

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Майкович Ольги Володимирівни

«Гідрогелеві желатинвмісні матеріали для медичних застосувань: синтез та дослідження», представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія» з галузі знань 10 «Природничі науки»

1. Актуальність теми роботи

Наукові розробки у сучасній біомедицині, тканинній інженерії, регенеративній медицині тісно пов'язані з новими досягненнями у хімії полімерів. Створення нових полімерних систем та полімерних матеріалів для застосування у вищезначених галузях медицини та надання їм потрібних властивостей є важливим питанням у хімії високомолекулярних сполук. Особливий інтерес для створення нових матеріалів для біомедицини представляють полімери природнього походження, такі як полісахариди або білкові речовини. Такі біополімери є біодеградабельними, не токсичними, мають такі важливі властивості, як гідрофільність, поліфункціональні, джерела їх добування невичерпні.

Широке застосування у медицині, біомедицині, фармації, тканинній інженерії знаходять гідрогелеві матеріали, в основі синтезу яких лежить здатність природних біополімерів утворювати гідрофільні матриці. Варіювання біополімерів та комбінування їхніх властивостей, модифікація макромолекул дозволяє отримувати гідрогелі, які можуть бути використані як носії лікарських препаратів, для імплантації, як перев'язувальний матеріал, як матриці у тканинній інженерії тощо.

Важливим питанням для науковців, що створюють нові гідрогелеві матеріали є покращення механічних властивостей гідрогелів, структурування полімерної матриці, розширення їхніх біологічних функцій та розроблення нових сучасних методів їх одержання.

Одним з цікавих біополімерів є полімер білкової природи – желатин. Обсяги виробництва желатину у світі великі та неперервно зростають. Желатинові гідрогелі добре інтегруються з клітинними компонентами, що дозволяє створювати біоміметичні структури, які імітують природну тканину.

У світі активно ведуться наукові пошуки нових ефективних методів структурування желатину синтетичними та природніми реагентами. Структурована

желатинова матриця дозволить створювати гідрогелеві матеріали з хорошою механічною міцністю, керованою здатністю сорбувати та вивільняти лікарські та інші біологічно активні речовини. Це дозволить використовувати гідрогелеві матеріали для лікування різноманітних захворювань і патологій, створення імплантів різної природи тощо.

Також цікавим є дослідження питання створення гідрогелевих матеріалів на основі комбінування желатину та інших біополімерів, зокрема, альгінатів.

З огляду на проблеми, що постають перед науковцями у питаннях створення нових біодеградабельних, доступних, нетоксичних матеріалів для біомедицини, фармації та тканинної інженерії розроблення нових гідрогелевих матеріалів на основі желатину з покращеними фізико-механічними властивостями та їх дослідження є важливим та актуальним завданням.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертаційної роботи відповідає науковому напрямку кафедри органічної хімії Національного університету «Львівська політехніка»: «Розробка реакційноздатних і ініціюючих систем для функціоналізації (пероксидації) міжфазних поверхонь та формування на них спеціальних полімерних наношарів і конструювання наповнених композитів та біосумісних, біодеградабельних полімерних матеріалів, модифікації природних речовин», а також створення нових реакційноздатних полімерних матеріалів спеціального призначення. Дисертація виконана в межах науково-дослідних робіт:

«Розробка гідрогелевих засобів надання невідкладної допомоги при проникних пораненнях черевної порожнини в межах створення центру досліджень нових полімерних матеріалів для медицини», конкурс 2023.05 «Дослідницькі інфраструктури для проведення передових наукових досліджень», № держреєстрації 0124U003832, НФДУ Договором 267/0015 від 01.08.2024 року;

«Створення гідрогелевих засобів для воєнно-польової медицини і медицини катастроф та технології їх виробництва» (2021-2022), № держреєстрації 0121U109521, ДБ/СОРБ;

«Синтез магніточутливих модифікованих дисперсій гідрогелів з частинками типу ядро-оболонка як носіїв для біомедичних застосувань» (2020), № держреєстрації

