ОТЗЫВ

официального рецензента диссертационной работы Савденбековой Балжан Есимханкызы на тему «Физико-химические основы получения антибактериальных покрытий для имплантируемых изделий», представленную на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности «6D060600 – Химия»

1. Актуальность темы исследования и ее связь с общенаучными и общегосударственными программами

Современная практическая хирургия часто сталкивается с проблемой отторжения имплантируемых медико-биологических средств в связи с появлением колоний бактерий на их поверхности в постоперационный период. Фиксация бактерий и развитие биопленки на поверхности имплантируемых биомедицинских устройств зачастую приводят к инфекционным и воспалительным процессам. В связи с этим остро стоит вопрос об ингибировании роста биопленки вокруг имплантируемых изделий.

В медицинской практике для защиты имплантируемых изделий необходимо покрытие поверхности имплантатов оксидной пленкой, однако данная процедура непригодна для большинства типов имплантатов и малоэффективна в связи с возникающими проблемами токсичности и биосовместимости.

Одним из наиболее перспективных в научном и прикладном отношении разновидностей антибактериальных покрытий являются тонкие биосовместимые полимерные пленки, которые обладают пролонгированным действием и высвобождают биологические активные вещества и, тем самым, предотвращают инфекционные изменения вокруг имплантируемых изделий.

Поэтому разработка условий получения полиэлектролитных мультислоев на основе биосовместимых, экологически безвредных и доступных полиэлектролитов с дальнейшим внедрением в их структуру антибактериальных покрытий для нанесения на медико-биологические изделия является актуальной задачей современной практической медицины.

Актуальность диссертационной работы заключается в разработке полимерных имплантатов в виде пленок, обладающих антибактериальными свойствами в постоперационный период.

Диссертационная работа выполнена в рамках проекта МОН РК «Физико-химические основы получения многофункциональных биомедицинских материалов (нанопленок) с антибактериальными и противовоспалительными свойствами», ИРН AP05131647 (2018-2020) и на базе ИХТТМ СО РАН и Новосибирского государственного технического университета (Россия).

2. Научные результаты в рамках требований к диссертациям

В первую очередь диссертантом подробно проведен обзор литературы, в котором приведены и обсуждены работы ведущих ученых, посвященных получению и исследованию тонких нанопленок на основе неорганических и органических материалов.

Далее на основании квантово-химических расчетов, структурных и энергетических характеристик исследуемых объектов осуществлен научно-обоснованный выбор полимерных материалов – хитозана, карбоксиметилцеллюлозы натрия, альгината натрия и антибактериальных агентов – триклозана и хлоргексидина. Результаты этих исследований позволили автору обосновать природу взаимодействия выбранных полиэлектролитов и антибактериальных агентов для получения мультислоев с заданными свойствами.

Разработаны условия очистки, подготовки и активации поверхности стандартных пластинок (кремниевых и стеклянных) и ортопедических имплантатов. На основании исследования морфологии и гидрофильности поверхностей с привлечением различных физико-химических методов установлено, что:

- Травление поверхности титановых, стальных имплантатов органическими растворителями с последующей обработкой смесью серной кислоты и перекиси водорода (раствор «пиранья») в ультразвуковой ванне значительно уменьшает угол смачивания (до 62°) и обеспечивает высокую гидрофильность поверхности носителей;
- Полученные в результате обработки многочисленные микротрещины являются активными центрами и, согласно теории Тейлора, способствуют хорошей и равномерной адсорбции функциональных групп полиэлектролитов.

Установлены условия получения нанопокрытий на поверхности твердых подложек методом «погружения»: а) автоматическое погружение и вынимание с заданной скоростью (0,001 м/с) без перемешивания; б) ручное погружение подложки в раствор с перемешиванием. Установлено, что использование полуавтоматического «dipcoater» позволяет получать монотонно растущую пленку на обеих сторонах твердой подложки, в то время как ручное погружение подложки в раствор с перемешиванием приводит к хаотичному наложению слоев нанопленки и образованию дефектов. Показано, что пленки, полученные при оптимальной концентрации реагирующих полиэлектролитов 0,01 моль/л, являются более гладкой.

Показано влияние pH раствора на толщину, шероховатость и морфологию полимерных пленок на основе хитозана и поли(акриловой кислоты) (ХЗ/ПА), хитозана и натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (ХЗ/КМЦ). Выявлена линейная зависимость толщины пленок от количества бислоев. Степень ионизации и конформация полиэлектролитов в зависимости от pH среды являются определяющим фактором формирования тонкой прозрачной и толстой непрозрачной пленки. Для полного описания морфологии покрытий ХЗ/ПАК, полученных в интервале pH 3-6, определена среднеквадратичная шероховатость (R_q) в полуконтактном режиме атомно-силового микроскопа (АСМ). Практически для всех образцов пленок показатель преломления (n) находится в диапазоне 1.4-1.55, что является характерным для прозрачных полимерных пленок. Результаты эллипсометрического анализа показали, что полученные пленки хорошо описываются дисперсионной моделью Коши в

рамках модели однослойной отражающей системы.

