

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Стасюк Анни Василівни
«Фосфоровмісні поліестери L-глутамінової кислоти біомедичного призначення»,
представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії
за спеціальністю 102 «Хімія», з галузі знань 10 «Природничі науки»

1. Актуальність теми роботи

Сучасні наукові розробки у галузі медицини тісно пов'язані з новими досягненнями у галузі хімічного синтезу, зокрема у хімії полімерів. Важливим сектором у хімії синтезу полімерів є питання створення нових полімерних речовин з бажаними унікальними властивостями, які можна було би використати як носії лікарських препаратів для адресної доставки до певних органів людини або тварин та використовувати як носії біологічно активних речовин у біологічних рідинах живих організмів. Представлена дисертаційна робота присвячена синтезу нових полімерних сполук, які є поліестерами, містять у складі макромолекул поліоксиетиленові та фосфатні групи, завдяки яким відбувається взаємодія з певними лікарськими препаратами з утворенням нанорозмірних кон'югатів, що мають властивість вільно переміщатись у біологічному середовищі до органу – мішені. Полімери, призначення яких є виконувати роль носія ліків повинні бути біодеградабельними, розкладатись під дією ферментів, біосумісними, низько токсичними, захищати активний компонент лікарського засобу від деградації та контролювати його вивільнення, чутливими до зміни кислотності середовища. З огляду на вищенаведене тема представленої до захисту дисертації є, безумовно, актуальною.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації відповідає науковому напрямку кафедри органічної хімії, де виконувалась робота: “Розробка реакційноздатних і ініціюючих систем для функціоналізації (пероксидації) міжфазних поверхонь та формування на них спеціальних полімерних наносфер і конструювання наповнених композитів та біосумісних, біодеградабельних полімерних матеріалів, модифікації природних речовин”.

Дисертація виконувалась у межах науково-дослідних робіт, одним з виконавців яких була здобувачка: “Функціональна мімікрія людської шкіри прищепленими до полімерної поверхні гібридними гідрогелями біополімерів для лікування її ушкоджень великої площі” (2018-2020), № держреєстрації 0118U000262; “Синтез магніточутливих модифікованих дисперсій гідрогелів з частинками типу ядро-оболонка як носіїв для біомедичних застосувань” (2019), № держреєстрації 0119U101956; “Синтез магніточутливих модифікованих дисперсій гідрогелів з частинками типу ядро-оболонка як носіїв для біомедичних застосувань” (2020), № держреєстрації 0120U103816; “Створення гідрогелевих засобів для воєнно-польової медицини і медицини катастроф та технології їх виробництва” (2021-2022), № держреєстрації 0121U109521.

Також частину досліджень здобувачка провела під час стажування у Інституті Молекул і Матеріалів в м. Ле Ман (у рамках програми ERASMUS+ та міжуніверситетської угоди між Національним університетом «Львівська політехніка» та Університетом Ле Ман (Франція).

3. Оцінка змісту дисертації, структура, її завершеність в цілому та оформлення

Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел літератури (169 найменувань) та 2-ох додатків, містить зміст та список скорочень.

Загальний обсяг дисертації становить 156 сторінок, містить 12 таблиць та 77 рисунків.

У **вступі** наведена актуальність теми, зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами, сформульовано мету та задачі досліджень, вказані об'єкт та предмет досліджень, перелічені методи досліджень, визначена наукова новизна одержаних результатів та практичне значення одержаних результатів, наведено дані про апробацію та публікації та особистий внесок автора, про структуру та обсяг дисертації.

У **першому розділі** здобувачем проведено аналіз літературних джерел щодо опису систем доставки лікарських препаратів (полімерних міцел, ліпосом та наноемульсій, дендримерів, ліпідних наночастинок, нанокапсул, металевих наночастинок, наноносіїв на основі мезопористого силіцію, нанокристалів, наногелів), у тому числі полімерних систем, зокрема, поліестерів, чутливих до зовнішнього середовища та поліестерів фосфатної кислоти, відомих методів їх синтезу та властивостей.

Другий розділ присвячений синтезу фосфоровмісних поліестерів з використанням реакції етерифікації Стегліха. Подана загальна характеристика реакції етерифікації з утворенням активованої форми карбоксильної групи N-ацільованої глутамінової кислоти при її взаємодії з N,N'-дициклогексилкарбодіімідом, наступною взаємодією з поліетиленгліколем за гідроксильною групою у присутності нуклеофільної добавки 4-(N,N-диметиламіно)піридину. Розглянуто механізм та можливі маршрути реакцій, побічні реакції, описано принцип дослідження кінетики реакції етерифікації. Також наведено схеми реакцій синтезу поліестерів з етилфосфатною групою, а також поліестерів, одержаних за етерифікацією Стегліха з N-ацільованої глутамінової кислоти, поліетиленгліколів з етилфосфатною групою та поліетиленгліколів. Визначено вплив умов синтезу на їхній вихід та склад, підтверджена структура IR- та ¹H NMR спектрами. Проведена оцінка молекулярної маси поліестерів за фрагментами кінцевих дезактивованих карбоксильних груп та за даними гель-проникної хроматографії. Досліджено вплив фосфатного фрагменту в складі мономеру на перебіг реакції поліконденсації та вплив температури та рН на гідроліз естерних фрагментів етилфосфатної та карбоксилатних груп фосфоровмісних поліестерів.

