

БЪЛГАРСКА АКАДЕМИЯ НА НАУКИТЕ
ИНСТИТУТ ПО ПОЛИМЕРИ

ИНА БОРИСЛАВОВА АНАСТАСОВА

**ЕЛЕКТРООВЛАКНЕНИ ХИБРИДНИ МАТЕРИАЛИ ОТ
ПОЛИ(L-ЛАКТИД-СЪ-D,L-ЛАКТИД) И ПРОИЗВОДНИ
НА ХИТОЗАНА С НАСОЧЕНО МОДЕЛИРАН ДИЗАЙН
ЗА ПОТЕНЦИАЛНИ ПРИЛОЖЕНИЯ В
БИОМЕДИЦИНАТА И ЗА ФОТОКАТАЛИТИЧНО
ПРЕЧИСТВАНЕ НА ВОДИ**

АВТОРЕФЕРАТ

**на дисертационен труд, представен за присъждане на
образователната и научна степен „ДОКТОР“**

Професионално направление: 4.2. Химически науки
Научна специалност: Полимери и полимерни материали

Научни ръководители:

проф. д-р Оля Стоилова

проф. д-р Милена Игнатова

София, 2025

Дисертационният труд е обсъден и допуснат до защита на заседание на Колоквиума на Института по полимери - БАН.

Дисертационният труд е изложен на 123 страници, включва 35 фигури и 2 схеми. Използвани са 323 литературни източника. Резултатите са публикувани в 2 научни статии и са докладвани на 15 научни форума.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 2026 г. от часа в заседателната зала на Института по полимери – БАН, на открито заседание на Научното жури.

Материалите по защитата са на разположение на интересуващите се в канцеларията на Института по полимери – БАН с адрес гр. София, ул. Акад. Г. Бончев, бл. 103, вх. В.

Автор: ИНА БОРИСЛАВОВА АНАСТАСОВА

Заглавие: Електроовлаknени хибридни материали от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид) и производни на хитозана с насочено моделиран дизайн за потенциални приложения в биомедицината и за фотокаталитично пречистване на води

Изследванията, представени в настоящата дисертационна работа, са проведени в Лаборатория Биологично активни полимери към Научно направление Полимерни биоматериали към ИП-БАН с ръководител проф. д-р Оля Стоилова. Тези изследвания са и част от научната тематика на ЛБАП, свързана с разработването на иновативни хибридни полимерни материали с насочено моделиран дизайн и прицелни свойства за потенциални приложения в биомедицината и за фотокаталитично пречистване на води.

Част от изследванията в дисертационната работа са проведени с финансовата подкрепа на Фонд Научни изследвания (договор КП-06-НЗ9/13) и е използвано оборудване на Разпределената научна инфраструктура ИНФРАМАТ, част от Националната пътна карта на България за научна инфраструктура, подкрепена финансово от Министерство на образованието и науката, за което изказвам своята благодарност.

Бих искала да изкажа своята искрена благодарност на моите научни ръководители – проф. д-р Оля Стоилова и проф. д-р Милена Игнатова за оказаната подкрепа при изработката, написването и оформянето на настоящата дисертация. Високо оценявам всестранната им помощ, получените ценни съвети и напътствия, и проявеното им търпение спрямо мен.

Благодаря на всички колеги от Лаборатория Биологично активни полимери за подкрепата, разбирането и приятелското отношение.

Благодаря на доц. д-р Надя Маркова (Институт по микробиология, БАН) за съдействието при провеждане на микробиологичните изследвания, на ас. Росица Кукева и проф. д-р Радостина Стоянова (Институт по обща и неорганична химия, БАН) за помощта при изследването на пробите с ЕПР спектроскопия, както и на доц. д-р Ани Георгиева и проф. д-р Ренета Тошкова (Институт по експериментална морфология, патология и антропология с музей, БАН) за методичната помощ при изследване на противотуморната активност на получените от нас материали.

Искам да благодаря и на моето семейство за куража и вярата в моите успехи.

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

PLDLLA - поли(L-лактид-съ-D,L-лактид)

Ch - хитозан

8QCHO - 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид

Ch-8Q - Шифова база на хитозана и 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид

COS - хитозанов олигозахарид

QCOS - кватернизиран *N,N,N*-триметил хитозан йодид

TFA - трифлуорооцетна киселина

DCM - дихлорметан

DMF - диметилформамид

HeLa - клетъчни линии от рак на шийката на матката

MCF-7 - клетъчни линии от рак на гърдата

BALB/c 3T3 - неракови миши фибробластни клетки

DPPH• - 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил

ROP - полимеризация с отваряне на пръстена

SEM - сканираща електронна микроскопия

ATR-FTIR - инфрачервена спектроскопия с пълно вътрешно отражение и трансформация на Фурие

XPS - рентгенова фотоелектронна спектроскопия

DSC - диференциална сканираща калориметрия

EPR - електронна парамагнитна резонансна спектроскопия

EDX - енергийно-дисперсионна рентгенова спектроскопия

TGA - термогравиметричен анализ

XRD - рентгеноструктурен анализ

DAPI - 4',6-диамидино-2-фенилиндол

MTT - 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолиев бромид

АО - акридин оранж

EtBr - етидиев бромид

УВОД

През последните години електроовлажняването се утвърди като ефективен метод за получаване на влакнести материали с голяма специфична повърхност и пореста структура, позволяваща еднотапно включване на биологично активни вещества и неорганични наночастици. Тези електроовлажнени материали се характеризират с контролирано освобождаване на активните вещества, подобрен терапевтичен ефект и намалена токсичност, което ги прави подходящи за локално доставяне на лекарствени вещества и лечение на тумори, както и за фотокаталитично разграждане на органични замърсители във вода и въздух.

Биополимерите са сред най-обещаващите материали, които биха заменили конвенционалните пластмаси, чието широко използване води до натрупване на отпадъци и замърсяване на почви, води и атмосфера. Сред тях, поли(млечната киселина) (PLA) и нейните съполимери се отличават с биосъвместимост, биоразградимост, добри механични и физични свойства. PLA вече намира широко приложение в селското стопанство, автомобилостроенето, производството на опаковки и в биомедицината, като се очаква в бъдеще нейният пазарен дял да нарасне още повече. От друга страна, кватернизирани производни на природния полизахарид хитозан и неговите Шифови бази с производни на 8-хидроксихинолина се отличават с ниска токсичност, биосъвместимост, биоразградимост и присъщи антибактериални свойства, които значително се засилват чрез координация с йони на преходните метали като Cu^{2+} и Fe^{3+} .

Базирайки се на тези факти, настоящата дисертация се фокусира върху два ключови аспекта. Първият включва разработване на нови влакнести материали, предназначени за локално лечение на рани и туморни заболявания от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид) (PLDLLA) и Шифовата база на хитозан с 8-хидроксихинолинови производни и последващото им комплексообразуване с Cu^{2+} и Fe^{3+} йони. Вторият аспект се отнася до разработване на хибридни влакнести материали от PLDLLA, кватернизирани хитозанови олигозахариди и наночастици от ZnO и Fe_3O_4 с насочено моделиран дизайн, с изразена антиоксидантна и

фотокаталитична активност за пречистване на води, замърсени с органични замърсители. Тези изследвания целят да запълнят съществуващите празноти в литературата и да предложат набор от иновативни материали с широк спектър от биомедицински и екологични приложения.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ДИСЕРТАЦИОННАТА РАБОТА

От изводите на литературния обзор и дългогодишния опит на Лаборатория „Биологично активни полимери“ в областта на електроовлажняването и разработването на биоматериали от природни и синтетични полимери за приложение в медицината, селското стопанство и опазването на околната среда беше формулирана следната цел на дисертационната работа:

Да се получат и охарактеризират електроовлажнени хибридни материали от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид) (PLDLLA) и производни на хитозана с насочено моделиран дизайн и да се покажат някои възможности за тяхното потенциално приложение в биомедицината и за фотокаталитично пречистване на води.

За постигането на тази цел беше необходимо да се решат следните задачи:

1. Синтез и охарактеризиране на Шифова база на хитозана с 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид (Ch-8Q). Намиране на условията за електроовлажняване на PLDLLA и Ch-8Q. Получаване на комплекси на получените влакнести материали с Cu^{2+} и Fe^{3+} йони.

2. Охарактеризиране на получения набор от хибридни влакнести материали и изследване на тяхната антибактериална и противоракова активност.

3. Получаване на хибридни влакнести материали с различен дизайн от PLDLLA, кватернизирано производно на хитозана и наночастици от ZnO и Fe_3O_4 чрез комбиниране на електроовлажняване с електро-разпръскване.

4. Охарактеризиране на получения набор от хибридни влакнести материали и изследване на тяхната антиоксидантна и фотокаталитична активност.

III. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

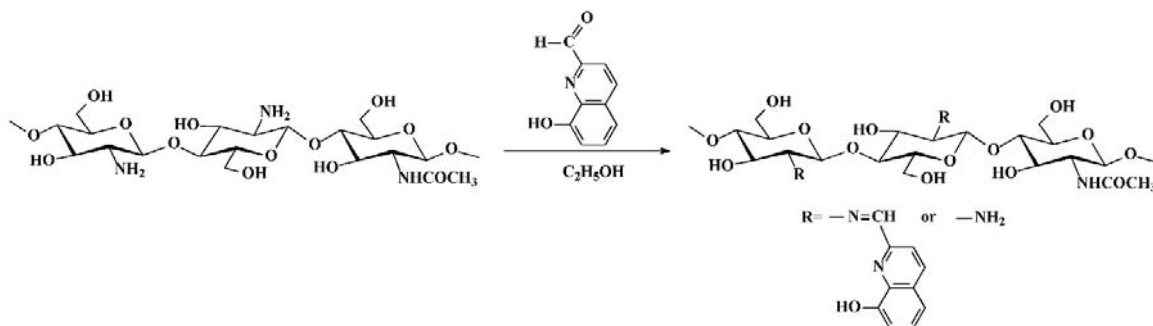
ГЛАВА 1. Хибридни влакнести материали от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид), Шифова база на хитозана с 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид и техни комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} йони. Изследване на антибактериалната и противораковата им активност.

В настоящата глава са представени получаването и охарактеризирането на нови влакнести материали от Шифовата база на хитозана с 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид (Ch-8Q) и поли(L-лактид-съ-D,L-лактид) (PLDLLA). Получени и охарактеризирани са също и техните комплекси с йони на преходни метали с биологично значение – желязни (Fe^{3+}) и медни (Cu^{2+}) йони. Морфологията на влакнестите материали и техният химичен състав на повърхността са изследвани чрез сканираща електронна микроскопия (SEM), инфрачервена спектроскопия с пълно вътрешно отражение и трансформация на Фурие (ATR-FTIR) и рентгенова-фотоелектронна спектроскопия (XPS). Техните термични характеристики са определени посредством диференциална сканираща калориметрия (DSC). За изучаване на координирането на металните йони (Fe^{3+} или Cu^{2+}) в получените влакнести материали е използвана електронна парамагнитна резонансна спектроскопия (EPR). С оглед на потенциалните биомедицински приложения на разработените влакнести материали и техните комплекси, е оценена антибактериалната им активност спрямо патогенни микроорганизми (Грам-положителни бактерии *S. aureus*), както и противораковата им активност спрямо човешки ракови клетъчни линии (HeLa и MCF-7).

Получаване на хибридни влакнести материали от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид), Шифова база на хитозана с 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид и техни комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} йони чрез електроовлажняване

Първата стъпка за получаването на хибридните влакнести материали беше синтезът на Шифовата база на хитозана (Ch) с 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид (8QCHO). Тази Шифова база (Ch-8Q) (за първи път в литературата и в рамките на настоящата дисертация) е синтезирана чрез модификация на хитозана в оцетно-кисела водна среда с 8QCHO в етанолов разтвор при меки условия (Фигура 1). Продуктът на

реакцията (Ch-8Q) е пречистен от нереагирания алдехид чрез екстракция на Сокслет с абсолютен етанол и е изолиран с добив 90%. От ^1H NMR спектъра на Шифовата база е изчислено, че степента на заместване е 73%.



Фигура 1. Схема на синтеза на Шифовата база на хитозана с 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид

Следващата стъпка за получаването на хибридни влакнести материали беше намирането на оптималните параметри за електроовлажняване с цел получаване на еднородни и бездефектни влакна. Като общ разтворител за PLDLLA и Шифовата база беше избрана трифлуор-оцетна киселина (TFA), която позволява успешното приготвяне на смесени предилни разтвори. Чрез вариране на концентрацията на PLDLLA, на тегловното отношение между PLDLLA и Ch-8Q, както и на параметрите на електроовлажняване (приложено напрежение, разстояние между капилярата и колектора и скорост на подаване на предилния разтвор) бяха подбрани следните оптимални условия за получаване на бездефектни и цилиндрични влакна от PLDLLA/Ch-8Q: тегловни отношения PLDLLA:Ch-8Q = 50:50 и PLDLLA:Ch-8Q = 70:30, обща полимерна концентрация – 5 wt.%, скорост на подаване на разтвора – 1 ml/h и интензитет на приложеното електрично поле – 2.3 kV/cm. За сравнение, при същите условия бяха получени и влакнести материали от PLDLLA и от PLDLLA/Ch.

