

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Попова Александра Юриевича “Синтез и свойства нанопористого сверхсшитого полистирола для твёрдофазной экстракции биомаркеров”, представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по научной специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения

Полимерные сорбенты и носители разнообразного химического строения и морфологии играют огромную, а порой ключевую роль во многочисленных областях современной науки и технологии, в особенности, в биомедицине. В многообразном мире этих материалов заметное место занимает сверхсшитый полистирол. Этот парадоксальный материал, разработанный Даванковым В.А. и Цюрупой М.П. уже более полувека тому назад, и уже давно показывающий свою эффективность для практического применения, до сих пор остаётся благодарным объектом для исследования и разработок. Парадоксальность сверхсшитого полистирола заключается в том, что, несмотря на огромное количество сшивок между макромолекулами, этот материал, благодаря особенности своей молекулярной структуры, представляет собой ажурную мелкопористую трёхмерную жёсткую сетку с огромной удельной поверхностью (более 1000 м²/г). Благодаря такой морфологии, сверхсшитый полистирол проявляет уникальные сорбционные свойства. Он способен “втягивать” в себя как неполярные, так и полярные (включая воду) низкомолекулярные вещества, но не поглощает высокомолекулярные объекты любой природы. Поэтому, тематика рецензируемой диссертации, включающая как разработку новых разновидностей сверхсшитого полистирола, так и демонстрацию эффективности этих материалов для решения важной для медицины задачи экстракции фенолкарбоновых кислот из сыворотки крови – несомненно, является **актуальной**.

Научная новизна работы Попова А.Ю. состоит в следующих полученных результатах:

- На основе гелевых сополимеров стирола с различным содержанием дивинилбензола был синтезирован ряд сверхсшитых гидрофобных сорбентов со степенью сшивки от 50 до 400%.

- Изучено влияние содержания дивинилбензола в исходном сополимере, а также степени его дополнительной сшивки на набухание, пористость и сорбционные способности синтезированных сеток.
- Обнаружена связь между степенью сшивки гелевого сополимера монохлордиметилэфиром и избирательностью сорбции фенолкарбоновых кислот.
- Впервые найдены условия получения сверхсшитого гидрофобного сорбента, который эффективно поглощает исключительно низкомолекулярные органические соединения из белковых растворов.

Практическая значимость диссертационной работы заключается в следующем:

- Разработан эффективный метод синтеза сверхсшитых полистирольных сорбентов с варьируемой плотностью полимерной сетки в виде сферических частиц с диаметром 50-80 мкм и высокой удельной поверхностью ($> 800 \text{ м}^2/\text{г}$).
- Разработана методика количественной экстракции фенолкарбоновых кислот из сыворотки крови и их последующего количественного определения методом ВЭЖХ.
- Предложен метод очищения белковых растворов от низкомолекулярных соединений на примере очистки человеческого сывороточного альбумина.
- Синтезированные сорбенты потенциально могут использоваться для экстракции и концентрирования некоторых витаминов и фармпрепаратов из биологических жидкостей.

Научные положения и выводы основаны на анализе большого объёма экспериментальных данных по синтезу сорбентов и изучении их свойств. Обнаруженные закономерности носят систематический характер и хорошо воспроизводятся. Разработка практической методики определения фенолкарбоновых кислот в сыворотке крови с помощью твёрдофазной экстракции на полученных сорбентах подтверждает состоятельность выбранного подхода к получению сорбентов для анализа биологических жидкостей.

Рассматриваемая диссертационная работа имеет традиционную структуру и включает в себя введение, обзор литературы,

экспериментальную часть, обсуждение результатов, заключение и выводы, список сокращений и условных обозначений, а также список литературы. Работа изложена на 148 страницах, содержит 36 рисунков, 4 схемы и 17 таблиц, и 303 библиографические ссылки.

Во введении рассмотрена актуальность, цели и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость, вклад автора и данные об апробации работы. Задачи исследования включают: подбор условий синтеза необходимых сорбентов, изучение их физико-химических и сорбционных свойств, и выбор оптимального сорбента для твёрдофазной экстракции фенилкарбоновых кислот из сыворотки крови.

В обстоятельном литературном обзоре (65 стр.) дана классификация и теоретическое обоснование методов твёрдофазной экстракции. Основную часть обзора составляет описание способов синтеза сверхсшитого полистирола и его свойств. Всесторонние данные о пористой структуре сверхсшитых сорбентов получили критическое рассмотрение. Отдельный раздел посвящен применению сверхсшитых полистирольных сорбентов в различных видах твердофазной экстракции низкомолекулярных соединений из богатых белками сложных биологических матриц. Обзор содержит новейшие результаты, полученные другими авторскими коллективами в 2020 и 2021 годах.

