

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу

Лобановой Карины Сергеевны

«СИНТЕЗ СОПОЛИМЕРОВ КОЛЛАГЕНА И (МЕТ)АКРИЛОВЫХ МОНОМЕРОВ В ПРИСУТСТВИИ БОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ»,

представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7. – Высокомолекулярные соединения

Актуальность избранной темы. Полимерные материалы для регенеративной медицины обеспечивают множество функций: биосовместимость, механическая прочность, контролируемая деградация, морфология скаффолдов и пр. Сочетание этих функций в одном материале и в широких диапазонах возможно путем создания гибридных материалов, которые включают компоненты/химические структуры природного и синтетического происхождения. При этом для более устойчивого и эффективного функционирования скаффолдов из гибридных материалов необходимым условием является высокая степень их однородности, обеспечиваемая хорошей совместимостью составных компонентов. Для улучшения совместимости полимеров разной химической природы находят применение такие способы, как формирование взаимопроникающих сеток, получение привитых сополимеров, использование компатибилизаторов и др.

В диссертационной работе Лобановой К.С. исследованы фундаментальные аспекты радикальной полимеризации в присутствии бороорганических соединений для получения привитых сополимеров (мет)акриловых мономеров и коллагена/желатина, которые апробированы в качестве модели гибридных материалов для регенеративной медицины. При выборе компонентов природного и синтетического происхождения было учтено множество дополнительных факторов: высокая степень идентичности человеческого и морского коллагена, гипоаллергенность последнего, его антикоагулянтная, противораковая, противовирусная и антимикробная

активности, отсутствие духовно-культурных ограничений его применения, многократно подтвержденная применимость мономеров (мет)акрилового ряда для создания материалов, не вызывающих иммунного ответа или отторжения при имплантации в организм. Кроме того, в диссертации рассмотрена фундаментальная задача о реализации привитой полимеризации в присутствии триалкилборанов по одновременно двум механизмам: «grafting from» и «grafting to». Совокупность всего выше перечисленного подтверждает **хорошо проработанный и обдуманный выбор темы исследования, которая без сомнения имеет высокую актуальность в области химии и физикохимии высокомолекулярных соединений, а также в области полимерного материаловедения для регенеративной медицины.**

Основное содержание диссертации. Диссертация изложена на 210 страницах, содержит 74 рисунка, 30 таблиц. Список цитируемой литературы насчитывает 232 наименования. Работа построена традиционно и включает введение, список сокращений, литературный обзор, экспериментальную часть, результаты и их обсуждение, выводы, список литературы.

Во введении четко сформулированы цели и задачи работы, обоснована ее актуальность, кратко изложена степень разработанности темы исследования, показана научная новизна полученных результатов, теоретическая и практическая значимость работы, перечислены выносимые на защиту положения.

Глава 1 – «Литературный обзор» – включает 5 разделов. В первом разделе приведена общая информация о коллагене и перспективах применения его сополимеров в области регенеративной медицины и скаффолд-технологий, подчеркивается важность применения для этих целей химически сшитых гидрогелевых скаффолдов, и перечисляются известные методы получения привитых гибридных сополимеров на основе желатина или коллагена с использованием радикальной полимеризации, которые более подробно рассматриваются в последующих разделах литературного обзора. Во втором разделе рассмотрено несколько примеров получения привитых сополимеров коллагена и желатина при использовании традиционных вещественных

