

СТАНОВИЩЕ

върху дисертационен труд,
представен за присъждане на научната и образователна степен “доктор”
по научната специалност „Химия на високомолекулните съединения”

Автор на дисертационния труд: Светлана Петрова Петрова

Тема на дисертационния труд: “Синтез на линейни и звездовидни блокови съполимери на основата на поли(етиленоксид) и поли (ε-капролактон) и изследване на техните отнасяния в разтвор“

Дал становището: Маргарита Йорданова Симеонова, доц. д-р - катедра “Полимерно инженерство”, ХТМУ

Предоставената ми за мнение дисертация на Светлана Петрова е оформена съгласно изискванията на Правилника за придобиване на научни степени и заемане на академични длъжности в ХТМУ, раздел II, чл. 11.

Дисертацията е изложена на 119 страници, от които 1 - увод, 41 – литературен обзор, 13 – експериментална част, 2 - цел и задачи, 43 – резултати и обсъждане, 1 – изводи, 2 – списък на публикациите и научните съобщения върху резултатите по дисертацията, както и забелязаните по тях цитати и 16 страници литература. Съдържа 15 схеми, 59 фигури и 8 таблици.

Представеният литературен обзор се позовава на 385 литературни източника, от които повече от половината (51.4 %) са от последните 10. Огромният по обем материал е обобщен с разбиране и изложен стегнато на ясен език, което предполага задълбочен поглед върху реферирания материал. С оглед целта на дисертацията, основно място в обзора заема детайлното представяне и анализа на методите и подходите за получаване на блокови съполимери с различна архитектура, както и методите за получаване на PCL и PEO. Разгледани са мицелните структури на основата на амфифилни блокови съполимери, методите за получаване и охарактеризиране на блокови съполимерни мицели, мицелообразуването във водна и органична среда, солубилизацията в мицелни системи, методите за въвеждане на лекарствени вещества в полимерни мицели, механизми на лекарствено освобождаване *in vitro*, някои основни приложения на амфифилните блокови съполимери и техните надмолекулни образувания

Цел на разглежданата дисертация е синтезирането на нови, добре дефинирани амфифилни блокови съполимери на основата на поликапролактон (PCL) и полиетиленоксид (PEO) с разнообразна архитектура (линейна и звездовидна) и получаване на тяхна основа на полимерни мицелни системи с илюстриране на възможности за приложението им в биомедицината. Целта, както и задачите за осъществяването ѝ са формулирани точно и ясно.

Синтетичната работа по получаването на блокови съполимери на основата на PCL и PEO, което е сърцевината на дисертацията, е осъществено чрез различни методи и подходи:

I. Получаване на серия от линейни диблокови съполимери от вида PCL-b-PEO чрез прилагане на два различни синтетични подхода, а именно:

1. Чрез реакция на сдвояване на предварително функционализиран PCL с постоянна дължина на веригата ($M_n = 2000$) и PEO блок, с променяща се дължина. Получаването на PCL-b-PEO диблокови съполимери е осъществено чрез триетапен синтез: а). Най-напред е получен монозащитен с фенилизоцианат PCL (PhNHC(O)O-PCL-OH) чрез реакция на присъединяване между силно реактивоспособната фенилизоцианатна молекула и PCL диол. б). Във втория етап, от получения монозащитен с фенилизоцианат PCL и хексаметилендиизоцианат е синтезиран NCO-завършен PCL предполимер (PhNHC(O)O-PCL-NCO). Реакцията е контролирана чрез FTIR спектроскопия. с). В третия етап успешно са синтезирани серия от PCL-b-PEO диблокови съполимери, с различна дължина на PEO блок, чрез реакция на сдвояване между предварително получения по описания начин PhNHC(O)O-PCL-NCO предполимер и PEO с различна мол. маса. Монозащитеният с фенилизоцианат PCL и NCO-завършеният PCL предполимер са охарактеризирани чрез FTIR спектроскопия. Съставът и структурата на получените диблокови съполимери са определени с FTIR и ^1H NMR спектроскопия, а молекулно-масовите характеристики (MMX)- чрез ^1H NMR и SEC.

