

## ВІДГУК ОФЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу Паюк Олени Леонідівни “Синтез та властивості поверхнево-активних блочно-гребенеподібних кополімерів на основі ПЕГ- та фторовмісних метакрилатів”, представлену на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук

Характерною ознакою розвитку полімерної хімії в останні роки для реалізації завдань нанотехнологій є потужний дизайн різноманітних, підчас дивовижних полімерних та полімер/неорганічних наноструктур з використанням широкого спектру полімеризаційних процесів та органічних реакцій. В цьому аспекті дисертаційна робота Паюк О.Л. продовжує і розвиває **актуальний** стратегічний науковий напрямок кафедри органічної хімії Національного університету “Львівська політехніка” під керівництвом професора С.А. Воронова і зокрема, наукової групи доктора хімічних наук О. С. Заїченка щодо створення мультифункціональних полімерних сполук складної архітектури і пошуку все більш досконалої “чарівної кулі” для селективної доставки лікарської речовини і/або біополімеру в певні органи, тканини та клітини живого організму. Достатньо скромна на перший погляд **мета роботи**, яку автор представив як синтез та вивченні властивостей гребенеподібних та блочно-гребенеподібних кополімерів на основі поліетиленгліколь(ПЕГ)- та фторалкілвмісних метакрилатів (FMA), в дійсності розгортається як вражаюче за об’ємом фундаментальне дослідження, яке робить значний крок вперед і в плані керування процесами вільнорадикальної полімеризації, і в плані створення різноманітних блочно-гребенеподібних функціональних макромолекул, в тому числі за участю біополімерів, і з точки зору моделювання нових міцелярних наноносіїв ліків та біополімерів.

На відміну від багатьох інших дослідників, які обґрунтовують застосування в синтезі полімерів складної архітектури різних видів “псевдоживої” радикальної та “живої” іонної полімеризацій на протипагу зазвичай мало керованої вільнорадикальної полімеризації, автор у **Вступі** сміливо висуває, а потім в дисертації успішно вирішує завдання щодо розробки нової стратегії синтезу макромолекул складної будови з використанням саме вільнорадикального процесу.

Свої основні підходи та ідеї автор викладає в літературному огляді, який представлено в **Розділі 1** дисертації. Огляд розпочинає аналіз перспективних

властивостей полімерних матеріалів, що містять фторалкільні та поліетиленгліколеві фрагменти, а потім переважна увага надається детальному розгляду існуючих методів синтезу прищеплених і блок-кополімерів за участю цих фрагментів. Літературний огляд гарно написаний; він базується переважно на роботах останнього десятиліття і свідчить про глибоке ознайомлення автора зі світовими досягненнями в цій області. Разом з тим, було б доцільно, якби автор приділив тут окремий розділ обговоренню відомих літературних джерел, присвячених міцелоутворенню щітко- і гребенеподібних кополімерів та більш складних гетерополімерів за участю щітко/гребенеподібних блоків.

У **Розділі 2** дисертації послідовно викладено характеристики об'єктів дослідження і методики синтезу та аналізу щітко- і гребенеподібних кополімерів з активними кінцевими фрагментами та різноманітних похідних на їх основі (диблок- та триблок-кополімерів), включаючи олігонуклеотид. Представлено методики створення комплексів синтезованих полімерних наноносіїв з ферментом, нуклеїною та фолієвою кислотами, методики особливих біологічних досліджень, а також опис численних фізико-хімічних методів дослідження. Розділ добре структурований, містить навіть методологію розрахунку складу кополімерів за даними елементного аналізу, однак на жаль не включає потрібну інформацію щодо достатньо неординарних методів дослідження, таких як малокутове рентгенівське розсіювання (МКРР) у розчинах та динамічне світлорозсіювання (ДСР). В цих методах складна теорія і обробка даних, тому дуже важлива правильна постановка експериментів, яка повинна бути детально описана.