Измерванията на динамичния вискозитет на предилните разтвори показаха, че чистият PLDLLA има най-висок вискозитет (4200 cP), който намалява при добавяне на хитозана (1900 cP), а още повече – при включване на Шифовата база Ch-8Q (1700 cP). Най-ниските стойности на вискозитета бяха измерени за тегловното съотношение PLDLLA/Ch-8Q 50:50 (940 cP). Тъй като матовете, получени от този разтвор, се оказаха

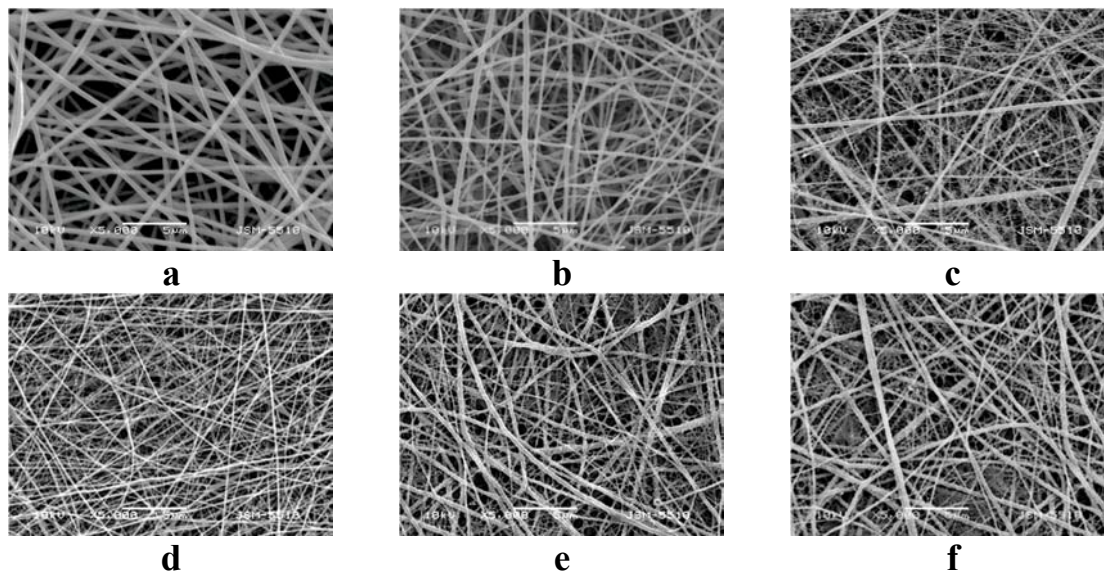
твърде крехки за биологични експерименти, за последващите изследвания беше избрана оптималната формулировка с тегловно съотношение PLDLLA/Ch-8Q 70:30, при която се постига добра обработваемост и механична устойчивост на влакната.

След намиране на оптималните условия за електроовлакняване и получаване на набор от матове с различен състав, следващата стъпка включваше комплексообразуване с йони на преходни метали с биологично значение (Cu^{2+} и Fe^{3+}). Това позволи не само да се запазят морфологичните характеристики на матовете, но и да им се придадат допълнителни биологични свойства. Комплексите бяха образувани чрез потапяне на матовете от PLDLLA/Ch и от PLDLLA/Ch-8Q в етанолови разтвори на съответните метални соли (CuCl_2 и FeCl_3) при контролирани условия, като впоследствие тяхното присъствие и координиране с хитозана и с Шифовата база беше потвърдено чрез електронна парамагнитна резонансна спектроскопия (EPR).

Морфологично, структурно и физикохимично охарактеризиране на получените хибридни влакнести материали

Морфологията на получения набор от хибридни влакнести материали беше изследвана с помощта на сканираща електронна микроскопия (SEM) и е представена на Фигура 2. Прави впечатление, че електроовлакняването на PLDLLA води до получаване на еднородни и хомогенни влакна (Фигура 2a). При матовете от PLDLLA/Ch и PLDLLA/Ch-8Q обаче, се наблюдава образуване и на тънки влакна, произлизащи от основните влакна (Фигура 2b-d). Тези наблюдения са в съгласие с резултати, съобщени за матове от Ch и PLDLLA/Ch от други автори, и най-вероятно се дължат на процеси на удължаване на струята и бързо изпаряване на разтворителя TFA. Тези фактори водят до промени на формата и разпределението на заряда върху струята, което от своя страна променя баланса между повърхностното напрежение и електрическите сили. В резултат на това настъпва частично разцепване на струята и образуване на разклонения на влакната, което обяснява наблюдаваната морфология. След комплексообразуването с Cu^{2+} и Fe^{3+} йоните, матовете от PLDLLA/Ch-8Q запазват както влакнестата си

структура, така и характерната за тях морфология (Фигура 2e,f). Това показва, че процесът на координационно свързване на металните йони не нарушава целостта на влакната и не води до промяна в тяхната морфология, което е важно за запазване на функционалните им свойства и потенциалните им биомедицински приложения.



Фигура 2. SEM микрографии на матове от: PLDLLA (a), PLDLLA/Ch (b), PLDLLA/Ch-8Q (70:30) (c), PLDLLA/Ch-8Q (50:50) (d), Cu^{2+} -PLDLLA/Ch-8Q (e) и Fe^{3+} -PLDLLA/Ch-8Q (f).

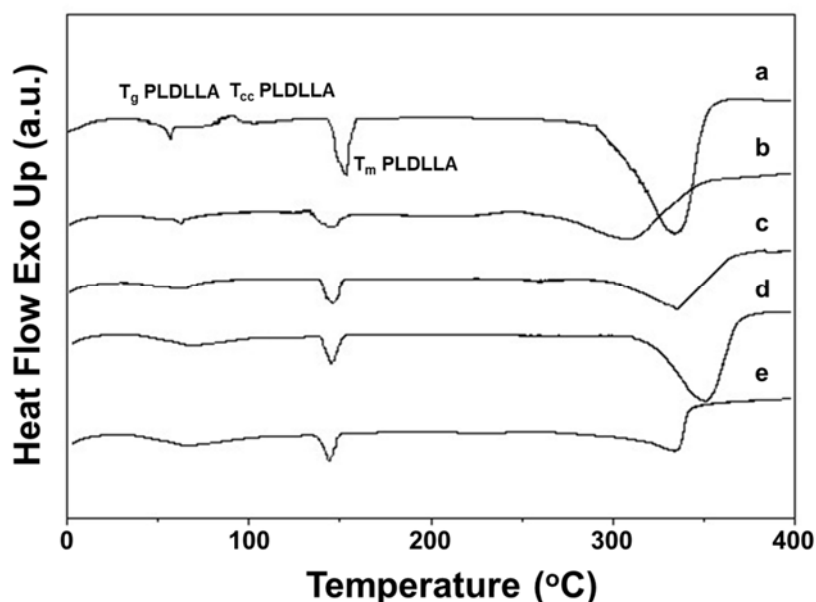
Измерените средни диаметри на влакната показаха ясна зависимост от състава на предилните разтвори. Влакната от чист PLDLLA имат среден диаметър 360 ± 90 nm. При добавяне на хитозан към разтвора на PLDLLA средният диаметър намалява до 238 ± 105 nm, което съответства и на по-ниския динамичен вискозитет на разтвора. Най-малък среден диаметър е установен при влакната от PLDLLA/Ch-8Q (70:30) – 187 ± 128 nm. Това намаляване корелира с измерените по-ниски вискозитети на разтворите в реда: PLDLLA (4200 cP) > PLDLLA/Ch (1900 cP) > PLDLLA/Ch-8Q (1700 cP). Влакната от PLDLLA/Ch и PLDLLA/Ch-8Q показват по-широко разпределение по диаметри в сравнение с тези от чист PLDLLA, което обуславя и по-високите стойности на стандартното отклонение. Това вероятно се дължи на различната йонна природа на полимерните системи, които повлияват стабилността на струята при електроовлакняване и процесите на изтъняване по време на формирането на влакната. След комплексообразуването с Cu^{2+} и Fe^{3+} йони средният

диаметър на влакната остава практически непроменен – 208 ± 126 nm за комплекса с Cu^{2+} и 189 ± 130 nm за този с Fe^{3+} . Това потвърждава, че обработването на матовете с метални йони не води до промяна в структурните характеристики на материалите.

За да се потвърди химичният състав на матовете от PLDLLA/Ch-8Q и да се проследи комплексообразуването с Cu^{2+} и Fe^{3+} , беше използвана ATR-FTIR спектроскопия. В спектъра на матовете от PLDLLA/Ch се забелязват както характерните за PLDLLA ивици при 1751 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$) и 1084 cm^{-1} ($\nu\text{C-O}$), така и тези за хитозана – при 1676 cm^{-1} (νNH_3^+), 1558 cm^{-1} (амид II) и при 3348 cm^{-1} ($\nu\text{O-H}/\nu\text{N-H}$). В спектъра на PLDLLA/Ch-8Q матовете, освен ивиците на PLDLLA, се регистрират и характеристични ивици при 1664 cm^{-1} (амид I), 1645 cm^{-1} ($\nu\text{C=N}$ на Шифовата база) и 1506 cm^{-1} ($\nu\text{C=C}$ на ароматното ядро на 8Q), което потвърждава успешното включване на Ch-8Q. Вижда се, че след обработката на матовете от PLDLLA/Ch-8Q с Cu^{2+} и Fe^{3+} , ивицата за $\nu\text{C=N}$ от азометиновата група се измества от 1645 до 1622 cm^{-1} , което показва координация с азота от азометиновата група на Ch-8Q. Това отместване е в съответствие с литературните данни за метални комплекси на други Шифови бази. В допълнение, в спектрите на комплексите, ивицата, отнесена за $\nu\text{C=N}$ от 8Q остатъците в Ch-8Q, която се регистрира в спектъра на 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид при 1591 cm^{-1} , се измества до 1593 cm^{-1} (за мата от Cu^{2+} -PLDLLA/Ch-8Q) и до 1597 cm^{-1} (за мата от Fe^{3+} -PLDLLA/Ch-8Q), което предполага, че неподелената двойка електрони на азота от 8Q остатъците участва в координацията, подобно на описаното в литературата. Наблюдава се и намаляване на интензитета на ивиците около 3340 cm^{-1} , което вероятно е свързано с взаимодействие на металните йони с $-\text{OH}$ и $-\text{NH}_2$ групите. Наблюдаваните промени в спектрите на матовете от PLDLLA/Ch-8Q потвърждават успешното комплексообразуване и са в съответствие с предходни изследвания върху метални комплекси на Шифови бази.

Термичните свойства на матовете от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} бяха изследвани чрез DSC (Фигура 3). В термограмите на всички проби, съдържащи Ch или Ch-8Q, се наблюдава

широк, слаб ендотермичен пик между 25 - 100°C, който се свързва с десорбция на вода или остатъци от TFA (Фигура 3b-e). Матовите от PLDLLA показват температура на встъкляване (T_g), температура на студена кристализация (T_{cc}) и температура на топене (T_m) съответно при 62°C, 89°C и 153°C (Фигура 3a). В термограмите на матовете, съдържащи Ch и Ch-8Q, както и тези на комплексите с Cu^{2+} и Fe^{3+} , липсата на T_{cc} показва потисната кристализация на PLDLLA, вследствие на смесването и комплексообразуването. T_g на PLDLLA остава практически непроменена ($\approx 61^\circ C$) при всички видове матове (Фигура 3b-e), което подсказва, че включването на Ch-8Q и металните йони не влияе на подвижността на полимерните вериги в аморфната област. T_m на PLDLLA обаче се измества към по-ниски стойности за PLDLLA/Ch, PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси, което потвърждава промяна в кристалната структура. Както при Ch, пик на топене за Ch-8Q не се регистрира (Фигура 3b,c). При температури над 280°C се появяват ендотермични сигнали, свързани с термично разлагане на полимерните компоненти (Фигура 3a-e).



Фигура 3. DSC термограми на матове от: PLDLLA (a), PLDLLA/Ch (b), PLDLLA/Ch-8Q (c), Cu^{2+} -PLDLLA/Ch-8Q (d) и Fe^{3+} -PLDLLA/Ch-8Q (e).

Съставът на повърхността на матовете от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} беше изследван чрез рентгенова фотоелектронна спектроскопия (XPS), като резултатите потвърдиха структурата на

материалите и успешното включване на Шифовата база. В C_{1s} спектъра на PLDLLA/Ch-8Q се наблюдават сигнали, съответстващи на различните функционални групи: при 285.0 eV се регистрират C–H и C–C връзки от PLDLLA и Ch-8Q, както и C–NH₂; при 285.6 eV се откриват C–N и C–OH връзки, дължащи се на 8Q; при 286.8 eV се наблюдават C–O, C–OH и C–N–C=O от Ch-8Q, както и C–O от PLDLLA и C=N; при 288.4 eV присъстват O–C–O и N–C=O от Ch-8Q; при 289.1 eV се отчита O–C=O от PLDLLA, а при 290.5 eV се установява $\pi \rightarrow \pi^*$ сателитен сигнал, характерен за ароматното ядро на 8Q. В O_{1s} спектъра се различават четири основни компонента. Пикът при 530.8 eV се дължи на N–C=O групи в Ch-8Q, този при 532.2 eV отразява C=O групите от PLDLLA, при 532.9 eV се отчита приносът на C–OH от Ch-8Q и 8Q, а при 533.5 eV се наблюдават O–C–O и C–O връзки, характерни за PLDLLA. N_{1s} сигналят съдържа четири ясно разграничени пика: при 398.8 eV, съответстващ на N=C в Ch-8Q; при 399.6 eV, отнесен към N–C=O и C–NH₂; при 400.8 eV, характерен за N–C от 8Q остатъците; и при 401.8 eV, който отразява протонирани –NH₃⁺ групи от хитозана. Теоретично изчисленията и експериментално определените площи за пиковете на различните видове въглеродни атоми [C–C/C–H/C–NH₂]/[C–N/C–OH]/[C–O/C–OH/C–N–C=O/C–O/C=N]/[O–C–O/N–C=O]/[O–C=O]/[$\pi \rightarrow \pi^*$] показват близки стойности, както следва теоретични 34.1/2.3/36.1/3.5/ 23.3/0.7 спрямо експериментални 35.5/2.3/35.3/3.4/22.8/0.7. Най-големият относителен дял има площта на въглеродните атоми от C–C, C–H и C–NH₂ връзките, което е в съответствие с отчетената хидрофобност на повърхността на матовете.

В детайлните C_{1s} спектри на комплексите на матовете от PLDLLA/Ch-8Q с Cu²⁺ и Fe³⁺ се наблюдава появата на нов компонент при 287.2 eV, характерен за връзки от типа C–O–Cu/C–N–Cu или C–O–Fe/C–N–Fe. Едновременно с това се отчита и намаляване на интензитета на пика при 286.8 eV. В O_{1s} спектрите на тези комплекси се регистрира също нов сигнал при 531.2 eV, който се дължи на O–Cu или O–Fe координация, произхождаща от 8Q остатъците в Ch-8Q. Аналогично, в N_{1s} спектрите се появява допълнителен пик при 400.1 eV, отнесен към C–N–Cu или C–N–Fe взаимодействия.

