

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Кулик Людмили Володимирівни на тему: "Синтез і властивості біологічно активних поліуретансечовин, що містять фолат-похідне фероцену", подану на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук.

Рецензована робота за методичною спрямованістю, характером виконання експериментальних досліджень, аналізом одержаної інформації належить до хімії високомолекулярних сполук, зокрема, до розділів "Синтез мономерів, нових ініціюючих та каталітичних систем, олігомерів для одержання на їх основі лінійних, розгалужених і сітчастих полімерів", "Вивчення реакцій полімеризації, поліконденсації, поліприєднання, полігетероциклізації, механізму і кінетики цих реакцій, впливу будови вихідних реагентів та умов синтезу на закономірності реакцій і властивості полімерів", "Вивчення структури і фізико-хімічних властивостей полімерів, їхніх розчинів та гетерогенних полімерних систем".

Розроблення біологічно активних полімерів з використанням модифікатора, що може входити до структури полімерного матеріалу внаслідок хімічного зв'язування з матрицею, є одним з ефективних шляхів створення полімерних лікарських препаратів. Такі полімери здатні забезпечувати тривалу біологічну активність. Водночас важливим питанням є порівняння їхньої біологічної активності із сумішевими композиціями на основі тих самих полімерів та модифікаторів, які за певних умов також можуть також проявляти біологічну активність.

Сучасні фармацевтичні методи лікування у багатьох випадках ґрунтуються на застосуванні речовин, у яких поєднуються фрагменти, відповідальні за біологічну активність, та фрагменти, що відповідають окремим молекулам або їх фрагментам, які містяться у живих організмах. Такий підхід до створення нових препаратів відповідає сучасному рівню наукових досліджень. Фолієва

кислота (вітамін В₉) необхідна організму людини для створення та підтримання у здоровому стані клітин, а також для реплікації ДНК, тому використання її для створення препарату з потенційною фармацевтичною активністю вважаю вдалим вибором. Фероцен, який відкрили у 1951 р. Пососон та Кіллі, інгібує перебіг фото- та термодеструкції, окиснення полімерних матеріалів, а також використовується як фармацевтичний препарат. Поєднання у одній молекулі фрагментів фолієвої кислоти та фероцену викликає зацікавлення, беручи до уваги біологічну активність та здатність до модифікування полімерних матеріалів.

З огляду на це вважаю вибір автора для створення нового препарату фолат-похідного фероцену, що містить у своїй структурі фрагменти фероцену та фолієвої кислоти, вдалим, сучасним. На мою думку це забезпечить створення полімерів з біологічною активністю.

Поліуретансечовини (ПУС), синтезовані з використанням діамінів (ДА) як подовжувачів макроланцюга, відомі своєю біостабільністю, біосумісністю та широкою зміною властивостей залежно від складу, умов синтезу та модифікації. У зв'язку з цим перспективним є використання фолат-похідного фероцену для модифікування поліуретансечовин різними способами для створення біологічно активних полімерів з підвищеною регенераторною функцією. Вищесказане свідчить про актуальність теми дисертаційної роботи і обнадіює щодо перспектив практичного використання отриманих результатів. Дисертаційну роботу виконано у відділі полімерів медичного призначення ІХВС НАН України відповідно до планів науково-дослідної роботи ІХВС НАН України в межах теми: «Нові ефективні наноструктуровані біоматеріали з імуностимулюючими та протипухлинними властивостями на основі фумарат- та полігидроксиалконоат – поліуретанових композицій, що містять фероцени та фулерени» (2011–2014 рр.), номер державної реєстрації РК0110U007659.

