

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Стецишина Юрія Богдановича «Прищеплені полімерні щітки на мінеральних поверхнях, чутливі до дії зовнішніх чинників», представлену на здобуття наукового ступеня доктора хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук

Актуальність теми

Розвиток сучасних наукоємних технологій, нові тенденції досліджень в галузі полімерної хімії, біоінженерії та нанохімії вимагають створення «інтелектуальних» систем, здатних реагувати на зовнішню дію оборотною зміною структури, фізичних або хімічних властивостей. Одним з важливих напрямків розвитку сучасної полімерної хімії є модифікація твердих неорганічних та органічних поверхонь для надання їм спеціальних властивостей. Це відкриває нові можливості для створення матеріалів для розвитку клітинної інженерії, біотехнології, наномедицини, у якості засобів доставки лікарських препаратів, діагностики захворювань тощо. Введення металевих або напівпровідникових наночастинок у полімерні системи відкриває нові шляхи для конструювання композиційних матеріалів, що володіють унікальними механічними, електричними або оптичними властивостями.

Актуальність теми дисертаційної роботи Ю. Б. Стецишина має дві складові – фундаментальну і прикладну. Межу розділу фаз можна розглядати як особливий стан речовини, властивості якої мають свої специфічні закони, водночас стан поверхні або навіть незначна зміна поверхневих властивостей можуть приводити до суттєвих наслідків, наприклад, здатності до адсорбції білків, гідрофільно-гідрофобного балансу, показника заломлення та ін. Зміна температури на декілька градусів чи незначні зміни у рН дозволяють суттєво (у десятки разів) змінювати властивості таких поверхневих шарів, їхню морфологію, механічні властивості тощо.

На даний час не існує загальної теорії, яка пов'язувала б можливість зміни властивостей поверхневих наночарів зі складом та будовою їх макромолекул. Крім того, далеко не вичерпано асортимент полімеризаційних та поліконденсаційних мономерів для створення чутливих полімерних наночарів. Окреме місце займає питання впливу функціональних груп мультифункціональних ініціаторів на властивості наночарів прищеплених полімерних щіток. Вирішенню таких проблем зумовило мету дисертаційної роботи Юрія Стецишина, присвячену розробці стратегії синтезу та одержання нових полімерних матеріалів – прищеплених полімерних щіток, на плоских та дисперсних поверхнях з використанням мультифункціональних ініціаторів, дослідження впливу функціональних груп цих ініціаторів на властивості

наношарів отриманих полімерних щіток, що є важливою, актуальною проблемою з практичним виходом.

Дисертація Стецишина Ю.Б. є закономірним успіхом наукової школи кафедри органічної хімії Національного університету «Львівська політехніка», яку очолює проф. Воронов С.А. з напрямку «Розробка реакційноздатних і ініціюючих систем для функціоналізації міжфазних поверхонь та формування на них спеціальних полімерних наношарів» і є складовою частиною проєктів, які виконувалися в межах держбюджетних науково-дослідних тем та грантових робіт: ДБ/МПК “Нові біологічно активні мінерал-полімерні композиції для кісткової пластики та пункційної вертебропластики” (2016-2017, № 0116U004137); Грант Президента України для молодих вчених “Формування та модифікація декстранових наношарів прищеплених до полімерної поверхні для біомедичного застосування” (2009-2010, GP/F27/0070); Грант Президента України для молодих вчених “Формування прищеплених температурочутливих наношарів декстрану для контрольованого вивільнення білків та традиційних ліків” (2007 р., GP/F13/0010). Участь автора дисертаційної роботи на всіх етапах підготовки і реалізації проєктів була ключовою. Міжнародна співпраця здобувача з провідними науковими установами Чехії, Польщі, Італії та інших країн дала змогу інтегрувати проведені дослідження у світовий науковий процес.

Аналіз змісту дисертаційної роботи

Основний зміст роботи викладений на 336 сторінках друкованого тексту, містить 13 таблиць та 148 рисунків. Список літературних джерел налічує 317 найменувань. Дисертаційна робота має класичну будову - складається із вступу, 8 розділів, висновків та списку використаної літератури.

