

**В І Д Г У К**  
**офіційного опонента**

**д.х.н., проф. *Опейди Йосипа Олексійовича,***

завідувача відділом Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії

ім. Л. М. Литвиненка Національної академії наук України

на дисертаційну роботу ***Стасюк Анни Василівни***

**«Фосфоровмісні поліестери L-глутамінової кислоти біомедичного  
призначення»**, подану на здобуття наукового ступеня *доктора філософії* за  
спеціальністю **102 – Хімія (10 – Природничі науки)**

**1. Актуальність теми дисертації**

Дисертаційна робота Стасюк Анни Василівни стосується важливої теми в області хімії та технології високомолекулярних матеріалів, а саме створення нових дисперсійних систем доставки лікарських препаратів на основі псевдополіамінокислот поліестерного типу, що здатні хемосорбувати біологічно активні сполуки. До властивостей цього класу полімерних матеріалів біомедичного призначення є ряд особливих вимог, що залежать від області застосування. Насамперед, це біосумісність та часто гемосумісність полімерного матеріалу. Ці поняття включають в себе комплекс властивостей, серед яких є не лише відсутність токсичності самого полімерного матеріалу, а і відсутність токсичності продуктів його розпаду (хімічного чи біохімічного) в організмі. Крім того, такі матеріали мають бути біодеградабельними та здатними солюбілізувати органічні речовини, зокрема біологічно активні сполуки. Усім цим вимогам відповідають псевдополіамінокислоти поліестерного типу, методика одержання яких була розроблена на кафедрі органічної хімії. Введення фосфатної груп в їх структуру робить їх здатними зв'язувати органічні речовини. Колоїдно-хімічні властивості фосфоровмісних поліестерів регулюються молекулярною масою поліетиленгліколю, що дає можливість побудувати на їх основі стабільні дисперсні системи.

Біодеградабельність та біосумісність поліестерів, а також здатність захищати активний компонент лікарського засобу від деградації та



контролювати його вивільнення, роблять фосфоровмісні поліестери одними з найперспективніших матеріалів для систем доставки лікарських препаратів для медичного призначення.

Тема дисертації Стасюк А. відповідає науковому напряму кафедри органічної хімії: “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”, а також виконана в межах науково-дослідних робіт: “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. Авторка дисертаційної роботи є одним з виконавців цих тем. Частина експериментального дослідження була проведена нею 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).

У першому розділі представлено огляд літературних джерел, проаналізовано сучасні літературні дані про типи матеріалів для носія системи доставки лікарських препаратів, їхні переваги та недоліки для біомедичного застосування. Введення фосфатної групи в структуру поліестерів, які є універсальною платформою для модифікації основного та бічного ланцюгів полімерів, демонструє їх перевагу над поліестерами карбонових кислот, оскільки фосфор у фосфатній кислоті може утворювати три стабільні та розбіжні зв'язки на додаток до подвійного зв'язку  $P=O$ . Це дає можливість



іонного зв'язування наноносія-транспортера з органічними сполуками. Також охарактеризовані методи одержання поліфосфатестерів та процес їх деградації в умовах кислого та лужного середовища, а також наведено механізм ензиматичного гідролізу. Критичний огляд цих матеріалів дозволив чіткіше сформулювати мету та завдання дослідження.

У наступних трьох розділах наведено результати експериментальних досліджень та їх обговорення. Зокрема в другому розділі детально розглянуто синтез фосфоровмісних поліестерів побудованих на основі дикарбонових  $\alpha$ -амінокислот та поліетиленгліколів, в структуру яких за реакцією естерифікації Стегліха введено етилфосфатну групу, виявлено особливості перебігу реакції поліконденсації фосфоровмісних поліестерів та основні чинники, які впливають на ступінь поліконденсації та молекулярну масу. Наведено результати досліджень методами IR,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  NMR спектроскопії, гель-проникної хроматографії структури фосфоровмісних поліестерів залежно від умов їх одержання та природи мономерів, які показали можливість регулювати кількість фосфатних груп на одну макромолекулу поліестера. Охарактеризовано реакцію гідролізу етилфосфатної групи фосфоровмісних поліестерів, наведено оптимальні умови її проведення. Методами газової хроматографії та потенціометрії підтверджено гідроліз бічного ланцюга поліестеру.