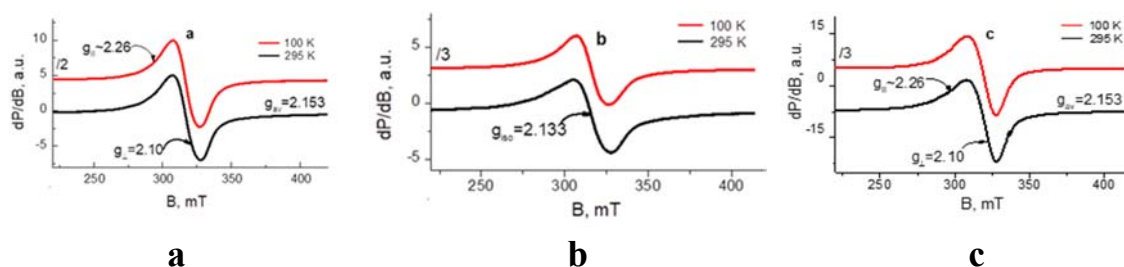
Комплексообразуването с Cu^{2+} се потвърждава и от наличието на сигнал в Cu_{2p} областта, съставен от два компонента – $\text{Cu}_{2p1/2}$ и $\text{Cu}_{2p3/2}$. Пикът на $\text{Cu}_{2p3/2}$ включва основен максимум при 933.7 eV и два сателита при 940.9 eV и 944.6 eV. Свързващата енергия на главния пик е в много добра корелация с публикувани стойности за Cu^{2+} комплекси (933.1 eV). В XPS спектъра на Fe^{3+} комплекса се отчита нов $\text{Fe}_{2p3/2}$ сигнал с основен пик при 711.9 eV и сателит при 718.2 eV, което съвпада със стойности, характерни за Fe^{3+} комплекси. Тези резултати ясно потвърждават координирането на Cu^{2+} или Fe^{3+} върху повърхността на влакнестите материали от PLDLLA/Ch-8Q.

Електронно-парамагнитният резонанс (EPR) беше използван за изясняване на координационния механизъм на Cu^{2+} и Fe^{3+} йоните в комплексите на матовете от PLDLLA/Ch-8Q. Като референтни материали бяха анализирани комплекси на Cu^{2+} и Fe^{3+} йони с мат от PLDLLA/Ch, както и комплекси на Cu^{2+} с Ch-8Q и на Fe^{3+} с 8QCHO в твърдо състояние. Всички проби са изследвани при температури 100 и 295 K.

Спектърът на Cu^{2+} -комплекса на матовете от PLDLLA/Ch-8Q съдържа почти симетричен сигнал със слабо разграничени $g_{\perp} = 2.10$ и $g_{\parallel} \approx 2.26$ (Фигура 4a). Формата и позицията му не се променят при охлаждане, но интензитетът расте според закона на Curie–Weiss ($\theta = -147 \pm 6$ K). Тези параметри са характерни за магнитно свързани Cu^{2+} йони. Тъй като Ch-8Q е производно на Ch с 8QCHO, е възможно координиране на Cu^{2+} йоните както с 8Q остатъците, така и с Ch. За да се определи реалната координация, бяха сравнени два модела: координация на Cu^{2+} в матове от PLDLLA/Ch и координация на Cu^{2+} с Ch-8Q в твърдо състояние.

Спектърът на Cu^{2+} -PLDLLA/Ch (Фигура 4b) съдържа симетричен сигнал с $g = 2.133$, постоянен в температурния интервал 100 - 295 K. Широчината на линията (ΔH_{pp}) варира от 22.8 mT (295 K) до 19.7 mT (100 K), а температурната зависимост на реципрочната стойност на интензитета на сигнала ($1/I$) отговаря на закона на Curie–Weiss ($\theta = -28 \pm 7$ K). Параметрите съответстват на обменно свързани Cu^{2+} йони. Получената g -стойност е близка до тази, докладвана от Pawlicka и съавт. за Ch мембрани с Cu^{2+} ($g_{av} = 2.123$), което показва координация на Cu^{2+}

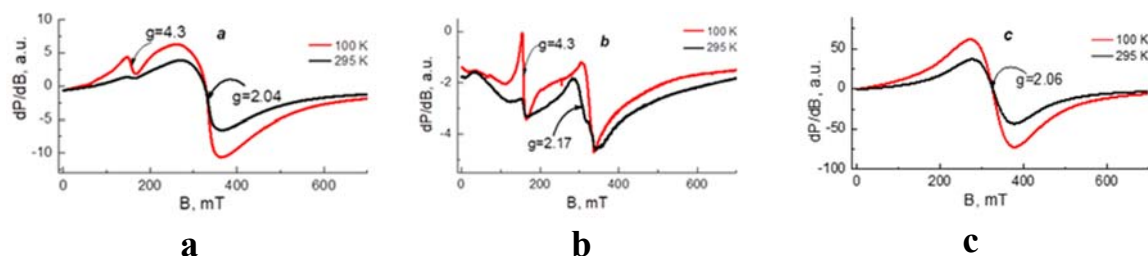
йоните с Ch в матовете от Cu^{2+} -PLDLLA/Ch. В спектъра на комплекса Cu^{2+} -Ch-8Q в твърдо състояние (Фигура 4с) се наблюдава леко асиметричен сигнал с ниска интензивност и частично разрешени хиперфини линии. При 295 K $g_{\parallel} \approx 2.26$, $g_{\perp} \approx 2.10$, $g_{\text{av}} = 2.153$. С охлаждане асиметрията намалява, а температурната зависимост на интензитета на сигнала следва закона на Curie–Weiss ($\theta = -52 \pm 4$ K). Стойността g_{av} на комплекса Cu^{2+} -Ch-8Q е близка до g_{iso} на комплекса Cu^{2+} -8Q, но различна от тази на Cu^{2+} -PLDLLA/Ch комплекса, което показва координиране на Cu^{2+} с 8Q остатъците. Сравнението на параметрите на комплекса Cu^{2+} -PLDLLA/Ch-8Q с референтните образци показва две ключови зависимости: (i) g -стойността се различава от тази на комплекса Cu^{2+} -PLDLLA/Ch, и (ii) е близка до тази на комплекса Cu^{2+} -Ch-8Q в твърдо състояние. Това показва, че Cu^{2+} йоните в матовете от PLDLLA/Ch-8Q се координират предимно с 8Q остатъците, чрез O и N атоми.



Фигура 4. EPR спектри при 100 и 295 K на матове от Cu^{2+} -PLDLLA/Ch-8Q (a) и Cu^{2+} -PLDLLA/Ch (b), и на Cu^{2+} -Ch-8Q в твърдо състояние (c).

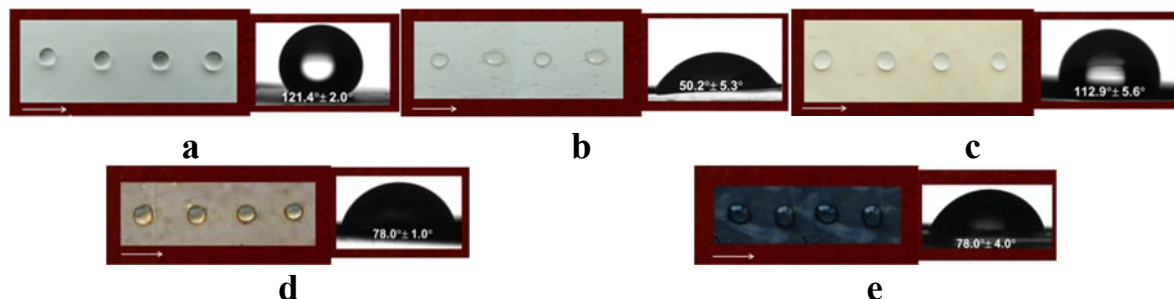
Спектърът на Fe^{3+} комплекса на матовете от PLDLLA/Ch-8Q (Фигура 5a) съдържа широк, симетричен сигнал с $g = 2.04$ и $\Delta H_{\text{pp}} \approx 93$ mT при 295 K. За сравнение, при матовете от комплекса Fe^{3+} -PLDLLA/Ch (Фигура 5b) се регистрират два сигнала с $g \approx 4.3$ и $g \approx 2.0$, като при тях преобладава компонентът при $g \approx 4.3$. Обратно, при матовете от комплекса Fe^{3+} -PLDLLA/Ch-8Q доминира сигналът при $g \approx 2.0$, чийто интензитет е над 50 пъти по-висок от този на Fe^{3+} -PLDLLA/Ch. Това показва значително по-висока концентрация на координирани Fe^{3+} йони и насочва към основно участие на 8Q остатъците в координацията на Fe^{3+} в матовете от PLDLLA/Ch-8Q. За потвърждение беше изследван и комплексът на Fe^{3+} -8QCHO в твърдо състояние, който показва подобен широк и симетричен сигнал с $g = 2.06$ и $\Delta H_{\text{pp}} \approx 100$ mT при 295 K. Сходството между спектъра на този референтен комплекс и спектъра на

матове Fe^{3+} -PLDLLA/Ch-8Q подкрепя извода, че Fe^{3+} йоните в матовите са координирани предимно с 8Q остатъците на Ch-8Q.



Фигура 5. EPR спектри при 100 и 295 K на матове от Fe^{3+} -PLDLLA/Ch-8Q (a) и Fe^{3+} -PLDLLA/Ch (b), и на Fe^{3+} -8QCHO в твърдо състояние (c).

Известно е, че адхезията и пролиферацията на клетките зависят в значителна степен от способността на електроовлакнените материали да се омокрят. Затова беше измерена омокряемостта на повърхността на получените влакнести материали, предвид контакта им с бактериални и ракови клетки. Намерено беше, че матът от PLDLLA има ясно изразена хидрофобна повърхност с контактен ъгъл на омокряне спрямо вода $121.4^\circ \pm 2.0^\circ$ (Фигура 6a), като водната капка запазва сферичната си форма върху повърхността. При включването на Ch във влакната от PLDLLA се наблюдава значително хидрофилизиране – контактният ъгъл намалява до $50.2^\circ \pm 5.3^\circ$ (Фигура 6b). Матовите от PLDLLA/Ch-8Q остават хидрофобни, с контактен ъгъл $112.9^\circ \pm 5.6^\circ$ (Фигура 6c). Особено показателно е, че координирането на Cu^{2+} и Fe^{3+} йоните в тези матове води до съществено повишаване на омокряемостта – контактният ъгъл намалява до около 78° (Фигура 6d,e). Това показва, че металните йони имат изразен хидрофилизиращ ефект върху повърхностните свойства на влакнестите материали.



Фигура 6. Дигитални снимки на контактния ъгъл спрямо вода за матове от: PLDLLA (a), PLDLLA/Ch (b), PLDLLA/Ch-8Q (c), Cu^{2+} -PLDLLA/Ch-8Q (d) и Fe^{3+} -PLDLLA/Ch-8Q (e). Стрелката показва посоката на въртене на колектора.

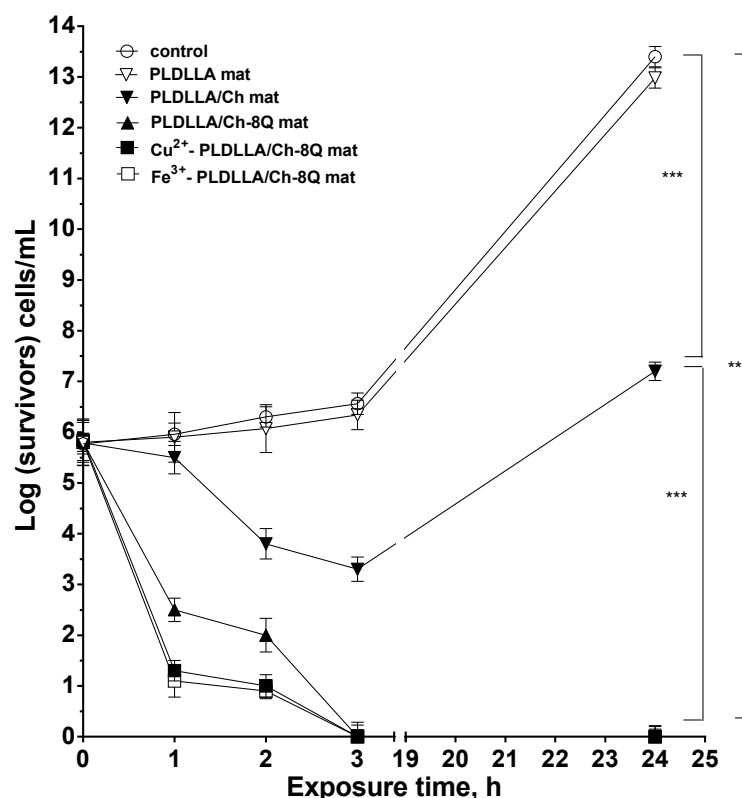
Успешното получаване и охарактеризиране на хибридните влакнести материали показва, че тяхната морфология и физични свойства ги правят подходящи за приложение в биомедицината. Въпреки тези положителни резултати, едно от ключовите изисквания за биомедицинско приложение остава биосъвместимостта и безопасността за живи клетки. Поради това следващата стъпка в изследванията се фокусира върху оценка на биологичните свойства на влакнестите материали, включително тяхната способност да инхибират растежа на микроорганизми и потенциалното им влияние върху жизнеспособността на различни клетъчни линии. Освен това беше проведен детайлен анализ на клетъчната смърт с цел установяване на евентуални цитотоксични ефекти. Получените данни ще предоставят цялостна представа за безопасността и потенциалната приложимост на хибридните влакнести материали в биомедицината.

Биологични свойства на влакнестите материали: антибактериална активност, цитотоксичност и анализ на клетъчната смърт

Антибактериалната активност на матовете от PLDLLA, PLDLLA/Ch, PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} беше оценена спрямо Грам-положителните бактерии *S. aureus* чрез преброяване на живите бактерии в суспензията след инкубиране на матовете за различни периоди от време. Тези бактерии бяха избрани поради високата им разпространеност като патогенни микроорганизми, отговорни за вторични инфекции при раните.