2. Чрез полимеризация с отваряне на пръстена на $\epsilon\text{-CL}$ в присъствие на органометален катализатор Sn(Oct)_2 , иницирана с макроинициатор метилов етер на PEO (MPEO). Количественото съотношение между MPEO и $\epsilon\text{-CL}$ е варирано за получаването на PCL блок с различна дължина. Съставът, структурата и мол. маса на получените диблокови съполимери са определени чрез ^1H NMR, FTIR спектроскопия и SEC

II. Получаване на серия от линейни триблокови съполимери от вида PEO-PCL-PEO с постоянна дължина на средния блок от PCL ($M_n = 2000$) и променяща се дължина на крайните PEO блокове чрез прилагане на реакция на сдвояване на предварително функционализиран с изоцианатни групи PCL предполимер и PEO.

Предварително е получен NCO-завършен PCL предполимер чрез функционализиране на телехелен PCL-диол с HMDI. Серия от триблокови съполимери с различна дължина на PEO блок са получени чрез реакция на сдвояване на вече получения NCO-завършен PCL предполимер и телехелен HO-PEO-OH с различна мол. маса (6000 - 15000). Структурата на получените триблокови съполимери е определена чрез FTIR и ^1H NMR спектроскопия, а MMX чрез ^1H NMR и SEC.

III. Контролиран синтез на серия от нелинейни звездовидни блокови съполимери от вида $[PEO(PCL)_2]$ чрез прилагане на метода “arm-first” с използване на два синтетични подхода:

1. Получаване на трираменни звездовидни блокови съполимери чрез триетапен синтез, включващ: а) получаване на α -метокси- ω -епокси PEO (MPEO-епоксид) (макромер). Първо е получена натриево-алкохолатната форма на MPEO с използването на натриев хидрид, която е използвана *in situ* за последваща реакция с 2-(хлорометил)оксиран. в) модификация на крайната епоксидна група на макромера за получаването на α -метокси- ω, ω' -дихидрокси PEO $[MPEO(OH)_2]$ като макроинициатор. Модификацията е осъществена чрез селективна хидролиза на получения α -метокси- ω -епокси поли(етиленоксид) с 1М воден разтвор на NaOH). с) контролирана полимеризация с отваряне на пръстена на ϵ -CL в присъствието на катализатор- $Sn(Oct)_2$ със синтезирания макроинициатор и вариране на дължината на PCL блок при използване на различни молни съотношения на ϵ -CL/макроинициатор. Структурата, съставът и MMX на макромера и макроинициатора са определени чрез 1H NMR спектроскопия, MALDI-TOF анализ и SEC, а на получените звездовидни блокови съполимери чрез 1H NMR спектроскопия и SEC.

2. Получаване на трираменни звездовидни блокови съполимери чрез двуетапен синтез: а) Синтезиран α -метокси- ω, ω' -дихидрокси PEO $[MPEO(OH)_2]$ като макроинициатор, чрез присъединяването на сярна съдържащ нискомолекулен диол – меркаптоглицерол към MPEO с крайна метакрилатна група, с прилагане на известната от органичната химия реакция на присъединяване по Michael; в) Макроинициаторът е използван в последваща полимеризация с отваряне на пръстена на ϵ -CL в присъствието на катализатор $Sn(Oct)_2$ и вариране на дължината на PCL блок при използване на различни молни съотношения на ϵ -CL/макроинициатор. Съставът, структурата и мол. маса на макроинициатора и съполимерите, са анализирани чрез 1H NMR, FTIR и SEC.

Изследвани и съпоставени са отнасянията на водни разтвори на някои от получените съполимери с еднакъв състав и молекулна маса, но с различна архитектура (линейна и звездовидна), като са определени критичната концентрация на мицелообразуване (СМС), размера и морфологията на формираните полимерни наночастици чрез ТЕМ. Установено е, че звездовидните съполимери притежават по-ниски стойности за СМС и формират мицели с по-малък размер, в сравнение с тези на линейните им аналози. Полимерните агрегати на двата различни типа съполимери имат сферична морфология. Определена е стандартната свободна енергия на процеса на самоасоцииране (ΔG^0) в отсъствие на електростатични сили на взаимодействие.

Влиянието на макромолекулната архитектура върху конфигурационното отнасяне на синтезираните съполимери е оценено чрез компютърни симулационни изследвания. Установено е, че полимерът със звездовидна архитектура притежава по-малка размерност в сравнение с тази на линейния диблоков аналог, при равни мол. маси и масово разпределение между отделните по филност блокове. При линейния блоков съполимер конформацията на полиметиленовите фрагменти на PCL вериги е цисоидна, а при звездовидния - трансоидна. Изследването на водни разтвори на $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовидни блокови съполимери чрез динамично разсейване на светлината показва бимодално разпределение, както и тенденция за нарастване на хидродинамичния радиус R_H на агрегатите с нарастване на дължината на PCL блоковете.

