

N=67-72-27/2  
Big 04.04.17.

## ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу *Наталії Євгенівни Мітіної* «Синтез поліпероксидів блочної та розгалуженої будови і супрамолекулярні структури на їх основі», представлену на здобуття наукового ступеня доктора хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук

Значний інтерес до функціональних матеріалів на основі поверхнево-активних полімерів, здатних до самоорганізації в розчинах, на поверхнях та на межі розділу фаз з утворенням нано-, субмікрон- та мікронрозмірних структур обумовлений можливістю їх застосування для доставки лікарських засобів, нуклеїнових кислот, ензимів, різноманітних реагентів для медичної діагностики, зокрема для реєстрації та ідентифікації патологічних клітин, біомаркерів, для використання як бактерицидних та протигрибкових покриттів, плівкових матеріалів, тощо. Очевидно, що розробка методів контрольованого синтезу та фундаментальні дослідження таких полімерів, вдосконалення та надання нових спеціальних властивостей цільовим продуктам на основі таких досліджень не тільки розширить кількість їх практичних застосувань в різноманітних галузях, але й приведе до глибшого розуміння фізико-хімічних аспектів самоорганізації в розчинах та покращить наші можливості у керуванні якісними та кількісними характеристиками утворюваних супрамолекулярних структур, міцел та поліелектролітних комплексів. Відповідно, не викликають сумнівів **актуальність і практична значимість** дисертаційної роботи Наталії Євгенівни Мітіної, що присвячена встановленню закономірностей та розробленню експериментальних методів синтезу нових поліпероксидів блочної та розгалуженої будови, та на їх основі поверхнево-активних функціональних ко-полімерів і супрамолекулярних структур для отримання систем адресної доставки протипухлинних ліків і нуклеїнових кислот.

**Актуальність** цієї роботи підтверджується і тим, що вона виконувалась у відповідності до планів науково-дослідних робіт кафедри органічної хімії Інституту хімії та хімічних технологій Національного університету «Львівська політехніка: ДБ/«Сахарид» „Синтез мономерів та ініціаторів – похідних сахаридів для одержання біосумісних та біодеградабельних полімерів”(2007-2009р., № держ. реєстрації 0107U001107), ДБ/«Протеїн» „Мономери-похідні природних сполук і полімери на їх основі для експрес-діагностики і лікування протеїнопатії” (2010-2012р, № держ. реєстрації 0110U001099), ДБ/МТН “Теоретичні засади синтезу нових поліфункціональних реагентів для конструювання магніто-, термочутливих носіїв лікарських субстанцій та біополімерів” (2013-2015р., № держреєстрації 0113U001352), ДБ/МПК “ Нові біологічно активні мінерал-полімерні композиції для кісткової пластики та пункційної вертебропластики ” (2016-2017р., № держреєстрації 0116U004137), "Теоретичні основи розроблення нових каталітичних систем для селективних перетворень органічних сполук" (2016-2017р., № держреєстрації 0116U004139), а також гранти НТЦУ: №1930 "Реакційноздатні функціональні колоїдні носії для хімічної, біологічної і мікроелектронної технологій" (2005-2007р.), №4953 (2008-2011р.) «Нанорозмірні системи доставки протиракових субстанцій на основі новітніх люмінесцентних та рентгеноконтрастних олігоелектролітів».