Найбільш досконалим є **Розділ 3** дисертації, присвячений синтезу і характеризуванню кополімерів щітко/гребенеподібної та блок-щітко/гребенеподібної будови. Цей розділ відкривають систематичні кінетичні дослідження гомополімеризації фторалкільвмісних та ПЕГ-вмісних макрономерів з різною довжиною гідрофобних та гідрофільних замісників, проведеної в присутності різних функціональних передавачів ланцюга (ФПЛ): МП, КГЕ, КЕ. Для встановлення кінетичних закономірностей цих процесів, їх керованості та ступеню функціоналізації кінцівок одержаних “щіток” в залежності від довжини бічних відгалужень проведено широке варіювання концентрацій ініціатору і ФПЛ, кропітка обробка кінетичних даних, визначення хімічної будови та молекулярних параметрів

синтезованих продуктів. Такий же ретельний підхід продемонстрував автор і в наступній частині досліджень, представлених в цьому розділі, де описуються процеси кополімеризації тих же макромономерів з іншими мономерами (БАК та ДММ) в присутності ФПЛ з метою розрідження “щіток” і отримання гребенеподібних кополімерів. Визначення кінетичних параметрів процесів (швидкості і констант кополімеризації) та ступеню функціоналізації кінцівок фрагментами ФПЛ супроводжувалось встановленням хімічного складу, мікророзподілу ланок і молекулярної маси кожного зразку. Застосований в цих дослідженнях пакет хімічних і фізико-хімічних методів (дилатометрія, гравіметрія, елементний аналіз, гель-проникна хроматографія, титрування, газорідинна хроматографія, FTIR) дозволив автору отримати надійні дані, що стали основою його висновків щодо керованості процесів гомо- та кополімеризації досліджених макромономерів в присутності ФПЛ і відкрили можливість подальшого дизайну більш складних блок-кополімерів. Остання цікава частина цього розділу представляє результати кінетичних і структурних досліджень процесів та продуктів блок-кополімеризації попередньо утворених шітко- та гребенеподібних прекурсорів за участю фторалкіл- та ПЕГ-вмісних фрагментів з НВП і ДМАЕМ. Хімічна структура одержаних макромолекул складної архітектури надійно підтверджена методами FTIR та ЯМР.

Численні результати дослідження колоїдно-хімічних характеристик шітко/гребенеподібних кополімерів та блок-кополімерів на їх основі у водному середовищі систематизовані в **Розділі 4** дисертації. Шляхом поєднання цілої низки вдало підібраних сучасних та інформативних методів дослідження: TEM, крио-TEM, ДСР, МКРР, вимірювань поверхневого натягу та мутності автору вдається визначити, зібрати та систематизувати тут гігантську кількість параметрів, що описують стан таких складних об'єктів у водних розчинах. Це параметри поверхневої активності, ККМ/ККА, гідродинамічні радіуси та радіуси обертання міцелярних структур, фрактальні розміри, які характеризують тип утворених міцелярних кластерів, а також числа агрегації міцелярних структур. Найбільша частина цього розділу присвячена міцелоутворенню і агрегації шітко- та гребенеподібних кополімерів з бічними ПЕГ-фрагментами. Проаналізовано зміни у стані таких кополімерів у розчині під впливом не тільки збільшення довжини бічних ланцюгів, але й

подовження всієї “щітки” або “гребеню”, тобто при зміні ступеню полімеризації  $R_n$ . Одержання і систематизація такої великої кількості параметрів цих нових і складних систем є безумовною заслугою автора дисертації. Проте, для деяких його результатів можна запропонувати альтернативне пояснення, яке представлено у зауваженнях до роботи. Цікаву частину в цьому розділі складають також дослідження структуроутворення у водних розчинах кополімерів блочно-щіткоподібної будови, які містять гідрофільні блоки полі(НВП) або полі(ДМАЕМ) та гідрофобні блоки з фторалкіл- та лаурилвмісними бічними фрагментами. На основі аналізу одержаних результатів створена адекватна картина міцелоутворення таких блок-кополімерів неіоногенного та катіонного типів і показано закономірне збільшення розміру таких структур зі зростанням довжини гідрофобних блоків і бічних відгалужень. Одержані в цій частині висновки автора можна повністю підтримати. На завершення цього розділу представлена окрема серія досліджень комплексоутворення блок-щіткоподібних кополімерів полі(ФМА)-*b*-полі(ДМАЕМ), полі(ЛАК)-*b*-полі(ДМАЕМ) та (ФМА)-*b*-полі(НВП) з лізоцимом та зразком ДНК, проведених методами електрофорезу та ДСР. Дані міцелярні системи в подальшому використані для доставки вказаних біополімерів в клітини ссавців та рослин.

