

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу
Стреловой Марии Сергеевны
«Исследование влияния полиэлектролитов на формирование карбоната и фосфата
кальция в водной среде»,
представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук
по специальности 1.4.7 Высокомолекулярные соединения

Изучение биоминерализации является **актуальной** проблемой современной **науки**, поскольку связано не только с проникновением в суть процессов, осуществляемых в природе, но и с **практическим** применением получаемой информации, а также с разработкой **новых** биосовместимых синтетических материалов, формируемых с использованием знаний о механизмах образования сложных биологических объектов, таких как скелетные элементы организмов.

Биологическая минерализация, биоминерализация – процесс образования неорганических и композитных материалов живыми организмами или при участии живых организмов – бывает различных типов, но именно биологически контролируемая биоминерализация матричного типа, характерная для образования костей, зубов, раковин моллюсков, имеет непосредственное отношение к науке о полимерах. В этом случае образование минеральной составляющей (из метастабильных растворов с большим расходом энергии) происходит после возникновения органической основы (матрицы) в результате ориентированного заполнения имеющихся в ней полостей минеральным веществом. Минеральная составляющая, представляющая собой соли кальция, бария и аморфные поликремниевые кислоты, жестко связана с органической матрицей из фосфолипидов и **природных полимеров** (полисахаридов или полипептидов), в которой она развивается.

В биологической среде клетки способны направлять процесс образования минералов от самой первой стадии формирования кристалла до финального расположения кристалла на поверхности микроорганизма. Примером такого процесса является образование карбонатного экзоскелета сложной архитектуры у эукариотических микроводорослей кокколитофорид. В современной научной литературе процессы данного типа называются “биологически контролируемое минералообразование”. Как правило, они проходят через следующие основные стадии: формирование органического каркаса, обладающего мембранными свойствами; накопление в клетке раствора, пересыщенного химическими элементами; формирование зародышей минеральной фазы, их рост. Большинство биокерамических композитов имеют сложную морфологию, а минеральные составляющие расположены в них упорядоченно.

Исследование данных **полимер-неорганических композитов** сложной архитектуры, а также процессов их образования представляется непростой задачей, требующей специально разрабатываемых подходов, в частности, с привлечением методов экспериментального моделирования сложных систем (биомиметический синтез, а также разработка эмпирических моделей – аналогов и изучение их свойств в условиях, приближенных к природным). Использование в подобных моделях веществ природного происхождения затруднено неполными данными о структуре агентов биоминерализации, сложностью и высокой стоимостью их выделения или синтеза. Изучение процессов формирования неорганических материалов (кремнезём, карбонат и фосфат кальция) в присутствии водорастворимых синтетических полимеров, близких по ряду свойств к биополимерам, может рассматриваться как высокоинформативный способ продвижения к пониманию химических основ биоминерализации.

Диссертационная работа Стреловой Марии Сергеевны нацелена на выявление связи строения органических полиэлектролитов со структурой карбоната и фосфата кальция, сформированных в зоне влияния данных полимеров. На пути к достижению цели автором решались следующие задачи:

1. Создание набора синтетических полиэлектролитов, включающего как известные полимерные кислоты и основания, так и новые полиамфолиты на основе акриловой кислоты, виниламина и 1-винилимидазола.

2. Изучение влияния синтетических полиэлектролитов на образование карбоната и фосфата кальция в водной среде, выявление условий формирования твёрдых материалов различной морфологии и дисперсий композитных наночастиц, моделирующих предполагаемые биогенные прекурсоры минерализации.

3. Поиск условий дестабилизации дисперсий композитных наночастиц с образованием органо-неорганических материалов.

4. Оценка путей практического применения получаемых материалов.

Диссертация состоит из Введения, 3 глав, Выводов, библиографии, изложена на 155 страницах, включает 26 таблиц, 71 рисунок и 291 литературную ссылку.