**Наукова новизна одержаних результатів** полягає в тому, що в ній вперше:

- запропоновано та розроблено комплексні методи синтезу нових поверхнево-активних розгалужених та лінійних блок-кополімерних поліпероксидів – макроініціаторів катіонного, аніонного, неіонного та змішаного типів, - радикальними та нерадикальними реакціями в полярних органічних розчинах;
- розроблено контрольований синтез поверхнево-активних кополімерів розгалуженої та блочної будови радикальною полімеризацією, ініційованою макроініціаторами - олігопероксидами з бічними та кінцевими пероксидними групами в органічних середовищах різної полярності;
- встановлено вплив полярності середовища на реакційну здатність олігопероксидних макроініціаторів, на елементарні стадії і топохімію радикальної полімеризації, та, відповідно, на кінетичні параметри процесу, структурні, молекулярно-масові та колоїдно-хімічні характеристики цільових кополімерів;
- розвинуто теоретичні уявлення про механізм розкладу бічних дитретинних пероксидних груп олігоелектролітів катіонного та аніонного типів в полярних органічних розчинах та експериментально встановлено наявність в їхніх макромолекулах пероксидних груп різної реакційної здатності;
- поглиблено наукові знання про утворення супрамолекулярних структур різного ступеню впорядкування (міцел, поліелектролітних комплексів та фрактальних кластерів з них) поверхнево-активними поліпероксидами розгалуженої та лінійної блочної будови та полімерами на їх основі в розчині. Встановлено вплив довжини, функціональності та заряду бічних ланцюгів та блоків кополімерів на конформацію, кооперативну взаємодію макромолекул та колоїдно-хімічні характеристики та морфологію супрамолекулярних структур;
- отримано знання про утворення комплексів лікарських речовин та нуклеїнових кислот з функціональними полімерами розгалуженої та блочної будови і їх нано- і мікронрозмірних систем у воді за механізмами сольобілізації або нуклеації нерозчинних речовин в полімерних міцелах, утворення міжмолекулярних водневих зв'язків, електростатичної взаємодії або за змішаними механізмами;
- запропоновано нову концепцію контрольованого утворення та стабілізації в водних системах нанорозмірних інтерполіелектролітних комплексів ДНК та нових поліамфолітів розгалуженої будови, які поєднують аніонні та катіонні ланцюги;
- Встановлені закономірності синтезу обумовили можливості контролю будови нових розгалужених та блочних полімерних сурфактантів та розмірів, морфології і заряду утворюваних ними супрамолекулярних структур з ліками та нуклеїновими кислотами і, як наслідок, ефективності доставки та дії препаратів.

**Практична цінність роботи** базується на наукових результатах проведених досліджень і полягає у розроблених методах синтезу нових поверхнево-активних поліпероксидів та на їхній основі функціональних кополімерів розгалуженої і блочної будови та супрамолекулярні структури (міцели та інтерполіелектролітні комплекси) з керованими хімічними, колоїдно-хімічними та біологічними властивостями. Продемонстровано можливість їх практичного застосування як вискоелективних носіїв протипухлинних речовин для адресної доставки в організми, перспективних синтетичних векторів ДНК для трансформації генів клітин ссавців, дріжджів та рослин, носіїв анти-сенсолігонуклеотидів (асОДН). Більше того, розроблені функціональні поліпероксиди та кополімери розгалуженої та

блочної будови для потреб медицини, біології та біотехнології валідовані в ході досліджень, проведеними в Інституті біології клітини НАН України, Державній установі «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Інституті біології тварин НААН України, Інституті генної інженерії та біотехнології (Дослідницькому центрі TUBITAK Marmara, Гебзе Коджаелі, Туреччина), Інституті ракових досліджень Медичного університету Відня (Відень, Австрія).

**Структурно** дисертація складається зі 277 стор. друкованого тексту та складається зі вступу, 6 розділів, що включають 178 рисунків та 97 таблиць, висновків і списку 550 використаних літературних джерел та 6 додатків

У **першому** розділі докладно проаналізовано сучасний стан проблеми та відомі результати в області синтезу полімерів складної архітектури, в т.ч. і з використанням макроініціаторів. Розглянуто властивості супрамолекулярних колоїдних структур, особливості їх утворення розгалуженими і блок кополімерами розглянуті перспективи використання полімерних носіїв ліків і нуклеїнових кислот для медичних і біотехнологічних застосувань.

У **другому** розділі представлено детальний опис речовин, методів синтезу та охарактеризовано цільові поліпероксида та функціональні поверхнево-активні полімери на їх основі. Описано методики, за якими отримували супрамолекулярні структури, полімерні міцели, в тому числі, ті, що містять лікарські субстанції, фосфоліпід і інші ліпідоподібні речовини, а також інтерполіелектролітні комплекси нуклеїнових кислот блочних та розгалужених полімерів.