На примере хлоргексидина (ХГ) опробировано два метода внесения антибактериального агента в мультислоиные покрытия: 1) прямое осаждение молекул ХГ путем комплексообразования с одним из полиэлектролитов, являющегося одним из компонентов многослойных покрытий; 2) пропитка готовой многослойной пленки раствором антисептика. Изучена кинетика высвобождения ХГ из пленки $(ХЗ/ПАК)_{10}$ – $(ХГ/ПАК)_{40,5}$, согласно которой в течение 24 часов высвобождается самая большая доза антисептика (0,45 мг/мл), а в последующем происходит медленное высвобождение ХГ из полимерной матрицы. Пленки, полученные обоими методами показали антибактериальную активность против *S.aureus* (наиболее распространенный микроорганизм, участвующий в инфицировании ортопедических имплантатов), а также в отношении музейного штамма *E.coli* ATCC25922 и дикого штамма *P.Aeruginosa*. Установлено, что покрытия $(ХЗ/КМЦ)_{40}$ с ХГ показали 19 мм и 7 мм зоны угнетения против *E.coli* ATCC25922 и *P.Aeruginosa*.

Разработаны два метода получения полиэлектролитных мультислоев, содержащих наночастицы серебра (НЧAg). В первом случае НЧAg включается в матрицу одного полиэлектролита. При этом образуются НЧAg трех видов: дендриты, сферические и агрегаты. Во втором подходе образование НЧAg в матрице пленки протекает в условиях «in situ», т.е. путем восстановления ионов серебра, включенных в состав пленки аскорбиновой кислотой На основании экспериментальных данных предложена общая схема формирования таких пленок. Размеры НЧAg в мультислоях и их распределение по поверхности можно регулировать путем выбора начальной концентрации $AgNO_3$. Найдено, что оптимальная концентрация ионов серебра для получения наноразмерных сферических частиц серебра составляет 0,001М $AgNO_3$.

Полученные нанопленки, содержащие в своем составе НЧAg, показали антибактериальную активность по отношению к музейным штаммам бактерии *Staphylococcus aureus*. Зона угнетения для образца ХЗ/КМЦ с НЧAg составляет $7,1 \pm 0,03$ мм.

Таким образом, совокупность полученных данных позволила диссертанту достичь основной цели диссертационного исследования – разработки условий получения антибактериальных пленок на основе биосовместимых, экологически безвредных полиэлектролитов для защиты изделий медико-биологического назначения.

Диссертантом в соответствии с поставленными задачами получены следующие новые научные результаты:

1. На основании квантово-химических расчетов структурных и энергетических характеристик проведен научно-обоснованный выбор полимерных матриц: хитозана, карбоксиметилцеллюлозы натрия, альгината и антибактериальных агентов из числа перспективных антисептиков, каковыми являются триклозан, хлоргексидин;

2. Установлены оптимальные условия получения нанопокрытий на поверхности твердых подложек. Показаны преимущества и недостатки автоматического погружения и вынимания с заданной скоростью (0,001 м/с)

без перемешивания и ручного погружения подложки в раствор с перемешиванием;

3. Предложены два метода нанесения антибактериального агента – хлоргексидина в мультислоиные покрытия: 1) прямое осаждение молекул ХГ, путем ассоциации с одним из полиэлектролитов, принимая его в качестве одного из многослойных компонентов; 2) погружение и пропитка предварительно собранных пленок в раствор антисептика. Исследованы антибактериальные свойства полученных пленок против штаммов некоторых бактерий, вызывающих инфицирование при имплантации;

4. Предложены условия получения антибактериальных пленок на основе исследуемых полиэлектролитов.

Полученные Савденбековой Б.Е. научные результаты в рамках диссертационной работы полностью **удовлетворяют** требованиям п.п. 2, 5, 6 «Правил присуждения ученых степеней».

3. Степень обоснованности и достоверности научных результатов (научного положения), выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации.

Высокая степень обоснованности и достоверности каждого научного результата, выводов и заключений, сформулированных в диссертации, определяется, во-первых, правильной постановкой цели диссертационного исследования и выбором решаемых задач, в части разработки оптимальных условий получения антибактериальных пленок на основе биосовместимых, экологически безвредных полиэлектролитов для медико-биологических изделий. Диссертантом осуществлен адекватный выбор современных методов исследований, направленных на решение поставленных в диссертации задач. Научно-обоснованная интерпретация полученных результатов на основе современных представлений в области полимерной химии, наноматериалов и химической технологии, позволяют судить о высокой степени обоснованности выводов по диссертационной работе.