Окремо слід відзначити складні і вражаючі біологічні експерименти за участю розроблених наноносіїв, які представлені в **Розділі 5** дисертації. Вони наглядно продемонстрували різноманітні можливості розроблених систем. Зокрема, полімерний носій на основі гребенеподібного кополімеру полі(ПЕГМА-ко-БАК) в комплексі з фолієвою кислотою та з інкапсульованим доксорубіцином значно підвищував активність даного протиракового препарату відносно клітин Т-лейкозу людини. Представники інших полімерних носіїв на основі катіоноактивних блок-кополімерів полі(ФМА)-*b*-полі(ДМАЕМ) і полі(ЛАК)-*b*-полі(ДМАЕМ) в комплексі з плазмідною ДНК показали гарні результати по трансфекції ДНК в клітини лінії MCF-7 та каліосу ячменю. Полімерний носій, утворений на базі одного з блок-кополімерів серії полі(ФМА)-*b*-полі(НВП), сприяв підвищенню антибактеріальної активності зв'язаного ним в комплекс ферменту лізоциму до грам-позитивних бактерій *Staphylococcus aureus*. Нарешті, специфічний носій на основі блок-кополімеру полі(ФМА)-*b*-полі(НВП) з кон'югованим третім блоком олігонуклеотиду яскраво продемонстрував можливості мічення біооб'єктів, зокрема, бактерій штаму

*Pseudomonas putida.*

Безумовними досягненнями даної дисертаційної роботи за своєю **новизною** та **науковим значенням** слід вважати такі результати:

- На основі фундаментальних досліджень процесів вільнорадикальної полімеризації фторалкіл- та ПЕГ-вмісних макромономерів і успішної реалізації ідеї використання ФПЛ з реакційно здатними пероксидними, епоксидними та аміногрупами запропоновано нову стратегію дизайну макромолекул складної архітектури за участю лінійних та щітко/гребенеподібних кополімерів і, навіть, біополімерів. Більш того, вільнорадикальна полімеризація піднята до рівня добре керованих процесів, які забезпечують надійний контроль молекулярної маси і структури одержаних гетерополімерів.
- Яскраво продемонстровано наявність в реакційному середовищі колоїдних зон підвищеної в'язкості; вони впливають на кінетичні параметри процесу полімеризації ПЕГМА в присутності ФПЛ, а також полімеризації гідрофільних мономерів в суміші з ФПЛ, яку ініціюють макроініціатори полі(ПЕГМА)-МП та полі(FMA)-МП. Таким чином, засвідчено мікрогетерогенний характер даних полімеризаційних процесів.
- Вперше детально охарактеризовано колоїдно-хімічні властивості синтезованих щітко/гребенеподібних та блок-щітко/гребенеподібних кополімерів у водному середовищі з визначенням поверхневої активності, ККМ/ККА, ступеню агрегації, розмірів і морфології складних міцелярних систем в залежності від довжини бічних фторалкільних та ПЕГ-фрагментів. Показано, що розмірами, формою, ступенем агрегації та структурним устроєм міцел на основі щітко/гребенеподібних кополімерів можна легко керувати, змінюючи не тільки довжину бічних фрагментів, але й відстань між ними уздовж основного ланцюга.
- Вперше отримані блок-кополімери за участю синтетичних щіткоподібних блоків полі(фторалкіл метакрилатів) та природних блоків олігонуклеотиду, які дозволяють проводити мічення біологічних об'єктів, зокрема, бактерій; це може знайти широке застосування в сучасній біомедицині.

Завдяки розробленій і практично реалізованій в дисертаційній роботі новій стратегії синтезу полімерів комплексної архітектури одержано ряд нових блок-кополімерів з широким спектром функціональних можливостей. На їх основі

створено і успішно випробувано нові перспективні носії лікарських субстанцій та нуклеїнових кислот, які є малотоксичними, дозволяють знизити терапевтичну дозу препаратів, пришвидшують доставку ліків в ракові клітини, можуть сприяти міченню біологічних об'єктів і тому можуть використовуватись для вирішення широкого кола завдань біомедицини та генної інженерії. В цьому полягає велике **практичне значення** представленої дисертаційної роботи.

