

ВІДГУК ОПОНЕНТА

д.х.н., професора, завідувача відділу модифікації полімерів,

Інституту хімії високомолекулярних сполук

Національної академії наук України

Рябова Сергія Володимировича

на дисертаційну роботу

«Гідрогелеві желатинвмісні матеріали для медичних застосувань: синтез та дослідження» Майкович Ольги Володимирівни,

подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії

за спеціальністю 102 Хімія (галузь знань 10 Природничі науки)

Актуальність дисертаційної роботи

У сучасній біомедицині гідрогелеві матеріали викликають значний науковий інтерес і мають уже широкий спектр застосування: у системах пролонгованої доставки лікарських засобів, як матриці для контрольованого вивільнення біологічно активних молекул і протеїнів, у лікувальних пов'язках для ран і опіків, а також в інженерії тканин. Актуальність використання гідрогелевих матеріалів зумовлена високою біосумісністю, здатністю утримувати вологу, відсутністю подразнювальної дії та імунної відповіді з боку організму. З гідрогелевих матеріалів виготовляють контактні лінзи, матеріали для ортопедії, реконструктивної хірургії, культивування клітин, а також засоби догляду ран. На сучасному етапі перевагу надають гідрогелям на основі природних біополімерів – білків і полісахаридів, зокрема желатину й альгілату натрію, які є нетоксичними, біодеградабельними й добре піддаються функціональній модифікації. Желатин, як продукт часткового гідролізу колагену, вирізняється низкою цінних властивостей: біосумісністю з клітинами, здатністю підтримувати клітинну адгезію й проліферацію, гемостатичною активністю. Гідрогелі на його основі сприяють епітелізації, знижують ризик утворення рубців і ефективно діють як носії для контрольованого вивільнення лікарських засобів – антибіотиків, факторів росту, протизапальних агентів.

Втім, попри названі переваги, желатинові гідрогелі мають низьку механічну міцність, нестабільні у вологому або динамічному середовищі та схильні до передчасної деградації, що може заважати повноцінному застосуванню. Гідрогелі немодифікованого желатину термооборотні і втрачають формостійкість уже за температури 30–35 °С, що не дає змоги використовувати їх як пов'язки на рани. Відомі способи вирішення цієї проблеми передбачають використання хімічного зшивання макромолекул за допомогою бі- чи поліфункціональних агентів. Однак деякі з них (наприклад глутаральдегід, який найчастіше зустрічається в літературі) чинять токсичну дію й викликають подразнення. Крім того, синтез таких гідрогелів зазвичай багатостадійний, оскільки потребує ретельного контролю параметрів середовища та складного очищення, що суттєво обмежує привабливість їх використання.

У зв'язку з цим постає важливе наукове завдання – розроблення нових, ефективніших і безпечніших підходів до синтезу біосумісних гідрогелевих матеріалів з високими механічними та функціональними характеристиками. Перспективним у цьому сенсі є створення комбінованих гідрогелевих систем на основі желатину й альгінату натрію. Альгінати, завдяки здатності стимулювати регенерацію тканин, доповнюють позитивні якості желатину, підтримуючи вологе середовище і стимулюючи відновлення, що відкриває нові можливості для отримання гідрогелів з поліпшеними терапевтичними властивостями.

Таким чином, дисертаційна робота Майкович О.В., спрямована на створення на основі полімерів природного походження нових високо-ефективних гідрогелевих матеріалів з потенціалом для широкого медичного застосування, має беззаперечну актуальність.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами. Робота виконана на кафедрі органічної хімії Інституту хімії та хімічних технологій Національного університету «Львівська політехніка». Тема дисертаційної роботи відповідає науковому напрямку кафедри, а саме: «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».

Варто відзначити, що робота виконувалась в межах фінансування декількох держбюджетних тем серед яких: «Створення гідрогелевих засобів для воєннопольової медицини і медицини катастроф та технології їх виробництва» (2021-2022), № держреєстрації 0121U109521 та «Створення засобів медичного призначення на основі нових полімергібридних гідрогелевих систем для лікування та реабілітації військовослужбовців з терапевтичною та хірургічною патологією» (2024-2026), № держреєстрації 0124U000727.