Перший розділ присвячений огляду літератури з методів одержання полімерних щіток. В цьому розділі проведено порівняння між адсорбованими та прищепленими макромолекулами, наведено інформацію про типи конформацій прищеплених щіток у залежності від щільності прищеплення. Велика частина літературного огляду присвячена, чутливим полімерним системам та їх можливим застосуванням. Особливо цікавим, на мою думку, є розділ, присвячений прищепленим наношарам спеціального призначення, здатним до регенерації структури і самовідновлення властивостей. Показана можливість їх застосування для сепарації білків та клітин, вирощування тканин та тканинної інженерії, що може допомогти в розробці новітніх біоінтерфейсів для біомедичних та біотехнологічних застосувань. Сформульовані теоретичні передумови досліджень і мета роботи.

У другому розділі наводиться характеристика вихідних речовин, методики синтезу та методи дослідження одержаних полімерних матеріалів. Автор достатньо кваліфіковано представив також методи підготовки (очистки) вихідних речовин, описав методики фізико-хімічних, структурних і біологічних

досліджень. В роботі використані хімічні методи аналізу, рефрактометрія, UV-Vis, флуоресцентна та ІЧ спектроскопія (FTIR), скануюча електронна мікроскопія (SEM), термогравіметрія, диференційна скануюча калориметрія, часопротітна йонна-вторинна мас-спектрометрія (ToF-SIMS), рентгенівська фотоелектронна спектроскопія, метод динамічного світлорозсіювання, еліпсометрія, атомно-силова мікроскопія, енергодисперсійна рентгенівська спектроскопія, визначення контактного кута змочування.

У третьому розділі описані закономірності активації неорганічних плоских поверхонь (переважно – скла) за допомогою мультифункціональних ініціаторів (МІ) радикальної полімеризації. Встановлено основні закономірності формування прищеплених наночарів МІ на амінованих поверхнях, встановлено товщини, індекси рефракції, змочування та морфології прищеплених наночарів. Проведено комп'ютерне моделювання молекул МІ. Встановлено, що кількість прищеплених молекул на поверхні, а відповідно, кількість ініціюючих центрів суттєво залежить від природи функціональних груп у структурі МІ.

У четвертому розділі досліджено процеси формування, властивості та застосування температуро-чутливих прищеплених полімерних щіток з нижньою критичною температурою розшарування на основі відомих (N-ізопропілакриламід, олігоетиленглікольметакрилатів, 4-вінілпіридину, бутилметакрилату, бутилакрилату) та нових мономерів (пентаеритрилмоно-метакрилату, холестерилметакрилату). Сформовано наночари прищеплених щіток полі(N-ізопропілакриламід) - ПНІПАМ та досліджено їхні властивості, вплив товщин наночарів на змочування, морфологію тощо. Показано одночасний вплив температури та рН на морфологію та змочування наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ. Запропоновано узагальнений механізм утворення водневих зв'язків між 4 амідними групами ПНІПАМ, карбоксильними групами МПІ-1 та водою. Вивчено вплив температури та рН на адсорбцію білків на поверхні наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ. Показано, що такі системи мають значні перспективи застосування як засоби контрольованої адсорбції білків. Для аналізу одночасного впливу температури та рН на морфологію наночарів прищеплених щіток ПНІПАМ були проведені серії вимірювань з використанням АСМ.

П'ятий розділ дисертації присвячений вивченню процесів синтезу, властивостей та застосування наночастинок срібла (Ag-НЧ) у наночарах температуро-чутливих прищеплених полімерних щіток з НКТР. Виявлено вплив хімічної природи полімерної щітки на форму, розміри та кількість Ag-НЧ. При включенні Ag-НЧ відбувалося суттєве зростання показника заломлення прищеплених наночарів. Дослідження температуро-залежних властивостей змочування наночарів та впливу на нього Ag-НЧ, показало, наночари із вбудованими Ag-НЧ є значно гідрофільнішими, ніж «чисті» наночари, проте зберігають чутливість до температури. Досить цікавими та

інформативними є дослідження морфології наночарів з використанням методів СЕМ та АСМ. Згідно цих результатів форма частинок та їх кількість перш за все пов'язані з хімічним складом прищеплених полімерних щіток, а не способом формування наночарів. Отримано спектри оптичного поглинання Ag-НЧ, вбудованих у П4ВП, П(4ВП-ко-ОЕГМА246), П(ОЕГМА246) щітки, у сухому стані та водному середовищі за температур 10, 20 і 30°C. Вивчено антибактеріальні властивості наночарів прищеплених полімерних щіток П(ОЕГМА188) та П4ВП із вбудованими Ag-НЧ.