**Третій** розділ присвячено детальному дослідженню особливостей синтезу нових гребенеподібних поліпероксидів - макроініціаторів з бічними поліетиленгліколевыми ланцюгами та розгалужених кополімерів, які, крім неіонних поліетиленгліколевих, містять поліелектролітні бічні ланцюги катіонного та аніонного типів, в тому числі поліамфолітів. Автором встановлено кінетичні та структурні особливості взаємодії монозаміщених поліетиленгліколів різної довжини з бічними епоксидними ланками в структурі вихідного поліпероксиду і показана їх залежність від мікроструктури олігопероксиду та довжин взаємодіючих полімерних реагентів. Встановлено особливості кінетичних параметрів утворення вільних радикалів та прищеплювальної полімеризації, ініційованої ПЕГ-вмісним поліпероксидом, які аргументовано пояснені специфічною топохімією полімеризації, обумовлено наявністю в молекулі макроініціатора бічних ПЕГ ланцюгів, які при певній концентрації в розчині створюють зони, в яких реалізується ефект «клітки». Це підкріплено визначенням величин ефективності ініціювання та дослідженнями реологічних характеристик реакційної системи. Цікавими є результати дослідження полімеризації, ініційованої пероксидовмісними олігоелектролітами катіонного та аніонного типів мономерів, що утворюють полімерні ланцюги з протилежним зарядом, в органічних середовищах різної полярності. Встановлено можливості контролю кінетики елементарних стадій полімеризації та структурних характеристик цільових поліамфолітів, що утворюються в результаті. Дисертантом запропоновано пояснення впливу полярності середовища та утворення міжмолекулярних сольових комплексів ним з мономером на реакційну здатність макроініціаторів.

У **четвертому** розділі охарактеризовано кінетичні особливості низькотемпературної радикальної полімеризації, ініційованої окисно-відновними системами гідроксилвмісний відновник – комплексна сіль  $Se^{+4}$  в присутності функціонального передавача ланцюга та запропоновано механізм синтезу

гетеротелехелатних і блок-кополімерів з кінцевим пероксидним фрагментом. Встановлено, що кінетика полімеризації та вихід цільових продуктів, що містять пероксидний фрагмент, визначаються кількістю та активністю утворених такими системами радикалів та співвідношенням їх участі в реакціях ініціювання та обриву кінетичних ланцюгів за різними механізмами, квадратичним або лінійним. Автором роботи показана залежність швидкості полімеризації та виходу функціональних блок-кополімерів від природи та довжини аліфатичних спиртів і поліетиленгліколів, яка обумовлена здатністю відновника утворювати проміжні комплекси з катіонами церію та активністю і рухливістю утворених макрорадикалів, в залежності від їх довжини. Встановлено залежність виходу цільового продукту, його структурних і молекулярно-масових характеристик від вмісту пероксидного передавача ланцюга та топохімії полімеризації. Вперше визначені в даній роботі константи швидкості передачі на пероксидний телоген при полімеризації, ініційованій поліетиленгліколями та солями Церію, свідчать про помітний вплив на цей параметр перш за все природи мономеру, полярності середовища, довжини ланцюгу полімерного відновника. Важливим результатом є утворення функціональних, в тому числі полімерних пероксидів, внаслідок реакції рекомбінації утворених відновником первинних радикалів з радикалом, який утворюється пероксидним передавачем. В цьому розділі розглянуті також кінетичні закономірності термічного розкладу та полімеризації, ініційованої гетеротелехелатними олігомерами та блок-кополімерами з кінцевим пероксидним фрагментом, в результаті чого отримано блок-кополімери з двома, трьома та більшою кількістю однакових або різних функціональних полімерних блоків.