Окремі **недоліки** роботи і зауваження можна сформулювати таким чином:

- Одним з найбільш сильних факторів впливу при вільнорадикальній полімеризації є концентрація мономеру. Тому цей фактор, а саме: зменшення мольної концентрації макромономерів в ряду ПЕГМА246→ПЕГМА475→ ПЕГМА1100 при їх полімеризації в присутності МП і КГЕ, необхідно враховувати при обговоренні кінетичних даних таблиці 3.4. Зокрема, відзначене зменшення швидкості полімеризації в цьому ряду може бути пов'язано, в першу чергу, зі зменшенням концентрації макромономеру, а не тільки з довжиною його гідрофільного “хвоста” та дією інших обговорюваних факторів.
- Є кілька зауважень щодо термінології. Більш вдалим стосовно фторалкіл- та ПЕГ-вмісних метакрилатів є відомий термін “макромономер”, ніж використана в роботі назва “макромер”, оскільки остання не відповідає функції цих речовин в полімеризаційному процесі і може бути застосована до самого широкого кола інших речовин, що мають макророзміри. Також, в літературі є чіткий термін, що позначає продукти полімеризації макромономерів як полімерні “щітки”, яким притаманна максимальна густина бічних щеплень. А до гребенеподібних відносять лише ті, в яких довгі бічні відгалуження розділені на основному ланцюзі тими ж або іншими за природою мономерами, але без довгих “хвостів”. Некоректним є і вираз “значення фрактального кластера  $\alpha$ ” (???). В теорії малокутового розсіювання рентгенівського випромінення показник степені у степеневому рівнянні Порода, яким користується автор, має назву “фрактальний розмір”.
- Представлена автором картина міцелоутворення/агрегації щітко- і гребенеподібних та блок-щітко/гребенеподібних кополімерів з бічними ПЕГ-фрагментами у водному середовищі є достатньо заплутаною і не в повній мірі адекватною. Це обумовлено кількома причинами. По-перше, дані ТЕМ, як їх

представив автор, не розкривають морфологію найменших структур у розчині (фактично, мономолекулярних міцел щітко- та гребенеподібних кополімерів) на рівні 20-50 нм, а демонструють переважно великі міцелярні агрегати. Між тим, про існування значно менших структур свідчать малі темні точки і п'ятна серед великих міцелярних агрегатів навіть на мікрофотографіях, одержаних при невеликому збільшенні (рис. 4.4 б, рис. 4.8-1). По-друге, методом динамічного світлорозсіювання визначено лише усереднений розмір всіх структур, а криві розподілу за об'ємом частинок, які дають найбільш коректну картину співіснування та кількісного співвідношення великих і малих міцел та їх агрегатів у дисертації відсутні. Це може призводити до помилкової інтерпретації результатів досліджень. Наприклад, зафіксоване в роботі зменшення розмірів міцелярних структур полі(ПЕГМА)-МП з ростом довжини ПЕГ-ланцюгів можна пояснити просто зменшенням відносної кількості великих міцелярних агрегатів, бо саме вони роблять основний внесок у величину розсіювання системи, за якою розраховується середній розмір. Нарешті, розгляд процесів агрегації за участю щіток полі(ПЕГМА)-МП та ПЕГ-вмісних гребенеподібних кополімерів не враховує такий важливий фактор, як наявність на кінці кожного ланцюга ПЕГ гідрофобної метильної групи, яка сприяє утворенню міцелярних агрегатів.