У шостому розділі розглядаються властивості та застосування температуро-чутливих прищеплених полімерних щіток з температурою склування у області фізіологічних температур. Як модельні об'єкти використано полібутилметакрилат (ПБМА) і полібутилакрилат (ПБА) з різною температурою переходу у високоеластичний стан (T_g). Виявлено залежність T_g від товщини наночару прищеплених щіток ПБМА. Вперше досліджено адсорбцію білка на поверхні, модифікованій наночарами прищеплених щіток ПБМА та ПБА. Показано, що адсорбція білків залежить від температури, і збільшується майже вдвічі при підвищенні температури для наночарів ПБМА, у протилежність до наночарів ПБА, де інтенсивність адсорбції білків майже не виявляє температурної залежності. За допомогою ToF-SIMS аналізу хімічної структури бичачого сировоткового альбуміну (БСА) та імуноглобуліну G (IgG) у поєднанні з методом головних компонент, вперше показано різну орієнтацію БСА та IgG адсорбованих на поверхні наночарів ПБМА при різних температурах. На цій основі запропоновано застосування наночарів прищеплених щіток ПБМА з $T_g \approx 20-25$ °C для контрольованої орієнтації макромолекул білків на поверхні наночару та вирощування клітин.

Сьомий розділ присвячений формуванню та опису властивостей наночарів температуро-чутливих прищеплених рідкокристалічних полімерних щіток. Встановлено, що температури переходів для прищеплених щіток полі(холестерилметакрилату)-ПХМА зміщуються до більш низьких температур, порівняно з вільними макромолекулами цього ж полімеру, через зменшення числа ступенів свободи в прищеплених полімерних щітках. Показано, що температуро-індуковані переходи супроводжуються зменшенням показників заломлення та зростанням товщини наночарів прищеплених полімерних щіток. Орієнтація нематичних рідких кристалів на поверхні наночарів прищеплених щіток ПХМА досліджувалася за допомогою поляризаційної оптичної мікроскопії. Отримані результати мають практичний інтерес для створення температуро-контрольованих платформ для орієнтації рідких кристалів. Досліджена поведінка клітин на поверхні наночарів прищеплених щіток ПХМА. Показано, що біосумісні властивості наночарів прищеплених щіток ПХМА є дуже специфічними для кожного окремо взятого типу клітин.

У восьмому розділі описано основні закономірності формування та властивості прищеплених полімерних щіток на поверхнях боронітридних нанотрубок (БННТ). Прищеплені температурочутливі щітки ПНПАМ були синтезовані шляхом ініційованої полімеризації від пероксидних груп МП-1, попередньо іммобілізованого на поверхні БННТ. Знайдено, що БННТ, функціоналізовані прищепленими щітками ПНПАМ проявляють температурозалежні колоїдні та оптичні властивості. Флуоресцентні водо-дисперсні наноматеріали на основі БННТ та полімерних щіток добре диспергуються у воді та демонструють інтенсивну флуоресценцію при 520 нм, що дозволяє їх використанні для візуалізації клітин та як наноносіїв лікарських препаратів. Факт функціоналізації БННТ доведений за допомогою термогравіметричного аналізу, ІЧ спектроскопії з перетворенням Фур'є, динамічного розсіювання світла, УФ-видимої спектрофотометрії, лазерної скануючої конфокальної мікроскопії та скануючої електронної мікроскопії. Отримані наноматеріали здатні змінювати інтенсивність флуоресценції у залежності від рН середовища. Вирішальну роль у рН-контрольованому перемиканні флуоресценції відіграє перетворення флуоресцеїнових фрагментів з катіонної форми в нейтральну та особливо аніонну форму. Показано, що боронітридні нанотрубки, модифіковані прищепленими полімерними щітками здатні проникати у клітини, а тому мають перспективи у застосуванні, як носії лікарських препаратів контрольованого звільнення та як наносенсорні системи.