Во **Введении** автор обосновывает **актуальность** разрабатываемой темы, обсуждает научную **новизну**, **теоретическую** и **практическую значимость** работы. Не вызывает сомнений, что представленная диссертация относится к химии высокомолекулярных соединений, поскольку в работе использовали как известные **полимеры**, так и образцы, **впервые синтезированные** радикальной полимеризацией и полимераналогичными реакциями. Автором разработаны методы синтеза сополимеров акриловой кислоты и виниламина, а также тройных сополимеров с участием 1-винилимидазола. С

использованием набора синтетических полиэлектролитов (26 образцов) выявлена связь строения полимера и его способности влиять на формирование карбоната и фосфата кальция в составе дисперсий, содержащих неорганические частицы, стабилизированные функциональным полимером. Образующиеся наночастицы являются синтетической моделью первичных частиц в биоминерализации. Найдены способы дестабилизации данных дисперсий с образованием материалов, морфология которых подобна морфологии костной ткани.

В Главе 1 представлен аналитический обзор литературы на тему «Формирование композитных материалов на основе фосфата и карбоната кальция в живых организмах и в условиях *in vitro*», включающий информацию о процессах биоминерализации и составе биоминералов (неорганической и органической составляющих). Отдельное внимание Мария Сергеевна уделяет теории образования фосфата и карбоната кальция в водной среде, условиям кристаллизации, влиянию pH среды на структуру и растворимость образующихся кристаллов. В обзоре показано, что в последние годы активно изучается и обсуждается неклассический механизм биоминерализации, где промежуточным звеном между ионами и кристаллами считаются частицы малостабильных аморфных фаз. В отличие от классического механизма, здесь рост происходит за счет направленного присоединения наночастиц к поверхности кристалла. Наночастицы имеют высокую энергию поверхности, и их слияние термодинамически выгодно. Рассматриваются аморфные формы карбоната и фосфата кальция и их трансформации в зависимости от концентрации ионов, температуры и pH среды. Уделяется особое внимание образованию биоминералов на основе фосфата и карбоната кальция в различных организмах под влиянием природных полимеров и, наконец, возможности моделирования природных процессов формированием полимер - неорганических композитов на основе синтетических аналогов. Таким образом, литературный обзор содержит анализ данных по исследованию биоминеральных образований, формулировкам гипотез, созданию теорий биоминерализации, а также по экспериментальному моделированию, что дало возможность диссертанту обосновать и сформулировать тему и цель диссертационного исследования.

Глава 2 содержит описание основных результатов работы, сравнительный анализ полученных экспериментальных данных, промежуточные выводы. Рассматриваются функциональные полимеры для моделирования биоминерализации. Обсуждаются синтез и поведение в водных растворах полиэлектролитов (полиоснований, поликислот и полиамфолитов), в том числе ранее неизвестных сополимеров виниламина с акриловой кислотой, а также винилимидазола с виниламином и акриловой кислотой.

Большое внимание уделяется поведению синтезированных (со)полимеров в водных растворах. В связи с поставленной задачей исследования, являлось важными выявить полимеры и условия, при которых они растворимы в щелочных средах ($\text{pH} \sim 9$). Эта область pH , по литературным и экспериментальным данным, соответствует области образования осадков кальциевых солей. Имея целью формирование полимер-неорганического композита, аналогичного биоминералу, автор искал оптимальные условия кристаллизации соли металла в полимерной матрице. Исследовались образующиеся дисперсии и факторы, влияющие на их стабильность. Анализируя возможные взаимодействия функциональных групп полимеров друг с другом и с неорганическими ионами, диссертант делает вывод, что стабилизирующий эффект полимерных добавок заключается во взаимодействии функциональных групп полимера как с ионами кальция, так и с образующимися первичными частицами карбоната кальция.

Проведена оценка связи величины дзета-потенциала полимера с его стабилизирующей способностью. Показано, что величина дзета-потенциала стабилизирующего полимера не является единственной определяющей характеристикой стабильности композитных частиц. Высказано предположение, что вклад в стабилизирующую способность вносят также доля способных взаимодействовать с Ca^{2+} функциональных групп, молекулярная масса полимера, поверхностный заряд макромолекулярного клубка. В работе показано, что с ростом содержания кислотных звеньев в полимере уменьшается доля осажденного кальция, что хорошо заметно в рядах сополимеров винилимидазол (ВИ) - акриловая кислота (АК) и виниламин (ВА) - акриловая кислота (АК). Например, содержание CaCO_3 в осадках уменьшается с увеличением содержания фрагментов акриловой кислоты в сополимерах ВИ-АК, что связано со способностью карбоксильных групп взаимодействовать с Ca^{2+} и ингибировать осаждение. Увеличение концентрации полимера усиливает ингибирующий эффект, что выражается в уменьшении выхода осадка и доли неорганической фазы в нём.