У третьому розділі описано результати досліджень стабілізаційної здатності водних дисперсій формування частинок дисперсної фази фосфоровмісних поліестерів з етилфосфатною та фосфатною групою, які співставленні з даними, отриманими для псевдополіамінокислот поліестерного типу, що дозволило встановити вплив введення етилфосфатної та фосфатної групи на закономірності формування водних самостабілізованих дисперсій.

У четвертому розділі наведено методика одержання комплексів поліестеру з фосфатною групою та антибактеріальних препаратів, зокрема доксицикліном, окситетрацикліном, амоксициліном, бензилпеніциліном. Ефективності створених комплексів оцінено за інтенсивностями росту мікроорганізмів золотистого стафілокока (*Staphylococcus Aureus*), кишкової



(*Escherichia coli*) та синьогнійної паличок (*Pseudomonas aeruginosa*). Виявлено, що бензилпеніцилін та амоксицилін у формі кон'югату, порівняно з їх традиційними формами, незначно впливають на антибактеріальну активність проти кишкової і синьогнійної паличок та золотистого стафілококу. Разом з тим, комплекси доксицикліну та окситетрацикліну проявили суттєве збільшення антибактеріальної активності проти кишкової палички та золотистого стафілококу. Зроблено важливий висновок, що створення комплексів є перспективним лише для антибіотиків, механізм дії яких пов'язаний з порушенням синтезу протеїнів у клітинах мікроорганізмів.

Результати досліджень, що викладений в цих трьох розділах, дозволяють зробити обґрунтований висновок про перспективність використання одержаних фосфоровмісних поліестерів L-глутамінової кислоти для створення полімерних матеріалів біомедичного застосування, зокрема, для формування на їх основі дисперсних систем доставки антибактеріальних препаратів.

У п'ятому розділі наведено характеристики вихідних речовин і матеріалів, повно і ретельно описано методи досліджень і техніка експериментів, методики проведення аналізів, розрахунків. Матеріал цього розділу свідчить про високий експериментальний рівень роботи та про оволодіння дисертанткою сучасними фізико-хімічними методами досліджень.

## **2. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

Достовірність наукових результатів представленої дисертаційної роботи Стасюк А. В. забезпечена співставленням результатів, отриманих при кваліфікованому використанні комплексу сучасних методів досліджень: ЯМР- та ІЧ-спектроскопія, мас-спектрометрія, гель-проникна та газова хроматографія, трансмісійна електронна мікроскопія, динамічне світлорозсіювання, методи функціонального та елементного аналізу, вимірювання поверхневого натягу.

Достовірність наукових результатів також забезпечена співставленням одержаних експериментальних даних з даними, які були одержані в роботах інших авторів та опубліковані в сучасній науковій літературі.



### **3. Новизна дисертаційних досліджень**

Наукова новизна винесених на захист положень полягає в розробленні дисперсійних систем доставки лікарських препаратів на основі нових псевдополіамінокислот поліестерного типу, здатних хемосорбувати біологічно активні сполуки. До нових важливих наукових результатів відносяться:

- розроблені методики синтезу фосфоровмісних мономерів та поліестерів методом незворотньої активованої поліконденсації за реакцією естерифікації Стегліха;
- встановлені закономірності перебігу реакції отримання фосфоровмісних поліестерів за реакцією Стегліха та впливу умов синтезу на їхні колоїдно-хімічні властивості;
- створення комплексів нових фосфоровмісних поліестерів та антибактеріальних препаратів, що демонструють ефективнішу дію порівняно з антибіотиками у традиційному вигляді.

### **4. Практичне значення результатів дослідження**

Розроблено засади технології одержання нових важливих для практики фосфоровмісних поліестерів L-глутамінової кислоти. Результати досліджень формування на їхній основі водних дисперсій, їх стабілізаційної здатності та здатності сорбувати органічні речовини, альбумін, антибактеріальні препарати, їх поверхнево-активні властивості, а також відсутність цитотоксичності описаних поліестерів дозволяють рекомендувати одержані сполуки як основи сучасних дисперсійних систем доставки терапевтичних препаратів.

