

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Шимборської Яни Андріївни

"Формування двошарових біологічно активних прищеплених полімерних покриттів",

представлену на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук
за спеціальністю 102 – хімія, галузь знань 10 – природничі науки

Сучасний стан розвитку хімічної науки і хімічної технології відзначається дедалі виразнішим проявом взаємопроникнення різних наукових напрямів. Дедалі більше досліджень опиняються на перетині різних не лише наукових підходів, а й цілих наук: хімії, фізики, матеріалознавства, біології, медицини.

Дисертація Яни Андріївни Шимборської є яскравим прикладом такого взаємопроникнення. Робота присвячена вивченню особливостей перебігу процесу формування двошарових біологічно активних прищеплених полімерних покриттів та дослідженню їхніх властивостей. Методика синтезу таких покриттів заснована на модифікуванні поверхні «розумних» прищеплених полімерних щіток біологічно активними макромолекулами з метою контрольованого впливу на біологічні об'єкти. Такі матеріали мають значний потенціал застосування у тканинній інженерії, медицині, біотехнології, виробництві біосенсорів і т. п.

Створення й вивчення біологічно активних полімерних матеріалів є гостро назрілим завданням. Це пояснюється передусім критичним браком донорських органів і тканин і величезним попитом на нетоксичні ефективні біологічно активні прищеплені полімерні покриття. Важливо й те, що вимоги медиків і біологів до синтетичних матеріалів, які вони використовують у своїй практиці, невинно зростають. Тож актуальність дослідження Я. Шимборської не викликає жодних сумнівів.

Дисертаційна робота виконана на кафедрі органічної хімії Інституту хімії і хімічних технологій Національного університету "Львівська політехніка". Тема дисертаційної роботи відповідає науковому напрямку кафедри, а саме

"Створення функціональних полімерів та наноматеріалів". Метою роботи є розроблення наукових і практичних основ для пошуку й застосування нових двошарових полімерних прищеплених наночарів на неорганічних поверхнях. Основні об'єкти дослідження – нові «розумні» прищеплені полімерні наночари на неорганічних поверхнях, які містять макроланцюги полімерних щіток (перший прищеплений наночар), модифіковані біологічно активним наночаром (другий прищеплений наночар), для вирощування на них клітин. Процеси формування нових «розумних» прищеплених полімерних наночарів на поверхні амінованого скла є предметом дослідження, яке виконала Яна Шимборська у своїй дисертаційній роботі: склад макроланцюгів кополімерних щіток (перший прищеплений наночар), їх будова та властивості; процеси модифікування їх біологічно активним наночаром (другий прищеплений наночар), його будова та властивості; процес вирощування різних клітинних ліній на досліджуваних поверхнях, їхня життєздатність і морфологія клітин.

Процес формування на поверхнях амінованого скла нових "розумних" (ко)полімерних прищеплених наночарів, які складаються з макроланцюгів полімерних щіток, одержаних методом радикальної полімеризації «від поверхні» мономерів OEGMA188, AAm, NIPAM, НЕМА здійснено і досліджено *вперше*. *Уперше* виявлено вплив тривалості модифікування на товщину й термочутливі властивості двошарових полімерних покриттів. *Уперше* встановлено комплексний вплив температури та значення рН на змочуваність, товщину та морфологію прищеплених кополімерних наночарів з різною хімічною будовою (співвідношенням комономерів). *Уперше* створено нові двошарові прищеплені наночари для вирощування на них тканин з контролем зміни морфології клітин і відщеплення від поверхні клітин. Отже, новизна результатів дослідження не викликає сумнівів.

Одержані двошарові полімерні наночари є цитосумісними, нетоксичними і можуть застосовуватися для вирощування на них тканин, а також для контрольованої зміни морфології висіяних на них клітин. Отримані наночари можуть бути використані у тканинній інженерії, в біотехнології, в медицині, що свідчить про практичну значущість представлених результатів.

Основний зміст дисертаційної роботи висвітлений у 20 публікаціях: 5 статей у закордонних наукових періодичних виданнях і виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз, і 15 тез доповідей на вітчизняних і міжнародних конференціях і симпозіумах.

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку використаної літератури і містить 144 сторінки друкованого тексту, 7 таблиць, 52 рисунки і 162 бібліографічні посилання.

