу завтовшки ~100 нм (за час напилення 5 хв). Середній розмір наночастинок сріб-

ла становить 5,9 нм, частинки срібла утворюють невеликі агрегати (рис. 11).

Дослідження антимікробної активності зразків ПЛА-Ag, отриманих за різного часу напилення срібла, показали їхню ефективність щодо тест-культур *S. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa*. Діаметр зон затримки росту збільшувався з подовженням тривалості напилення (рис. 12, табл. 4).

Було виявлено антимікробну активність зразків ПЛА-Ag із часом напилення 3 та 5 хв щодо мікроорганізмів *E. coli* та *P. aeruginosa*. Водночас встановлено, що всі досліджувані зразки

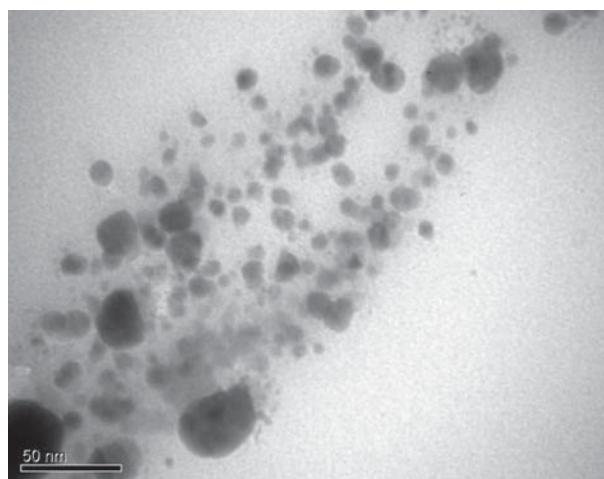
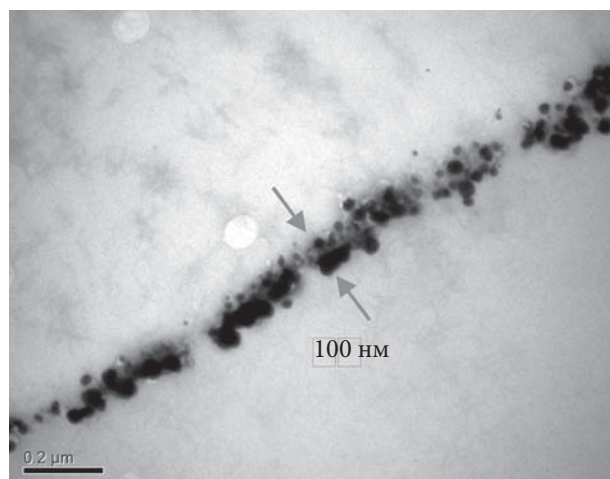


Рис. 11. Мікрофотографії TEM шару срібла на поверхні біополімеру ПЛА, отриманого методом напилення протягом 5 хв