Висновки дисертації (11 пунктів) логічно впливають із результатів роботи та об'єктивно відображають її зміст.

До найвагоміших досягнень роботи слід віднести:

- Розроблення наукових і практичних засад формування наношарів прищеплених полімерних щіток, чутливих до температури та рН середовища, на поверхнях скла та борогідридних нанотрубок. із застосуванням мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації;

Створення біосумісних та біоспецифічних систем для: вирощування клітин, контрольованої адсорбції білків; «розумних» антибактеріальних покриттів, систем прецизійної контрольованої орієнтації білків та рідких кристалів та контрольованої доставки ліків.

Формування наночастинок срібла різних форм та розмірів у полімерній матриці наношару прищеплених рН- та температурочутливих щіток, що дало змогу отримати систему з контрольованою, за допомогою температури, антибактеріальною активністю.

Розробка методу модифікації поверхні боронітридних нанотрубок температурочутливими або рН-чутливими прищепленими щітками з метою надання їм здатності до вододиспергування, біосумісних та флуоресцентних властивостей, можливості проникати у клітини.

Розвинення нового напрямку у хімії високомолекулярних сполук, а саме – формування за допомогою мультифункціональних ініціаторів прищепленої

полімеризації наночарів полімерних щіток на мінеральних поверхнях, де природа ініціатора визначає фізико-хімічні властивості прищеплених наночарів у залежності від їхньої структури.

Наукова новизна

1. На основі теоретичних і експериментальних досліджень вперше обгрунтовано можливість і здійснено формування наночарів мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації на основі пероксидів, синтезованих з тетрахлорангідриду піромелітової кислоти, поліетиленгліколю і *трет*-бутилгідропероксиду; тетрахлорангідриду піромелітової кислоти та *трет*-бутилгідропероксиду; тетрахлорангідриду піромелітової кислоти, *трет*-бутилгідропероксиду та холестеролу; бромангідриду 2-бромо-2-метилпропанової кислоти на поверхнях амінованого скла та нанотрубок.
2. Вперше з використанням мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації одержано полімерні щітки на основі N-ізопропілакриламід, метилового етеру діетиленглікольмонометакрилату, етилового етеру триетиленглікольмонометакрилату, 4-вінілпіридину, пентаеритрилмонометакрилату, бутилметакрилату, бутилакрилату та холестерилметакрилату.
3. Для наночарів статистичних щіток температуро- та рН-чутливих кополімерів полі(4-вінілпіридин-*ко*-етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату) виявлено наявність двох нижніх критичних температур розшарування при певному співвідношенні мономерних фрагментів.
4. Розроблено спосіб формування «розумних» антибактеріальних покриттів з наночастинками срібла та систем з контрольованою за допомогою температури антибактеріальною активністю.
5. Запропоновано застосування наночарів прищеплених щіток ПБМА з $T_g \approx 20-25$ °C для контрольованої температурою орієнтації макромолекул білків на поверхні наночару та вирощування клітин.
6. Вперше показано можливість контрольованої за допомогою температури орієнтації нематичних рідких кристалів на поверхні наночарів прищеплених щіток полі(холестерилметакрилату).
7. Створено новий метод поверхневої модифікації боронітридних нанотрубок температуро-чутливими полі(N-ізопропілакриламідними) або рН-чутливими полі(акрилова кислота-*ко*-флуоресцеїнакрилатними) прищепленими щітками.

Практичне значення роботи

Практична цінність дисертації полягає в тому, що дисертант розробив не тільки стратегію, але й тактику формування прищеплення полімерних щіток до мінеральних поверхонь із застосуванням мультифункціональних ініціаторів радикальної полімеризації, оскільки представив теоретичні і практичні підходи до їх отримання. Одержані полімерні наночари мають перспективи застосування як температуро і рН-контрольовані поверхні для вирощування

клітин, адсорбції білків; формування наночастинок і «розумних» антибактеріальних покриттів на їх основі. Важливими є системи прецизійної контрольованої орієнтації білків та рідких кристалів, а також контрольованої доставки ліків.