Третій розділ присвячено дослідженню колоїдно-хімічних властивостей фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною та фосфатною групами.

Досліджено утворення у водному середовищі самостабілізованих дисперсій з нанорозмірними частинками дисперсної фази. Проаналізовані ізотерми поверхневого натягу з етил фосфатною та з фосфатною групами. Проведено аналіз залежності розмірів частинок дисперсної фази та фракційного розподілу в залежності від температури, концентрації поліестерів у водному середовищі, умов їх синтезу методами динамічного світлорозсіювання та трансмісійної електронної мікроскопії, а також наведена характеристика стабільності дисперсних систем.

У четвертому розділі окреслені напрями практичного застосування одержаних фосфоровмісних поліестерів на основі відповідних досліджень. Досліджено здатність фосфоровмісних поліестерів солюбілізувати судан III, залежність стабільності дисперсій від водневого показника (присутності кислих та основних речовин). Показаний вплив сорбції бичачого сироваткового альбуміну на стійкість самостабілізованих водних дисперсій фосфоровмісних поліестерів та розмір їх частинок. Визначена цитотоксичність дисперсій фосфоровмісних олігоестерів. Описана методика одержання комплексів фосфоровмісних поліестерів з рядом антибіотиків та досліджена антибактеріальна активність кон'югатів стосовно кишкової та синьогнійної паличок та золотистого стафілококу.

У п'ятому розділі наведено характеристики вихідних реагентів та матеріалів, що використані у роботі, описано методики проведення синтезів та методики аналізів та експериментів, за допомогою яких отримані результати, на основі яких зроблені висновки.

Сформульовані висновки достатньо повно відображають вирішення задач, що були поставлені у роботі, містять основні наукові та практичні результати дисертаційного дослідження.

Дисертація є завершеною науковою працею, а її оформлення відповідає встановленим вимогам МОН України.

4. Практичне значення одержаних результатів. Проведені експериментальні дослідження та зроблені висновки дозволили розробити методики одержання нових поверхнево-активних фосфоровмісних поліестерів з фрагментами N-ацільованої глютамінової кислоти та поліетиленгліколю, які утворюють самостабілізовані водні дисперсії, здатні сорбувати альбумін і толерантні до нього. Дані дисперсії здатні утворювати кон'югати з антибактеріальними препаратами (зокрема, кон'югати з доксицикліном та окситетрацикліном). Показано, що збільшення антибактеріальної активності кон'югатів до ряду патологічних мікроорганізмів у порівнянні із звичайними формами антибіотиків відбувається саме у тому випадку, коли дія антибактеріальних препаратів зумовлена їх проникненням через клітинну стінку у мікробні клітини. Розроблені методики та результати досліджень дозволяють запропонувати нові фосфоровмісні поліестери для медичного застосування та подальших досліджень. Розроблено методики синтезу фосфоровмісних поліестерів, що підтверджено патентом України на винахід.

5. Новизна основних результатів дисертації

- У даній дисертаційній роботі вперше запропоновано синтезувати фосфоровмісні поліестери на основі N-ацільованої глутамінової кислоти та поліетиленгліколів з фосфатними фрагментами з використанням незворотньої активованої поліконденсації за реакцією Стегліха, розроблено методики цього синтезу та досліджено особливості перебігу процесу етерифікації за Стегліхом у залежності від умов синтезу.

- Досліджено вплив етилфосфатної групи на хімізм перебігу етерифікації за Стегліхом. Досліджено закономірності впливу умов синтезу фосфоровмісних поліестерів на колоїдно-хімічні властивості самостабілізованих дисперсій, які вони утворюють у водному середовищі.

- Вперше створено кон'югати нових фосфоровмісних поліестерів та ряду антибактеріальних препаратів за рахунок хемосорбції, які виявляють більшу антибактеріальну активність порівняно з антибіотиками у традиційному вигляді. Показано, що антибіотики у вигляді кон'югатів з фосфоровмісними поліестерами - носіями, антибактеріальна дія яких реалізується при проникненні у клітину активніші у порівнянні з традиційною формою застосування.

6. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків сформульованих у дисертації ґрунтуються на теоретично обґрунтованих та експериментально підтверджених методах синтезу полімерів, дослідження структури та властивостей синтезованих фосфоровмісних поліестерів, вивчення колоїдно-хімічних властивостей дисперсій, дослідження антимікробної дії кон'югатів фосфоровмісних поліестерів з антибіотиками, дослідження цитотоксичності фосфоровмісних поліестерів. Під час досліджень використані сучасні методи: ІР-спектроскопія з Фур'є перетворенням, ^1H , ^{13}C та ^{31}P NMR-спектроскопія, гель-проникна хроматографія, динамічне світлорозсіювання, трансмісійна електронна мікроскопія, визначення поверхневого натягу (методом Дю-Нуї), функціональний аналіз, газова хроматографія, об'ємні методи аналізу.

7. Повнота викладення результатів роботи в опублікованих працях

Основні положення дисертації повністю відображені у 19 друкованих працях, з них 3 статті у наукових фахових виданнях України, 2 статті у наукових періодичних виданнях іноземних держав та у виданнях України, що індексовані в міжнародних наукометричних базах даних, 1 патент України на винахід, 13 тез доповідей на міжнародних і всеукраїнських конференціях.

8. Апробація

Основні положення та результати дисертаційної роботи доповідалися, обговорювалися і були схвалені на 8 Міжнародних та 4 Всеукраїнських наукових конференціях.

9. Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.

За результатами аналізу дисертаційної роботи та публікацій автора порушення академічної доброчесності не виявлено. Елементи фальсифікації чи фабрикації тексту в роботі відсутні.

10. Питання та зауваження до дисертації, які не знижують вагомості результатів роботи, не ставлять під сумнів висновки та не є принциповими:

- Бажано було би навести пояснення, яким чином формуються кон'югати фосфоровмісних поліестерів з антибактеріальними речовинами. У дисертації причиною утворення кон'югатів названий процес хемосорбції антибактеріальних препаратів фосфатними фрагментами фосфоровмісних поліестерів на поверхні частинок-носіїв, що показано схематично на рис. 4.10. Разом з тим, у роботі зустрічається опис процесу утворення кон'югатів як «солюбілізація» антибіотиків частинками дисперсій, але цей термін має інший зміст, також вказано, що методика солюбілізації антибіотиків на частинках дисперсної фази описана в розділі 5.2.9, але цього розділу у змісті немає.

- В описі досліджень процесу утворення кон'югатів (розділ 4) не обґрунтовано вибір концентрації фосфоровмісних поліестерів.

- Який саме фосфоровмісний поліестер вибрано для створення кон'югатів з антибактеріальними препаратами та подальшого дослідження їх антибактеріальної активності: поліестер прекурсор якого синтезовано у диметилформаміді чи у дихлорметані?

- У роботі зустрічаються невдалі вислови та опечатки: «протікання реакції», а не перебіг реакції; «ступені дисоціації», а не ступеня дисоціації тощо.

Наведені вище зауваження не впливають на обґрунтованість наукових положень та висновків дисертації і не знижують наукової цінності одержаних результатів.

11. Висновки до дисертаційної роботи

Загалом, дисертаційна робота Стасюк Анни Василівни на тему «Фосфоровмісні поліестери L-глутамінової кислоти біомедичного призначення», представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія» є завершеною науковою працею, у якій розв'язано актуальне науково-практичне завдання щодо створення дисперсійних систем доставки на основі псевдополіамінокислот поліестерного типу, що здатні хемосорбувати антибактеріальні сполуки та одержання на їх основі, як нанотранспортерів фармацевтичних речовин, кон'югатів з антибактеріальними властивостями, більшими порівняно з традиційним застосуванням таких речовин.

Робота містить наукову новизну, результати, отримані дисертанткою достовірні, мають практичне значення. Висновки – обґрунтовані.

Дисертаційна робота Стасюк Анни Василівни на тему «Фосфоровмісні поліестери L-глутамінової кислоти біомедичного призначення» відповідає вимогам Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», постанові Кабінету Міністрів України № 44 від 12.01.2022р. «Порядок присудження ступеня доктора філософії

та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», зі змінами, внесеними згідно Постанови КМ №341 від 21.03.2022р., а її авторка Стасюк Анна Василівна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія» у галузі знань 10 «Природничі науки».

Рецензент
професор кафедри органічної хімії
НУ "Львівська політехніка",
доктор хімічних наук, професор

Ольга БУДШЕВСЬКА

Підпис д.х.н., проф. О.Г.Будішевської

«ЗАСВІДЧУЮ»

Вчений секретар
Національного університету
«Львівська політехніка»



Р.Б. БРИЛИНСЬКИЙ