Контролата от *S. aureus* показва нормален растеж за всички времеви точки в експеримента, като $\log(\text{CFU/mL})$ достига 13,4 за 24 часа. Както се вижда от Фигура 7, матовете от PLDLLA не потискат растежа на *S. aureus*, като броят на живите клетки за 24 часа е с титър 13,0 log. За разлика от тях, матовете от PLDLLA/Ch водят до намаляване на титъра на *S. aureus* до 7,2 log след 24-часов контакт (Фигура 7). Прави впечатление, че при матовете от PLDLLA/Ch-8Q титърът на *S. aureus* намалява до 2 log след 2 часа контакт, докато при комплексите с Cu^{2+} и Fe^{3+} титърът спада съответно до 1 и 0,9 log за същото време на контакт (Фигура 7). След 3 часа контакт с матовете от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и

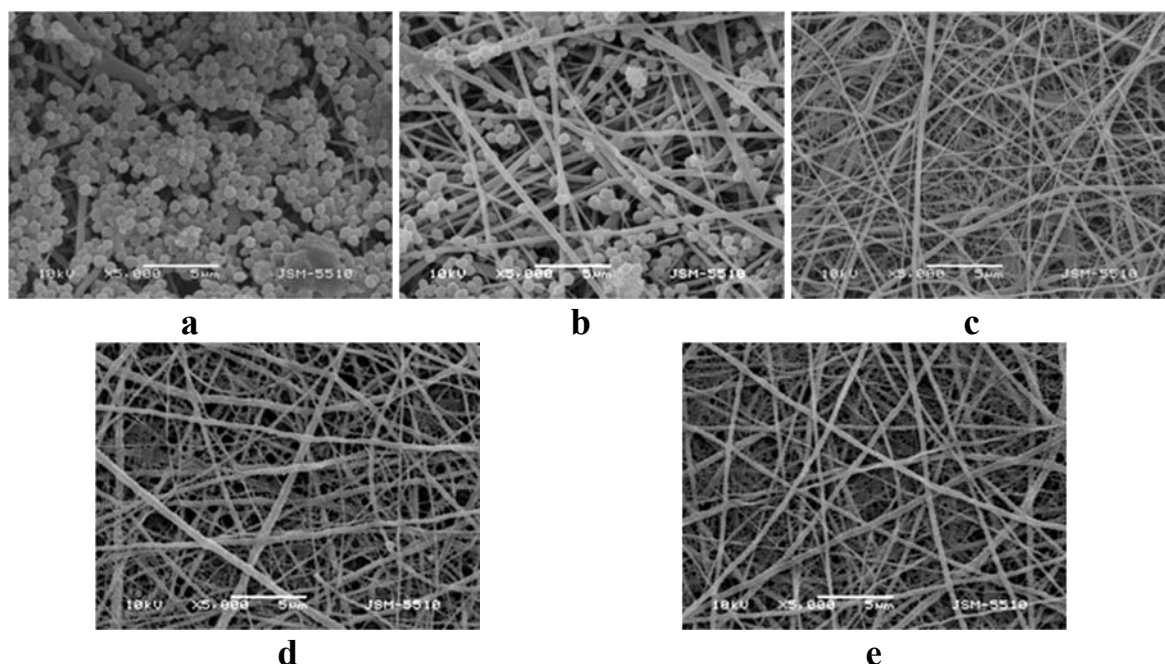
Fe^{3+} не се откриват живи клетки на *S. aureus*. Тези резултати показват, че включването на Ch-8Q в матовете, както и комплексообразуването с Cu^{2+} и Fe^{3+} , значително повишава антибактериалната активност спрямо тази на матовете от PLDLLA/Ch. Матовете, съдържащи Ch-8Q и техните комплекси, проявяват антибактериалната си активност чрез директен контакт с бактериите, което ги прави перспективни за приложение като превръзки при инфектирани рани.



Фигура 7. Логаритмична зависимост на броя на живите клетки *S. aureus* спрямо времето на контакт за: контрола (*S. aureus*), PLDLLA, PLDLLA/Ch, PLDLLA/Ch-8Q и комплексите на PLDLLA/Ch-8Q с Cu^{2+} и Fe^{3+} . Данните са представени като средна стойност $\pm$ стандартно отклонение ($n = 3$); *** $p < 0,001$.

За да се оцени взаимодействието на бактериите с повърхността на матовете, адхезията на клетките *S. aureus* беше наблюдавана със SEM. На Фигура 8 са представени SEM микрографиите на бактериите *S. aureus*, адхезирали към повърхността на матовете след 24-часов контакт със суспензията при 37°C . Вижда се, че върху хидрофобния мат от PLDLLA клетките адхезират добре и имат тенденция да образуват биофилм (Фигура 8a). При матовете от PLDLLA/Ch броят на адхезираните клетки

намалява, вероятно поради присъствието на Ch и неговата присъща антибактериална активност (Фигура 8b). Включването на Ch-8Q във влакната, както и комплексообразуването с Cu^{2+} и Fe^{3+} , водят до пълно потискане на развитието на *S. aureus* върху повърхността на матовете (Фигура 8c-e). Тези резултати показват, че високата бактерицидна активност на матовете се дължи на включения във влакната Ch-8Q и на комплексообразуването с йоните Cu^{2+} и Fe^{3+} , което прави матовете обещаващи материали за биомедицински приложения.



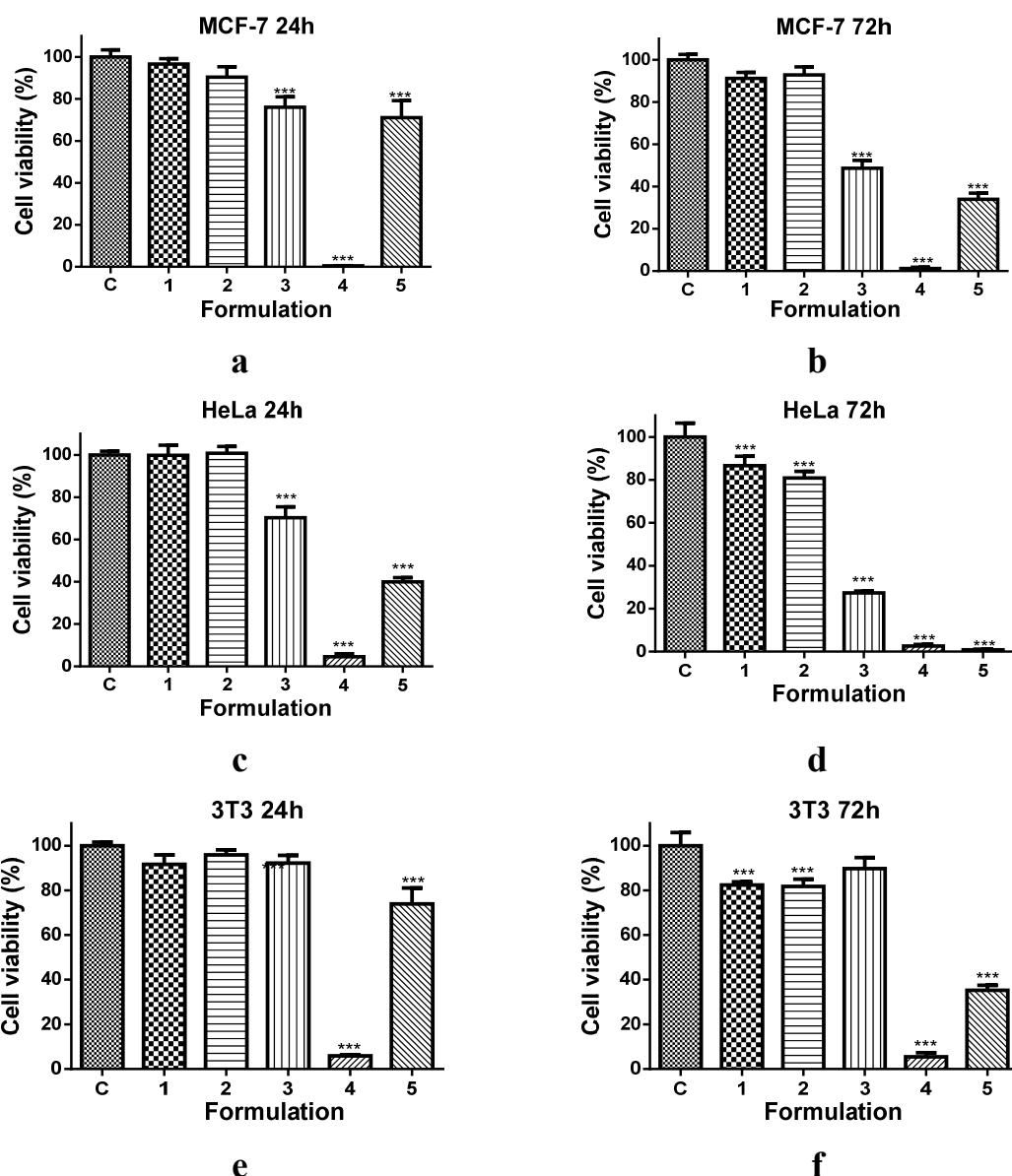
Фигура 8. SEM микрографии на матове, инкубирани в суспензия на *S. aureus*: PLDLLA (a), PLDLLA/Ch (b), PLDLLA/Ch-8Q (c), Cu^{2+} -PLDLLA/Ch-8Q (d) и Fe^{3+} -PLDLLA/Ch-8Q (e).

След като беше потвърдена високата антибактериална активност на матовете от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} , следващата стъпка беше *in vitro* да се оцени тяхното влияние върху жизнеспособността и пролиферацията на ракови и нормални клетки.

Известно е, че 8QCHO проявява добра антипролиферативна активност спрямо различни човешки ракови клетъчни линии, като Hs578t, SaoS2, K562, MDA231, SKHeP1, T-47D и Hep3B. Ето защо, *in vitro* чрез MTT тест беше оценена жизнеспособността на MCF-7 и HeLa ракови клетки, култивирани в присъствие на влакнестите материали от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} . Оценен беше и

цитотоксичният ефект на тези материали спрямо неракови BALB/c 3T3 миши фибробластни клетки.

Проведените изследвания показаха, че матовете от PLDLLA и PLDLLA/Ch слабо понижават жизнеспособността на раковите клетки (Фигура 9a-d). В контраст, присъствието на матове от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} значително понижават жизнеспособността на MCF-7 и HeLa клетките, като антипролиферативният ефект нараства с продължителността на инкубационния период. Най-високата цитотоксичност на матовете от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} беше наблюдавана след 72 часа (Фигура 9b,d). Намерено е, че антипролиферативният ефект е по-изразен спрямо HeLa клетките в сравнение с MCF-7. На 72-ия час Cu^{2+} и Fe^{3+} комплексите на PLDLLA/Ch-8Q проявяват по-висока цитотоксичност спрямо HeLa клетките (съответно $2,6 \pm 1,8\%$ и $0,8 \pm 0,7\%$ жизнеспособни клетки) в сравнение с матовете, съдържащи само Ch-8Q ($27,4 \pm 2,1\%$ жизнеспособни клетки). При MCF-7 клетките Cu^{2+} комплексите на PLDLLA/Ch-8Q водят до по-силно понижение на пролиферативната активност ($1,2 \pm 1,3\%$ жизнеспособни клетки) в сравнение с матовете от PLDLLA/Ch-8Q ($48,6 \pm 8,5\%$) и техните Fe^{3+} комплекси ($34,0 \pm 6,6\%$). При нераковите BALB/c 3T3 клетки (Фигура 9e,f), матовете от PLDLLA/Ch-8Q не проявяват статистически значима антипролиферативна активност (жизнеспособността след 72 часа е $90,0 \pm 12,2\%$). Матовете от PLDLLA и PLDLLA/Ch също показват ниска цитотоксичност спрямо BALB/c 3T3 клетки. При комплексите на PLDLLA/Ch-8Q с Cu^{2+} и Fe^{3+} понижаването на жизнеспособността на BALB/c 3T3 клетките е по-слабо изразено в сравнение с това на двата типа ракови клетки (Фигура 9e,f). След 72 часа процентът на жизнеспособните BALB/c 3T3 клетки е $35,3 \pm 4,0\%$ за Fe^{3+} и $5,4 \pm 3,7\%$ за Cu^{2+} комплексите на матовете. Тези резултати показват, че хибридните влакнести материали от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} проявяват висока противотуморна активност спрямо HeLa и MCF-7 клетки, като същевременно запазват по-ниска токсичност спрямо нормалните BALB/c 3T3 фибробласти.



Фигура 9. Влияние на различните матове върху жизнеспособността на клетки MCF-7 (a,b), HeLa (c,d) и BALB/c 3T3 (e,f) след 24 ч (a, c, e) и 72 ч (b, d, f) на инкубиране. C - нетретираните клетки (контрола); 1 - PLDLLA; 2 - PLDLLA/Ch; 3 - PLDLLA/Ch-8Q; 4 - Cu^{2+} -PLDLLA/Ch-8Q; 5 - Fe^{3+} -PLDLLA/Ch-8Q. *** $p < 0.001$.

За да се установи дали антипролиферативният ефект на влакнестите матове, съдържащи Ch-8Q, и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} е свързан с индуциране на апоптоза, беше приложен флуоресцентен тест за клетъчна смърт чрез интравитално двойно оцветяване с акридинов оранж (AO) и етидиев бромид (EtBr). Изследвани бяха морфологичните белези на HeLa и MCF-7 ракови клетки, култивирани 24 часа в присъствието на различните влакнести материали. Нетретираните клетки (контрола) се

характеризират с хомогенни бледозелени ядра и ярки жълто-зелени ядърца. След третиране с матове от PLDLLA и PLDLLA/Ch не се наблюдават промени в морфологията или начина на оцветяване на ядрата и цитоплазмата при клетките HeLa и MCF-7. Клетките запазват нормалната си структура. В присъствието на матове от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} се наблюдават характерни апоптични промени: окръгляне и сбръчкване на клетките, пъпкуване на клетъчната мембрана, редуциране на клетъчния и ядрения обем (пикноза), кондензация и агрегиране на хроматина, фрагментация на ядрото и формиране на апоптични тела. Тези белези са типични за ранна и късна апоптоза. Най-силно изразени морфологични промени се наблюдават при третиране с Cu^{2+} комплекса на матовете от PLDLLA/Ch-8Q. Забелязват се множество клетки с червено-оранжево оцветяване на ядрата и цитоплазмата, силно намаляване на броя на жизнеспособните клетки и наличие на деструктурирани клетки с пикнотични ядра – белези, характерни за късна апоптоза.

Морфологичните промени в ядрата на HeLa и MCF-7 клетките бяха анализирани и чрез оцветяване с DAPI. Резултатите показват, че контролните нетретирани клетки имат интактни ядра с овална форма, приблизително еднакъв размер, гладки контури и равномерно разпределен хроматин. При клетките, третирани с матове от PLDLLA и PLDLLA/Ch, ядрената морфология остава сходна с тази на контролата. При клетките, обработени с матове от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} , обаче се наблюдават характерни за апоптоза изменения: кондензация на хроматина, пикноза, фрагментация на ядрата и образуване на апоптични телца. Най-изразено увреждане на ядрата при двата клетъчни типа се регистрира след третиране с Cu^{2+} комплекса на матовете от PLDLLA/Ch-8Q. Тези наблюдения са в съответствие с резултатите, получени от MTT теста и потвърждават, че Cu^{2+} и Fe^{3+} комплексите на матовете от PLDLLA/Ch-8Q проявяват силна антипролиферативна активност спрямо HeLa и MCF-7 клетки, докато матовете, съдържащи Ch-8Q, показват по-умерена цитотоксичност.

Данните от флуоресцентната микроскопия ясно сочат, че клетъчната смърт се осъществява предимно по механизма на апоптозата.