У п'ятому розділі охарактеризовано колоїдно-хімічні властивості розчинів нових поліпероксидів та функціональних полімерів розгалуженої і блочної будови, а також утворення ними супрамолекулярних структур, полімерних міцел та міжмолекулярних інтерполіелектролітних комплексів. Показано, що наявність бічних ланцюгів або блоків поліетиленгліколю в молекулах розгалужених та лінійних блок-кополімерів обумовлює утворення міцелоподібних структур більшого розміру в порівнянні із структурами, що утворюють їх аналоги без ПЕГ ланцюгів. Показано принципову різницю в будові міцел, які утворює гребенеподібний неіонний ПЕГ- вмісний поліпероксид та отриманий на його основі розгалужений кополімер, який поєднує в молекулі поліетиленгліколеві та поліелектролітні бічні ланцюги. Детально розглянуто колоїдно-хімічні властивості супрамолекулярних структур, які утворюють розгалужені та блок-кополімери з розчинними та нерозчинними у воді протипухлинними речовинами та нуклеїновими кислотами. На підставі аналізу результатів цих досліджень зроблені обґрунтовані висновки про механізми їх зв'язування в супрамолекулярні структури. В роботі показано, що утворення комплексів доксорубіцину (Докс) з гребенеподібними кополімерами приводить до зменшення розміру і заряду колоїдних структур, які містять Докс, в порівнянні зі структурами без Доксу. Встановлено, що в результаті утворення інтерполіелектролітних комплексів ДНК та полімерних носіїв помітно зменшуються гідродинамічні діаметри поліплексів у порівнянні із вільною ДНК. Від'ємний  $\xi$ - потенціал молекул ДНК в результаті утворення нею комплексу з полімерним носієм компенсується позитивним зарядом носія і набуває сумарного позитивного поверхневого заряду, що є важливим для взаємодії із клітиною мембраною.

У заключному шостому розділі представлено результати комплексних досліджень біологічної активності синтезованих полімерів та препаратів на їх основі, ефективності їх як носіїв протипухлинних речовин і нуклеїнових кислот. Експериментально показано висока біологічна толерантність синтезованих полімерних носіїв. Важливим, на мій погляд, результатом є суттєве зменшення кардіо-, гепато- і нефротоксичності доксорубіцину при використанні у комплексі з полімерним носієм. Причому, комплексування протипухлинних препаратів з синтезованими полімерними носіями надає їм здатності долати набуту резистентність пухлинних клітин до ліків. В розділі продемонстровано, що синтетичні полікатіоніти гребенеподібної та блочної будови утворюють стабільні поліплекси, які захищають ДНК та РНК від дії ензимів при транспортуванні та забезпечують ефективну доставку генетичного матеріалу в клітини.

**Обґрунтованість і достовірність наукових положень і висновків дисертації** базується на детальному аналізі сучасних літературних даних та використанні ідей і експериментальних результатів дисертанта, отриманих за допомогою сучасних методів досліджень, зокрема таких гель-проникна хроматографія, віскозиметрія, Фур'є-ІЧ-, УФ-, Раман-, ЯМР <sup>1</sup>H- та ЯМР <sup>13</sup>C-спектроскопія, газорідинна хроматографія, елементний і функціональний аналіз, динамічне світлорозсіювання, трансмісійна та скануюча електронна мікроскопія, малокутове рентгенівське розсіювання (МРР), дилатометрія, гравіметрія, тощо.

Наукові публікації та автореферат досить повно відображають зміст дисертації, основні наукові результати якої опубліковані у 30 статтях у наукових фахових виданнях (з них 17 статей у фахових виданнях України, 4 статті у виданнях України, які включені до міжнародних наукометричних баз, і 9 статей у міжнародних наукових періодичних виданнях), 3 розділах у монографії і 3 патентах України, а також у 9 статтях у інших наукових періодичних виданнях, які входять до міжнародних наукометричних баз даних та доповідались на міжнародних і вітчизняних конференціях.

