

УДК 57.044

РАЗРАБОТКА ЧЕРНИЛ ДЛЯ 3D-ПЕЧАТИ АНТИМИКРОБНЫХ ПОВЯЗОК НА ОСНОВЕ НАНОКРИСТАЛЛОВ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ И АМИНОКИСЛОТНЫХ ИОННЫХ ЖИДКОСТЕЙ.

Добряков М.Ю. (Федеральное Государственное Автономное Образовательное Учреждение Высшего Образования

«Национальный исследовательский университет ИТМО»)

Научный руководитель – к.б.н. Кошель Е.И.

(Федеральное Государственное Автономное Образовательное Учреждение Высшего Образования

«Национальный исследовательский университет ИТМО»)

Аннотация. В данной работе мы сообщаем о разработке материала, пригодного для 3D-печати повязок для ран, обладающими антибактериальными свойствами в отношении различных штаммов микроорганизмов и низким уровнем цитотоксичности.

Введение. Рост численности населения и неосмотрительное применение антибиотиков создают риск пандемии с распространением устойчивых к антибиотикам бактерий. Сейчас между открытием нового антибиотика и микроорганизмами, устойчивыми к нему, проходит всего несколько лет. Травмы, ожоги или язвы нарушают защитный механизм кожи и обеспечивают путь для проникновения инфекционных патогенов. Повязки на раны являются важной частью медицинского и фармацевтического лечения ран, и, хотя их основная роль заключается в поддержании влажности раны, повязки на раны, улучшающие процесс заживления, а также снижающие стоимость лечения, пользуются большим спросом. Антибактериальные повязки на раны снижают риск инфицирования, что приводит к улучшению процесса заживления и менее частой смене повязок.

Потенциально хорошим материалом является нанокристаллическая целлюлоза в паре с ионными жидкостями (ИЖ/ИЛ), благодаря которым происходит гелеобразование и появляются антибактериальные свойства и возможность трансдермальной доставки лекарств. Ионные жидкости, по своей сути - обычные легкоплавкие соли, которые находятся в жидком состоянии при температуре, близкой к комнатной, и состоят только из ионов или короткоживущих ионных пар. Впервые они были исследованы только в конце прошлого века. Нанокристаллы целлюлозы представляют собой кристаллическое производное целлюлозы, полученное путем кислотного гидролиза целлюлозы для удаления аморфных сегментов серной кислотой при контролируемом времени и температуре. В настоящей работе мы сообщаем об антибактериальном гидрогеле, полученном путем гелеобразования нанокристаллов целлюлозы с аминокислотными жидкостями в составе, с возможностью 3д печати повязок прямо на ране для создания оптимального паттерна для заживления.

Основная часть. Первым делом была проведена работа по изучению антибактериальной активности ИЖ и их цитотоксичности. Для определения влияния на бактериальные культуры использовался диско-диффузионный метод, а также были определены значения МИК (минимальная ингибирующая концентрация) и МБК (минимальная бактерицидная концентрация). Уже на этом этапе можно сделать выводы о влиянии химического строения на антибактериальные свойства: наибольшее влияние имеет длина алкильного «хвоста», чем он длиннее, тем ярче выражаются антибактериальные свойства. Лучшие же показатели подавления роста микроорганизмов показывают ИЖ с серином и лизином. Стоит также отметить, что все ИЖ показали в данных тестах антибактериальную активность выше, чем их химические предшественники в лице галогенидов.

Если мы говорим о практическом применении, важным показателем является уровень цитотоксичности наших веществ в отношении клинически значимых клеточных линий. Мы проводили испытания на эпителиальной клеточной линии VERO и фибробластах. Наблюдается относительно низкий уровень цитотоксичности, а также прямая корреляция с антибактериальными свойствами. По итогу, была выбрана ионная жидкость [C₁₂mim] [Lys] с

финальной концентрацией 40 микрограмм на мл, удовлетворяющая нашим потребностям по показателям цитотоксичности и антибактериальным свойствам. Однако, данная концентрация не является минимально ингибирующей или минимально бактерицидной для некоторых микроорганизмов, поэтому был проведен дополнительный эксперимент для проверки эффективности данной концентрации в борьбе с бактериальной инфекцией в хронической ране. Для этого 8 различных штаммов бактерий, включая штаммы с полирезистентностью, культивировали в течение дня в среде, содержащей 40 мкг/мл [C₁₂mim] [Lys], после чего подсчитывали КОЕ и сравнивали с контролем. Считается, что если количество микроорганизмов превышает 10⁵, то это клинически значимая инфекция. Таким образом, [C₁₂mim] [Lys] с рабочей концентрацией 40 мкг/мл смог подавить развитие всех микроорганизмов ниже уровня, который может препятствовать заживлению раны. КОЕ в контрольных образцах после одного дня культивирования находились на уровне 10¹⁰-10¹¹, в то время как [C₁₂mim] [Lys] подавлял рост до значений от 10² до 7*10³ КОЕ.

Чтобы подтвердить, что полученный гель сохраняет свои антибактериальные свойства, был проведен метод дискового диффузионного тестирования. В качестве положительного контроля использовали бумажные диски, пропитанные водным раствором ИЖ с концентрацией, идентичной концентрации, находящейся в образцах геля, а в качестве отрицательного контроля был взят гидрогель из нанокристаллической целлюлозы, в гелеобразовании которого участвовали только ионы NaCl. В результате было установлено, что гель, не несущий в своем составе ИЖ, не обладает никакими антибактериальными свойствами. Целевой же гель, в свою очередь, показал результаты, максимально приближенные к тем результатам, которые показывал ИЖ, нанесенный на бумажный диск. Полученные данные свидетельствуют о том, что антибактериальные свойства сохранились после формирования геля. Для подтверждения безопасности геля для модельных организмов и человека мы провели совместное культивирование чернил с клеточной линией. Через 24 часа был проведен микроскопический анализ клеток. В результате мы обнаружили, что клетки хорошо растут в свободном от геля пространстве, в непосредственной близости от него, а также на поверхности под гелем. Клетки не прикреплены к гидрогелям, что является положительной особенностью для предполагаемой легкости удаления раневых повязок *in vivo*.

Выводы. Таким образом, был разработан нанофибрилярный гель с высокой антибактериальной активностью. Наши результаты демонстрируют новый подход к улучшенным раневым повязкам с антибактериальными свойствами. По сравнению с большинством раневых повязок, в которых используется высвобождение антибактериальных агентов, наш гель подавлял рост различных типов бактерий. Мы подчеркиваем, что антибактериальная активность была достигнута без каких-либо антибиотиков, что имеет большое значение для борьбы с устойчивыми к антибиотикам штаммами бактерий. В то же время наш гидрогель показал высокий уровень биосовместимости и низкий уровень цитотоксичности на примере клеточной линии НРФ. Завершающим этапом работы будет проведение доклинических экспериментов на модельных организмах.