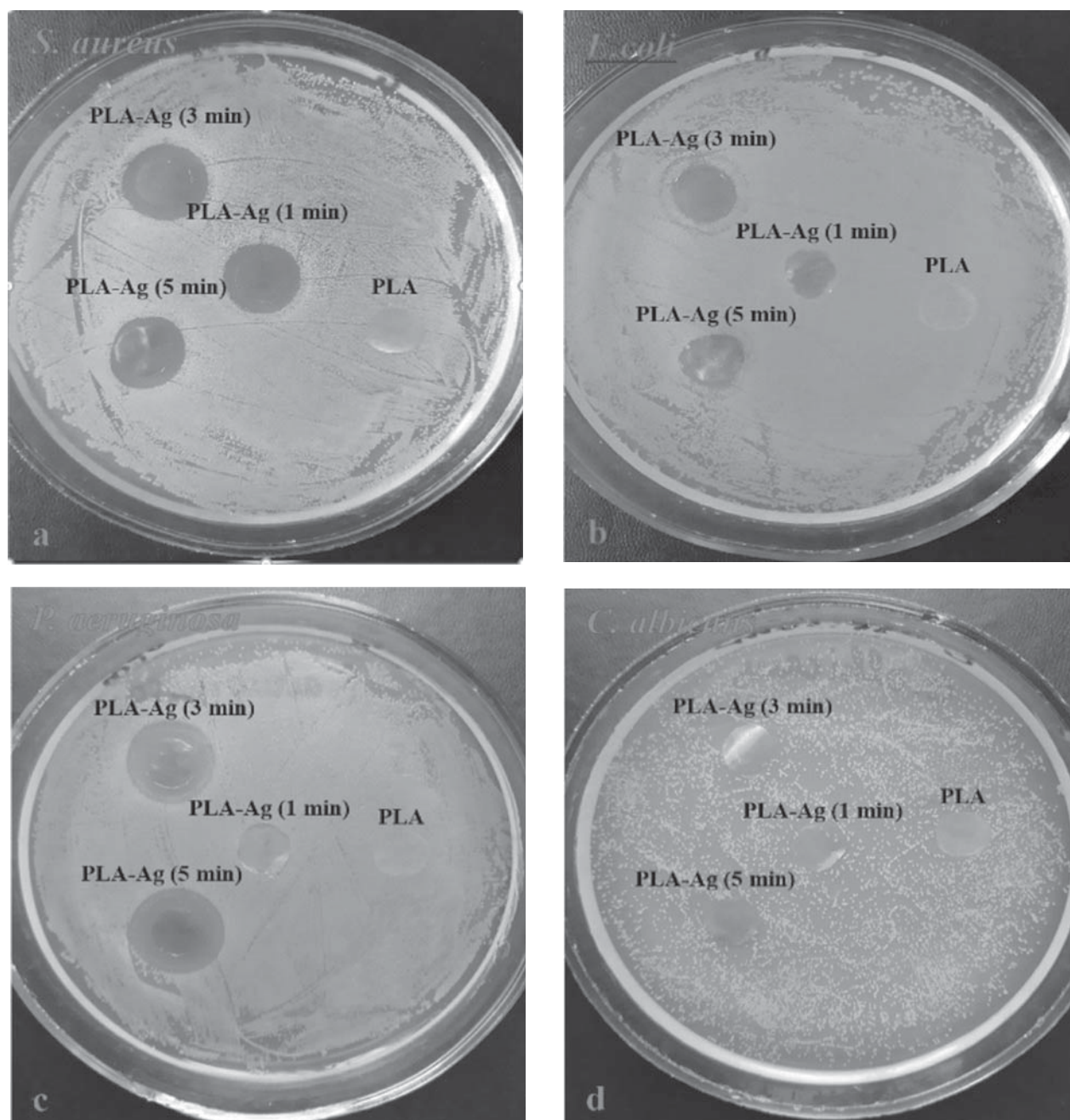


Рис. 12. Антимікробна активність зразків ПЛА–Аg, отриманих за різного часу напilenня

не чинять антимікробної дії проти грибового збудника *C. albicans*. Зони затримки росту тест-культур *C. albicans* навколо цих зразків не зафіксовано (рис. 12).

Таблиця 4. Антимікробна активність срібловмісних нанокompозитів

Полімерна система	Діаметр зон затримки росту, мм			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
ПЛА	0	0	0	0
ПЛА-Аg (1 хв)	13,3±0,5	0	0	0
ПЛА-Аg (3 хв)	14,5±0,6	10,7±0,4	16,1±0,7	0
ПЛА-Аg (5 хв)	15,1±0,8	11,7±0,5	17,2±1,1	0