Частину досліджень дисертантка виконала під час академічної мобільності та стажування в Інституті молекул і матеріалів університету Ле Ману (Франція) та Уппсальському Університеті (Швеція). Зокрема за програмою «Дії Марії-Склодовської Кюрі» впродовж 8 місяців виконувала роботу над дослідницьким проєктом «Gelatin-alginate hydrogels for hard-to-heal wounds» (MSCA4Ukraine грант ID 232572).

Наукова новизна одержаних результатів. Наукова новизна одержаних результатів полягає у вперше розробленому одностадійному методі формування желатинових гідрогелів підвищеної міцності шляхом структурування у водному середовищі діоксирановими похідними поліетиленгліколю (PEGDE) без залучення регуляторів рН чи додаткових ініціаторів. Такий підхід дав змогу уникнути етапів очищення синтезованих зразків від непрореагованих компонентів, оскільки дослідженнями цитотоксичності на живих клітинах *in vitro* було підтверджено біотолерантність отриманих матеріалів. Уперше запропоновано метод синтезу комбінованих (з двох біополімерів) гідрогелевих матеріалів і показано, що утворення поліелектролітного комплексу желатину й альгінату натрію з наступним його структуруванням за участі діоксиранового похідного PEGDE500 забезпечує суттєве поліпшення механічних властивостей. Методом ПМР-спектроскопії вперше досліджено кінетичні закономірності гідролітичної стійкості діоксиранових похідних поліетиленгліколю у водному

середовищі. Встановлено залежність комплексу фізико-хімічних і фізико-механічних характеристик желатинових і желатин-альгінатних гідрогелів від складу й умов синтезу. Вперше досліджено деградацію синтезованих зразків гідрогелів під дією протеолітичного ензиму, що є важливим з погляду прогнозування поведінки у біологічних середовищах. Вивчено закономірності та підтверджено можливість контрольованого вивільнення анальгетичних і бактерицидних речовин з гідрогелевих матриць, що забезпечує локалізований терапевтичний ефект при загоюванні ран. Крім того, вперше отримано армований поліпропіленовою сіткою двошаровий желатин-поліакриламідний гідрогель, а також розроблено склад і умови синтезу гідрогелю поліакриламиду, наповненого кополіестеретером флуоресцеїну, як сенсорного рН-чутливого матеріалу, отриманого при структуруванні N-метилольним похідним поліакриламиду.

Достовірність отриманих результатів та обґрунтованість висновків. Дисертаційні положення й висновки, які зробила Майкович Ольга Володимирівна, характеризуються високим ступенем обґрунтованості та достовірності. Вони базуються на особистих дослідженнях авторки та відображають виявлені під час аналізу отриманих результатів закономірності. Результати роботи повністю висвітлені у 34 наукових публікаціях, з них 4 статті у наукових періодичних виданнях іноземних держав та у виданнях України, що індексовані в міжнародних наукометричних базах даних (*Scopus*), 6 статей у наукових фахових виданнях України, а також 2 патенти на винахід.

Практична значущість роботи. На основі встановлених закономірностей і розроблених методик синтезу створено нові комбіновані гідрогелеві матеріали желатину та його композицій з альгінатом натрію, структурованих діоксирановими похідними поліетиленгліколю. Визначено оптимальні композиції желатинвмісних гідрогелів, які поєднують достатню міцність, еластичність і здатність до контрольованого набрякання. Такі матеріали перспективні для клінічного використання, оскільки можуть надійно ізолювати

ранові поверхні, поглинати ексудат і забезпечувати тривале вивільнення лікарських речовин, що підвищує ефективність лікування.

Завдяки поєднанню природних полімерів з синтетичними олігомерами досягнуто високої біосумісності й стабільності гідрогелевих зразків у біологічних середовищах за фізіологічних температур. За допомогою підібраних структуротвірників у спеціально розроблених умовах можна отримувати гідрогелі з високою механічною міцністю, здатні до абсорбування ранової рідини й контрольованого вивільнення ліків.