У дисертаційній роботі здобувач отримала нові науково обґрунтовані теоретичні й експериментальні результати щодо особливостей перебігу хімічних реакцій під час формування поліуретансечовин, оцінено способи введення та вплив кількості наповнювача на термічні та фізико-хімічні та біологічні властивості наповнених та хімічно модифікованих фолат похідним фероцену поліуретансечовин; вперше запропоновано спосіб хімічної

модифікації поліуретансечовин на основі діізоціанатного форполімеру і похідного фероцену на стадії формування полімеру. Встановлено залежність між вмістом фолат похідного фероцену в полімері та комплексом фізико-механічних і теплофізичних властивостей синтезованих поліуретансечовин. Вперше показано, що модифікація полімерної матриці фолат похідним фероцену в кількості 0,5 % мас. приводить до надання полімеру біологічної активності. За результатами комплексних медико-біологічних досліджень вперше встановлено, що біологічно активна дія фолат похідного фероцену в структурі полімерного носія полягає у стимуляції регенераторних процесів.

Зокрема, в роботі здійснено синтез поліуретансечовин, що містять фрагменти фолат-похідного фероцену та фолат-похідне фероцену. Синтез фолат-похідного фероцену здійснювали за три стадії. На першій на основі фероцену і 2-хлоробензоїл хлориду (за мольного співвідношення 1:1) у присутності хлориду алюмінію отримували 2-хлоробензолфероцен. На другій стадії на основі 2-хлоробензолфероцену і калій *трет*-бутилату отримували фероценкарбонову кислоту, хімічну будову якої підтверджували елементним аналізом, ІЧ- та ЯМР-спектроскопією. Синтез фолат-похідного фероцену здійснювали взаємодією фолієвої кислоти і фероценкарбонової кислоти в диметилсульфоксиді у присутності триетиламіну.

Хімічне модифікування поліуретансечовин здійснювали за різного мольного співвідношення фолат-похідного фероцену та діаміну за декілька стадій. На першій стадії отримували діізоціанатний форполімер, до якого додавали попередньо розраховане і розчинене в N.N-диметилацетаміді фолат-похідне фероцену (від 0,01 до 0,09 моля). Перебіг взаємодії NCO-груп діізоціанатного форполімеру з COOH-групами у фолат-похідного фероцену контролювали методом ІЧ-спектроскопії за визначенням вмісту вільних ізоціанатних груп ($\nu_{\text{NCO}} = 2275 \text{ см}^{-1}$) до завершення реакції. Кінцеві поліуретансечовини отримували взаємодією діаміну з форполімером, що містив певну кількість фрагментів фолат- похідного фероцену. Також паралельно синтезовано зразки порівняння, що не містили фолат-похідне фероцену. Вивчений, на рентгенівських дифрактограмах, одержаних методом ШКРП, один дифракційний максимум дифузного типу свідчить про незначний

відсоток розгалужень отриманого полімеру. ІЧ спектروفотометричними методами доведено будову синтезованих полімерів.

Отримані зразки поліуретансечовин досліджували на міцність та відносне видовження під час розриву. Установлено, що найміцнішими є зразки поліуретансечовин, хімічно модифіковані фолат-похідним фероцену складу ДФП:ДА:ФКФ 1:0,94:0,06 моля з подовжувачем ланцюга 1,6-гексаметилендіаміном та поліуретансечовини складу ДФП:ДА:ФКФ 1:0,97:0,03 моль, у яких як подовжувач макроланцюга використано 4,4'-діамінодифенілметан. Відносне видовження цих зразків поліуретансечовин максимальне.

Дослідження теплофізичних властивостей синтезованих полімерів, у структурі яких містилося фолат-похідне фероцену, дало автору змогу встановити їхню температуру склування, температуру початку розкладу та показати, що можливе проведення сухої стерилізації отриманих полімерів.

Показано, що введення до складу жорстких блоків поліуретансечовин фолат похідного фероцену спричиняє істотну деградацію мікрогетерогенної структури, що свідчить про утворення областей гетерогенності з фрагментів жорстких блоків, полярні групи яких утворюють комплекси з атомами заліза. Найвищий рівень мірогетерогенності структури спостерігається у зразках поліуретансечовин(ДАДФ)-6 і поліуретан сечовин (ДАДФ)-9.

Сумішеві композиції поліуретансечовин з фолат-похідним фероцену готували, розчиняючи їх у N,N-диметилацетаміді з подальшим формуванням плівки після видалення розчинника. Таке модифікування поліуретансечовин істотно не вплинуло на їхні фізико-механічні та теплофізичні характеристики, а найбільше впливає на ці властивості природа подовжувача ланцюга.