Были изучены структура и морфология композитных осадков. Карбонат кальция, полученный в отсутствие полимеров, состоит из кубических структур, что характерно для кальцита. Осаждение CaCO_3 в присутствии, к примеру, ПВИ или ВИ-АК с низким содержанием АК приводит к получению подобных кальциту кубических частиц. Увеличение содержания АК в сополимерах ВИ-АК приводит к образованию округлых частиц, а полиакриловая кислота способствует формированию стержнеобразных структур, характерных для ватерита. При двукратном избытке полимера по отношению к CaCO_3 не наблюдалось изменений в морфологии частиц.

Автор обращает внимание, что частицы CaCO_3 , образующиеся в присутствии различных полимеров, существенно отличаются морфологией. Присутствие кислотных и аминогрупп в полимере оказывает большее влияние на морфологию образующихся частиц, чем наличие в полимере имидазольными фрагментов. Диссертант отмечает, что при переходе от ПВИ к (со)полимерам, содержащим звенья ВА и особенно АК, усиление взаимодействия полимеров с первичными частицами карбоната кальция препятствует росту больших кристаллов кальцита и осадки формируются за счёт агрегации мелких кристаллов в шарообразные структуры.

Аналогичные исследования проводились Марией Сергеевной по синтезу фосфата кальция в присутствии полимеров. Были выявлены полимеры, способные более 6 часов стабилизировать частицы фосфата кальция в водной среде. Показано, что увеличение ММ полимеров негативно влияет на взаимодействие полимерных групп с фосфат-ионами, так же как ионами кальция, ухудшая стабилизирующий эффект. Явной зависимости стабильности композитных кальций-фосфатных частиц от ζ -потенциала стабилизирующего полимера не наблюдалось. На основании анализа полученных экспериментальных данных автор делает вывод, что в исследуемой многокомпонентной и многофакторной системе невозможно выделить характеристику полимера, определяющую его способность стабилизировать фосфат кальция. Морфология осадков, полученных в присутствии полимеров, аналогична морфологии фосфата кальция. Осажденный аморфный фосфат кальция нестабилен и при нахождении в маточном растворе в условиях эксперимента (рН 10) со временем перекристаллизуется в более стабильный гидроксиапатит.

В диссертации показано, что наряду с карбоксилсодержащими полимерами, полиоснования (ПВА, сополимер ВИ-ВА с 75% ВА) также способны ингибировать осаждение фосфата кальция из водного раствора. Способность полимера замедлять осаждение фосфата кальция из раствора определяется его составом и ММ: увеличение количества амино- и карбоксильных звеньев и уменьшение ММ благоприятно сказывается на ингибирующую способность.

В зависимости от типа стабилизирующего полимера, были получены отрицательно (на основе карбоксилсодержащих полимеров) и положительно (на основе поликатионов) заряженные частицы фосфата кальция, которые способны взаимодействовать между собой с образованием твердых пористых материалов. Взаимодействие между собой отрицательно и положительно заряженных частиц на основе фосфата кальция может являться, по мнению автора, моделью процесса биоминерализации.

Отдельный раздел данной главы посвящен возможным вариантам **практического применения** композитных частиц на основе карбоната и фосфата кальция. Кроме задач экспериментального моделирования процессов биоминерализации, автор рассматривает ряд **практических применений** разработанных полимер-неорганических композиционных материалов. На примере разделения смеси родаминов показано, что с использованием дисперсий композитных частиц фосфата кальция могут быть получены перспективные сорбенты для тонкослойной хроматографии, а с использованием частиц карбоната кальция, стабилизированных органическими полимерами, - покрытия для выращивания клеток.

Известно, что синтетический гидроксиапатит и композиты на его основе применяются в регенеративной медицине для создания искусственных костных каркасов. Диссертант предложил использовать разработанные полимер-неорганические композиты со структурно-морфологическими характеристиками гидроксиапатита в качестве материалов для заполнения костных дефектов.

Таким образом, разрабатываемые композиционные материалы в зависимости от их конкретных свойств могут найти практическое применение в современных био- и медицинских технологиях.