За оценка на приложението на полимерните мицели, получени на основата на $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ звездовидни блокови съполимери, като потенциални носители на лекарства е изследвана цитотоксичността им по отношение на туморни клетки от линия HepG2 чрез МТТ тест. Третирането на клетките в продължение на 24, 48 и 72 h с различни концентрации от полимерните мицели не оказва цитотоксичен ефект. На същата клетъчна линия е определено клетъчното поглъщане на белязани с NR полимерни мицели чрез светлинна микроскопия. Установено е, че комплекса NR-полимерни мицели се натрупва в перинуклеарната област.

Осъществена обемна и прецизна синтетична работа по дисертацията, която съчетава различни синтезни техники, показва експериментаторската вещина и умения на докторантката. Отличната експериментална техника и сериозната теоретична подготовка по органична и синтетична полимерна химия е позволило на докторантката да прояви аригиналност и творчество при провежданите синтези за получаване на блокови съполимери с различна архитектура. Чрез оригинална синтетична процедура с прилагане на реакция на сдвояване между предварително функционализиран PCL предполимер и PEO са получени серия от PEO-b-PCL линейни диблокови съполимери. За целта са използвани силно реактивоспособни нискомолекулни съединения, съдържащи изоцианатни функционални групи, за защита и функционализация на крайните хидроксилни групи на PCL блок. Серията от PEO-PCL-PEO линейни триблокови съполимери са синтезирани чрез прилагане на реакция на сдвояване на предварително функционализиран с изоцианатни групи PCL предполимер и PEO. Получаването на трираменни блокови съполимери от вида $[\text{PEO}(\text{PCL})_2]$ чрез прилагане на метода "arm-first" е осъществено за първи път от докторантката, а използваните триетапен (включващ получаването на MPEO-епоксид (макромер), $[\text{MPEO}(\text{OH})_2]$ (макроинициатор) и прилагане на контролирана полимеризация с отваряне на пръстена (ROP) на ϵ -CL в присъствието на

катализатор- $\text{Sn}(\text{Oct})_2$) и двуетапен (включващ реакция на присъединяване по *Michael* за получаване на макроинициатор $[\text{MePEO}(\text{OH})_2]$ чрез присъединяване на сярасъдържащ нискомолекулен диол – меркаптоглицерол към МРЕО с крайна метакрилатна група и ROP на ϵ -CL) синтез са оригинални и новаторски. Охарактеризирането на получените продукти показва отлично познаване и владееене на използваните методи и техники за анализ.

Дисертацията представлява обширно и целенасочено изследване, очевидно, плод на дълбоки теоретични знания, практически умения и упорита експериментална работа.

Въпреки това, имам някои забележки и препоръки:

1. Редакцията на извод 6 ми звучи доста претенциозно, както и определянето на изследваните мицели като “биосъвместими”. В дисертацията е представен само тест за цитотоксичност спрямо 1 туморна клетъчна линия, който в никаков случай не е тест за биосъвместимост.

2. При написване на литературния обзор вместо млечна и гликолова киселина е използвано “лактидна киселина” и “глюколидна киселина”, допуснати са някои технически и пунктоални грешки.

3. Според мен е по-подходящо да се използва “разграждане” и “биоразграждане”, когато се разглеждат полимери с медицинско приложение, вместо “деструкция” и “биодеструкция”, които са по-типични за охарактеризиране на полимерите с техническо приложение.

Резултати от проведените по дисертацията изследвания са публикувани в 2 статии: една в специализирано научно списание (*J UCTM* **2008**;43:199-204) и една в международно списание с импакт фактор (*Eur Polym J* **2009**;45:3442-3450). По първата статия вече са забелязани 3 цитата, а по втората -2. Представени са 6 научни съобщения на различни научни форуми.

Във всички публикувани и представяни материали докторантката е първи автор, което затвърждава мнението ми за нейната инициатива и водеща роля в провежданите изследвания.

Въз основа на изложеното дотук, с дълбока убеденост давам положителна оценка на предоставения ми за мнение дисертационен труд на Светлана Петрова, представен за присъждане на научната и образователна степен “доктор” по научната специалност „Химия на високомолекулните съединения”.

28.06.2011 г.

Рецензент: 
/доц. д-р М. Симеонова/