Отримані хімічно модифіковані та сумішеві композиції поліуретансечовин та фолат-похідного фероцену стабільні в біологічному середовищі 199 упродовж 180 діб, про що свідчить практична незмінність фізико-механічних показників цих матеріалів та їхні ІЧ-спектри. Це уможлиблює використання синтезованих поліуретансечовин не тільки як полімерних покриттів для лікування ран та опіків, а і як імплантаційних матеріалів у реконструктивно-відновлювальної хірургії.

Показано, що фолат-похідне фероцену, внесене до середовища культивування, істотно активує ріст і розвиток клітинних елементів на всіх

етапах їх культивування. Також встановлено здатність до стимуляції регенераторних процесів поліуретансечовин, модифікованих фолат похідним фероцену, в місці їхнього використання

Встановлено здатність пролонговано вивільняти біологічно активну речовину за умов, які моделюють місце можливого використання. За зміною активності ферменту глутаматдегідрогенази у сироватці крові алкоголізованих щурів показано, що поєднання у одній молекулі фрагментів фолієвої кислоти та фероцену істотно посилює біологічно активну дію поліуретансечовин, яка набагато вища, ніж поліуретансечовин з фолієвою кислотою.

Наявність фолат-похідного фероцену в складі полімерного матеріалу сприяла істотному зменшенню періоду формування сполучнотканинної капсули навколо імплантованих зразків, приводила до зменшення реакції мікроциркуляторного русла в місці розміщення імплантата, сприяла прискоренню процесів загоєння на всіх термінах дослідження.

За результатами гістологічних досліджень полімерні матеріали з фолат-похідним фероценом нетоксичні, не викликають гострої та хронічної запальної реакції, у них високий рівень біологічної сумісності.

Біологічно активна дія синтезованих поліуретансечовин проявляється у стимуляції процесів росту, розвитку і диференціювання фібробластичних елементів, що сприяє зменшенню запальних процесів у місці імплантації на ранніх термінах дослідження та пришвидшенню процесів регенерації.

Основні результати роботи одержано з використанням широкого набору сучасних методів дослідження: ІЧ-, ^1H і ^{13}C ЯМР-спектроскопії, диференціальної сканувальної калориметрії, термогравіметричного, гравіметричного, рентгеноструктурного, елементного аналізів, віскозиметрії, фізико-механічного аналізу плівок, гістологічних та біохімічних методик аналізу та методу культури тканин для дослідження біологічної активності синтезованих полімерів, санітарно-хімічних та гістологічних методів дослідження їхньої біосумісності. Автор використала статистичний метод під час оброблення результатів експериментів.

Основні положення та висновки дисертаційної роботи аргументовані. Їхня обґрунтованість та достовірність ґрунтовані на великому обсязі теоретичних та

експериментальних результатів, одержаних з використанням комплексу сучасних методів досліджень.

Виявлені у результаті виконання дисертаційної роботи закономірності й особливості отримання модифікованих поліуретансечовин є основою синтезу на їхній основі та на основі фолат-похідного фероцену біологічно активних та біосумісних полімерів.

Дисертація Л. В. Кулик складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку використаних джерел. Вона викладена на 129 с., містить 15 таблиць та 47 рисунків. Загальний обсяг роботи – 143 с.

У вступі обгрунтовано актуальність теми дисертації, сформульовано мету і завдання досліджень, вказано наукову новизну і практичне значення результатів досліджень. В огляді літератури критично подано огляд літературних джерел щодо актуальності та доцільності синтезу фолат-похідного фероцену та створенню нових полімерних матеріалів на основі поліуретансечовин і фолат-похідного фероцену для використання в медицині як біологічно активних покриттів для лікування ран та опіків. У другому розділі подано методики синтезу фолат-похідного фероцену та створення полімерних матеріалів на його основі, викладено методи дослідження їхньої структури. У третьому розділі описано синтез біологічно активних поліуретансечовин на основі фолат-похідного фероцену та дослідження властивостей синтезованих полімерів. У четвертому розділі досліджено біосумісність та біологічну активність синтезованих полімерів.