инициаторов, как водо-, так и органорастворимых. В качестве замечания следует обратить внимание, что **(I) некоторые примеры относятся не к привитым сополимерам коллагена/желатина, полученным радикальной полимеризацией при вещественном иницировании, а к взаимопроникающим сеткам [24] или к полимерным сеткам, стабилизирующим раствор желатина [42].** Третий раздел посвящен синтезу сополимеров коллагена под действием различных видов излучения (УФ- и видимый свет, электронное и гамма-излучение). В четвертом разделе уделено внимание методам контролируемой радикальной полимеризации для получения биоконъюгатов полимер-белок. Здесь необходимо сделать замечание, что **(II) автор диссертации вместо давно устоявшегося термина «растущий макрорадикал» использует прямой перевод с английского «распространяющийся макрорадикал» (стр. 31), или вместо «агент передачи цепи» – «агент переноса цепи» (стр. 38).** Самый большой по объему пятый раздел посвящен применению борорганических соединений в радикальной (со)полимеризации, где автором диссертации показаны как большое разнообразие сложных механизмов радикальных реакций с участием борорганических соединений, так и возможности их применения для получения блок-сополимеров, полимеров привитых на неорганические наполнители и полимеры, в том числе природного происхождения, в результате отрыва атома водорода от субстрата и/или реализации режима «живых» цепей при комбинации борорганических соединений с п-хинонами. Литературный обзор изложен на 49 страницах, в конце которого диссертант обосновывает необходимость проведения детальных исследований по установлению механизма привитой полимеризации, структуры и свойств гибридных сополимеров на основе коллагена и синтетических полиакрилатов, полученных в присутствии алкилборанов.

В главе 2 – экспериментальной части – достаточно подробно излагаются использованные в работе материалы и методы исследования. Эта глава позволяет сделать вывод о том, что полученные в ходе работы количественные параметры определены корректно, достаточно надежны и воспроизводимы. В

качестве замечания необходимо отметить, что (III) ни в экспериментальной части, ни в целом по тексту диссертации не показана химическая структура комплекса триэтилбор гексаметилендиамин (ТЭБ-ГМДА), а также применяемого в эксперименте трибутилбора (ТББ), в частности, так и осталась не раскрытой химическая структура бутильного заместителя (*n*-бутил-, изобутил- или *трет*-бутил-). Также в главе 2 (IV) отсутствует раздел 2.3 при наличии раздела 2.4.

Глава 3 посвящена изложению результатов работы и их обсуждению. Она состоит из четырех разделов. В первых двух разделах обсуждаются результаты привитой полимеризации трех мономеров – метилметакрилата, акриламида и N-изопропилакриламида в присутствии ТББ. Приводятся экспериментальные данные об эффективности прививки (ЭП), молекулярно-массовых характеристиках привитых сополимеров коллагена/желатина и мономеров и привитых цепей синтетических поли(мет)акрилатов после ферментативного гидролиза сополимеров, качественном анализе сополимеров методами ИК- и ЯМР-спектроскопии, температурах стеклования и термической стабильности сополимеров, микроморфологии, оптической прозрачности, механической прочности и смачиваемости водой пленок сополимеров, синтезированных при разных температурах (25-60°C), временах, концентрациях мономеров и соотношениях ТББ и оксипролиновых (ОП) остатков в коллагене/желатине, а также о цитотоксичности сополимеров *in vitro* методом МТТ-теста на клеточных культурах человеческих дермальных фибробластов (ДФЧ). В этих разделах большое внимание уделяется доказательству образования именно привитых сополимеров, в том числе обсуждаются механизмы радикальной привитой полимеризации: а) механизм «grafting from», при котором центром роста привитой полимерной цепи является борированный ОП-остаток коллагена/желатина с реализацией режима «живых» цепей; б) механизм «grafting from», при котором центр роста привитой полимерной цепи возникает случайным образом в результате реакции передачи цепи на коллаген/желатин; в) механизм «grafting to», при котором происходит реакция растущей привитой полимерной цепи с борированным ОП-остатком коллагена/желатина,

приводящая к образованию сшитого коллагенового микрогеля. Здесь в качестве замечаний следует отметить, что:

(V) в диссертации не дано определение эффективности прививки (ЭП). Только после многостраничного прочтения диссертации становится понятно, что автор подразумевает под этой величиной массовую долю привитого полимера в сополимере. Однако, под эффективностью прививки может подразумеваться отношение массы привитого полимера к массе прореагировавшего мономера, особенно при образовании гомополимера;