Обоснованность и достоверность выводов и заключений диссертационной работы в целом обеспечивается совокупностью экспериментальных данных, полученных на основе комплекса современных физико-химических методов исследования в сочетании с современными литературными данными, научно-обоснованным построением теоретической и экспериментальной части диссертационной работы.

Научные результаты получены с применением современных методов анализа (ИК-спектроскопия; эллипсометрия; атомно-силовая и сканирующая электронная микроскопия; определение угла смачивания; определение антибактериальной активности методом диффузии в агар)

4. Степень новизны каждого научного результата (положения), выводов и заключения соискателя, сформулированных в диссертации

Новизна полученных результатов, выводов и сформулированных положений в диссертации, не вызывают сомнения.

Автором работы впервые разработаны оптимальные условия получения нанопленок на основе полисахаридов и синтетических полиэлектролитов:

хитозан-карбоксиметилцеллюлоза натрия, хитозан-полиакриловая кислота и исследованы физико-химические характеристики полученных мультислоев, установлено влияние природы полиэлектролитов и pH среды на механизм формирования нанопленок, показана зависимость толщины пленок от количества бислоев и конфирмации полиэлектролитов, обоснованы методы нанесения антибактериального агента – хлоргексидина в мультислоиные покрытия, установлена антибактериальная активность полученных нанопленок на титановых и стальных имплантатах, которые оформлены как полезная модель.

5. Практическая и теоретическая значимость научных результатов

Найденные экспериментальным путем условия получения тонких пленок на основе полиэлектролитов для покрытия поверхности имплантируемых систем, предложенный механизм формирования нанопленок в зависимости от pH среды и природы полимерных матриц, значения физико-химических параметров, влияющих на морфологию поверхности тонких пленок, а также условия внедрения и высвобождения антибактериального агента представляют значительный теоретический интерес.

Ценность результатов, полученных в ходе выполнения диссертационной работы в области получения тонких пленок на основе полиэлектролитов, заключается в возможности их использования для покрытия имплантируемых систем для придания им антибактериальных свойств; кроме того, результаты изучения зависимости морфологии поверхности тонких пленок от физико-химических параметров могут в будущем найти широкое применение при получении тонких пленок; по результатам диссертационной работы будут выданы рекомендации по получению и нанесению тонких пленок на основе полиэлектролитов на различные подложки, в частности на имплантируемые материалы для придания им противомикробных свойств.

6. Замечания, предложения по диссертации

В диссертационной работе имеются следующие замечания и пожелания:

1. В части литературного обзора при описании рисунков не приведены ссылки на литературу, а также по всей диссертации стиль оформления рисунков отличается.
2. Для квантово-химических расчетов обычно используют неэмпирические методы, которые более точны, чем полуэмпирические методы. Автор не обосновывает выбор полуэмпирического метода.
3. В тексте диссертации не приведены исследования механической прочности пленок на разрыв. Эти сведения важны с практической точки зрения;
4. Не показана длительность антибактериальной активности пленок, т.е. в течение какого промежутка времени они могут быть использованы;
5. Не приводятся сведения об условии хранения пленок и их биодеградации.
6. В списке использованной литературы, к сожалению, отсутствует ссылка на главу книги “Thin Film Processes – Artifacts on Surface Phenomena and Technlogical Facets”, которая написана рецензентом и посвящена

образованию послойных пленок с участием наночастиц металлов, в том числе и серебра.

7. В тексте диссертации, имеются не выправленные опечатки, неудачные предложения, пропущенные буквы и др., например, в тексте часто употребляется жаргон «пиранья». Фактически это смесь серной кислоты и перекиси водорода.

Однако указанные замечания никоим образом не снижают высокий уровень проделанной автором работы.

7. Соответствие содержания диссертации в рамках требований Правил присуждения степеней.

Диссертационная работа докторанта Савденбековой Балжан Есимханкызы на тему «**Физико-химические основы получения антибактериальных покрытий для имплантируемых изделий**» по объему, новизне полученных результатов, актуальности, теоретической и практической значимости, уровню проведенных исследований соответствует требованиям паспорта научной специальности «6D060600 –Химия» и требованиям «Правил присуждения ученых степеней» Комитета по контролю в сфере образования и науки МОН РК (ККСОН МОН РК), предъявляемым к степени доктора философии PhD по специальности «6D060600 –Химия», а ее автор заслуживает присуждения искомой степени.

Директор Института полимерных материалов и технологий, д.х.н., профессор **Кудайбергенов С.Е.**