Назва дисертаційної роботи повністю відповідає суті виконаних досліджень. Висновки відображають найвагоміші наукові та практичні результати які одержала здобувач і є достатньо аргументовані.

Дисертація не позбавлена недоліків. Серед них вважаю за доцільне назвати такі:

1. Згідно з вимогами ДАК об'єкт дослідження – це процес або явище, що породжує проблемну ситуацію та вибране для вивчення. Відповідно об'єкт та предмет досліджень необхідно поміняти місцями.

2. Що значить “Практичний вихід становив 48,5 %”. Очевидно, автор має на увазі вихід продукту.

3. Треба писати до “сталі маси”, а не “ваги” (2.2.6, с. 49)

4. «Продукт реакції отримували екстрагуванням з водного розчину натрій гідроксиду» (с. 67). Продукт реакції одержували взаємодією фероцену і 2-хлоробензоїл хлориду, а 2-хлоробензолфероцен екстрагували водою та 10 % розчином гідроксиду натрію (с. 60).

5. $T_{пл}$ синтезованої нами фероценкарбонової кислоти, згідно з описаним методом, відрізняється від $T_{пл}$ фероценкарбонової кислоти, яку синтезував Р. С. Reeves. Вірогідно, що відмінність у $T_{пл}$ фероценкарбонової кислоти пов'язана з використанням різних методів очищення (с.68). Необхідно пояснити це твердження.

6. Характеристична в'язкість не належить до фізико-механічних властивостей полімерів. Характеристична в'язкість розчину полімеру залежить від структури полімеру та від властивостей розчинника, тому в авторефераті необхідно вказувати розчинник (табл.2, автореферату). У дисертації вказано розчинник.

7. На рис. 3.7 та 3.15 не вказано одиниць на шкалі ординат.

8. За однією експериментальною точкою не можна встановлювати максимум на графіку залежності активності глутаматдегідрогенази у сироватці крові щурів (рис. 4.17, с. 117).

9. Необхідно було порівняти ефективність біологічної дії фолат похідного фероцену в хімічно модифікованих поліуретансечовинах та сумішевих композиціях з поліуретансечовинами та зробити висновки щодо доцільності застосування того чи іншого методу модифікування.

10. Трапляються друкарські помилки та неточності. Необхідно писати не “Запропоновано два способи модифікації поліуретансечовин” (п. 1 висновків), а “Запропоновано та реалізовано два способи модифікації поліуретансечовин”, “пропанол-2”, а не “ізопропіловий спирт” (с. 43), “синтезували”, а не “відбувається синтез 2-хлоробензолфероцену” (с. 44. 2.2).

Зазначені зауваження не знижують загальної наукової цінності роботи. Оцінюючи дисертацію Л. В. Кулик загалом, вважаю, що вона є закінченим науковим дослідженням, стосується вирішення та розвитку важливих проблем хімії біологічно активних полімерів на основі поліуретансечовин, їхньої біологічної активності та біосумісності. В дисертації одержано цілу низку нових експериментальних даних, що мають важливе значення для розвитку сучасних уявлень щодо структури та застосування поліуретансечовин. Новизну

результатів підтверджують багато доповідей, чотири публікації у фахових журналах за профілем дисертації, одна публікація у фаховому журналі медичного профілю, дві публікації у “Полімерному журналі” та патент України на винахід.

Дисертація оформлена належно та відповідає вимогам Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567, зокрема пунктам 9, 11 і 12. Зміст публікацій та автореферату ідентичні основним положенням дисертації.

Дисертація відповідає усім вимогам, що встановлені ДАК України до кандидатських дисертацій, а її автор – Кулик Людмила Володимирівна заслуговує присудження наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук.

8 червня 2016 р.

Офіційний опонент

доктор хімічних наук, професор,
професор кафедри фізичної
та колоїдної хімії


В. А. Волошинець

Підпис професора, доктора хімічних наук, професора кафедри фізичної та колоїдної хімії В.А. Волошинця засвідчую

Вчений секретар
Національного університету
“Львівська політехніка”




Р. Б. Брилинський