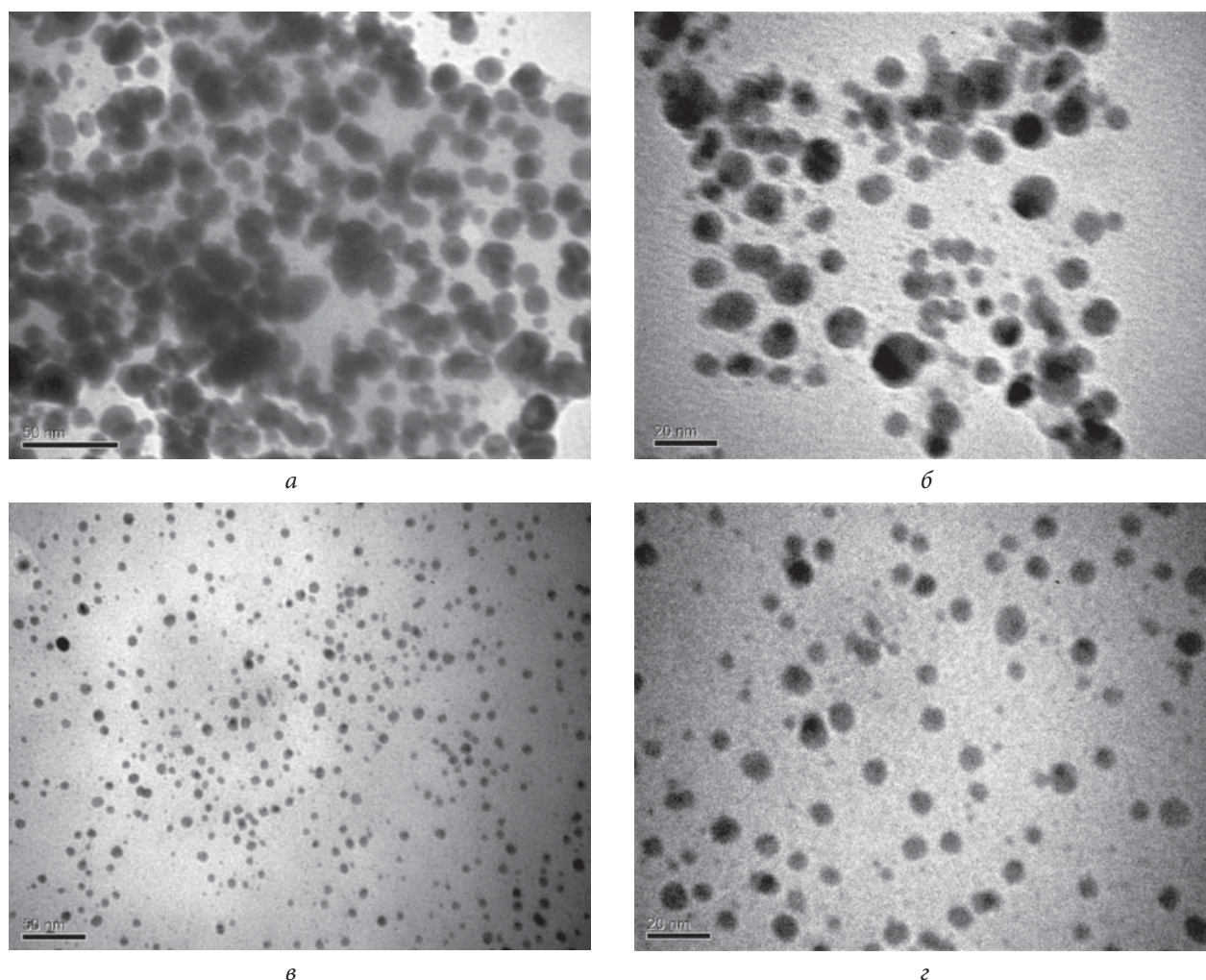


Рис. 13. Мікрофотографії TEM срібловмісних розчинів, отриманих з використанням прополісу (а, б) і пектину (в, г)

Встановлено, що наноматеріали ПЛА–Ag, отримані за найбільшої тривалості наплення (5 хв), були найефективнішими проти вірусу грипу та знижували інфекційний титр вірусу на $0,79 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл порівняно з контрольним вірусом. Для вірусу герпесу зразки ПЛА–Ag, отримані за різного часу наплення, знижували інфекційний титр з $0,19 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл до $0,57 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл. Отримані результати чітко

показали, що подовження тривалості наплення більше пригнічує титр вірусу, що забезпечує зростання ефективності плівки. Для аденовірусу людини серотипу 2 зниження інфекційного титру коливалося від $0,17 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл до $0,35 \log_{10}$ ТЦД₅₀/мл.

