

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Бондарук Оксани Миколаївни** *"Нанокompозити на основі поліуретан/полі(2-гідроксиетилметакрилат)ної полімерної матриці та модифікованих наноксидів для біомедичного застосування"*, представлену на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук.

В сучасному світі зростає кількість пацієнтів, що потребують імплантації тканин і органів, пошкоджених в результаті травм і різних захворювань як у розвинутих країнах Європи, так і в Україні. Це потребує нових функціональних матеріалів для заміни, реконструкції та відновлення тканин організму та функцій окремих органів людини. На даний час в медицині найбільш широко застосовуються матеріали на основі індивідуальних полімерів. Але матеріали медичного призначення на основі багатокомпонентних полімерних матриць мають низку переваг. Біоматеріали можуть бути створені на основі багатокомпонентних полімерних систем, що мають нанодоменну структуру та містять спеціальні нанонаповнювачі. Багатокомпонентні полімерні матриці, що створені за принципом ВПС, можуть бути синтезовані з кількома ієрархічними рівнями фазового поділу. Введення в такі ВПС спеціальних нанонаповнювачів, таких як нанокремнезем, дає додаткові можливості. Це дозволяє, з одного боку, поліпшити фізико-механічні властивості композиту за рахунок синергізму властивостей полімерних складових. З іншого боку, шляхом модифікування нанокремнезему біологічно активними сполуками (БАС) дозволяє надати композиту специфічних фармакологічних властивостей. Адсорбційне модифікування нанокремнеземів дає змогу переводити БАС у високодисперсний стан і одержувати як мономолекулярні шари, так і полімолекулярні шари на поверхні наночасток кремнезему. При цьому суттєво знижується міграція БАС в полімерних матеріалах і створюються умови для їх депонування та регуляції їх вивільнення. Відповідно, не викликають сумнівів **актуальність і практична значимість** дисертаційної роботи Бондарук О.М., яка присвячена розробці нових біоматеріалів на основі багатокомпонентних полімерних матриць та нанонаповнювачів, що модифіковані біологічно активними речовинами, з пролонгованим та регульованим вивільненням, із заданим комплексом властивостей.

Актуальність роботи Бондарук О.М. підтверджується і тим, що вона виконувалась у відділі хімії гетероланцюгових полімерів та взаємопроникних полімерних сіток у відповідності з планами науково-дослідних робіт: "Функціональні органо-неорганічні нанокompозити на основі поліуретан-акрилатних, поліціануратних, епоксидних взаємопроникних полімерних сіток і споріднених систем" (2011–2014 рр.) № державної реєстрації 0110U007658; "Створення біосумісних наноструктурованих полімерних

матеріалів та нанокompозитів на основі взаємопроникних полімерних сіток для біомедичних застосувань” (2010–2014 pp.) № державної реєстрації 0110U003970; “Функціональні нанонаповнені композити на основі взаємопроникних і гібридних полімерних сіток” (2015–2018 pp.) № державної реєстрації 0114U007101.

Робота виконувалась також в рамках проекту № 6.22.7.21 Державної Цільової Науково-Технічної Програми України «Нанотехнології та Наноматеріали» (2010-2014 pp) та частково в рамках міжнародного проекту FP7-PEOPLE-IRSES project N230790 COMPOSITUM: “Hybrid Nanocomposites and their Application”.

Наукова новизна дисертаційної роботи Бондарук О.М. полягає в тому, що в ній:

- вперше синтезовано нанокompозити на основі багатокомпонентної полімерної матриці, створеної за принципом ВПС, які містять нанонаповнювачі з поверхнею, модифікованою БАС та демонструють регульоване та пролонговане вивільнення БАС в середовище, встановлена залежність параметрів вивільнення від складу нанокompозитів.
- показано, що при формуванні нанокompозитів на основі поліуретанової матриці нанонаповнювач денсил при його мінімальному вмісті (1%) практично рівномірно розподіляється в матриці, а при підвищенні його вмісту відбувається агрегація у вигляді масово-фрактальних утворень, типових для вихідного нанонаповнювача. Введення другого полімерного компоненту в матрицю ПГЕМА сприяє розширенню діапазона гомогенізації розподілу нанонаповнювача.
- вперше встановлено, що модифікація поверхні наповнювача БАС призводить до збільшення середнього розміру утворень наночастинок в нанокompозиті за рахунок формування поверхневого шару модифікатора, який веде до формування більш шорсткої поверхні наповнювача. Шорсткість поверхні частинок зростає через формування поверхневого шару на межі розділу з наповнювачем, що складається з фрагментів полімерної матриці.
- вперше встановлено, що термодинамічні параметри взаємодій в нанокompозитах на основі ПУ/ПГЕМА матриці суттєво впливають на вивільнення БАС з нанокompозитів. При термодинамічній спорідненості наповнювачів до полімерної матриці, тобто при формуванні щільних поверхневих шарів полімерів на наповнювачах, відбувається уповільнення вивільнення БАС. При відсутності термодинамічної спорідненості наповнювачів до полімерної матриці відбувається прискорення вивільнення БАС.
- встановлено, що максимальні показники вільної енергії взаємодії з матрицею має нанонаповнювач денсил. При механо-сорбційному нанесенні БАС на поверхню нанокремнезему відбувається відносно зниження показників вільної енергії взаємодії з матрицею, тобто зниження