Результати досліджень відкривають можливості застосування одержаних матеріалів у медичній практиці та косметології для створення гідрогелевих пов'язок зі знеболювальними й антибактеріальними властивостями, лікувальних масок, патчів, а також систем контрольованого вивільнення лікарських речовин.

Додатково синтезовано перспективні зразки гідрогелів для сенсорного застосування. Окремо розроблено армований двошаровий гідрогель (желатин-поліакриламід/поліпропіленова сітка), який характеризується підвищеною механічною міцністю, стійкістю до деформації та тривалою зносостійкістю. Ці властивості дають змогу рекомендувати матеріал для ветеринарних пов'язок, де особливо важливий опір до розривів і стискання при активному русі тварин.

Підсумовуючи, можна сказати, що результати дисертаційної роботи мають значний прикладний потенціал у сучасній біомедицині. Розроблення нових гідрогелевих композитів із заданими фізико-хімічними й механічними характеристиками створює передумови для їх використання у таких напрямках: регенерація тканин, контрольоване вивільнення фармакологічних препаратів, створення рН-чутливих сенсорних систем. Особливу цінність представляють армовані гідрогелі, які можуть знайти застосування у ветеринарній практиці як міцні та функціональні перев'язувальні матеріали.

Аналіз змісту дисертаційної роботи. Дисертаційна робота складається з анотації українською й англійською мовами, вступу, 6 розділів, висновків,

списку використаних джерел літератури (270 найменувань). Загальний обсяг дисертації становить 204 сторінки тексту, 27 таблиць і 51 рисунок.

У **вступі** наведено актуальність теми, зв'язок роботи з науковими програмами й темами кафедри органічної хімії, сформульовано мету й завдання дисертаційної роботи, вказано об'єкт і предмет досліджень, перелічено методи досліджень, визначено наукову новизну одержаних результатів і їхнє практичне значення, наведено дані про апробацію й особистий внесок автора, про структуру й обсяг дисертації.

Перший розділ містить огляд сучасного стану розробок у сфері гідрогелів, зокрема на основі природних полімерів – желатину й альгінату натрію, що мають біоактивність і потенціал для застосування у медичних матеріалах. Описано методи фізичного та хімічного зшивання, вимоги до медичних гідрогелів та особливості використання для контрольованого вивільнення лікарських речовин.

На підставі аналізу літературних даних визначено найважливіші характеристики гідрогелевих матеріалів для використання у біомедичних застосунках і на основі цього сформульовано мету й завдання дисертаційної роботи.

У **другому розділі** дано характеристику вихідних речовин, описано методи синтезу й аналітичні підходи, використані в експериментальній частині.

У **третьому розділі** досліджено синтез гідрогелів з желатину та дигліцидилових етерів поліетиленгліколю різної молекулярної маси, зокрема з погляду отриманих характеристик гідрогелів та з урахуванням економічної доцільності обґрунтовано використання як оптимального структурувального агента дигліцидилового етеру поліоксіетиленгліколю PEGDE 500. Визначено механізм зшивання у водному середовищі, кінетичні закономірності гідролізу епоксидної групи, залежність ступеня структурування від співвідношення компонентів і розроблено модель гелеутворення. Вперше кількісно оцінено вплив молекулярної маси структурувального агента на характеристики гідрогелю.

У четвертому розділі наведено результати комплексного дослідження властивостей гідрогелів на основі желатину й PEGDE500. Показано, що синтез за співвідношенням 1:5 забезпечує найкращі фізико-механічні властивості, підвищену термостійкість, контрольоване набрякання у середовищах, що імітують ранові виділення, відсутність токсичності й біодеградацію отриманих гідрогелів. Встановлено, що вивільнення з отриманих гідрогелів лікарських препаратів знеболювальної дії, досліджене у дифузійній комірці Франца, підпорядковується моделям Хігучі та Корсмейєра–Пепаса, а хлоргексидин у складі гідрогелів виявляє пролонговану антимікробну активність щодо низки патогених організмів (*S. Aureus*, *E. Coli*).