0120U103816;

«Функціональна мімікрія людської шкіри прищепленими до полімерної поверхні гібридними гідрогелями біополімерів для лікування її ушкоджень великої площі» (2018-2020), № держреєстрації 0118U000262, ДБ/Колаген;

«Синтез магніточутливих модифікованих дисперсій гідрогелів з частинками типу ядро-оболонка як носіїв для біомедичних застосувань» (2019), № держреєстрації 0119U101956;

Авторка дисертаційної роботи є однією з виконавиць вказаних науково-дослідних робіт.

Також частина експериментального дослідження була проведена здобувачкою під час стажувань та за фінансової підтримки міжнародних програм:

Січень-липень 2022 – академічна мобільність ERASMUS+ MIC KA 171 для проведення досліджень за тематикою дисертації в Інституті молекул і матеріалів (IMMM) у м. Ле Ман (Франція), *6 місяців*.

Березень-листопад 2023 – отримала грантову підтримку у рамках програми «Дії Марії-Склодовської Кюрі» (MSCA4Ukraine грант ID 232572) для роботи над дослідницьким проєктом «Gelatin-alginate hydrogels for hard-to-heal wounds», університет Ле Ману (Франція), *8 місяців*.

Березень-квітень 2024 – академічна мобільність ERASMUS+ MIC KA 171 для проведення досліджень за тематикою дисертації в Інституті молекул і матеріалів (IMMM) у м. Ле Ман (Франція), *2 місяці*.

Липень-серпень 2024 – отримала фінансування від Шведського Інституту (SI) за Програмою Балтійського сусідства (Baltic Sea Neighbourhood Programme) для проведення досліджень лігнінових гідрогелів в Уппсальському Університеті (Швеція), *2 місяці*.

3. Аналіз змісту дисертації, її структура, завершеність в цілому та оформлення. Дисертаційна робота побудована логічно та відповідно до вимог до дисертаційних робіт: складається з анотації (українською та англійською мовами), переліку публікацій, списку скорочень, вступу, містить 6 розділів, висновки та список використаної літератури. Основний зміст роботи викладений на 204 сторінках друкованого тексту, містить 27 таблиць та 51 рисунок. Бібліографічний список

складається з 270 найменувань.

У вступі обґрунтована актуальність теми, наведено зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами, сформульовано мету та задачі досліджень, вказані об'єкт та предмет досліджень, перелічені методи досліджень, визначена наукова новизна одержаних результатів та їхнє практичне значення, наведено дані про апробацію та публікації та особистий внесок автора, про структуру та обсяг дисертації.

Перший розділ – огляд літератури, яка є у сучасній періодиці та присвячена синтезу гідрогелів, їх класифікації, створення на їх основі нових медичних і терапевтичних матеріалів. Наведена інформація про природні полімери, які застосовують для синтезу гідрогелів, зокрема про желатин та альгінат натрію, їх роль у процесах загоєння ран. Розглянуті основні методи їх структурування - фізичне та хімічне структурування, гідрогелі з подвійною мережею. Наведено інформацію про гідрогелі медичного призначення та щодо процесів контрольованого вивільнення ліків з них. На основі проведеного літературного огляду, визначено мету та завдання дисертаційного дослідження.

Другий розділ – це експериментальна частина, у якій описані методики одержання гідрогелів та експериментів та проведення аналізів. Охарактеризовані вихідні речовини та представлені їх характеристики, наведені методики, зокрема, досліджень вивільнення медикаментів із зразків гідрогелів, визначення молекулярної маси прищеплених кополімерів желатину методом ексклюзійної хроматографії (SEC), реологічні дослідження розчинів полімерів та зразків гідрогелів, методики визначення набрякання гідрогелів, гель-фракції зразків гідрогелів, визначення механічної міцності гідрогелів, антимікробної активності, описані цитологічні дослідження, статистичний аналіз. Наведені характеристики приладів та методики проведення аналізів за допомогою ЯМР-спектроскопії, скануючої електронної мікроскопії (SEM), термогравіметричний аналізу (TGA), диференційної скануючої калориметрії (DSC), інфрачервоної спектроскопії (IR).