адгезії полімерних компонентів матриці до наповнювачів. Це спостерігається для наповнювачів, що модифіковані гліцином, триптофаном, оксидом цинку.

- вперше показано, що гідрофільність створених нанокомпозитів залежить від складових компонентів матриці та від кількості наповнювача, вона зростає як при введенні другого компонента матриці ПГЕМА, так і при введенні наповнювача денсилу. Гідрофільність створених нанокомпозитів регулюється зміною співвідношення полімерних складових та наповнювача.
- вперше досліджено цитотоксичність і гістосумісність створених нанокомпозитів в експериментах на тваринах *in vivo* і показано, що у тварин, яким підшкірно був імплантований нанокомпозит, виражених ознак запалення в тканинах і порушення показників крові не спостерігалось, що свідчить про можливість використання створених нанокомпозитів в якості матеріалів біомедичного призначення.

Практичне значення дисертаційної роботи полягає в тому, що одержані нанокомпозити перспективні для використання в біомедичній галузі. Дослідження біосумісності створених нанокомпозитів продемонстрували, що незалежно від типу депонованої субстанції (сполуки цинку та срібла, метронідазол, декаметоксин) нанокомпозити після імплантації не виявляють місцевої запальної реакції та не чинять загальної токсичної дії на організм піддослідних тварин. За висновком Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, де проводились дослідження створених нанокомпозитів, матеріали є перспективними для використання в біомедичній галузі, а саме для виготовлення хірургічних покриттів, імплантатів, катетерів, дренажів та інших виробів хірургічного призначення.

Дисертаційна робота містить анотацію, вступ, шість розділів, висновки, список використаних джерел, що налічує 197 посилань вітчизняних та зарубіжних авторів, та 3 додатки. Загальний обсяг роботи викладено на 247 сторінках друкованого тексту, містить 69 рисунків, 25 таблиць (1 таблиця в Додатку В).

У **вступі та першому розділі** дисертаційної роботи обґрунтовано актуальність, сформульовано мету та основні завдання досліджень, коротко охарактеризовано наукову новизну та практичну значимість роботи. Викладено основні положення, які виносяться на захист, наведено відомості про публікацію результатів досліджень та апробацію роботи. Узагальнено та систематизовано сучасні літературні дані щодо використання полімерів, ненаповнених і наповнених поліуретанів, гідроксиакрилатів, багатокомпонентних полімерних систем для ранових покриттів та інших матеріалів біомедичного призначення. Огляд літературних даних показав, що дослідження матеріалів для біомедичного застосування на даному етапі носить характер накопичення

експериментальних фактів. Немає спроб пояснення загальних закономірностей формування структури та їх впливу на біосумісні властивості.

У **другому розділі** подано опис використаних реагентів, умови синтезу нанокompозитів, у загальному описано модифікацію нанокремнезему методом механоактивації та методом механосорбційного модифікування біологічно активними сполуками. Описані методи експериментальних досліджень створених нанокompозитів.