При култивиране на нормални BALB/c 3T3 миши фибробласти в присъствие на Cu^{2+} и Fe^{3+} комплекси на матовете от PLDLLA/Ch-8Q се наблюдават морфологични изменения на клетките и ядрата, характерни за ранна и късна апоптоза. Тези изменения са най-силно изразени при клетките, третирани с Cu^{2+} комплекса на матовете, съдържащи Ch-8Q, но те са значително по-слаби в сравнение с наблюдаваното при HeLa и MCF-7 раковите клетки. За разлика от тях, матовете, съдържащи само Ch-8Q, не предизвикват токсични ефекти върху BALB/c 3T3 клетките, което потвърждава по-високата селективност на тези материали към туморни клетки спрямо нормални фибробласти.

В заключение, резултатите от **Глава 1** показват, че са намерени оптималните условия за едноетапно получаване на нови влакнести материали от PLDLLA и новосинтезираната Шифова база на хитозана с 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид чрез електроовлажняване. Последващото третиране на матовете от PLDLLA/Ch-8Q с разтвори на CuCl_2 или FeCl_3 води до успешно комплексообразуване и получаване на съответните матове от комплекси Cu^{2+} -PLDLLA/Ch-8Q и Fe^{3+} -PLDLLA/Ch-8Q. Проведените ATR-FTIR, XPS и EPR анализи доказаха, че във влакнестата структура металните йони се координират предимно с 8Q остатъците от Ch-8Q. Доказано беше, че включването на Ch-8Q и последващото комплексообразуване с Cu^{2+} и Fe^{3+} придават изразена антибактериална активност срещу патогенните бактерии *S. aureus*, както и способност за потискане на тяхната адхезия. Освен това, влакнестите матове от PLDLLA и Ch-8Q проявяват значителна *in vitro* противотуморна активност спрямо човешки HeLa (рак на маточната шийка) и MCF-7 (рак на гърдата) клетки, като същевременно не показват цитотоксичност към нормални BALB/c 3T3 миши фибробласти. Следователно, получените хибридни влакнести материали се очертават като особено перспективни за приложение като антибактериални превръзки при инфектирани рани и като потенциални носители на

лекарства за локално лечение на рак на шийката на матката и рак на гърдата – заболявания с висока медицинска значимост.

ГЛАВА 2. Хибридни влакнести материали от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид), кватернизиран хитозанов олигозахарид и наночастици от ZnO и Fe₃O₄ с насочено моделиран дизайн. Изследване на тяхната антиоксидантна и фотокаталитична активност.

Замърсяването на водите от промишлени източници е сериозен глобален проблем, за чието решаване хетерогенната фотокатализа предлага реална и изключително перспективна възможност. В тази връзка хибридните полимерни материали с фотокаталитични свойства се разглеждат като особено обещаващо решение. Ето защо, в настоящата глава е предложен оригинален подход за получаване на набор от хибридни влакнести биоматериали с фотокаталитични и магнитни свойства чрез умело комбиниране на различни лесноосъществими и ефективни методи: (i) електроовлажняване на разтвор на поли(L-лактид-съ-D,L-лактид) (PLDLLA) с включени в него наночастици от Fe₃O₄ и (ii) едновременно електроовлажняване на разтвор на PLDLLA или на дисперсия от PLDLLA/Fe₃O₄ и електроразпръскване на дисперсия от ZnO (широко използван за хетерогенна фотокатализа при облъчване с UV-светлина). Включването на наночастици от Fe₃O₄ във влакната от PLDLLA е важна стъпка при разработването на ефективни хибридни материали за пречистване на води, която цели придаване на магнитни свойства на материалите и лесното им отстраняване от средата след експлоатация. Оригинално решение за ефективното фиксиране на електроразпръснатите наночастици от ZnO по повърхността на влакната е добавянето на кватернизиран хитозан (QCOS). Морфологията на материалите е изследвана чрез сканираща електронна микроскопия (SEM) с енергийно дисперсионна рентгенова спектроскопия (EDX) и трансмисионна електронна микроскопия (TEM). Резултатите от термогравиметричния анализ (TGA) и рентгеноструктурния анализ (XRD) показват, че добавянето на неорганичните частици влияе върху термичните свойства и кристалната структура на електроовлажнените

материали. За първи път е оценена антиоксидантната активност на влакнести материали, съдържащи ZnO, чрез DPPH тест за улавяне на свободни радикали, а фотокаталитичната активност е проследена чрез разграждане на моделния органичен замърсител метиленово синьо при облъчване с УВ светлина.

Получаване на хибридни влакнести материали от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид), кватернизиран хитозанов олигозахарид и наночастици от ZnO и Fe₃O₄ с насочено моделиран дизайн

За успешното получаване на хибридните влакнести материали от PLDLLA и наночастиците от Fe₃O₄ и ZnO беше необходимо първо да се подбере подходяща разтворителна система за получаване на предилните разтвори. Затова беше избрана смесената разтворителна система DCM/DMF, като DCM беше предпочетен пред широко прилагания хлороформ поради по-високото му парно налягане, докато DMF се добави с цел увеличаване на проводимостта на предилния разтвор и плътността на заряда на струята, в съответствие с предходни наши изследвания. Проведени бяха предварителни експерименти за намиране на оптималното съотношение DCM/DMF, необходимата концентрация на PLDLLA и оптималните параметри на електроовлажняване (приложено напрежение, скорост на подаване на разтвора и разстояние от иглата до колектора), които оказват влияние върху морфологията на получаваните влакната. На основата на получените резултати бяха определени оптималните условия за формиране на стабилен конус на Тейлър, необходим за образуването на непрекъснати и бездефектни влакна от PLDLLA, а именно: DCM/DMF в съотношение 3:1 (v/v), концентрация на PLDLLA - 5% w/v, приложено напрежение - 20 kV, разстояние от иглата до колектора - 20 cm и скорост на подаване на разтвора - 2 mL/h. Трябва да отбележим, че до момента на получаване на тези материали, не бяха публикувани данни за използването на тази конкретна разтворителна система за електроовлажняване на PLDLLA. При намерените оптимални условия беше получен следния набор от хибридни влакнести материали (Схема 1): материали тип „in“, които ще означаваме с Fe₃O₄-in-PLDLLA и в които наночастиците са включени в обема на влакната; материали тип

„on“, които ще означаваме с ZnO/QCOS-on-PLDLLA и при които наночастиците са разположени по повърхността на влакната; и материали тип „in-on“, които ще означаваме с ZnO/QCOS-on-(Fe₃O₄-in-PLDLLA) и при които наночастиците са разположени както в обема, така и по повърхността на влакната.

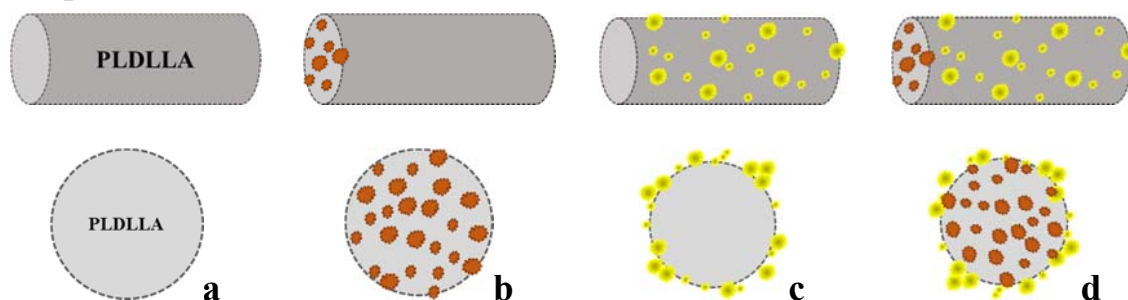


Схема 1. Типове влакнести материали: (a) PLDLLA, (b) Fe₃O₄-in-PLDLLA, (c) ZnO/QCOS-on-PLDLLA и (d) ZnO/QCOS-on-(Fe₃O₄-in-PLDLLA).

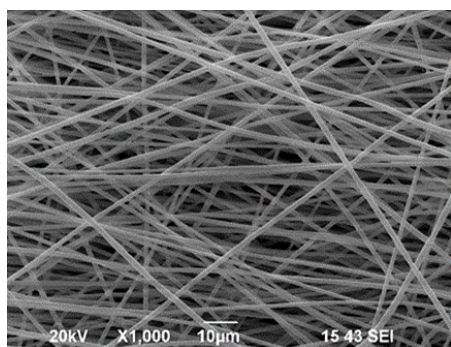
Кватернизираният *N,N,N*-триметил хитозан йодид (QCOS), като биоразградим, биосъвместим и водоразтворим полимер с доказани биологични свойства, беше избран като прилепващ агент за наночастиците от ZnO върху влакната. В допълнение, проведените предварителни експерименти показаха, че QCOS е отличен стабилизиращ агент за дисперсии на наночастиците от ZnO във вода/етанол (7/3 v/v). По този начин, на един етап, беше получен набор от хибридни влакнести материали с насочено моделиран дизайн чрез електроовлажняване на PLDLLA или на негова смес с Fe₃O₄ (Схема 1 a,b), както и чрез едновременно електроовлажняване на PLDLLA или на негова смес с Fe₃O₄ и електроразпръскване на дисперсия от ZnO/QCOS (Схема 1 c,d).

Морфологично, структурно и физикохимично охарактеризиране на получените хибридни влакнести материали

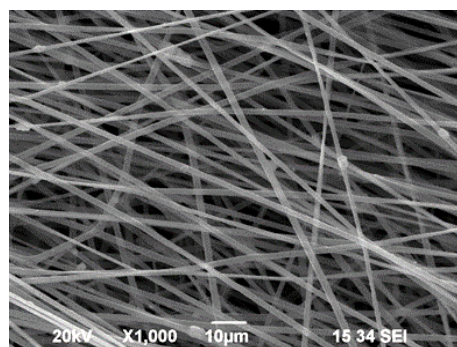
Промените в морфологията на повърхността на получените влакнести материали бяха наблюдавани със SEM (Фигура 10). Както се очакваше, електроовлажняването на PLDLLA доведе до образуване на монолитни, цилиндрични и бездефектни влакна (Фигура 10a). Добавянето на наноразмерния Fe₃O₄ към предияния разтвор на PLDLLA не промени съществено морфологията на електроовлажнените влакна, но се

наблюдават локални удебелявания по тяхната дължина, свързани с агрегирането на част от тези частици по време на процеса електроовлакняване (Фигура 10b). За разлика от електроовлакнените материали, тези, получени чрез комбинирано електроовлакняване и електроразпръскване, демонстрират отчетлива промяна в морфологията – отлагане на частици от ZnO или техни агрегати върху повърхността и по дължината на влакната (Фигура 10c,d). Наблюдава се наличие на грапава повърхност, характерна за влакна с дизайна тип „on“, което се дължи на използвания подход за получаване и е в съответствие с предходни наши проучвания.

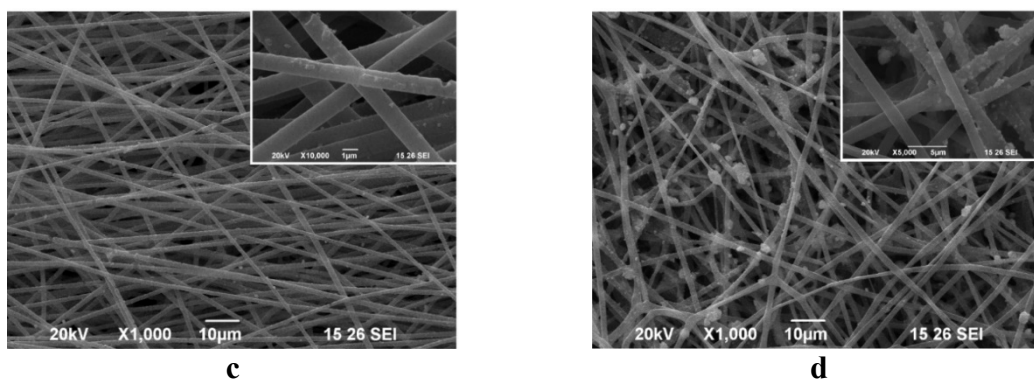
От SEM микрографиите бяха измерени средните диаметри на влакната и определено тяхното разпределение. Средните диаметри на PLDLLA и на ZnO/QCOS-on-PLDLLA влакната бяха съответно $1,12 \pm 0,13 \mu\text{m}$ и $1,30 \pm 0,17 \mu\text{m}$. Както се очакваше, диаметрите на Fe_3O_4 -in-PLDLLA и на ZnO/QCOS-on-(Fe_3O_4 -in-PLDLLA) влакната са по-големи – съответно $1,52 \pm 0,25 \mu\text{m}$ и $1,53 \pm 0,15 \mu\text{m}$. Очевидно добавянето на Fe_3O_4 към PLDLLA води до умерено увеличение на средния диаметър. Получените SEM резултати потвърждават предложеното схематично представяне на различните видове материали и показват, че влакнести материали с насочено моделиран дизайн тип „in“, „on“ и „in-on“ могат да бъдат успешно получени едноетапно чрез електроовлакняване или комбинирането му с електроразпръскване (Схема 1).



a



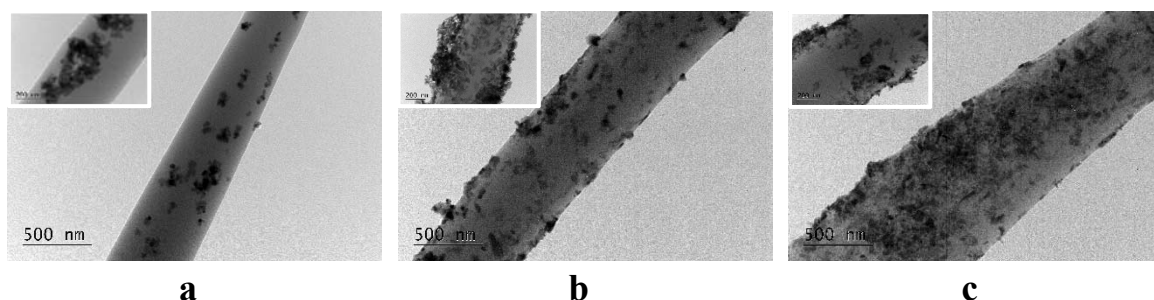
b



Фигура 10. SEM микрографии (a-d) на влакната от: PLDLLA (a), Fe_3O_4 -in-PLDLLA (b), ZnO/QCOS-on-PLDLLA (c) и ZnO/QCOS-on-(Fe_3O_4 -in-PLDLLA) (d).