Срібловмісні розчини. Аналіз мікрофотографій TEM показав, що середній розмір наночастинок у розчинах, де використовували

Таблиця 5. Антимікробна активність срібловмісних розчинів

Полімерна система	Діаметр зон затримки росту, мм			
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Ag (екстракт зеленого чаю)	15,3±0,5	0	12,9±0,3	13,2±0,3
Ag (екстракт м'яти)	15,2±0,6	0	13,3±0,4	13,6±0,4
Ag (екстракт прополісу)	13,4±0,4	12,7±0,5	11,4±0,3	13,5±0,5
Ag (пектин)	15,7±0,6	0	16,0±0,6	19,1±1,1

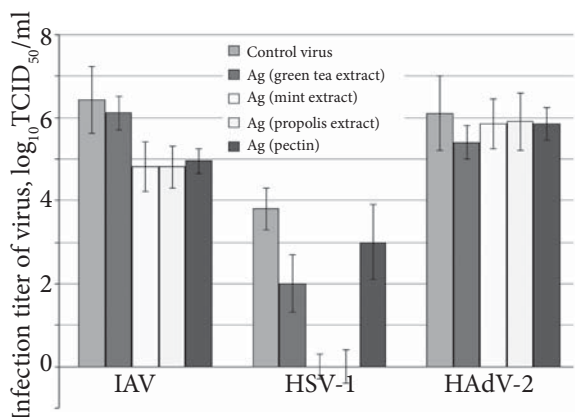


Рис. 14. Противірусна активність срібловмісних розчинів щодо вірусу грипу, вірусу простого герпесу та аденовірусу

прополіс і пектин, становив 4,1 та 6,1 нм відповідно (рис. 13).

Дослідження антимікробних властивостей срібловмісних розчинів показало, що найбільш ефективними є розчини, отримані з прополісом і пектином (табл. 5). Для розчину пектин–Ag діаметр зони затримки росту *S. aureus* становив 15,7±0,6 мм, *P. aeruginosa* – 16,0±0,6 мм, *C. albicans* – 19,1±1,1 мм. Для розчину прополісу–Ag діаметр зон затримки росту *S. aureus* становив 13,4±0,4 мм, *P. aeruginosa* – 11,4±0,3 мм, *C. albicans* – 13,5±0,5 мм.

Як показали результати дослідження, срібловмісні водні системи демонструють різну противірусну активність щодо культур, використовуваних у цьому експерименті (рис. 14). Срібловмісні розчини, отримані шляхом відновлення іонів срібла екстрактами м'яти, прополісу й пектином, знижували інфекційний титр вірусу грипу на 1,48log₁₀ ТЦД₅₀/мл – 1,62log₁₀ ТЦД₅₀/мл. Срібловмісні розчини з екстрактами м'яти та прополісу повністю пригнічували розмноження вірусу простого герпесу та знижували титр на 3,78log₁₀ ТЦД₅₀/мл порівняно з контролем. Розчин з екстрактом зеленого чаю знижував інфекційний титр вірусу простого герпесу на 1,78log₁₀ ТЦД₅₀/мл, а роз-

чин з пектином – лише на 0,79log₁₀ ТЦД₅₀/мл. Зниження титру вірусу грипу та вірусу герпесу 1 типу більш ніж на 2log₁₀ ТЦД₅₀/мл свідчить про високу противірусну активність срібловмісних розчинів. На моделі аденовірусу людини серотипу 2 відзначено зниження інфекційного титру на 0,6log₁₀ ТЦД₅₀/мл для срібловмісного розчину з екстрактом зеленого чаю, натомість інші зразки не проявили противірусної активності. Аналіз отриманих результатів привів до висновку, що срібловмісні розчини ефективніші щодо вірусів з оболонкою, ніж щодо безоболонкових.