Третій розділ присвячено дослідженню особливостей структури нанокompозитів методами ІЧ спектроскопії, малокутового рентгенівського розсіювання та дослідженню морфології систем методом атомної силової мікроскопії. Виявлені структурні особливості бінарних нанокompозитів поліуретан-денсил, які дозволили зробити висновки про характер поведінки частинок нанонаповнювача в системі. Нанонаповнювач денсил при його мінімальному вмісті (1%) практично рівномірно розподіляється в полімерній матриці, а при підвищенні його вмісту відбувається агрегація у вигляді масово-фрактальних утворень, типових для вихідного нанонаповнювача. Введення другого полімерного компоненту в матрицю – ПГЕМА - сприяє розширенню діапазона гомогенізації розподілу нанонаповнювача у випадку матриці з 17% ПГЕМА від 1% до 3%, а у випадку матриці з 37% ПГЕМА – від 1% до 5%. Підвищення порога гомогенізації є результатом реорганізації структури наповненого ПУ в процесі формування нанокompозиту на основі багатокomпонентної полімерної матриці. Дослідження структури нанокompозитів, що містили наповнювачі, з поверхнею, модифікованою біологічно активними сполуками (гліцином, сульфатом цинку, нітратом срібла, амінокислотою триптофан) свідчать, що модифікація поверхні призводить до збільшення середнього розміру частинок за рахунок формування поверхневого шару модифікатора, що призводить до формування більш шорсткої поверхні наповнювача. В результаті модифікування на відносно гладкій поверхні частинок нанокремнезему утворюються шари товщиною 1,3 нм, при цьому значення ефективного діаметра частинок наповнювачів зростає до 15,5 нм. Введення модифікованого нанонаповнювача в полімерну матрицю суттєво впливає на структуру матриці: спостерігається повне зникнення проявів структурних особливостей вихідних напів-ВПС у нанокompозитах при всіх досліджених концентраціях наповнювачів. При введенні модифікованого наповнювача в полімерну матрицю масово-фрактальний характер просторового розподілу часток зберігається. Однак шорсткість поверхні частинок зростає через формування поверхневого шару на межі розділу з наповнювачем, що складається з фрагментів полімерної матриці.

Четвертий розділ присвячено дослідженню сорбції парів розчинників створеними нанокompозитами та розрахункам термодинамічних параметрів взаємодій в нанокompозитах. Досліджено термодинамічні параметри взаємодій в нанокompозитах на основі ПУ/ПГЕМА матриці та наповнювачів з поверхнею, модифікованою біологічно активними сполуками. У роботі експериментально

досліджена ізотермічна сорбція парів хлористого метилену зразками нанокомпозитів та показано, що максимальну сорбційну здатність мають вихідні матриці. При введенні нанонаповнювача денсилу та нанокремнеземів з поверхнею, модифікованою БАС, сорбційна здатність зразків зменшується. Це свідчить про формування щільноупакованих граничних шарів полімерів на поверхні нанонаповнювачів. На основі експериментальних ізотерм сорбції проведені розрахунки вільної енергії змішування полімерів та наповнювача з хлористим метиленом та вільної енергії взаємодії полімер-наповнювач в залежності від концентрації останнього. Встановлено, що вільна енергія взаємодії наповнювача денсилу з полімерною матрицею, яка містить невелику кількість ПГЕМА, має від'ємне значення для всіх концентрацій наповнювача. При збільшенні долі ПГЕМА в полімерній матриці значення вільної енергії взаємодії полімер-наповнювач стає додатнім, що є результатом конкуренції двох процесів: формування щільних поверхневих шарів на поверхні наповнювача та формування міжфазних прошарків з надлишковим вільним об'ємом в нанокомпозитах з полімерною матрицею, яка містить значну кількість ПГЕМА. Встановлено, що максимальні показники вільної енергії взаємодії з матрицею має нанонаповнювач денсил. При механо-сорбційному нанесенні біологічно-активних сполук на поверхню нанокремнезему відбувається відносно зниження показників вільної енергії взаємодії з матрицею, тобто зниження адгезії полімерних компонентів матриці до наповнювачів. Це спостерігається для наповнювачів, що модифіковані гліцином, триптофаном, оксидом цинку.

У п'ятому розділі викладено результати динамічно-механічних, фізико-механічних та тепло-фізичних досліджень нанокомпозитів. Проведено дослідження динамічно-механічних властивостей синтезованих нанокомпозитів та вивчення особливості динаміки переходів склування в нанокомпозитах та їх співвідношення із наноструктурою. Дослідження показали, що нанокомпозити на основі ПУ та ПГЕМА з різним вмістом нанонаповнювача денсилу залишаються двофазними системами з незавершеним фазовим поділом як і вихідні матриці, але ступінь мікрофазового поділу змінюється під впливом наповнювача. Відбувається пригнічення сегментального руху ПУ через концентрацію наповнювача денсилу, в основному в нанодоменах ПУ, але поглиблюється мікрофазовий поділ між полімерними складовими нанокомпозитів.

Дослідження нанокомпозитів, що містили нанонаповнювач, модифікований триптофаном, проведені методом ДМА, показали, що має місце обмеження динаміки переходу склування ПГЕМА в частині нанооб'ємів матриці під впливом нанонаповнювача. "Обмежена динаміка" проявляється підвищенням значення температури склування $T_{ск}$ на 20–30°C та підвищенням значення модуля пружності при високих температурах.