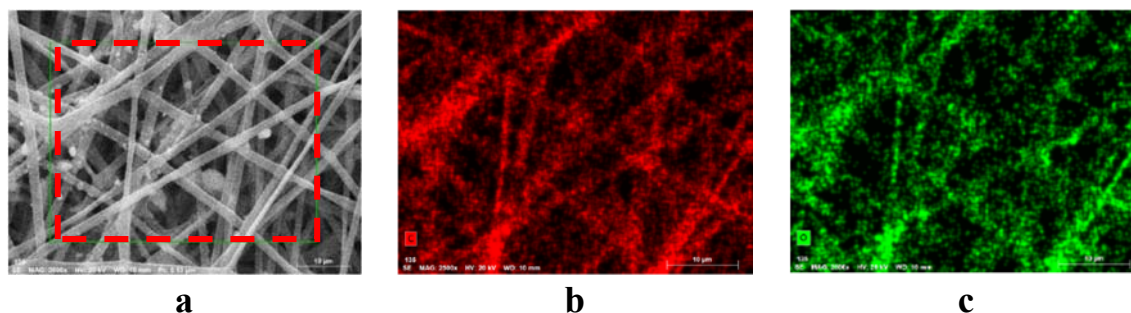
Разпределението на частиците от Fe_3O_4 и ZnO беше наблюдавано с TEM (Фигура 11). Вижда се, че доброто хомогенизиране на частиците Fe_3O_4 в разтвора на PLDLLA води до почти равномерното им разпределение по дължината на влакната при електроовлажняването (Фигура 11a). Въпреки това се наблюдава и образуване на малки агрегати, което най-вероятно се дължи както на бързото изпаряване на разтворителната система по време на електроовлажняването, така и на електростатичното привличане между частиците, независимо от доброто им диспергиране (Фигура 11a). При едновременното електроовлажняване на PLDLLA и електроразпръскване на ZnO/QCOS се наблюдава сравнително равномерно разпределение на частиците ZnO по повърхността на влакната (Фигура 11b). Освен това електроразпръскването води до обогатяване на повърхността на влакната с ZnO и значително увеличава грапавостта. Така се създават множество активни места, които позволяват директно взаимодействие със замърсената среда. Следователно, с нарастване на повърхностната площ на влакната се подобрява и способността им за отстраняване на замърсители. При комбинираното електроовлажняване на Fe_3O_4 /PLDLLA и електроразпръскване на ZnO/QCOS се наблюдава както равномерно разпределение на частици по дължина на влакната, така и разполагането им по повърхността на влакната (Фигура 11c). Както ясно личи, електроразпръскването също води до образуване на агрегати върху повърхността на влакната, подобно на електроовлажняването (Фигура

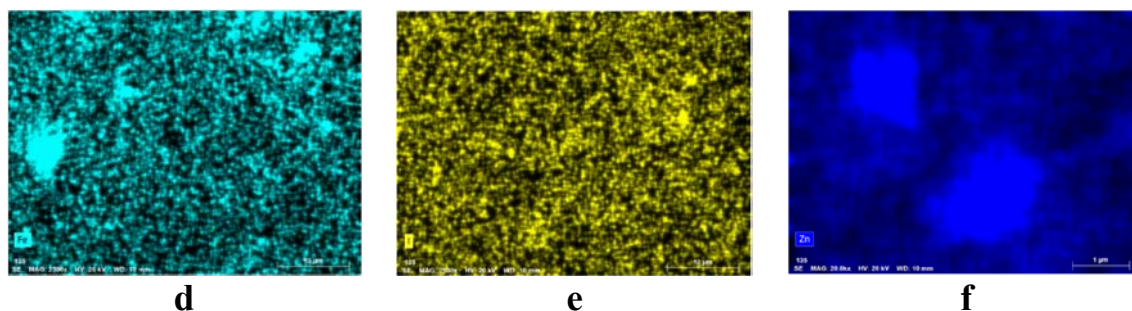
11b,c). В този случай, наред с бързото изпаряване на разтворителя, добавянето на QCOS допринася за слепването и агрегацията на частиците. Тези наблюдения са в съответствие с резултатите, получени от SEM анализа, и потвърждават, че насочено моделираният дизайн на влакнестите материали може да бъде успешно постигнат едноетапно чрез електроовлажняване или комбинирането му с електроразпръскване.



Фигура 11. TEM микрографии на влакнести материали от: Fe_3O_4 -in-PLDLLA (a), ZnO/QCOS-on-PLDLLA (b) и ZnO/QCOS-on-(Fe_3O_4 -in-PLDLLA) (c).

Допълнителна информация за разпределението на частиците от Fe_3O_4 и ZnO в хибридните влакнести материали от ZnO/QCOS-on-(Fe_3O_4 -in-PLDLLA) беше получена чрез енергийно-дисперсионна рентгенова спектроскопия (EDX) (Фигура 12). Картографирането по елементи, извършено с EDX, показва наличието на въглерод, кислород, желязо, йод и цинк (Фигура 12b-f) и е в пълно съответствие с TEM анализа, потвърждавайки отлагането на частиците от Fe_3O_4 и ZnO по дължината на влакната. Прави впечатление, че частиците от Fe_3O_4 са относително добре диспергирани и образуват по-малки агрегати (Фигура 12d) в сравнение с тези от ZnO (Фигура 12f). Това вероятно се дължи на различните процеси, използвани за въвеждането им във влакната – електроовлажняване за Fe_3O_4 и електроразпръскване за ZnO, както и на присъствието на QCOS (Фигура 12e) в дисперсията на ZnO.



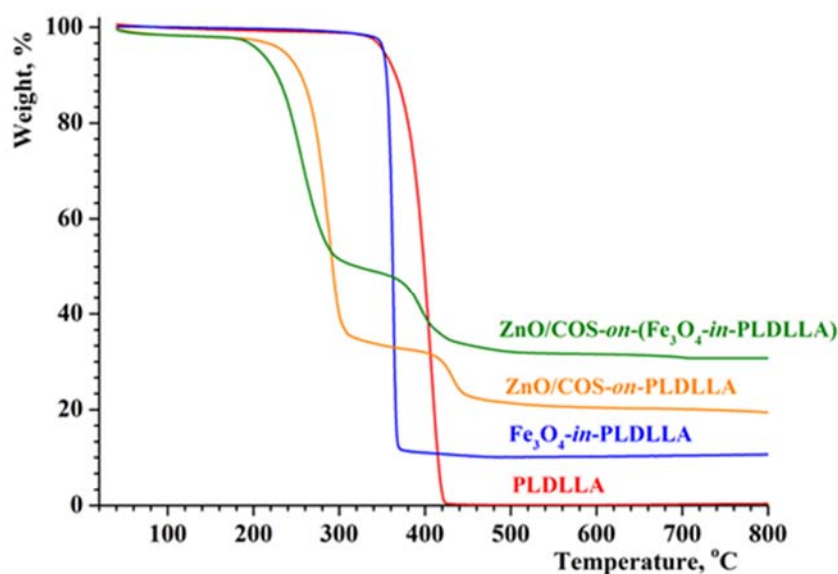


Фигура 12. SEM-EDX анализ на хибридни влакнести материали от ZnO/QCOS-*on*-(Fe₃O₄-*in*-PLDLLA): SEM микрография (a), картографиране по елементи на въглерод (b), кислород (c), желязо (d), йод (e) и цинк (f).

Изследванията на морфологията доказаха наличието на частици от ZnO на повърхността на влакната от PLDLLA и Fe₃O₄-*in*-PLDLLA. Тази целенасочена промяна на повърхността предполага и промяна в омокряемостта на влакнестите материали. Наистина, намерено беше, че контактният ъгъл на омокряне спрямо вода на влакнестите материали намалява в реда: PLDLLA (122.9°) > Fe₃O₄-*in*-PLDLLA (98.6°) > ZnO/QCOS-*on*-PLDLLA (26.2°) > ZnO/QCOS-*on*-(Fe₃O₄-*in*-PLDLLA) (0°). Както се очакваше, ъгълът на омокряне на влакнестите материали от PLDLLA и Fe₃O₄-*in*-PLDLLA беше по-голям от 90°, поради хидрофобността на PLDLLA. За разлика от тях, хибридните влакнести материали тип „*on*“ притежават контактен ъгъл на омокряне под 90°, което доказва тяхната хидрофилност. По-специално, това се дължи на наличието както на цинковия оксид, така и на QCOS. По този начин, омокряемостта на повърхността на влакнестите материали може лесно да бъде насочено модифицирана в една стъпка. Нещо повече, повишената омокряемост подобрява адсорбционния капацитет и по този начин може да се улесни фотокаталитичната активност на получените влакнести материали.

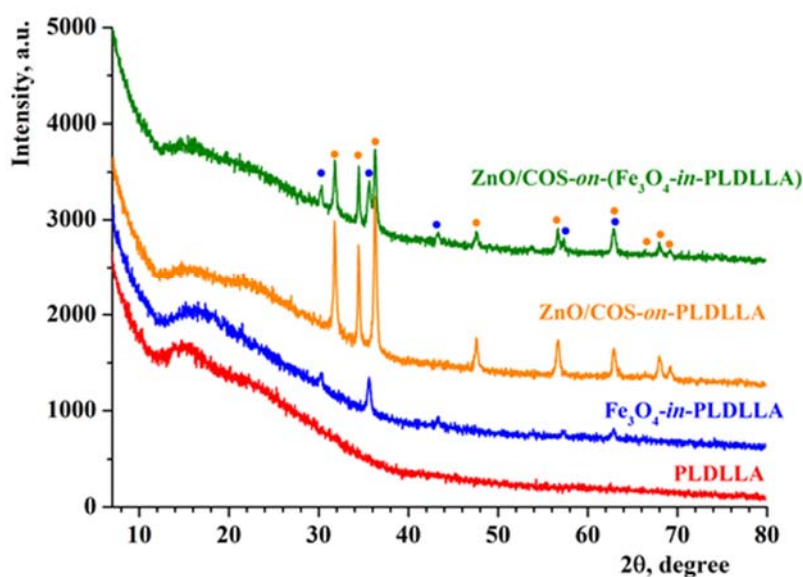
След като бяха установени морфологичните промени и повърхностните свойства на влакнестите материали, беше извършен и термогравиметричен анализ (TGA), с цел да се оцени влиянието на неорганичните частици (Fe₃O₄ и ZnO) върху термичните свойства на влакната от PLDLLA. Допълнително беше определено и количеството на включените неорганични компоненти, с което се потвърди ефективността

на предложения подход. Термичното разлагане на материалите беше изследвано в температурен интервал от стайна температура до 800°C (Фигура 13). Както се вижда, влакнестите материали от PLDLLA и Fe₃O₄-*in*-PLDLLA претърпяват едноетапно разлагане, типично за полилактидите, започващо при 320°C и завършващо при 420°C, с максимуми съответно при 408°C и 363°C. PLDLLA влакната се разграждат напълно, като загубата на тегло достига почти 100% при 800°C, докато при хибридните влакна остава остатък от 9,9%. Този остатък е близък до количеството на Fe₃O₄, добавено в предилния разтвор на PLDLLA, и се дължи на термичната устойчивост на неорганичния компонент, който не се разлага в този температурен диапазон. Материалите от ZnO/QCOS-*on*-PLDLLA и ZnO/QCOS-*on*-(Fe₃O₄-*in*-PLDLLA) показват двуетапно разлагане. Първият етап започва при 200°C и приключва при 320°C със значителна загуба на тегло, а вторият завършва при 480°C (Фигура 13). Вероятно етапите на разграждане на PLDLLA и на QCOS се припокриват, като съответните загуби на тегло на PLDLLA и на QCOS са близки до теоретичните им стойности. Също така се наблюдава и термично разграждане, характерно за полилактиди в присъствие на цинкови съединения, което съответства на съобщеното в литературата. Разлагането на материалите ZnO/QCOS-*on*-PLDLLA завършва с остатък от 18,2%, докато при ZnO/QCOS-*on*-(Fe₃O₄-*in*-PLDLLA) той достига 28,1% (Фигура 13). Тези остатъци най-вероятно съответстват на количествата ZnO и Fe₃O₄, тъй като са близки до първоначално добавените количества в дисперсията и предилния разтвор. Допълнително ZnO и Fe₃O₄ не се разлагат до 800°C. Намалената термична стабилност на PLDLLA във влакнестите материали тип „*on*“ вероятно се дължи както на известната ниска термична устойчивост на QCOS, така и на наличието на ZnO.



Фигура 13. TGA криви на влакнести материали от PLLDLA, Fe₃O₄-in-PLDLLA, ZnO/QCOS-on-PLDLLA и ZnO/QCOS-on-(Fe₃O₄-in-PLDLLA).

В допълнение, фазовите структури на влакнестите материали бяха допълнително анализирани и чрез рентгеноструктурен анализ (XRD). В интервала от малки ъгли (Фигура 14), наличието на аморфното хало при всички влакнести материали се свързва с аморфната структура на PLLDLA. По-специално, бързото втвърдяване на влакната по време на процеса на електроовлажняване ограничава пространственото разположение на опънатите полимерни вериги в подредени кристални структури. Рентгенограмите на хибридните материали от Fe₃O₄-in-PLDLLA, ZnO/QCOS-on-PLDLLA и ZnO/QCOS-on-(Fe₃O₄-in-PLDLLA) потвърждават наличието на кубична фаза на магнетита (PDF 89-0691) и хексагонална фаза на цинковия оксид (PDF 36-1451). Кристалната фаза на Fe₃O₄ е идентифицирана с пикове при 30.3 (220), 35.6 (311), 43.3 (400), 57.1 (511) и 62.8 (440), докато тази на ZnO – с пикове при 31.8 (100), 34.5 (002), 36.3 (101), 47.6 (102), 56.7 (110), 62.9 (103), 66.4 (200), 67.9 (112) и 69.2 (201). Тези ясно дефинирани рефлексии показват, че включването на Fe₃O₄ във влакната и на ZnO върху повърхността на влакната не оказва никакво влияние върху аморфната структура на PLLDLA. Освен това, процесите на електроовлажняване и електроразпръскване не оказват влияние върху кристалността на неорганичните частици.



Фигура 14. Рентгенограми на влакнестите материали от PLLDLA, Fe_3O_4 -in-PLDLLA, ZnO/QCOS-on-PLDLLA и ZnO/QCOS-on-(Fe_3O_4 -in-PLDLLA).