Дійсна картина, на мою думку, полягає в існуванні в розбавленому розчині щітко- та гребенеподібних кополімерів мономолекулярних міцел в межах кожної макромолекули. Якщо це – “щітка”, то центральний гідрофобний ланцюг ПМА є значно розтягнутим за рахунок високої густини відгалужень і вся така міцела витягнута. Якщо це – рідкий “гребінь”, то центральний ланцюг може “самозбиратися” у воді в більш-менш компактне “ядро” і форма мономолекулярної міцели наближається до сферичної. Є на цю тему теоретична робота Хохлова, де прорахована і доведена можливість такої внутрішньомолекулярної сегрегації основного ланцюга. Саме поняття “ККМ” в таких системах взагалі втрачає сенс, оскільки макромолекули з такими великими стеричними перешкодами (особливо “щітки”) не можуть в принципі утворити традиційні міцелярні структури із загальним гідрофобним “ядром”. В цьому випадку при збільшенні концентрації кополімерів фактично вимірюється не ККМ, про яку пише автор, а ККА (критична концентрація агрегації), яка відображає

лише перехід до агрегатів мономолекулярних міцел. Власно, утворення фрактальних міцелярних агрегатів з “щіток” та “гребенів” і зафіксовано в дисертації. Щодо природи агрегації мономолекулярних міцел, то вона розвивається, на мою думку, як раз завдяки взаємодії поверхневих гідрофобних метильних груп ПЕГ, а не за рахунок їх взаємопроникнення, як вважає автор. Кожен ланцюг ПЕГ у воді вкритий шаром адсорбованих молекул води (по 2 на кожен ланку ПЕГ), тому взаємопроникнення мало імовірно. Чим менше довжина ланцюга ПЕГ, тим вище локальна концентрація гідрофобних метильних груп на поверхні “щіток” і тим сильніше їх взаємодія, що і викликає збільшення числа агрегації  $N$ , зафіксоване методом ТЕМ.

Подібна ситуація утворення лише мономолекулярних міцел та їх агрегатів розвивається, очевидно, і в розчинах блок-кополімерів, які містять щіткоподібні блоки полі(ПЕГМА). На відміну від цього, блок-кополімери на основі щітко- та гребенеподібних кополімерів з бічними гідрофобними фторалкільними фрагментами здатні утворювати класичні міцелярні структури із загальним гідрофобним “ядром”. Для них поняття “ККМ” є повністю адекватним.

Висловлені зауваження, уточнення і побажання мають переважно рекомендаційний та дискусійний характер і не знижують наукових та практичних досягнень цієї титанічної дисертаційної роботи. Дисертація виконана й викладена на високому науковому рівні. **Достовірність** представлених в ній результатів і висновків не викликає сумнівів, оскільки базується на численних взаємно доповнюючих експериментах і аналізах, для виконання яких залучено найширший спектр сучасних хімічних методик та фізико-хімічних методів дослідження. Досягненням автора є не тільки декларування своїх плідних ідей, але й їх успішна практична реалізація до одержання цілої серії нових полімерних речовин, фундаментального вивчення їх властивостей та відбору найбільш перспективних з них для випробувань як носіїв ліків та генетичного матеріалу. За результатами роботи вже заявлено 1 патент України на винахід, але вона має значно більший потенціал в цьому плані. Отже, дана дисертаційна робота є значним внеском в розвиток хімії і фізико-хімії полімерів, біомедицини, генної інженерії та фармакології.



Результати дисертації відображені в 29 наукових публікаціях, серед яких: 9 статей у наукових вітчизняних і міжнародних фахових виданнях, 4 з яких включено до міжнародних наукометричних баз даних, 1 заявка на видачу патенту України на винахід, 18 тез доповідей на міжнародних та вітчизняних конференціях. Публікації і автореферат повністю відповідають змісту дисертаційної роботи.

Вважаю, що дисертаційна робота Паюк Олени Леонидівни “Синтез та властивості поверхнево-активних блочно-гребенеподібних кополімерів на основі ПЕГ- та фторовмісних метакрилатів” є завершеною науковою працею, яка за актуальністю, рівнем і об’ємом досліджень, новизною результатів, їх науковим і практичним значенням та ступенем обґрунтованості висновків повністю відповідає вимогам до кандидатських дисертацій, визначених п.п. 9, 11, 12, 13 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), а її автор, Паюк Олена Леонидівна, заслуговує присудження наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.06 – хімія високомолекулярних сполук.

Офіційний опонент –  
старший науковий співробітник  
відділу фізики полімерів  
Інституту хімії високомолекулярних сполук  
Національної академії наук України,  
доктор хімічних наук, професор,  
заслужений діяч науки і техніки України

Желтоножська Т.Б.