Досліджено фізико-механічні властивості нанокомпозитів та встановлено, що в'язко-пружні та фізико-механічні властивості нанокомпозитів мають екстремальну залежність від вмісту наповнювачів. При введенні 3-5% денсилу в

матрицю з 17% ПГЕМА нанокompозити демонструють зростання модуля пружності в 1,5–3 рази та зростання напруги при розриві. Подальше збільшення кількості наповнювача призводить до відносного падіння модуля пружності та фізико-механічних властивостей, що пов'язано з рівномірним розподілом наночастинок на повнювача у об'ємі матриці при його невеликих кількостях (3–5%), та агломерацією наночастинок денсилу при збільшенні його вмісту.

У випадку матриці з вмістом 37% ПГЕМА, навпаки, відбувається падіння фізико-механічних параметрів при концентраціях денсилу 3–5% у порівнянні з вихідною матрицею. І лише при 15% вмісті наповнювача покращуються фізико-механічні параметри, оскільки, як показують термодинамічні дослідження, лише при 15% денсилу система стає термодинамічно стійкою і стабільною, ступінь сегрегації компонентів зменшується по відношенню до вихідної матриці, що і відбивається на зростанні фізико-механічних параметрів.

Шостий розділ присвячено дослідженню гідрофільності створених нанокompозитів та дослідженню біосумісності нанокompозитів *in vitro* та *in vivo*. Проведено дослідження біосумісності створених нанокompозитів. Вивчено кінетику вивільнення БАС із нанокompозитів, гідрофільні властивості нанокompозитів, дослідження біосумісності створених нанокompозитів *in vitro*, дослідження цитотоксичності і гістосумісності нанокompозитів в експериментах на тваринах. Для підвищення біосумісності в нанокompозити вводили нанонаповнювачі, модифіковані БАС, які використовуються для загоєння ран: амінокислоти (гліцин, триптофан), оксиди металів (оксид цинку, сульфат цинку, нітрат срібла), антибіотики (метронідазол, декаметоксин).

Для дослідження кінетики вивільнення біологічно активних сполук використовували аналітичні методи, а саме: дітізоновий – для йонів металів, нінгідринний – для амінокислот. Показано, що найкраще вивільняються йони металів з оксидів, потім – із солей, а також амінокислота гліцин. Зроблено висновок, що вивільнення біологічно активних сполук з нанокompозитів суттєво залежить від структури матеріалів та термодинаміки взаємодій між матрицею та наповнювачами. Вивільнення БАС відбувається повільніше з гетерогенних матриць, які створені за принципом ВПС, в порівнянні з індивідуальними полімерами (ПУ). Термодинаміка взаємодій в нанокompозитах має визначальний вплив на швидкість вивільнення БАС з матеріалів. При формуванні термодинамічно стійких нанокompозитів, де мають місце негативні значення вільної енергії взаємодії між нанонаповнювачем та матрицею, а отже формуються щільні поверхневі шари матриці на наповнювачах, вивільнення БАС відбувається повільно. При відсутності термодинамічної спорідненості полімерної матриці до нанонаповнювача формуються нещільні, крихкі поверхневі шари матриці на наповнювачах; з таких нанокompозитів вивільнення БАС відбувається швидше.

При дослідженні гідрофільності нанокompозитів показано, що з вмістом наповнювачів гідрофільність нанокompозитів збільшується в порівнянні з вихідними матрицями.

Проведено експериментальне випробування вихідних матриць та нанокомпозитів на аномальну токсичність. Досліджено реакцію оточуючих тканин на імплантований матеріал на щурах та проаналізовано мембранотропні властивості нанокомпозитів щодо клітин дріжджової культури. Продемонстровано, що видимих проявів інтоксикації тварин не виявлено, рана загоювалася без ускладнень, первинним натягом.