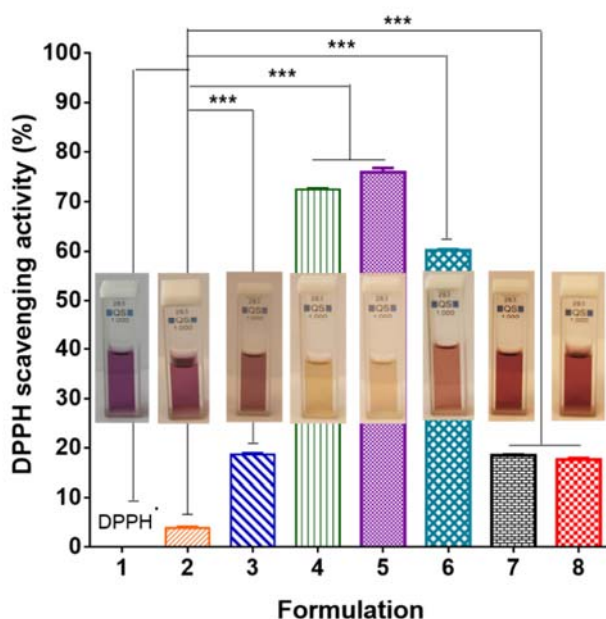
Придаването на магнитни свойства на влакнестите материали чрез добавяне на Fe_3O_4 представлява ефективен подход за лесното им отстраняване от реакционната среда при прилагане на външно магнитно поле. Поради това намагнитването на насищане на хибридните влакнести материали беше измерено с вибрационен магнитометър. Материалите от Fe_3O_4 -in-PLDLLA показват по-добро намагнитване (2.7 emu/g) от материалите от ZnO/QCOS-on-(Fe_3O_4 -in-PLDLLA) (под 1 emu/g), вероятно поради по-малкото количество магнитен материал, включен в тях. Следователно, включеното във влакната от PLLDLA количество Fe_3O_4 е достатъчно за лесното отстраняване на електроовлакнените материали от реакционната среда под действието на постоянен магнит.

Антиоксидантна активност на влакнестите материали

След детайлното охарактеризиране на морфологията, структурата и физикохимичните свойства на хибридните влакнести материали беше изследван и биологично релевантният потенциал на материалите чрез оценка на тяхната антиоксидантна активност. Добре известно е, че ZnO и QCOS притежават антиоксидантна активност, което предполага наличие на такава и в получените влакнести материали. За първи път беше

изследвана антиоксидантната активност на електроовлакнени материали с включен ZnO и насочено моделиран дизайн, използвайки DPPH теста за улавяне на радикали.

Установено беше, че материалите с дизайн тип „on“ показват по-висока антиоксидантна активност в сравнение с тази на материалите тип „in“ (Фигура 15). След 30 минути време на контакт, влакнестите материали ZnO/QCOS-on-(Fe₃O₄-in-PLDLLA) и ZnO/QCOS-on-PLDLLA показват съответно $76.0 \pm 0.8 \%$ и $72.5 \pm 0.2 \%$ капацитет за улавяне на DPPH•. Както се вижда на Фигура 15, ZnO показва по-висока активност за улавяне на свободни радикали ($60.2 \pm 0.2 \%$) в сравнение с Fe₃O₄ ($18.5 \pm 0.1 \%$) и QCOS ($17.6 \pm 0.3 \%$). За разлика от тях, влакнестите материали от PLDLLA показват най-ниската антиоксидантна активност ($3.9 \pm 0.2\%$), докато включването на Fe₃O₄ във влакната води до слабо повишаване на тяхната активност, доближавайки се до тази на чистия Fe₃O₄ (Фигура 15). Очевидно, отложените върху повърхността на влакната частици от ZnO действат като акцептори на електрони, които улавят DPPH радикалите. От друга страна, добавянето на QCOS проявява синергичен ефект върху действието на ZnO, което допълнително повишава общата антиоксидантна активност и подобрява ефективността на влакнестите материали с дизайн тип „on“.



Фигура 15. Антиоксидантна активност на влакнести материали: PLDLLA (2), Fe₃O₄-in-PLDLLA (3), ZnO/QCOS-on-PLDLLA (4) и

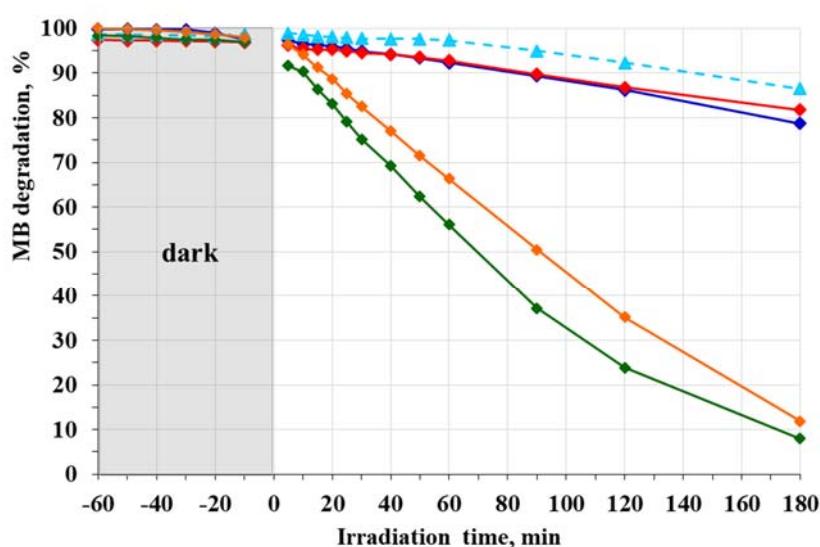
ZnO/QCOS-*on*-(Fe₃O₄-*in*-PLDLLA) (5). Контроли: разтвор на DPPH•(1), ZnO (6), Fe₃O₄ (7) и QCOS (8). ****p* < 0.001. Показани са и дигитални снимки на съответните разтвори.

Фотокаталитична активност и възможност за многократно използване на влакнестите материали

В допълнение към голямата повърхностна площ, омокряемостта, термичните и магнитни свойства, както и антиоксидантната активност, получените електроовлаknени хибридни материали демонстрират висок потенциал за приложение като екологични филтриращи мембрани при дългосрочно и широкомащабно пречистване на води. Освен това, насочено моделираният дизайн и високата фотокаталитична активност на включения в тях ZnO предполагат, че тези материали ще притежават и значителна фотокаталитична активност.

Сред органичните багрила, метиленовото синьо (MB) е токсично, канцерогенно и небioresградимо съединение и е един от най-разпространените органични замърсители във водите. Поради това фотокаталитичната активност на влакнестите материали беше изследвана при облъчване с УВ светлина спрямо MB като моделен органичен замърсител. Разграждането на MB беше проследено спектрофотометрично при 662 nm, чрез отчитане на намаляването на абсорбцията като функция от времето на облъчване. Зависимостта на фотокаталитичното разграждане на MB от времето на облъчване за различните видове влакнести материали е показана на Фигура 16. Вижда се, че след 3 часа на облъчване само 13% от MB (празна проба) се разграждат, докато в присъствието на влакна от PLDLLA или на Fe₃O₄-*in*-PLDLLA, разграждането достига съответно 18% и 21%. Тези резултати показват, че УВ облъчването води до саморазграждане на MB, което обаче протича с много ниска скорост. Вероятно ниската степен на разграждане на багрилото в присъствие на материалите с дизайн тип "*in*" се дължи на неговата адсорбция. Трябва да се отбележи, че разграждането на MB на тъмно за 1 час в присъствието на влакнестите материали е подобно на това на празната проба (под 5%), което означава, че абсорбцията на MB върху влакнестите материали е ограничена след достигане на равновесието на

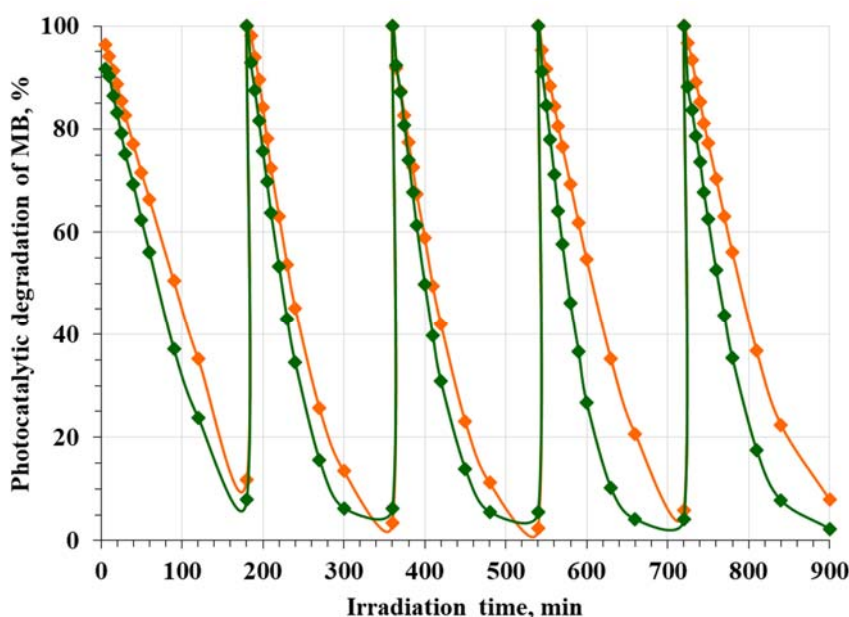
адсорбция-десорбция (Фигура 16). При облъчване в присъствието на влакнестите материали от ZnO/QCOS-*on*-PLDLLA и ZnO/QCOS-*on*-(Fe₃O₄-*in*-PLDLLA) се разграждат съответно 50% от MB за 70 и 90 минути. След 3 часа облъчване тези материали разграждат съответно 88% и 92% от MB, което показва почти пълно разграждане на багрилото в присъствие на материали с дизайн тип „*on*“ (Фигура 16). Това демонстрира, че отлагането на фотокатализатора ZnO върху повърхността на влакната значително повишава фотокаталитичната активност и че ZnO запазва своята функционалност след електроразпръскването.



Фигура 16. Фотокаталитично разграждане на MB при 662 nm в присъствие на: PLDLLA (червена линия); Fe₃O₄-*in*-PLDLLA (тъмносиня линия); ZnO/QCOS-*on*-PLDLLA (оранжева линия) и ZnO/QCOS-*on*-(Fe₃O₄-*in*-PLDLLA) (зелена линия). Пазна проба – разтвор на MB (светлосиня пунктирна линия).

Беше оценена и възможността за многократно използване на влакнестите материали, като това е един от ключовите критерии за определяне на тяхната приложимост в широкомащабни системи за пречистване на води. Изследването се проведе чрез измерване на фотокаталитичната активност на влакнестите материали по време на пет последователни цикъла на облъчване. Резултатите показват, че влакнестите материали ZnO/QCOS-*on*-PLDLLA и ZnO/QCOS-*on*-(Fe₃O₄-*in*-PLDLLA) показват отлична способност за многократно използване (Фигура 17). След пет цикъла на облъчване тези материали запазват почти

напълно своята фотокаталитична активност, като в края на петия цикъл в тяхно присъствие се разграждат над 90% от МВ. Трябва да се отбележи, че след теста за многократно използване хибридните влакнести материали запазват високата си стабилност и не проявяват видими структурни промени: те запазват формата и влакнестата си структура, а загубите на тегло са пренебрежимо малки, което подчертава тяхната механична и химична устойчивост.



Фигура 17. Фотокаталитично разграждане на МВ по време на пет последователни цикъла на облъчване в присъствие на: ZnO/QCOS-on-PLDLLA (оранжева линия) и ZnO/QCOS-on-(Fe₃O₄-in-PLDLLA) (зелена линия).

В заключение, резултатите от **Глава 2** показват, че е предложен лесен и ефективен едноетапен подход за получаване на функционални и екологични хибридни влакнести материали от PLDLLA. Частиците от Fe₃O₄ бяха включени във влакната от PLDLLA с цел придаване на магнитни свойства, а отлагането на частиците от ZnO върху повърхността на влакната чрез електроразпръскване осигури техните антиоксидантни и фотокаталитични свойства. Показано беше, че неорганичните частици оказват влияние върху морфологията, омокряемостта, термичните свойства и кристалността на влакнестите материали. Частиците от ZnO върху повърхността на влакната подобряват тяхната омокряемост, но слабо намаляват термичната стабилност на материалите с дизайн тип

„он“. От друга страна, включването на Fe_3O_4 във влакната и на ZnO върху повърхността на влакната не оказва влияние върху аморфната структура на PLDLLA. Влакнестите материали с насочено моделиран дизайн тип „он“ притежават висока антиоксидантна активност с капацитет на улавяне на $\text{DPPH}\cdot$ над 70% за 30 минути. Тези материали показват висока фотокаталитична активност и стабилност, като разграждат моделния органичен замърсител метиленово синьо дори след пет последователни цикъла на облъчване, достигайки над 90% разграждане в края на петия цикъл. Следователно, получените хибридни електроовлаknени материали от PLDLLA, Fe_3O_4 и ZnO са перспективни кандидати за изработване на екологични филтри и материали за пречистване на води, като позволяват ефективно отстраняване на органични замърсители и багрила чрез хетерогенна фотокатализа.

IV. ИЗВОДИ

Получени са нови хибридни влакнести материали от PLDLLA и производни на хитозана с насочено моделиран дизайн и са демонстрирани някои възможности за тяхното потенциално приложение. От проведените изследвания и получените резултати могат да се формулират следните основни изводи:

1. За първи път чрез електроовлаknяване са получени влакнести материали от PLDLLA и Шифовата база на хитозана с 8-хидрокси-хинолин-2-карбоксалдехид (Ch-8Q), както и техни комплекси с биологично значимите Cu^{2+} и Fe^{3+} йони.

2. Доказано е, че включването на Ch-8Q и комплексообразуването с Cu^{2+} и Fe^{3+} йони придават на влакнестите материали бактерицидна активност, а влакнестите материали от PLDLLA и Ch-8Q имат и изразен антипролиферативен ефект спрямо човешки HeLa (рак на шийката на матката) и MCF-7 (рак на гърдата) клетки.

3. Новите влакнести материали от PLDLLA/Ch-8Q и техните комплекси с Cu^{2+} и Fe^{3+} са подходящи кандидати за приложение в биомедицината като материали за лечение на рани и като ефективни средства за локално лечение на ракови заболявания.

4. Получен е набор от хибридни влакнести материали от PLDLLA, Fe_3O_4 и ZnO с насочено моделиран дизайн чрез електроовлаknяване или комбинирането му с електроразпръскване.

5. Доказано е, че включеният Fe_3O_4 във влакната от PLDLLA им придава магнитни свойства, а ZnO , фиксиран по повърхността на PLDLLA влакната – антиоксидантни и фотокаталитични свойства.

6. Новите хибридни влакнести материали от PLDLLA, Fe_3O_4 и ZnO могат да намерят потенциално приложение като материали за пречистване на води от органични замърсители и багрила чрез хетерогенна фотокатализа.