В **Главе 3** изложена экспериментально – методическая часть работы. Представлены объекты и методы исследования. Показано, что диссертационная работа является комплексным исследованием от синтеза полимеров и изучения их свойств в растворах до формирования новых полимер-неорганических композиционных материалов с их использованием. Диссертация выполнена на высоком экспериментальном уровне с привлечением современных методов исследования полимеров и композитов, что подтверждает достоверность полученных результатов.

Вопросы и замечания:

1. Работа содержит большой и глубокий аналитический обзор литературы, дающий представление о современном состоянии и развитии данного научного направления. Однако хотелось бы, чтобы в нем были более полно отражены отечественные работы в области изучения биоминерализации, по разработке и исследованию полимер-неорганических композитов и процессов стабилизации полимерами дисперсий, содержащих неорганические компоненты. Надеюсь, что Мария Сергеевна в дальнейшей работе по данной теме использует опыт исследователей из НИЦ «Курчатовский институт», МГУ и других отечественных ученых.
2. В работе обсуждаются как общие вопросы биоминералогии, так и более конкретные вопросы создания новых материалов с использованием синтезируемых

(со)полимеров. Выбор (со)полимеров связан, с условиями формирования биокompозита и с комплексом его функциональных свойств, в первую очередь, с его свойствами как материала для биомедицинских приложений. В связи с этим, хотелось бы знать мнение диссертанта, возможно ли присутствие остаточных мономеров, используемых при синтезе сополимеров, в результирующем полимер-неорганическом композите или используемые методы очистки полимерного продукта достаточны?

3. Автор рассматривает влияние химического строения полимера и условий получения композитов на структурно-морфологические особенности последнего и экспериментально показывает, что в данном случае нет однозначной обобщающей зависимости, скорее – в каждом конкретном случае формируется особенный композит с определенной морфологией. Однако из материала диссертации неясно, какая морфология отвечает поставленной задаче и чем она лучше.

Безусловно, заданные вопросы имеют частный характер и не влияют на высокую оценку диссертации в целом, не снижают ценности полученных результатов. В тексте присутствует большое количество фактической информации, которая, в прочем, хорошо систематизирована.

По материалам диссертации опубликованы 5 статей в рецензируемых научных журналах, и 9 тезисов докладов, представленных на российских и международных научных конференциях.

Содержание автореферата полностью соответствует диссертационной работе.

Диссертационная работа Стреловой Марии Сергеевны «Исследование влияния полиэлектролитов на формирование карбоната и фосфата кальция в водной среде» по объему, актуальности, научной новизне и практической значимости удовлетворяет требованиям ВАК РФ, соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 в действующей редакции. Работа соответствует паспорту специальности 1.4.7. Высокмолекулярные соединения (химические науки), в части п. 1 (Молекулярная физика полимерных цепей, их конфигурации и конформации, размеры и формы макромолекул, молекулярно- массовое распределение полимеров), п. 2 (Синтез олигомеров, в том числе специальных мономеров, связь их строения и реакционной способности. Катализ и механизмы реакций полимеризации, сополимеризации и поликонденсации с применением радикальных, ионных и ионно-координационных инициаторов, их кинетика и динамика. Разработка новых и усовершенствование существующих методов синтеза полимеров и полимерных форм), п. 9 (Целенаправленная

разработка полимерных материалов с новыми функциями и интеллектуальных структур с их применением, обладающих характеристиками, определяющими области их использования в заинтересованных отраслях науки и техники). Диссертационная работа может быть рекомендована к защите на диссертационном совете 24.1.108.01 при ФГБУН «Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук», а ее автор, Стрелова Мария Сергеевна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7 Высокомолекулярные соединения.

Кононова Светлана Викторовна,

доктор химических наук

(специальностям:

02.00.06 (с апреля 2022 г. 1.4.7.) – Высокомолекулярные соединения,

05.17.18 (с апреля 2022 г. 2.6.15.) - Мембраны и мембранная технология)

ведущий научный сотрудник,

руководитель лаборатории № 3 «Полимерных и гибридных материалов для мембранных процессов» Филиала федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» - Института высокомолекулярных соединений (НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ - ИВС),

29.05.2025



/Кононова С. В./