У третьому розділі розглянуті процеси структурування гідрогелів на основі желатину. Розглянуто синтез власне структуруючих реагентів на основі поліоксиетиленгліколів різної молекулярної маси та наведені результати

досліджень їх структури. Розглянуто особливості структурування желатинових гідрогелів у водному середовищі з використанням як зшиваючого реагенту діоксиранового поліоксиетиленгліколю з молекулярною масою 500. Досліджено гідроліз діоксиранового поліоксиетиленгліколю за певного рН при різних температурах, запропоновано механізм реакції, досліджено її кінетику. Розглянуто та запропоновано механізм структурування полімерного каркасу желатинового гідрогелю за допомогою результатів реологічних досліджень, DLS, визначення гель-фракції. Досліджено залежність процесу структурування та структури гідрогелю від температури, часу та молекулярної маси зшиваючого реагенту - діоксиранового поліоксиетиленгліколю.

У **четвертому розділі** наведені результати досліджень стосовно синтезу та комплексного дослідження властивостей желатинових гідрогелів, структурованих діоксирановим похідним поліетиленгліколю з молекулярною масою 500. Оптимізовано співвідношення зшиваючого реагенту до желатину, яке забезпечує максимальну гель-фракцію, міцність та стабільність при температурі тіла (37°C). Досліджено набрякання при оптимальному співвідношенні, термічну стабільність, поруватість. Досліджено процес вивільнення з гідрогелів ряду ліків: лідокаїну, новокаїну, диклофенаку та хлоргексидину та запропоновано модель механізму вивільнення абсорбованих у желатинових гідрогелях лікарських речовин. Досліджено антимікробні властивості желатинових гідрогелів, наповнених бактерицидними препаратами.

У **п'ятому розділі** описано синтез та дослідження желатин-альгінатних гідрогелевих систем, структурованих діоксирановим поліетиленгліколем. Проведені сучасні фізико-хімічні дослідження гелеутворення для визначення оптимального співвідношення желатину та альгінату, за якого одержані гідрогелі проявляють на кращі фізико-механічні властивості. Визначено залежність величини гель-фракції від співвідношення реагентів. Наведені результати реологічних досліджень в залежності від вмісту структуруючого реагенту та температури. Визначено розмір пор отриманих гідрогелів. Наведені результати дослідження набрякання структурованих желатин-альгінатних систем в залежності від вмісту структуруючого реагенту та природи середовища. Досліджено особливості вивільнення з желатин-

альгінатних гідрогелів лідокаїну, новокаїну, диклофенаку та хлоргексидину у фосфатно-сольовий буферний розчин та у середовище фосфатно-сольового буферного розчину з додаванням ферменту протеази. Проведені дослідження антибактеріальних властивостей отриманих желатин-альгінатних гідрогелів з введенням хлоргексидином на культурах бактерій *E.coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. Niger*.

У шостому розділі розглянуто гідрогелі, що були отримані з використанням желатину та багатоцентрового структуруючого агента - полі-N-гідроксиметилакриламід та поліакриламід, Повідомлено про деякі напрямки практичного застосування таких гідрогелевих систем. Встановлено оптимальний склад поліакриламід-желатинових гідрогелів та умови їх синтезу для потрібної механічної міцності та достатнього ступеня набрякання. Такі гідрогелі призначено для використання у ветеринарії. Описано також одержання двошарових гідрогелів, армованих поліпропіленовою сіткою.

Наведено інформацію про рН-чутливі поліакриламідні гідрогелі з введенням флуоресцеїновмісних кополієстерів, які призначені до використання їх як сенсорів для медичної діагностики.