Прищеплення чутливих полімерних шарів можна здійснювати на поверхнях різної природи простими, ефективними методами полімеризаційного нанесення без застосування вакуумних технологій чи спеціального обладнання. Саме таких методів і матеріалів потребують сучасні галузі виробництва медичного обладнання, приладів для роботи з кров'ю, тканинної інженерії, носіїв медичних препаратів, поверхонь з бактерицидними властивостями.

Практичне значення роботи Юрія Стецишина не обмежується лише технологічним застосуванням. Викладений у дисертації матеріал може бути оформлений у вигляді монографії і використаний у навчальному процесі при викладанні як лекційних курсів, так і підготовці магістрів, а також спеціалістів вищої кваліфікації.

Достовірність отриманих результатів та обґрунтованість висновків.

Отримані в дисертації Ю. Б. Стецишина наукові результати, положення і висновки є *новими, теоретично і експериментально обґрунтованими*, оскільки ґрунтуються на достатньо великому масиві експериментальних даних, отриманих з використанням різних хімічних, фізико-хімічних та фізичних методів дослідження і проаналізованих на основі фундаментальних засад хімії високомолекулярних сполук та фізико-хімії полімерів з урахуванням сучасного стану проблеми в цій галузі та світового досвіду.

Достовірність і новизна викладених у дисертації наукових положень та висновків забезпечується фаховим вибором та застосуванням апробованих та надійних експериментальних методів синтезу і сучасних фізико-хімічних методів дослідження поверхні з вдалим використанням низки прецизійних методів, спектральних і структурних досліджень, визначення крайового кута змочування, індексу рефракції тощо. Достовірність і обґрунтованість отриманих результатів підтверджується їх доброю відтворюваністю, взаємною узгодженістю даних, отриманих з використанням взаємодоповнюючих методів дослідження, високим рівнем і обсягом наукових публікацій, успішною апробацією матеріалів дисертації на міжнародних та вітчизняних наукових конференціях.

Повнота викладення результатів в опублікованих працях

Основні наукові результати дисертації повною мірою висвітлені у 46 статтях у фахових періодичних виданнях, як вітчизняних (21), так і міжнародних (з них -26 в журналах, що входять до наукометричних баз даних і мають імпаکت фактор). Міждисциплінарний характер роботи та практичне використання її результатів підтвержені публікаціями у журналах біологічного

спрямування, фізичної оптики та ін. Робота широко апробована на міжнародних та вітчизняних конференціях (69 доповідей). Зміст автореферату повністю відповідає основному змісту дисертації.

Все це дає підстави вважати, що дисертаційна робота Стецишина Ю.Б. відображена у публікаціях високого рівня, які за кількісними ознаками відповідають існуючим кваліфікаційним вимогам до докторських дисертацій.

Отримані наукові результати і їх теоретична обробка дали змогу зробити вагомі, обґрунтовані висновки, які є не тільки узагальнюючими, але й мають всі ознаки принципової наукової новизни, і крім фундаментального, мають суттєве практичне значення. Водночас до роботи є декілька питань і зауважень.

Зауваження і побажання до роботи:

1. В дисертації і авторефераті об'єкт дослідження сформульований невдало, по суті, вказані речовини як об'єкти дослідження – «наношари температуро- та рН-чутливих полімерних щіток». Згідно вимог ДАК МОН України https://studopedia.com.ua/1_40740_obiekt-i-predmet-doslidzhennya.html до оформлення дисертацій, «об'єктом дослідження є процес або явище, що породжує проблемну ситуацію в певній галузі знань і обраний для вивчення», але це не може бути переліком речовин або методів
2. Підсумком першого розділу дисертації є підрозділ, названий як «Теоретичні передумови досліджень і наукова гіпотеза», С.101-102. В дійсності, автором добре сформульована тільки перша частина заявленого підрозділу, натомість власне «гіпотеза», на мій погляд, відсутня, або сформульована нечітко.
3. У розділі 4.4. наведено інформацію про формування та властивості прищеплених наношарів статистичних щіток кополімерів полі(4-вініл піридин-ко-етиловий етер триетиленглікольмонометакрилату), для яких при певному співвідношенні мономерних одиниць у полімерному ланцюгу показано дві нижні критичні температури розшарування ($НКТР_1 = 9-11^\circ\text{C}$ та $НКТР_2 = 23-24^\circ\text{C}$). У роботі вартувало би навести більш детальний механізм цього явища. Крім того, більш детального пояснення потребує механізм блокування другої з двох НКТР у цих кополімерах при $pH=3$.
4. В методичній частині (розділ 2) не вказано, за яких температур здійснювали іммобілізацію наночастинок срібла (п.2.4.8). Крім того, описані у розділі 5 наночастинки срібла у наношарах температуро-чутливих прищеплених полімерних щіток мають досить великі лінійні розміри - переважно кілька десятків нанометрів. Очевидно, що це не двохвимірні, а ймовірно, трьохвимірні структури, що викликає питання