При дослідженні цитотоксичності та гістосумісності створених нанокомпозитів в експериментах на тваринах *in vivo* показано, що у тварин, яким підшкірно був імплантований нанокомпозит, виражених ознак запалення в тканинах і порушення показників крові не спостерігалось. За висновком Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, матеріал є перспективним для використання в біомедичній галузі, а саме для виготовлення хірургічних покриттів, імплантатів, катетерів, дренажів та інших виробів хірургічного призначення.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень і висновків базується на детальному аналізі з використанням сучасних літературних даних, ідей та експериментальних результатів дисертантки, отриманих за допомогою сучасних методів дослідження, зокрема, малокутового рентгенівського розсіювання, атомної силової мікроскопії, ІЧ спектроскопії, динамічно-механічного аналізу (ДМА), диференційної скануючої калориметрії (ДСК), сорбційної вакуумної установки з терезами Мак-Бена, фізико-механічних досліджень. Баується також на дослідженнях біосумісності створених нанокомпозитів, а саме дослідженнях гідрофільності нанокомпозитів, кінетики вивільнення БАС з нанокомпозитів, дослідженнях біосумісності створених нанокомпозитів методами *in vitro* та *in vivo*. Вивчалась активність нанокомпозитів в аспекті антимікробної дії на патогенну мікрофлору методом дифузії в агар. Проводилось експериментальне випробування створених матеріалів на аномальну токсичність та вивчення реакції оточуючих тканин на імплантований матеріал. Досліджувалась реакція крові на імплантований матеріал.

Наукові публікації та автореферат досить повно відображають зміст дисертації, основні наукові результати якої опубліковані у фахових журналах, захищені патентом України та доповідались на численних міжнародних та вітчизняних конференціях.

Опубліковані результати дисертації відповідають вимогам наказу Міністерства освіти і науки України від 23 вересня 2019 року № 1220 “Про опублікування результатів дисертацій на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук”.

Разом з тим, до роботи є зауваження та побажання:

1. У другому розділі описано модифікацію нанокремнезему методом механоактивації та методом механосорбційного модифікування

біологічноактивними сполуками. Однак властивості одержаних модифікованих нанокремнеземів не наведено, зокрема, невідомим залишається вміст введених БАС. Автор обмежується лише посиланнями на дві публікації [3,4], що містять інформацію про нанокремнеземи, модифіковані сульфатом міді та нанорозмірним сріблом.

2. Розділ 3.1 присвячено контролю умов формування напів-ВПС/ПГЕМА з вмістом ПГЕМА 17мас%, у подальшому також обговорюються зразки з 37% вмістом ПГЕМА. На жаль, ані у тексті дисертації, ані у авторефераті не обґрунтовується вибір напів-ВПС саме такого складу як матриць для введення наповнювачів.
3. У розділі 4.1.6. (стор. 145) автор констатує, що при механо-сорбційному нанесенні таких біологічно-активних сполук, як гліцин, триптофан, оксид цинку, на поверхню кремнезему відбувається відносно зниження адгезії полімерних компонентів матриці до наповнювачів. Бажано було б спробувати пояснити такий експериментальний факт.
4. У розділі 6.1. (стор. 187) автор наводить дані щодо набухання створених нанокompatитів у дистильованій воді. Залишається відкритим питання щодо того, які значення наведених параметрів (наприклад, максимального збільшення в масі) є допустимими/бажаними для композитів з огляду на перспективу їх подальшого практичного застосування.
5. У розділі 6.2. (стор. 188) автор наводить дані досліджень створених нанокompatитів щодо кінетики вивільнення БАС у дистильованій воді. На жаль не обговорюється і не досліджується питання вивільнення БАС у буферних розчинах, що за рН близькі до фізіологічних умов. Також у розділі не вказано температурні умови проведення дослідів. Така інформація відсутня і у розділі 2 («Вибір об'єктів і методів дослідження").
6. Робота викладена сучасною науковою мовою, але зустрічаються поодинокі одруки та недосконалості перекладу з інших іноземних мов, як то у тексті дисертації: стор.37 «не задержувати» замість «не затримувати», стор. 43 «з ціллю» замість «з метою», стор. 54 «важливим є то» замість «важливим є те».

Однак висловлені зауваження мають уточнюючий характер, не торкаються основного змісту і загальної високої оцінки дисертації Бондарук Оксани Миколаївни, яка є завершеним дослідженням, виконаним на хорошому науковому та експериментальному рівні, робить суттєвий внесок в хімію високомолекулярних сполук.

Вважаю, що подана дисертаційна робота "Нанокompatити на основі поліуретан/полі(2-гідроксиетилметакрилат)ної полімерної матриці та модифікованих наноксидів для біомедичного застосування" за актуальністю та об'ємом досліджень, новизною результатів, їх науково-теоретичним і практичним значенням та ступенем обґрунтованості висновків повністю

відповідає вимогам "Порядку присудження наукових ступенів", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 (зі змінами), зокрема, пунктам 11, 12, 13, а її автор, Бондарук Оксана Миколаївна, заслуговує на присудження їй наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук.

Офіційний опонент:

Доктор хімічних наук, доцент кафедри хімії високомолекулярних сполук Київського національного університету імені Тараса Шевченка

Л.О. Вретік