Сформульовані **висновки** достатньо повно відображають вирішення задач, що були поставлені у роботі, містять основні наукові та практичні результати дисертаційного дослідження. Список використаних джерел є достатньо повним та включає праці, які є близькими до тематики даної дисертації.

Дисертація є завершеною науковою працею, а її оформлення відповідає встановленим вимогам МОН України.

4. Наукова новизна одержаних результатів. У даній дисертаційній роботі вперше запропоновано та досліджено процес формування гідрогелевих матеріалів підвищеної міцності на основі желатину та структуруючих реагентів діоксиранових похідних поліоксиетиленгліколю. Показано, що формування таких гідрогелевих матеріалів відбувається у водному середовищі без залучення регуляторів водневого показника та інших реагентів та може бути проведено в одну стадію, без наступного очищення від непрореагованих сполук.

Вперше розроблено та досліджено метод синтезу комбінованих гідрогелів з

високими механічними властивостями на основі поліелектролітного комплексу желатину та альгінату натрію, структурованому діоксирановим похідним поліоксиетиленгліколю.

Встановлено залежність фізико-хімічних та фізико-механічних властивостей желатинових та желатин-альгінатних гідрогелів від їх складу та умов синтезу та вивчено закономірності вивільнення анальгетичних та бактерицидних препаратів зі складу синтезованих гідрогелів.

Вперше вивчено деградацію желатинових та желатин-альгінатних гідрогелів, отриманих при структуруванні діоксирановими похідними поліоксиетиленгліколю під дією протеолітичного ензиму.

Вперше, методом ЯМР спектроскопії, досліджено гідролітичну стійкість діоксиранових похідних поліоксиетиленгліколю у водному середовищі.

Вперше розроблено методику та умови отримання рН-чутливого гідрогелю на основі водорозчинного поліакриламідного структуруючого агенту та кополіестеретеру флуоресцеїну.

5. Практичне значення одержаних результатів. Практичне значення полягає у тому, що на підставі результатів проведених досліджень розроблені методики синтезу гідрогелевих матеріалів на основі желатину та структуруючих реагентів - діоксиранових похідних поліоксиетиленгліколю, а також комбінованих гідрогелевих матеріалів на основі желатину та альгінатів із задовільними експлуатаційними характеристиками. Широким спектром фізико-хімічних досліджень показано, що нові гідрогелеві матеріали можуть бути використані для ефективної та спрямованої доставки лікарських препаратів, а саме, для знеболюючих та антибактеріальних гідрогелевих пов'язок, масок та патчів для лікування уражень шкіри. Отримано гідрогелевий матеріал для створення сенсорів та отримано армований поліпропіленовою сіткою двошаровий желатин-поліакриламідний гідрогель.

6. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків. Достовірність наведених висновків підтверджують результати досліджень, отримані з використанням сучасних методик та приладів. Під час досліджень використані такі сучасні методи, як: ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопія,

ультрафіолетова спектрофотометрія, інфрачервона спектроскопія, динамічне світлорозсіювання, ексклюзійна хроматографія, скануюча електронна мікроскопія, термогравіметрія, диференційна скануюча калориметрія, ротаційна віскозиметрія, реометрія динамічного зсуву.

7. Повнота викладення результатів роботи в опублікованих працях

Основні положення дисертації повністю відображені у 34 друкованих працях, з них 6 статей у наукових фахових виданнях України, 4 статті у наукових періодичних виданнях іноземних держав та у виданнях України, що індексовані в міжнародних наукометричних базах (Scopus), 2 патенти України на винахід, 4 патенти України на корисну модель, 18 тез доповідей на Міжнародних та Всеукраїнських конференціях.

8. Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати дисертаційної роботи доповідалися, обговорювалися і були схвалені на 12 Міжнародних та 4 Всеукраїнських наукових конференціях, а також доповідались та обговорювалися на факультеті фармації в Університеті Страсбургу (Франція) у літній школі «Materials for Health: from Biophysics to Biomedicine», Страсбург – 4-7 липня 2023 року; тренінгу, організованому школою докторантів Університету Ле Ману (Франція) з переробки та сортування полімерів «Polymer recycling, what you know and what you should know» (ED3MG), Ле Ман – 24 жовтня 2023 року; публічному заході з популяризації науки «La Fête de la Science», місце проведення Abbaye de l'Erau, місто Ле Ман (Франція), 14-15 жовтня 2023.

9. Питання та зауваження до дисертації. Дисертаційна робота побудована логічно, добре структурована, матеріал і результати викладені зрозуміло, висновки ґрунтуються на результатах великої кількості експериментального матеріалу. Вагомих заперечень і зауважень немає. Разом з тим є деякі запитання та побажання, що не знижує вагомості результатів роботи, не ставлять під сумнів висновки та не є принциповими.

1. Деякі методики в експериментальному розділі бажано було би більш детально описати або дати посилання на літературне джерело, зокрема, розділ 2.2.3. Гідроліз

дігліцидилових етерів поліетиленгліколів різної молекулярної маси, навести методику синтезу желатинових гідрогелів з поліакриламідом та полі(N-гідроксиметилакриламідом) або методику синтезу рН чутливого гідрогелю на основі поліакриаміду та флуоресцеїновмісного кополімеру для сенсорів.

2. У розділі 6 бажано було би навести схему хімізму структурування гідрогелів на основі желатину, полі(N-гідроксиметилакриаміду) та поліакриаміду та пояснити за рахунок чого відбувається структурування гідрогелю.

3. У розділі 6 потрібно було би пояснити природу зв'язків, що утворюються між макромолекулами та структуру рН-залежного гідрогелю на основі поліакриаміду, полі(N-гідроксиметилакриаміду) та дисперсної фази кополіестеру на основі 2-(додеканоїламіно)пентандіової кислоти, поліетеру гліколю та флуоресцеїну.

4. В кінці кожного розділу бажано надати висновки або узагальнення наведених результатів.

5. Зустрічаються помилки у назві органічних сполук, інколи наводяться аббревіатури, яких немає у списку скорочень та у тексті.

Наведені вище зауваження не впливають на обґрунтованість наукових положень та висновків дисертації і не знижують наукової цінності одержаних результатів.

10. Висновки до дисертаційної роботи.

Загалом, дисертаційна робота Майкович Ольги Володимирівни на тему «Гідрогелів желатинвмісні матеріали для медичних застосувань: синтез та дослідження», представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія» з галузі знань 10 «Природничі науки» є завершеною науковою працею, у якій розв'язано актуальне науково-практичне завдання щодо створення наукових і практичних основ розроблення методу та визначення параметрів синтезу желатинвмісних гідрогелевих матеріалів для біомедичних застосувань, які можуть бути одержані в одну стадію та не потребують застосування регуляторів водневого показника та додаткових ініціаторів і не містять у своєму складі низькомолекулярних структуруючих агентів.

Робота містить наукову новизну, результати, отримані дисертанткою достовірні, мають практичне значення. Висновки – обґрунтовані.

Вважаю, що дисертаційна робота Майкович Ольги Володимирівни на тему «Гідрогелеві желатинвмісні матеріали для медичних застосувань: синтез та дослідження», за актуальністю, науковою новизною, отриманими результатами, та повнотою їх представлення у наукових публікаціях та за апробацією відповідає «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12.01.2022 р., а також «Вимогам до оформлення дисертації», затверджених Наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р., а її авторка Майкович Ольга Володимирівна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія» у галузі знань 10 «Природничі науки».

Рецензент

професор кафедри органічної хімії

Національного університету

"Львівська політехніка",

доктор хімічних наук, професор

 Ольга БУДІШЕВСЬКА

Підпис д.х.н., проф. О.Г.Будішевської

«ЗАСВІДЧУЮ»

Вчений секретар

Національного університету

«Львівська політехніка»



Роман БРИЛИНСЬКИЙ