П'ятий розділ присвячений розробленню синтезу та дослідженню властивостей комбінованих желатин-альгінатних гідрогелів. Виявлено, що завдяки здатності до утворення водорозчинного поліелектролітного комплексу між двома біополімерами за їх визначеного співвідношення та реалізації в гідрогелевій системі ковалентних, та електростатичних взаємодій дає змогу знизити загальну концентрацію полімерів гелетвірників з 18 до 12 % зі збереженням спроможності до гелеутворення і формостійкості за підвищення температури. Встановлено оптимальні співвідношення біополімерів, поліпшені механічні й термічні властивості, підвищену стійкість до ферментативної деградації. Вивільнення лікарських препаратів зі складу гідрогелю в модельне середовище показало, що за наявності протеолітичних ензимів фіксується комбінований дифузійно-деградаційний механізм. Високі фізико-механічні властивості отриманих гідрогелів, а також здатність пролонговано вивільняти знеболювальні препарати й сорбувати ранові виділення, дає змогу вважати отримані гідрогелеві матеріали перспективними як ранові пов'язки для догляду за складними хронічними ранами.

У шостому розділі розглянуто гідрогелі желатину, отримані з використанням полі-N-гідроксиметилакриламідів, як багатоцентрові структурувальні агенти. Проаналізовано прикладні аспекти використання комбінованих желатинвмісних гідрогелів, зокрема пористих і багатошарових систем.

Встановлено оптимальний склад поліакриламід-желатинових гідрогелів та умови їх синтезу для досягнення заданих властивостей. Такі гідрогелі призначено для використання у ветеринарії. Наведено інформацію про поліакриламідні гідрогелі, які завдяки введенню поліестеру флуоресцеїну набувають здатності виступати рН-чутливими оптичними сенсорами.

Сформульовані **висновки** достатньо повно відображають вирішення завдань, які були поставлені в роботі, містять основні наукові та практичні результати дисертаційного дослідження.

Щодо оформлення варто відзначити такі позитивні якості роботи:

1. Дисертація логічно структурована
2. Переконливо обґрунтовано вибір способів і агентів структурування желатинових гідрогелів
3. Чітко окреслено численні переваги нової гідрогелевої системи з погляду практичного застосування
4. Використано широкий спектр інструментальних методів аналізу й дослідження властивостей використаних реагентів і продуктів синтезу
5. Чудове оформлення ілюстративного матеріалу

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

Відсутність порушень академічної доброчесності. За результатами аналізу дисертаційної роботи та публікацій авторки жодних порушень академічної доброчесності не виявлено. Елементи фальсифікації чи фабрикації тексту в роботі відсутні.

Зауваження, питання, рекомендації до дисертації. Попри високий науковий рівень поданої кваліфікаційної роботи, до неї можна висловити низку зауважень.

1. Зокрема, варто було б детальніше порівняти отримані результати з даними інших дослідників для глибшого обґрунтування переваг синтезованих матеріалів. Кілька досліджень вже розглядали схожі комбінації желатину та

альгілату для перев'язок ран, наприклад: *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 279, 134938; *Journal of Materials Chemistry B*, 2023, 11(13): 2989-3000. Як ця робота вирізняється з погляду складу, обробки чи вибору структурувального агента?

2. Недостатньо висвітлено поведінку гідрогелів у змінених фізіологічних умовах (наприклад, при варіації рН або температури), а також не розглянуто їхню тривалу стабільність.

3. Доцільним виглядало б розширення дослідження на *in vivo* експерименти для оцінки біосумісності й ефективності матеріалів у реальних умовах.

4. При використанні структурувальних агентів з PEGDE 300, PEGDE 1100 утворюються гідрогелі з низькими механічними характеристиками і малим вмістом гель-фракції – 25–30 % та 5–10 % відповідно. Водночас при залученні PEGDE 500 і PEGDE 700 вміст гель-фракції становить 75–85 % для обох агентів структурування. Чим можна пояснити нелінійний вплив PEGDE різної молекулярної маси на механічні характеристики гідрогелів?