Срібловмісні біополімерні вироби, виготовлені за технологією 3D-друку. Для друкування готових виробів медичного, фармацевтичного та мікробіологічного призначення за 3D-технологією використовували полімерні системи ПЛА–Ag–хітозан і ПЛА–Ag–екстракт зеленого чаю, розглянуті у підрозділі вище. Отримані біополімерні вироби чинили помірну антимікробну та противірусну дію.

Встановлено, що всі досліджувані матеріали не проявляли цитотоксичного ефекту щодо клітин MDCK, ВНК-21 і Нер-2.

Таким чином, були розроблені різні форми срібловмісних полімерних біоматеріалів (порошки, плівки, розчини, вироби (за технологією 3D друку)) з наночастинками розміром меншим 10 нм. Методом ширококутової рентгенографії було підтверджено наявність металічного срібла у всіх системах. Розроблені матеріали демонструють ефективну протимікробну дію щодо мікроорганізмів *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* та противірусну дію щодо вірусу грипу А, вірусу простого герпесу 1 та аденовірусу серотипу. Виявлено, що нанокompозити з наночастинками срібла меншого розміру виявляли вищу протимікробну та противірусну дію. Усі досліджувані срібловмісні матеріали не чинили цитотоксичної дії на клітини MDCK, ВНК-21 і Нер-2.

REFERENCES

- Demchenko V., Rybalchenko N., Zahorodnia S., Naumenko K., Riabov S., Kobylinskyi S., Vashchuk A., Mamunya Ye., Iurzhenko M., Demchenko O., Adamus G., Kowalczyk M. Preparation, Characterization, Antimicrobial and Antiviral Properties of Silver-containing Nanocomposites based on Polylactic Acid–Chitosan. *ACS Applied Bio Materials*, 2022, 5: 2576 – 2585. <https://doi.org/10.1021/acsabm.2c00034>.
- Demchenko V., Riabov S., Sinelnikov S., Radchenko O., Kobylinskyi S., Rybalchenko N. Novel approach to synthesis of silver nanoparticles in interpolyelectrolyte complexes based on pectin, chitosan, starch and their derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 242:

- 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116431>.
3. Abbas M., Buntinx M., Deforme W., Peeters R. (Bio)polymer/ZnO Nanocomposites for Packaging Applications: A Review of Gas Barrier and Mechanical Properties. *Nanomaterials*, 2019, **9**: 1494. <https://doi.org/10.3390/nano9101494>.
 4. Urayama H., Kanamori T., Kimura Y. Properties and biodegradability of polymer blends of poly (L-lactide) with different optical purity of the lactate units. *Macromolecular Materials and Engineering*, 2002, **287**: 116–121. [https://doi.org/10.1002/1439-2054\(20020201\)287:2<116::AID-MAME116>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1439-2054(20020201)287:2<116::AID-MAME116>3.0.CO;2-Z).
 5. Shameli K., Ahmad M.B., Yunus W.M.Z.W., Ibrahim N.A., Rahman R.A., Jokar M., Darroudi M. Silver/poly (lactic acid) nanocomposites: preparation, characterization, and antibacterial activity. *International Journal Nanomedicine*, 2010, **5**: 573–579. <https://doi.org/10.2147/IJN.S12007>.
 6. Nootsuwan N., Sukthavorn K., Wattanathana W., Jongrungruangchok S., Veranitisagul C., Koonsaeng N., Laobuthee A. Development of Antimicrobial Hybrid Materials from Polylactic Acid and Nano-silver Coated Chitosan. *Oriental Journal of Chemistry*, 2018, **34**: 683–692. <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/340210>.
 7. Demchenko V., Kobylinskyi S., Iurzenko M., Riabov S., Vashchuk A., Rybalchenko N., Zahorodnia S., Naumenko K., Demchenko O., Adamus G., Kowalczyk M. Nanocomposites based on polylactide and silver nanoparticles and their antimicrobial and antiviral applications. *Reactive and Functional Polymers*, 2022, **170**: 105096. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105096>.
 8. Zezin A.A. Synthesis of metal-polymer complexes and functional nanostructures in films and coatings of interpolyelectrolyte complexes. *Polymer Science*, 2019, **A61**: 754–764. <https://doi.org/10.1134/S0965545X19060154>.
 9. Zezin A.A. Synthesis of hybrid materials in polyelectrolyte matrixes: control over sizes and spatial organization of metallic nanostructures. *Polymer Science*, 2016, **C 58**: 118–130. <https://doi.org/10.1134/S1811238216010136>.
 10. Roto R., Rasydta H.P., Suratman A., Aprilita N.H. Effect of reducing agents on physical and chemical properties of silver nanoparticles. *Indonesian Journal of Chemistry*, 2018, **18**: 614–620. <https://doi.org/10.22146/ijc.26907>.
 11. Demchenko V.L., Kobylinskyi S.M., Riabov S.V., Shtompel V.I., Iurzenko M.V., Rybalchenko N.P. Novel approach to formation of silver-containing nanocomposites by thermochemical reduction of Ag⁺ ions in interpolyelectrolyte-metal complexes. *Applied Nanoscience*, 2020, **10**: 5409–5419. <https://doi.org/10.1007/s13204-020-01368-0>.
 12. Zezin A.A., Klimov D.I., Zezina E.A., Mkrtchyan K.V., Feldman V.I. Controlled radiation-chemical synthesis of metal polymer nanocomposites in the films of interpolyelectrolyte complexes: Principles, prospects and implications. *Radiation Physics and Chemistry*, 2020, **169**: 108076. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2018.11.030>.
 13. Alnairat N., Dalo M.A., Abu-Zurayk R., Mallouh S.A., Odeh F., Bawab A.A. Green Synthesis of Silver Nanoparticles as an Effective Antibiofouling Material for Polyvinylidene Fluoride (PVDF) Ultrafiltration Membrane. *Polymers*, 2021, **13**: 3683. <https://doi.org/10.3390/polym13213683>.
 14. Lokanathan A.R., Uddin K.M.A., Rojas O.J., Laine J. Cellulose Nanocrystal-Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles: Role of Sulfate Groups in Nucleation Phenomena. *Biomacromolecules*, 2014, **15**: 373–379. <https://doi.org/10.1021/bm401613h>.
 15. Sobczak-Kupiec A., Malina D., Wzorek Z., Zimowska M. Influence of silver nitrate concentration on the properties of silver nanoparticles. *Micro & Nano Letters*, 2011, **6**: 656–660. <https://doi.org/10.1049/mnl.2011.0152>.
 16. Kaewvilai A., Wattanathana W., Jongrungruangchok S., Veranitisagul S., Koonsaeng N., Laobuthee A. 3,4-Dihydro-1,3,2H-benzoxazines: Novel reducing agents through one electron donation mechanism and their application as the formation of nano-metallic silver coating. *Materials Chemistry and Physics*, 2015, **167**: 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2015.10.011>.
 17. Behravan M., Panahi A.H., Naghizadeh A., Ziaee M., Mahdavi R., Mirzapour A. Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Berberis vulgaris* leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, **124**: 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.101>.
 18. Yousaf H., Mehmood A., Ahmad K.S., Raffi M. Green synthesis of silver nanoparticles and their applications as an alternative antibacterial and antioxidant agents. *Materials Science and Engineering: C*, 2020, **112**: 110901. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110901>.
 19. Flieger J., Franus W., Panek R., Szymańska-Chargot M., Flieger W., Flieger M., Kołodziej P. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Natural Extracts with Proven Antioxidant Activity. *Molecules*, 2021, **26**: 4986. <https://doi.org/10.3390/molecules26164986>.
 20. Abd-Elhady H.M., Ashor M.A., Hazem A., Saleh F.M., Selim S., Nahhas N. El, Abdel-Hafez S.H., Sayed S., Hassan E.A. Biosynthesis and Characterization of Extracellular Silver Nanoparticles from *Streptomyces aizuneusis*: Antimicrobial, Anti Larval, and Anticancer Activities. *Molecules*, 2022, **27**: 212. <https://doi.org/10.3390/molecules27010212>.
 21. Rizwana H., Alwhibi M.S., Al-Judaie R.A., Aldehaish H.A., Alsaggabi N.S. Sunlight-Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using the Berries of *Ribes rubrum* (Red Currants): Characterisation and Evaluation of Their Antifungal and Antibacterial Activities. *Molecules*, 2022, **27**: 2186. <https://doi.org/10.3390/molecules27072186>.