**Разом з тим, до тексту дисертації є зауваження:**

1. В роботі переконливо показано вплив природи розчинника на кінетичні характеристики прищеплювальної полімеризації метилметакрилату (ММА), N,N-диметиламіноетилметакрилат (ДМАЕМ) та акрилової кислоти (АК). Однак, незрозуміло, на яких параметрах базувався вибір розчинників, тим більше, що один з них являв собою розчин HCl або КОН у пропанолі або метанолі. Можливо було б корисним порівняти отримані ефекти з параметрами розчинника (розчину), які відображають його полярність та здатність до утворення сольових комплексів.
2. Це ж стосується і впливу розчинника на характеристики термічного розкладу пероксидних зв'язків потрійних ко-олігомерів оліго(ВА-ко-ВЕР-ко-МА) та оліго(НВІ-ко-ВЕР-ко-ДМАЕМ).
3. Варто було б врахувати зростання в'язкості реакційного розчину при обговоренні впливу метильованих ПЕГ різної молекулярної маси на швидкість відновлення  $Se^{4+}$  і, відповідно, на кількість і час життя утворюваних вільних радикалів та на імовірність реакцій обриву за їх участю.
4. Робота виграла б, якби при обговоренні генерування вільних радикалів та їх активності використали метод ЕПР.
5. Пояснення бімодального характеру кривих розподілу МРР на рис.4.10 недостатньою молекулярно масовою неоднорідністю вихідного ПЕГ виглядало б більш достовірним, якби така неоднорідність була підтверджена відповідними



характеристиками ПЕГ. З іншого боку, зменшення бімодальності ММР кривих зі зростанням вмісту МП свідчить швидше про відсутність такого впливу неоднорідності ММР ПЕГ.

6. Виходячи з даних табл. 5.3 та рис. 5.3 дисертант робить висновок про незалежність поверхневої активності неіонного ПЕГ-вмісного гребенеподібного кополімеру від рН. Однак, як видно з табл. 5.3, при переході від рН7 до рН11 залежність колоїдно-хімічних характеристик кополімеру від рН є все-таки досить помітною.
7. При обговоренні причин компактизації МПС ПЕГ-вмісного гребенеподібного кополімеру в результаті зв'язування молекул Доксу не враховується зміна кількості молекул води, що сольватують заряджені групи всіх учасників після утворення сольового комплексу, про яку, до речі, йде мова на с.197 при поясненні змін електронного спектру такого комплексу порівняно зі спектром для Докс. Це зауваження стосується і пояснення зменшення гідродинамічних діаметрів супрамолекулярних структур, що поєднують кополімер та ДНК, порівняно з самою ДНК.
8. Зустрічаються невдалі вирази та друкарські помилки, наприклад «розчинна полімеризація»), «довжина спирту», «Експериментальне дослідження практичного застосування»; «зі зміною константи», «константа комолізу», «міжмолекулярні комплекси»; переплутано місцями позначення величин рН на кривих 1 та 2 на рис. 11 автореферату; на рис.4.5 дисертації на абсцисі вказано концентрацію спирту, а має бути концентрація ОВІС, та ін. Електронні оптичні спектри часто неточно називаються УФ-спектрами.

Разом з тим, зроблені зауваження мають лише частковий характер, не торкаються основного змісту і загальної високої оцінки даної дисертаційної роботи. що є об'ємним, глибоким та завершеним дослідженням, яке виконано на високому науковому та експериментальному рівні, робить значний внесок у хімію високомолекулярних сполук та, зокрема, представляє собою новий напрямок у створенні та управлінні властивостями синтетичних та гібридних природно-синтетичних кополімерів блочної, гребенеподібної та розгалуженої будови.

Враховуючи вищевикладене, вважаю, що представлена дисертаційна робота дисертаційна робота повністю відповідає всім вимогам ДАК України щодо докторських дисертацій та п.п. 9, 10 і 12 постанови Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року № 567 (із змінами) «Порядок присудження наукових ступенів, а її автор, Наталія Євгенівна Мітіна, цілком заслуговує присудження наукового ступеня доктора хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук.

Завідувач відділу хімії функціональних матеріалів  
Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії  
НАН України, доктор хім.наук, професор

О.А. Пуд

Підпис Пуд О.А.  
**ЗАСВІДЧУЮ**  
Вчений секретар  
ІБОНХ НАН України