Экспериментальная часть содержит достаточно подробное описание методов синтеза и исследования характеристик нанопористых сверхсшитых полистирольных сорбентов. Особое внимание уделено контролю ошибки при измерении кривых проскока.

В главе “Результаты и их обсуждение” представлено основное содержание работы. Глава содержит 10 разделов, последовательно описывающих все этапы выполненного исследования.

Первый и второй раздел посвящены оптимизации синтеза сверхсшитых полистирольных сорбентов с варьируемой плотностью сетки, диаметром сферических гранул 50-80 мкм и высокой удельной поверхностью $> 800 \text{ м}^2/\text{г}$. Хотя в литературе упоминаются возможность использования хлороформа и диметоксиметана в качестве сшивающих агентов, оптимальными свойствами для решаемой задачи обладали полимеры, сшитые монохлордиметиловым эфиром в присутствии катализатора FeCl_3 . Гелевые сополимеры стирола с 0.5 – 3% дивинилбензола были сшиты монохлордиметиловым эфиром на 50 –

400% с получением гидрофобных сверхсшитых сеток, которые изучались далее.

В третьем и четвертом разделе охарактеризована химическая и пористая структура полученного ряда сорбентов. Показано, что при степени формальной сшивки 100%, в структуре полимера остаётся значительная доля незамещённых фенилов, которые потенциально могут быть использованы для химической модификации сверхсшитого полимера. При формальной степени сшивки $\geq 300\%$, в формировании сетки участвуют все звенья исходного сополимера. Пористость сверхсшитых сорбентов, главным образом, зависит от содержания дивинилбензола в исходном гелевом сополимере. Показано, что, с увеличением пористости сорбентов, доступность свободного пространства сеток для молекул азота увеличивается и не зависит от степени дополнительной сшивки. Для сорбентов с объёмом пор более 0.5 мл/г, практически весь свободный объём сетки доступен для молекул азота.

Зависимость размера пор сухой сверхсшитой сетки от содержания дивинилбензола и степени дополнительной сшивки была изучена с помощью модельнонезависимого сравнительного метода. Уменьшение содержания дивинилбензола в исходном сополимере приводит к увеличению пор полимера, что соответствует литературным данным. Научной новизной обладает найденная в работе аффинность изотерм адсорбции азота на сетках с различной степенью сшивки эфиром.

Далее изучалось набухание сеток в воде, толуоле и метаноле, как по изменению насыпного объёма полимера, так и по массе и объёму удерживаемого растворителя. Обнаружено, что набухание в воде растёт с увеличением степени дополнительной сшивки, в то время как объём удерживаемого толуола остаётся практически неизменным. Этот факт автор объясняет в рамках модели формирования и строения сверхсшитого полистирола, предложенной Даванковым В.А. Цюрупой М.П.

С шестого по восьмой раздел описаны сорбционные свойства синтезированных гидрофобных нанопористых сверхсшитых полистиролов по отношению к водным растворам белков, витаминов и фенолкарбоновых кислот. Показано, что основное влияние на величину сорбции оказывает размер и гидрофобность молекулы сорбата. Регулируя размер пор полимера, главным образом за счёт изменения содержания дивинилбензола в исходном

сополимере, с помощью ситового эффекта можно исключить сорбцию белков, с сохранением сорбционной ёмкости по молекулам низкомолекулярных аналитов.

Далее автор дополняет известный факт, что существует значительное π - π взаимодействие сверхсшитой сетки с ароматическими сорбатами. В работе впервые получены результаты, указывающие на то, что, с увеличением степени дополнительной сшивки, π - π взаимодействие усиливается. Данный вывод интересен с теоретической точки зрения и заслуживает дальнейшего подробного изучения.

Заключительные 2 раздела посвящены решению практической аналитической задачи с помощью синтезированного сорбента, а именно - определению фенолкарбоновых кислот в сыворотке крови человека. Автором были изготовлены небольшие патроны собственной конструкции для твёрдофазной экстракции, содержащие 30 мг сорбента. Была разработана аналитическая методика, включающая твердофазную экстракцию и ВЭЖХ, показано, что предложенный метод позволяет измерить нормальные и септические концентрации шести фенолкарбоновых кислот в крови донора.