(VI) в случае несинхронного начала роста привитых полимерных цепей (стр. 95) при реализации режима «живых» цепей должны наблюдаться разные молекулярные массы привитых цепей не только в начале полимеризации, но и при более высоких конверсиях мономера. Именно синхронность начала роста всех полимерных цепей обеспечивает узкое молекулярно-массовое распределение полимеров, получаемых методами контролируемой радикальной полимеризации. По-видимому, в изучаемых системах существует химический или физический фактор, ограничивающий рост полимерных цепей при достижении некоторой предельной степени полимеризации;

(VII) в начале утверждалось, что низкая температура полимеризации – это преимущество применения алкилборанов, поскольку она позволяет избежать денатурации коллагена (стр. 84), а в выводах к разделу 1 Главы 3 автор делает заключение, что самая высокая температура из изученных является предпочтительной.

В третьем разделе Главы 3 обсуждаются результаты исследования привитой полимеризации акриламида и метилметакрилата «на смесь коллагена и пектина». К сожалению, **(VIII) автором диссертации не обоснован выбор пектина в качестве второго природного полимера и переход от ТББ к комплексу триэтилбор гексаметилендиамин (ТЭБ-ГМДА) в качестве иницилирующего алкилборана. В этом разделе основное внимание уделено особенностям микроморфологии образующихся на поверхности реакционной**

смеси сшитых сополимерных пен, а также полимерных пленок, полученных лиофильной сушкой сополимеров, выделенных из дисперсионной части полимеризата.

Четвертый раздел Главы 3 посвящен получению и исследованию модельных гибридных материалов для регенеративной медицины на основе коллагена и (мет)акриловых мономеров. Здесь, как и в предыдущем разделе, большое внимание уделяется микроморфологии и пористости гибридных материалов, а также цитотоксичности гелей и приживаемости клеток ДФЧ, подсаженных на лиофильно высушенные гели привитых сополимеров разной химической природы, состава и предыстории синтеза и обработки. К сожалению, (IX) в диссертации не дается объяснения, почему после 3 часов влагопоглощение сополимерами коллагена и акриламида достигает предельных величин 300-450% (см. рис. 55), но после 24 часов влагопоглощение увеличивается до ~600-800%, что свидетельствует либо о структурной/морфологической неоднородности сополимеров, либо о протекании процессов, связанных со структурными/морфологическими изменениями в набухших гидрогелях.

Степень обоснованности научных положений и выводов.

Достоверность полученных результатов.

Вывод 1. В результате исследований, проведенных в диссертационной работе Лобановой К.С., достоверно установлено, что при получении привитых сополимеров коллагена/желатина эффективность прививки среди исследованных мономеров выше при полимеризации метилметакрилата, в том числе благодаря более высоким молекулярным массам привитых цепей. Показано, что существует оптимальный диапазон мольного соотношения алкилборана и оксипролиновых остатков коллагена/желатина, позволяющий обеспечивать максимальную эффективность прививки. При этом варьирование температуры синтеза и эффективности прививки в значительной мере влияет на микроморфологию и пористость гибридных материалов.

Вывод 2. Установлено, что привитые к коллагену синтетические полимерные цепи даже с высокой степенью гидрофобности не ухудшают

гидрофильность гибридного материала в целом. С высокой степенью обоснованности на некоторых примерах показано, что гибридные материалы, синтезируемые при температуре 60°C, способствующей денатурации коллагена, характеризуются наиболее высокой светопропускаемостью и механической прочностью.

Вывод 3. Непротиворечиво теории цепных реакций установлено, что при получении терполимеров на основе смеси коллагена и пектина в присутствии алкилборана с увеличением начальной концентрации метилметакрилата молекулярная масса привитых полимерных цепей растет, а их массовая доля повышается, что способствует образованию материала с бóльшим размером пор.