У вступі обґрунтовано вибір теми дисертації, доведено її актуальність, сформульовано мету й завдання досліджень, висвітлено наукову новизну і практичне значення одержаних результатів. Викладено основні положення, які виносяться на захист дисертації, та дані про апробацію і публікацію результатів досліджень. У першому розділі автор традиційно наводить огляд літературних джерел, присвячених аналізу сучасного стану й перспектив дослідження біологічно активних полімерних систем, чутливих до дії зовнішніх чинників, таких як температура, рН, світло чи електромагнітне поле. Завдяки такій здатності ці полімерні системи мають широкий спектр застосування, включаючи біомедицину, тканинну інженерію, діагностичні медичні напрями, створення біосенсорів і засобів адресної доставки ліків і т. д. Нові пошуки в цій галузі спрямовані на формування полімерних систем, які не лише змінюють свої властивості, а й активно впливають на біологічні об'єкти, що відкриває нові перспективи їх використання. Літературний огляд написано дуже детально, ретельно і ґрунтовно і доповнено цікавим графічним матеріалом, він є результатом вичерпного аналізу сучасного стану наукової проблеми. Другий розділ містить інформацію про основні методики виконання синтезів і аналізів, які використовувалися в дослідженні. Перебіг процесів на кожній стадії формування рН- і температурочутливих прищеплених (ко)полімерних щіток і двошарових біологічно активних покриттів описано докладно; для характеристики отриманих матеріалів використано найсучасніші методи дослідження: методи часопротітної вторинної іонної мас-спектрометрії TOF-SIMS, рентгенівської фотоелектронної спектроскопії XPS, спектроскопії відбиття білого світла WLRS, раманівської спектроскопії, еліпсометричний

аналіз, методи вимірювання контактних кутів змочування води СА, атомно-силової мікроскопії AFM, фіксації клітинного росту фібробластів, МТТ колориметричний тест, забарвлювання живих/мертвих клітин, імунофлюоресцентного аналізу, мікроскопічного дослідження зміни морфології клітин, мікрореологічний метод дослідження ракових клітин, висіяних на двошарових біологічно активних прищеплених покриттях. Комплексне використання таких методик підтверджує достовірність отриманих дисертантом результатів і правильність зроблених на підставі їх аналізу висновків. Третій розділ присвячений формуванню й дослідженню властивостей рН- і температурочутливих прищеплених (ко)полімерних щіток з нижньою (LCST) і верхньою (UCST) критичною температурою розшарування на основі таких мономерів: N-ізопропілакриламід (NIPAM), метилового етеру діетиленглікольмонометакрилату (OEGMA188), акриламід (AAm), 2-гідроксіетилметакрилату (HEMA). Синтезовані при виконанні дисертаційної роботи матеріали мають такі вагомі переваги:

1. Температурозалежна відповідь змочуваності поверхні (ко)полімерних щіток є більш вираженою та помітною, ніж для наношарів на основі POEGMA188 та PAAm.

2. (Ко)полімерні щітки виявляють чутливість водночас до зміни температури і значення рН середовища.

3. Завдяки їхній «шизофренічній» відповіді на зовнішні чинники, спектр застосування таких щіток може бути суттєво розширений.

У четвертому розділі проаналізовано біосумісність першого прищепленого наношару на основі (ко)полімерних щіток з використанням дермальних фібробластів людини (HDFn) і спрогнозовано можливість змінювати морфологію клітин і процес безenzимного відшаровування за різної температури. Проведені експерименти виявили численні переваги створених матеріалів. Щітки продемонстрували різний механізм термочутливості, що робить їх перспективними об'єктами для дальшого дослідження з метою встановлення молекулярних механізмів теплової відповіді. Авторка показала, як можна змінювати температуру переходу покриттів варіюванням складу.

Біосумісність одержаних наносарів з фібробластами людини робить прищеплені щітки перспективними кандидатами для тканинної інженерії. У п'ятому розділі описано спосіб формування двошарових біологічно активних прищеплених полімерних покриттів шляхом модифікації першого наносару, який складається з термочутливих кополімерних щіток на основі P(OEGMA-co-HEMA) з мольною часткою HEMA 10% з реакційноздатними гідроксильними групами на поверхні, ковалентно прищепленими біологічно активними наносарями на основі 4-ArmPEG15K та 4-ArmPEG15K+PEG-3APT, зшитих у полімерну матрицю з гелеподібною структурою. Досліджено вплив тривалості модифікування на збереження температурочутливих властивостей двошарових полімерних покриттів і показано, що зі збільшенням тривалості інтенсивність LCST-подібного переходу зменшується аж до цілковитого зникнення. Для тестів обрано ракові клітини карциноми підшлункової залози (PANC-1) завдяки їхнім властивостям, простому процесу культивування, швидкому росту. Аналіз результатів дослідження показав, що перспективне застосування двошарових покриттів пов'язане з біомедициною та безкаркасною тканинною інженерією. Їх можна використовувати як для розвитку методів боротьби з раком, так і для культивування клітин з метою їх неінвазивного відшаровування і подальшого використання в терапії пацієнтів з опіками й шкірними захворюваннями.