Тем самым, важным итогом работы является получение нового гидрофобного нанопористого материала ограниченного доступа (*Restricted access materials*). Такие материалы не удерживают белки, но сорбируют низкомолекулярные органические соединения и имеют высокий потенциал в качестве сорбентов для твёрдофазной экстракции.

К содержанию работы могут быть сделаны следующие замечания:

1. В разделе 3.2. приведены результаты оптимизации сшивающей системы (реагент+катализатор), которая обеспечивает эффективную сшивку сополимера с получением сорбента с высокой удельной поверхностью. В зависимости от используемой сшивающей системы, удельная поверхность продукта меняется в широком интервале. Можно предположить, что удельная поверхность продукта определяется достигаемой степенью сшивки за время реакции, иными словами, зависит от скорости реакции. К сожалению, автор не приводит экспериментальных данных о зависимости удельной поверхности сорбента от времени реакции дополнительной сшивки.

2. В разделе 3.5. автор приводит результаты двух методов измерения набухания полимера в растворителях - объёмного и весового. Автор

утверждает, что оба метода измерения согласуются, однако, из представленных графиков это не очевидно. Существует ли количественная связь между обоими методами измерения?

3. В разделе 3.6. проведено измерение сорбции белков, витаминов и трентала при фиксированной концентрации. Чем был определён выбор именно таких концентраций? Значительным украшением работы было бы измерение изотерм сорбции этих веществ на синтезированной серии сорбентов в значительном диапазоне концентраций сорбата. Вполне вероятно, что такой эксперимент позволил бы определить факторы, влияющие на сорбционный потенциал и максимальную сорбционную ёмкость полимера.

4. В разделе 3.7., в таблице 13, автор приводит результаты сорбции 3,4-дигидроксibenзойной кислоты в статических условиях. Для всех сорбентов сорбция кислоты меняется в ограниченном интервале: 79-88%. Однако, в следующем разделе, из рисунка 28 следует, что, с увеличением степени сшивки, удерживание 3,4-дигидроксibenзойной кислоты меняется в четыре раза. Как объясняется такое существенное различие сорбции в статических и динамических условиях?

Указанные замечания не снижают значимости полученных результатов и не влияют на общую положительную оценку диссертационного исследования Попова А. Ю.

В целом, работа Попова А.Ю. является законченным диссертационным исследованием и выполнена на современном научном и экспериментальном уровне, даёт новые теоретические результаты и представляет решение актуальной задачи. Полученные сорбенты могут быть использованы в анализе биологических жидкостей и для очистки белков, имеют потенциал применения в качестве гемосорбентов. Результаты работы могут быть полезны в исследованиях, проводимых в МГУ им. М.В. Ломоносова, РХТУ им. Д.И. Менделеева, РТУ МИРЭА, ИФХЭ РАН, ИНХС РАН, ИБХ РАН и в других ВУЗах и научных институтах страны.

По совокупности выполненных экспериментов, разработанных методик и полученных результатов, **Попова Александра Юриевича** можно характеризовать как сложившегося высококвалифицированного специалиста широкого профиля. Результаты диссертационной работы Попова А.Ю. изложены в 5 статьях в ведущих российских и зарубежных журналах,

апробацию работа прошла на 3 конференциях с участием ведущих российских учёных. Автореферат и опубликованные статьи адекватно и в полной мере отражают основное содержание диссертации.

Таким образом, диссертационное исследование **“Синтез и свойства нанопористого сверхсшитого полистирола для твёрдофазной экстракции биомаркеров”** является научно-квалификационной работой, которая по критериям актуальности, научной новизны, обоснованности, значимости и объёму соответствует всем требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней» № 842, утверждённого правительством РФ от 24.09.2013 года, предъявляемых к диссертациям на соискание учёной степени кандидата химических наук, а её автор, **Попов Александр Юриевич**, вне сомнений, заслуживает присуждения ему учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.7. Высокомолекулярные соединения.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник лаборатории полимеров для биологии
Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова Российской академии наук
117997, Москва, ГСП-7, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10
Тел. +7 (495) 335-10-11, E-mail: zubov@ibch.ru

доктор химических наук
(специальность 02.00.06 –
«Высокомолекулярные
соединения»), профессор,
заслуженный деятель науки
Российской Федерации

Зубов Виталий Павлович

«27» октября 2021 г.

Подпись Зубова В.П. заверяю:

Ученый секретарь ИБХ РАН



д.ф.-м.н. Олейников В.А.