Вывод 4. На основе синтезированных моделей скаффолдов показано, что гибридный материал сополимеров коллаген-пектин-полиметилметакрилат не обладает токсичностью по отношению к дермальным фибробластам человека, при этом у других гибридных материалов высокий первичный цитотоксический эффект нивелируется при разбавлении.

Несмотря на отмеченные замечания все научные положения, выносимые на защиту, и выводы диссертационной работы Лобановой К.С. следует считать обоснованными и достоверными, учитывая использование комплекса современных физико-химических методов исследования.

Новизна исследования. В диссертации впервые проведено систематическое исследование привитой радикальной полимеризации ряда (мет)акрилатов в присутствии алкилборанов с участием коллагена/желатина, а также смеси коллагена и полисахарида – пектина. Автором убедительно показано, что даже в таких сложных системах может реализовываться режим «живых» цепей в присутствии алкилборанов, и привитые полимерные цепи характеризуются узким молекулярно-массовым распределением (например, в табл. 22 показатель полидисперсности привитого полиакриламида составляет всего 1.09 – 1.10). Впервые получены модели скаффолдов на основе исследованных систем, и показана их невысокая цитотоксичность по отношению к дермальным фибробластам человека.

Практическая значимость работы. Полученные фундаментальные знания о привитой полимеризации (мет)акрилатов в присутствии алкилборанов и свойствах гибридных материалов на основе коллагена/желатина или смеси коллагена и пектина, в том числе о цитотоксичности сшитых пористых гелей, открывают перспективы по разработке скаффолдов для регенеративной медицины.

Несмотря на указанные выше замечания, в совокупности диссертация представляет собой законченный научный труд, в котором решена сложная и важная для полимерной науки задача установления взаимосвязи между условиями синтеза и свойствами гибридных материалов на основе коллагена, а также изложены научно обоснованные разработки, имеющие существенное значение для регенеративной медицины.

Автореферат диссертации соответствует тексту диссертации и в полном объеме отражает ее содержание. Основные научные результаты диссертации опубликованы в рецензируемых научных изданиях (4 статьи в журналах, входящих в «Белый список» и рекомендованных ВАК), апробированы на российских и международных конференциях.

Заключение. Диссертация Лобановой Марины Сергеевны является логически завершенной научно-квалификационной работой, которая выполнена на высоком научном и экспериментальном уровне, по своей актуальности, научной новизне и практической значимости соответствует пунктам 2, 5 и 9 паспорта специальности 1.4.7. - Высокомолекулярные соединения и отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. В диссертации содержится решение научной задачи разработки новых путей синтеза гибридных сополимеров на основе природных и синтетических полимеров, что имеет теоретическое и практическое значение для развития химии высокомолекулярных соединений, соответствует требованиям п. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в текущей ред.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Лобанова Марина Сергеевна, заслуживает

присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности
1.4.7. - Высокомолекулярные соединения.

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет»
моих персональных данных (в соответствии с требованиями приказа
Минобрнауки России № 662 от 01.07.2015 г.), необходимых для работы
Диссертационного совета 99.0.041.02.

03 марта 2025 г.

Официальный оппонент,
ведущий научный сотрудник
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федеральный исследовательский центр проблем
химической физики и медицинской химии РАН,
кандидат химических наук (02.00.06 – высокомолекулярные соединения)

С.А. Курочкин

Курочкин Сергей Александрович
Почтовый адрес организации:
142432, г. Черноголовка Московской обл.,
пр-т Ак. Семенова, 1, ФИЦ ПХФ и МХ РАН
E-mail: oligo@icrp.ac.ru
Тел. +7 (496) 522-77-73

Подпись Курочкина С.А. заверяю:



Б.Л. Психа, д.х.н.,
ученый секретарь
ФИЦ ПХФ и МХ РАН