Дисертація логічно структурована, написана правильною науковою мовою; ілюстративний матеріал вельми цікавий, охайно оформлений і міститься в достатній кількості. Робота побудована за класичною схемою – послідовний синтез двошарових біологічно активних прищеплених полімерних покриттів і ретельне дослідження властивостей об'єктів на кожній його стадії.

До зауважень по суті дисертаційної роботи Я.А. Шимборської можна віднести:

1. Чи можна було якимись експериментальними методами (якісно або кількісно) контролювати прищеплення 2-бромоізобутирилброміду – ініціатора радикальної полімеризації ATRP – до поверхні амінованого скла?

2. Мольний склад покриттів на основі P(OEGMA-co-HEMA) та P(NIPAM-co-HEMA) (наведено у табл. 3.6) можна контролювати шляхом зміни співвідношення мономерів у реакційній суміші та обчислювати за відповідними рівняннями. Не зовсім зрозуміло, чому не проводилися розрахунки з використанням констант кополімеризації для синтезу прищеплених кополімерних щіток на основі P(OEGMA188-co-AAm) з визначеним мольним співвідношенням мономерів.
3. Яким чином доведено формування гелю у вигляді суцільного другого наночастиці, а не дискретно між полімерними ланцюгами прищеплених кополімерних щіток?
4. У який спосіб контролювали щільність прищеплення й товщину прищеплених полімерних щіток?
5. Чому було обрано для досліджень ракові клітини, якщо відомо, що вони можуть неконтрольовано рости й мають змінену клітинну стінку?
6. Як "шизофренічна" поведінка прищеплених кополімерних щіток на основі P(OEGMA188-co-AAm) впливатиме на потенційне застосування їх у тканинній інженерії та в інших галузях?

Є також деякі похибки в тексті дисертації:

1. Терміни «температурозалежний», «температурочутливий», «температуроіндукований» пишуться разом, а от «полімер-полімерний» (с.3) – через дефіс.
2. Перелік умовних позначень, символів і скорочень традиційно формують в алфавітному порядку.
3. с.30. "термочутливі полімери на основі Tg (температура склування) або Tm (температура плавлення)" – речення потребує доопрацювання.
4. с.60. "Однак потенціал таких полімерних щіток в тканинній інженерії може бути обмежений через їхній невластивий рівень змочуваності..." – мабуть краще було б сказати «незадовільний», «низький».

Вважаю, що наведені недоліки та висловлені зауваження не є принциповими і не впливають на загальну позитивну оцінку роботи, а також на теоретичну та практичну значущість одержаних результатів.

Висновок про відповідність дисертації вимогам положень ДАК МОН України

Дисертаційна робота на тему "Формування двошарових біологічно активних прищеплених полімерних покриттів" є закінченою науковою працею та відповідає паспорту спеціальності 102 – хімія, галузь знань 10 – природничі науки.

Вважаю, що за актуальністю, науковим рівнем, новизною одержаних результатів та їх практичним значенням, об'ємом виконаних експериментальних досліджень, кількістю та якістю публікацій рецензована дисертаційна робота відповідає наказу МОН України №40 від 12 січня 2017 року "Про затвердження вимог до оформлення дисертацій", а також вимогам "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 січня 2022 року, зі змінами, внесеними згідно з Постановою Кабінету Міністрів України №341 від 21 березня 2022 року, а автор кваліфікаційної наукової роботи заслуговує присудження їй наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 10 "Природничі науки" за спеціальністю 102 "Хімія".

Офіційний опонент –
завідувач відділу модифікації полімерів
Інституту хімії високомолекулярних сполук
Національної академії наук України,
доктор хімічних наук, професор

С.В. Рябов

Підпис д.х.н. Рябова Сергія Володимировича засвідчую:
Вчений секретар ІХВС НАН України,
к.х.н.



В.Л. Будзінська