Received 30.01.2023

V.L. Demchenko,

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivs'ke shose, Kyiv, 02155, Ukraine

e-mail: dvaleriy1@ukr.net

S.V. Riabov,

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivs'ke shose, Kyiv, 02155, Ukraine

e-mail: sergii.riabov@gmail.com

S.M. Kobylinskyi,

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivs'ke shose, Kyiv, 02155, Ukraine

e-mail: kobylinskiy@ukr.net

L.A. Goncharenko,

Institute of Macromolecular Chemistry NAS of Ukraine, 48, Kharkivs'ke shose, Kyiv, 02155, Ukraine

M.V. Iurzhenko,

E.O. Paton Electric Welding Institute NAS of Ukraine, 11, Kazimir Malevich str., Kyiv, 03150, Ukraine

e-mail: 4chewip@gmail.com

N.P. Rybalchenko,

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine, 154, Akademika Zabolotny str., Kyiv, 03143, Ukraine

e-mail: nrybalchenko@ukr.net

K.S. Naumenko,

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine, 154, Akademika Zabolotny str., Kyiv, 03143, Ukraine

e-mail: krystyn.naumenko@gmail.com

S.D. Zahorodnia,

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine, 154, Akademika Zabolotny str., Kyiv, 03143, Ukraine

e-mail: svetazagorodnya@ukr.net

SILVER-CONTAINING NANOMATERIALS: PREPARATION, MORPHOLOGY, ANTIMICROBIAL AND ANTIVIRAL ACTIVITY

Infectious diseases caused by viruses and microorganisms continue to be one of the biggest health problems worldwide, despite the rapid progress in the creation of drugs and the development of pharmaceutical technologies. The risk of complications and the spread of infections in society remains high. Scientific research and the fight against viral infections, in particular with a large group of respiratory diseases caused by viruses, such as influenza viruses, parainfluenza viruses, respiratory sensitivities, adenoviruses, rhinoviruses, coronaviruses, etc., occupy an important place in modern medicine. Due to the nature, characteristics and biological and physical properties of viruses, the issues of combating them are very acute. Microorganisms resistant to many antimicrobial agents are also developing (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, etc.). Therefore, today there is an urgent need for new materials with a higher antiviral and bactericidal effect, less toxicity for humans and the environment (ecology, medicine and food industry). Silver-containing biomaterials in various forms (powders, films, solutions, products formed by 3D printing technology) with effective antimicrobial and antiviral effects have been developed. The materials are made on the basis of polyelectrolyte complexes of polysaccharides (pectin – chitosan, pectin – cationic starch, carboxymethylcellulose – cationic β -cyclodextrin, anionic starch – cationic starch) and polylactide biopolymer. Silver nanoparticles in the composition of composites were formed in environmentally friendly ways: by reduction silver ions with extracts of natural substances (green tea, mint, propolis, pectin), by methods of thermochemical reduction or cathodic sputtering of silver nanoparticles from silver foil onto the surface of the film. The structure, morphology, obtained materials and their antimicrobial, antiviral and cytotoxic properties were studied. The relationship between the structure and morphology and the protective properties of the obtained materials was studied.

Keywords: biomaterials, silver nanoparticles, structure, morphology, antimicrobial and antiviral properties.