про механізм їх утворення у наночастицях прищеплених полімерних щіток товщиною лише 20-40 нм.

5. На С.233 дисертації написано «Температура топлення або температура склування (T_g) полімерів – це температура при якій речовина переходить з склоподібного у каучукоподібний стан». Не можу с цим погодитись. Топлення (або плавлення) полімеру переводить його у в'язкотекучий стан, а не високоеластичний.
6. Висновки 2, 3, на мій погляд, можна би було оптимізувати, оскільки вони містять загальну інформацію.
7. Зауваження до оформлення роботи: друкарські та граматичні помилки (С. 84, 112,114, 123, 145, 160, 173, 214 та ін.) – пропущені розмірності (С.6-7 анотації), «Типові розміри Ag-НЧ у цьому випадку становлять близько $40\pm 7\times 80\pm 14$ нм», $20\pm 6\times 60\pm 11$ нм і $7\pm 2\times 20\pm 7$ нм. (С.221) як це розуміти? Бажано би було притримуватись якогось одного стандарту, в роботі є обидва, наприклад, полістирол-полістирен (С.77) та ін., невдалі вислови : центри ініціації с.122, візуально видно (С.138), спін-квотінг (С.174). у водному стані Рис.7.11 -Залежність...в залежності і т.д.

Висловлені зауваження мають переважно характер побажань і ні в якій мірі не знижують загальної наукової цінності роботи, яка виконана на високому експериментальному і теоретичному рівні.

Висновок про відповідність дисертації вимогам МОН

Аналіз дисертаційної роботи Юрія Стецишина показує, що ця робота – сучасна і знаходиться на вістрі світових тенденцій. Дисертація виконана в кращих традиціях хімії високомолекулярних сполук, водночас має міждисциплінарне значення, оскільки її результати можуть бути використані в інших галузях науки і техніки, таких як біотехнології, нанохімія, хімія композиційних матеріалів та інші.

Робота є завершеним в рамках поставлених завдань дисертаційним дослідженням, в якому отримані нові, науково обґрунтовані результати, що вирішують проблему розроблення наукових і практичних основ синтезу наночастиць нових температуро- та рН-чутливих прищеплених полімерних щіток на мінеральних поверхнях із застосуванням мультифункціональних ініціаторів прищепленої полімеризації, що має істотне значення для хімії високомолекулярних сполук, а також вносить помітний вклад у фізико-хімію полімерів, нанохімію, біоінженерію і технологію композиційних матеріалів.

Дисертація «Прищеплені полімерні щітки на мінеральних поверхнях, чутливі до дії зовнішніх чинників», за актуальністю, новизною, науковим рівнем, обсягом отриманих результатів та глибиною їхнього аналізу відповідає вимогам пунктів 9, 10, 12 “Порядку присудження наукових ступенів”, затвердженого

Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013р. з усіма змінами і доповненнями, а також відповідає вимогам, що ставляться МОН України до докторських дисертацій, а її автор — Стецишин Юрій Богданович заслуговує присудження наукового ступеня доктора хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 — хімія високомолекулярних сполук.

Офіційний опонент:

Доктор хімічних наук, професор, головний науковий співробітник кафедри фізичної та колоїдної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка,



О.І. Аксіментьєва

Підпис д.х.н., проф. Аксіментьєвої О.І. засвідчую:

Вчений секретар

Львівського національного університету імені

Івана Франка, доцент



О.С. Грабовецька