5. С.106. «За відсутності регуляторів водневий показник реакційної суміші був в межах 6,0-6,5. За цих умов гідроксильні та карбоксильні групи **найбільш імовірно** в реакцію не вступають, а структурування відбувається через взаємодію з вільними аміногрупами». Це припущення зроблено на підставі літературних даних? Тоді варто було б послатися на відповідне джерело.

6. Те саме на с. 136: «Зразки гідрогелів синтезували при рН реакційної суміші в межах 5,5÷6,0, яке встановлювалось самовільно без додавання будь-яких регуляторів. За цих умов гідроксильні та карбоксильні групи, як зі складу желатину так і альгілату натрію **найбільш імовірно** в реакцію з епоксидними групами не вступають, і структурування відбувається в основному через взаємодію структуруючого агенту з аміногрупою лізину у складі макромолекул желатину».

Опис окремих експериментальних методик потребує більшої деталізації, також можна додати ще кілька несуттєвих зауважень щодо оформлення:

1. С.25. Список скорочень варто було б сформулювати в алфавітному порядку.
2. С.44. «Тут група А-Н є донором водневого зв'язку, а В – **рецептором** водневого зв'язку» – імовірно «**акцептором**»?
3. С.49. «У даному дослідженні були виготовлені ранові пов'язки на основі хітозану з додаванням екстракту **опунції фікусу**, використання яких передбачало прискорення загоєння ушкоджень шкіри» – різні роди рослин, очевидно «**опунції та фікусу**»?
4. С.60–61. «**щільність**» води, р-ну соляної кислоти, ДМСО, спиртів тощо – «**густина**» (як властивість речовини).
5. С.100. «В цьому випадку, характерного для розчинів желатину золь-гель переходу не відбувається і розчин не **гелезується**» – правильно «**розчин не желює**».
6. С.116. «Із залежностей наведених на рисунку 4.6 видно, що LVR для усіх зразків для обох динамічних модулів при 20 °С (рис. 4.7 (а)) спостерігається до 10 % деформації, практично така ж LVR характерна і при 37 °С (рис. 4.7 (б))» – **очевидно, скрізь рис.4.7.**
7. С.136. «**При отримувались** зразки незадовільної якості, а при вищих не досягалося суттєвих переваг у властивостях». Очевидно, пропущено слово: «**За меншого вмісту полімеру якість зразків незадовільна...**» і далі за текстом.
8. С. 164 Там само: «Однак для застосування даних виробів, як лікувальних пов'язок у ветеринарії, однозначно потрібно збільшити їх механічні властивості. Механічна міцність, зокрема модуль зберігання (G'), гідрогелів знаходиться в діапазоні від 1 до 100 кПа, що, як правило, нижче порівняно з марлею або ватою (від 1 МПа до 1 ГПа) [264,265]. Однак цей діапазон механічної міцності для гідрогелів є більш придатним і сумісним зі шкірою людини» – імовірно «**шкірою тварин**»? До цього ж: чи вдалося випробувати отримані матеріали у ветеринарній практиці?

Водночас зазначені зауваження не знижують загальної наукової цінності дисертації та не впливають на її основні результати та висновки.

Висновок щодо відповідності дисертації вимогам нормативних документів ДАК МОН України.

Кваліфікаційна наукова робота Майкович Ольги Володимирівни на тему «Гідрогелеві желатинвмісні матеріали для медичних застосувань: синтез та дослідження» за своєю актуальністю, науковою новизною, змістовним наповненням, цілісністю викладених результатів, а також належною апробацією і публікацією основних результатів повністю відповідає вимогам, визначеним «Порядком присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженим постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року (зі змінами, внесеними постановою № 341 від 21 березня 2022 року), а також вимогам до оформлення дисертації, встановленим Наказом МОН України № 40 від 12 січня 2017 року.

Авторка роботи заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 – *Хімія* (галузь знань 10 – *Природничі науки*).

Офіційний опонент:

завідувач відділу модифікації полімерів,
Інституту хімії високомолекулярних сполук
Національної академії наук України
д.х.н., професор



Сергій РЯБОВ

Підпис д.х.н., Рябова Сергія Володимировича
засвідчую:

Вчений секретар ІХВС НАН України,
к.х.н.



Віра БУДЗІНСЬКА