V. НАУЧНИ ПРИНОСИ И БЪДЕЩИ НАСОКИ

Важен научен принос на дисертационната работа е синтезираната за първи път Шифова база на хитозана с 8-хидроксихинолин-2-карбоксалдехид, което открива нови възможности за модифициране на биополимери с насочена функционалност.

Принос с приложна насоченост е разработеният оригинален подход за получаване на набор от хибридни влакнести материали от PLDLLA и производни на хитозана чрез комбиниране на електроовлажняването с различни техники за структурно и функционално моделиране – електроовлажняване и последващо комплексообразуване с Cu^{2+} и Fe^{3+} , както и комбинирането му с електроразпръскване на ZnO .

В зависимост от състава и дизайна е показано, че хибридните влакнести материали от PLDLLA и производни на хитозана са обещаващи кандидати за приложение в биомедицината и при фотокаталитичното пречистване на води, съдържащи органични замърсители.

Въз основа на постигнатото, **бъдещите изследвания** ще се фокусират върху електроовлажняването на полимери от възобновяеми източници и въвеждането на функционални добавки за придаване на фотокаталитични и адсорбционни свойства. Целта е създаването на нови екологосъобразни материали за пречистване на води от органични замърсители и тежки метали. Паралелно ще се разработват биосъвместими и биоразградими влакнести материали чрез включване на биологично активни вещества или наночастици с антимикробно действие. По този начин ще бъдат развити иновативни влакнести системи за нуждите на биомедицината и устойчивото опазване на околната среда.

VI. СПИСЪК НА ПУБЛИКАЦИИТЕ И НАУЧНИТЕ СЪОБЩЕНИЯ, ОТРАЗЯВАЩИ РЕЗУЛТАТИТЕ ОТ ДИСЕРТАЦИЯТА

ПУБЛИКАЦИИ

[II 1] Ignatova, M., Anastasova, I., Manolova, N., Rashkov, I., Markova, N., Kukeva, R., Stoyanova, R., Georgieva, A., Toshkova, R. (2022). Bio-based electrospun fibers from chitosan Schiff base and polylactide and their Cu^{2+} and Fe^{3+} complexes: preparation and antibacterial and anticancer activities. *Polymers*, 14, 5002; Q1 (WoS), IF₂₀₂₂ 5,0.

[II 2] Anastasova, I., Tsekova, P., Ignatova, M., Stoilova, O. (2024). Imparting photocatalytic and antioxidant properties to electrospun poly(L-lactide-co-D,L-lactide) materials. *Polymers*, 16, 1814; Q1 (WoS), IF₂₀₂₄ 4,9.

ЗАБЕЛЯЗАНИ ЦИТАТИ

[II 1] Ignatova, M., Anastasova, I., Manolova, N., Rashkov, I., Markova, N., Kukeva, R., Stoyanova, R., Georgieva, A., Toshkova, R. (2022). Bio-based electrospun fibers from chitosan Schiff base and polylactide and their Cu^{2+} and Fe^{3+} complexes: preparation and antibacterial and anticancer activities. *Polymers*, 14, 5002; Q1 (WoS), IF₂₀₂₂ 5,0; **забелязани 12 цитата:**

1. **Ragheb**, M.A., Salem, M.E., Hamed, A.A., Abdelhamid, I.A., Ali, H.A., Abdel-Megid, M., Elgamal, A.M. (2025). New isatin-chitosan Schiff base hybrids: Tri-functional bioactives for antimicrobial, anticancer, and antioxidant therapies supported by in silico docking and ADMET studies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 331, 148298.
2. **Zheng**, L., Zhu, Z., Pan, L., Zhong, L., Xiao, S., Zhao, C., Liu, Y., Xu, J., Zhang, Y. (2025). Polysaccharides and proteins as natural polymers for electrospun wound dressings: A review of healing potential, challenges, and crosslinking strategies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 320, 145960.
3. **Zou**, Q., Wu, Z., Cui, N., Zhang, Z., Wang, G. (2025). Research Progress in the Preparation and Application of Chitosan-Based Antimicrobial Fiber Materials. *Acta Chimica Sinica*, 83(3), 287 – 298.
4. **Samokhin**, Y., Varava, Y., Diedkova, K., Yanko, I., Korniienko, V., Husak, Y., Iatsunskyi, I., Grebnevs, V., Bērtiņš, M., Banasiuk, R., Korniienko, V., Ramanaviciute, A., Pogorielov, M., Ramanavičius, A. (2025). Electrospun Chitosan/Polylactic Acid Nanofibers with Silver Nanoparticles: Structure, Antibacterial, and Cytotoxic Properties. *ACS Applied Bio Materials*, 8(2), 1027 – 1037.
5. **Chai**, Y., Luo, X., Lin, K., Zhang, H., Zhao, H., Cai, H., Hao, L. (2025). Anti-tumour and Angiogenic Properties of Cu^{2+} Coatings on Medical

Mg-6Zn Alloy Prepared by Micro-arc oxidation. *Surface Technology*, 54(4), 201 – 210.

6. **Gangadhar**, L., Sana, S. S., Mishra, V., Venkatesan, R., Kim, S.-C., Al-Tabakha, M. M. (2025). Recent Trends in Biomedical Applications of Cu₂MX₄-Based Nanocomposites: An Updated Review. *International Journal of Nanomedicine*, 20, 11895 – 11939.
7. **Kanwal**, S., Bibi, S., Haleem, R., Waqar, K., Mir, S., Maalik, A., Sabahat, S., Hassan, S., Awwad, N.S., Ibrahim, H.A., Alturaifi, H.A. (2024). Functional potential of chitosan-metal nanostructures: Recent developments and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 282, 136715.
8. **Edo**, G.I., Yousif, E., Al-Mashhadani, M.H. (2024). Modified chitosan: Insight on biomedical and industrial applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 275, 133526.
9. **Korniienko**, V., Husak, Y., Diedkova, K., Varava, Y., Grebnevs, V., Pogorielova, O., Bērtiņš, M., Korniienko, V., Zandersone, B., Ramanaviciene, A., Ramanavicius, A., Pogorielov, M. (2024). Antibacterial Potential and Biocompatibility of Chitosan/Polycaprolactone Nanofibrous Membranes Incorporated with Silver Nanoparticles. *Polymers*, 16(12), 1729.
10. **Kuang**, G., Lin, X., Li, J., Sun, W., Zhang, Q., Zhao, Y. (2024). Electrospun nanofibers-derived functional scaffolds for cancer therapy. *Chemical Engineering Journal*, 489, 151253.
11. **Yang**, Y., Zhang, R., Liang, Z., Guo, J., Chen, B., Zhou, S., Yu, D. (2024). Application of Electrospun Drug-Loaded Nanofibers in Cancer Therapy. *Polymers*, 16(4), 504.
12. **Samokhin**, Y., Varava, Y., Diedkova, K., Yanko, I., Husak, Y., Radwan-Pragłowska, J., Pogorielova, O., Janus, Ł., Pogorielov, M., Korniienko, V. (2023). Fabrication and Characterization of Electrospun Chitosan/Polylactic Acid (CH/PLA) Nanofiber Scaffolds for Biomedical Application. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(8), 414.
13. **Iacopetta**, D., Ceramella, J., Catalano, A., Mariconda, A., Giuzio, F., Saturnino, C., Longo, P., Sinicropi, M.S. (2023). Metal Complexes with Schiff Bases as Antimicrobials and Catalysts. *Inorganics*, 11(8), 320.

[II 2] Anastasova, I., Tsekova, P., Ignatova, M., Stoilova, O. (2024). Imparting photocatalytic and antioxidant properties to electrospun poly(L-lactide-co-D,L-lactide) materials. *Polymers*, 16, 1814; Q1 (WoS), IF₂₀₂₄ 4,9; **забелязан 1 цитат:**

1. **Palanisamy**, G., Bhosale, M., Magdum, S. S., Thangarasu, S., Oh, T. H. (2024). Hybridization of polymer-encapsulated MoS₂-ZnO nanostructures as organic–inorganic polymer films for sonocatalytic-induced dye degradation. *Polymers*, 16(15), 2213.

НАУЧНИ СЪОБЩЕНИЯ (*името на докладващия автор е подчертано*):

Устни съобщения

[УС 1] I. Anastasova, M. Ignatova, N. Manolova, I. Rashkov, N. Markova, A. Georgieva, R. Toshkova, Bio-based electrospun fibers from chitosan Schiff base and polylactide and their antibacterial and anticancer activities, 4th Interdisciplinary PhD Forum with international Participation, 16 – 19 май 2023, Сандански, България.

[УС 2] И. Анастасова, М. Игнатова, Н. Манолова, И. Рашков, Н. Маркова, А. Георгиева, Р. Тошкова, Влакнести материали от Шифова база на хитозана и полилактид с антибактериална и противоракова активност, Трето национално лятно училище по природни продукти с приложение в медицината, 27 юни – 02 юли 2023, Бургас, България.

[УС 3] I. Anastasova, M. Ignatova, N. Manolova, I. Rashkov, N. Markova, A. Georgieva, R. Toshkova, Innovative antibacterial and anticancer electrospun non-woven textile from chitosan Schiff base and polylactide and its complexes with Cu^{2+} and Fe^{3+} , XXV Национална текстилна конференция с международно участие: Традиции и иновации в текстила и облеклото, 26 -28 октомври 2023, Благоевград, България.

[УС 4] И. Анастасова, М. Игнатова, Н. Манолова, И. Рашков, Н. Маркова, А. Георгиева, Р. Тошкова, Влакнести материали от Шифова база на хитозана и полилактид с антибактериална и противоракова активност, представяне пред колоквиума на Института по полимери - БАН, 10 ноември 2023, София, България.

[УС 5] I. Anastasova, P. Tsekova, M. Ignatova, O. Stoilova, Electrospun hybrid materials based on poly(L-lactide-co-D,L-lactide) with antioxidant activity, 5th Interdisciplinary PhD Forum with international Participation, 16 – 19 април 2024, Кюстендил, България.

[УС 6] И. Анастасова, П. Цекова, М. Игнатова, О. Стоилова. Хибридни влакнести материали от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид) с антиоксидантна и фотокаталитична активност, XVII Пролетен семинар “Интердисциплинарна химия“, 23 - 25 април 2024, София, България.

[УС 7] И. Анастасова, П. Цекова, М. Игнатова, О. Стоилова. Дизайн на хибридни влакнести материали от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид) за фотокаталитично пречистване на води, Петнадесета научна сесия „Младите учени в света на полимерите“, 6 юни 2024, Институт по полимери - БАН, София, България.

[УС 8] I. Anastasova, P. Tsekova, M. Ignatova, O. Stoilova, Imparting photocatalytic and antioxidant properties to electrospun poly(L-lactide-co-D,L-lactide) materials, XXVI Национална текстилна конференция с

международно участие: Традиции и иновации в текстила и облеклото, 17 - 19 октомври 2024, Копривщица, България.

[УС 9] I. Anastasova, P. Tsekova, M. Ignatova, O. Stoilova, Hybrid electrospun poly(L-lactide-co-D,L-lactide) materials with antioxidant and photocatalytic properties, International seminar on polymer materials in environmental and climate protection, 17 юли 2025, Забже, Полша.

Постерни съобщения:

[ПС 1] И. Анастасова, М. Игнатова, И. Рашков, Н. Манолова, А. Георгиева, Р. Тошкова, Нови електроовлаknени материали от полимлечна киселина и производно на хитозана и 8-хидроксихинолина: Получаване, охарактеризиране и противотуморна активност, Тринадесета научна сесия „Младите учени в света на полимерите“, 2 юни 2022, Институт по полимери - БАН, София, България.

[ПС 2] I. Anastasova, M. Ignatova, I. Rashkov, N. Manolova, A. Georgieva, R. Toshkova, Novel antitumor electrospun materials from poly(lactic acid) and derivative of chitosan and 8-hydroxyquinoline, 20-ти Национален симпозиум „Полимери 2022“ с международно участие, 5 - 8 юли 2022, Веллингград, България.

[ПС 3] И. Анастасова, М. Игнатова, Н. Манолова, И. Рашков, Н. Маркова, Хибридни влакнести материали от Шифова база на хитозан и полилактид и техни метални комплекси с антибактериална активност, Четиринадесета научна сесия „Младите учени в света на полимерите“, 1 юни 2023, Институт по полимери - БАН, София, България.

[ПС 4] I. Anastasova, P. Tsekova, M. Ignatova, O. Stoilova, Design of electrospun hybrid materials based on poly(L-lactide-co-D,L-lactide) for antioxidant and photocatalytic performance, “NATO ASI Summer School for students from NATO countries and NATO Partner countries (Nanomaterials and Nanoarchitectures II. Composite Materials and their Applications)”, 28 юни – 05 юли 2024, Смоленице, Словакия.

[ПС 5] И. Анастасова, П. Цекова, М. Игнатова, О. Стоилова, Дизайн на електроовлаknени хибридни материали от поли(L-лактид-съ-D,L-лактид) с антиоксидантна и фотокаталитична активност, Шестнадесета научна сесия „Младите учени в света на полимерите“, 4 март 2025, Институт по полимери - БАН, София, България.

[ПС 6] I. Anastasova, P. Tsekova, M. Ignatova, O. Stoilova, Hybrid electrospun poly(L-co-D,L-lactide) materials with antioxidant and photocatalytic properties, 21-ви Национален симпозиум „Полимери 2025“ с международно участие, 29 юни - 2 юли 2025, Казанлък, България.

НАГРАДИ

За отличен устен доклад на 4^{ти} Интердисциплинарен докторантски форум с международно участие, Сандански, май 2023 година

За най-добър постер на Четиринадесета научна сесия „Младите учени в света на полимерите“, организирана от Института по полимери – БАН, София, юни 2023 година

Специална награда на Трето национално лятно училище по природни продукти с приложение в медицината, Бургас, юни 2023 година

Награда “Проф. Иван Шопов” за изявен млад учен в областта на полимерите, март 2025 година

УЧАСТИЕ В ДОГОВОРИ

Център за компетентност: **BG05M2OP001-1.002-0012-C01**, Устойчиво оползотворяване на био-ресурси и отпадъци от лечебни и ароматични растения за иновативни биоактивни продукти, финансиран от Оперативна програма „Наука и образование за интелигентен растеж“, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейските структурни и инвестиционни фондове.

Национален център за върхови постижения мехатроника и чисти технологии: **BG16RFPR002-1.014-0006**, финансиран от Програма "Научни изследвания, иновации и дигитализация за интелигентна трансформация" 2021-2027, съфинансирана от Европейския съюз чрез Европейския фонд за регионално развитие.