### **5. Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових фахових виданнях**

Результати дисертаційної роботи Стасюк А. В. опубліковано в 5 наукових публікаціях, з них 2 статті у наукових фахових виданнях України, 2 статті у наукових виданнях, які входять до міжнародних наукометричних баз та 1 патент України на винахід. Опубліковані результати повно відображають зміст дисертаційної роботи. Публікації висвітлюють основні наукові положення дисертації, їх кількість, обсяг та якість відповідають встановленим вимогам. Дисертація є самостійно виконаною науковою працею. Робота апробована на



авторитетних наукових конференціях. Анотація дисертації відповідає її змісту і адекватно передає основні результати дисертанта. Довідка про результати перевірки на академічний плагіат рукопису дисертації Стасюк А. В. свідчить про відсутність порушення академічної доброчесності.

#### **6. Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації, завершеності дисертації в цілому**

Структура дисертації Стасюк А. В. складається з анотації, списку скорочень, вступу, п'яти розділів, висновків, списку використаних джерел (169 найменувань), списку публікацій здобувача, 2 додатків (на 7 сторінках). Загальний обсяг дисертації становить 156 сторінок тексту, містить 12 таблиць та 77 рисунків. Дисертація логічно побудована та добре викладена.

Принципових зауважень до роботи немає.

В цей же час вимагає пояснень і коментарів наступне:

1) у розділі 1,2 поаналізовано рН-чутливість, відновну та ферментативну чутливість поліестерів як носіїв, але наскільки вони є чутливі до процесів окиснення, що має значення як при їх використанні, так і при зберіганні;

2) стор. 71. Зниження ступеня поліконденсації ЕФП, що спостерігається в межах даних досліджень, слід пояснювати зниженням впливу на перебіг реакції цієї нуклеофільної добавки. Причиною зниження впливу слід шукати в присутності в реакційній масі молекул з етилфосфатною групою. Не цілком зрозуміло за рахунок яких хімічних реакцій це може відбутися;

3) стор.89. Фактором впливу на морфологію частинок дисперсної фази після концентрації дисперсної фази є температура дисперсії, з тексту дисертації не цілком зрозуміло, якими є чинники, що дозволяють зменшити дію цього безумовно важливого фактора;

4) стор. 99. Якщо, "не можна стверджувати, що у частинок, які сформовані з фосфоровмісних поліестерів з фосфатною групою, стабілізація повністю контролюється природою подвійного електричного шару", то за рахунок яких саме елементів структурно-механічного бар'єру "стабілізація залишається домінуючою"?



5) стор. 120-121 "кон'югати доксицикліну та окситетрацикліну проявляли вагоме, ....., збільшення антибактеріальної активності до кишкової палички та золотистого стафілокока. Ці дослідження дозволяють зробити висновок, що спосіб підвищення антибактеріальної дії у традиційному вигляді антибіотиків можна шукати через їх використання з системами загальної доставки терапевтичних засобів. Якими можуть бути припущення, про причини цього важливого спостереження?

б) до неточностей в тексті належать:

стор 49 "нуклеофільного" додатку краще " нуклеофільного залишку";

стор. 49 "перебіг реакції за цим маршрутом вироджується". З тексту не зрозуміло, що мається на увазі "згасає чи роздвоюється";

стор. 61 "значення коефіцієнту лінійної кореляції, який становить 0,803 і свідчить про тісну кореляцію" – значення коефіцієнту лінійної кореляції 0,803 і свідчить про кореляцію, але не "тісну".

### 7. Висновок про відповідність дисертації вимогам МОН України

Дисертаційна робота Стасюк Анни Василівни «Фосфоровмісні поліестери L-глутамінової кислоти біомедичного призначення» є актуальним і завершеним науковим дослідженням. За обсягом і змістом, актуальністю, новизною та практичним значенням, висвітленню в публікаціях результатів, обґрунтованості наукових положень дисертаційна робота відповідає вимогам МОН України до робіт, які подаються на здобуття наукового ступеня доктора філософії, а її авторка заслуговує присудження їй наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 – Хімія.

#### Офіційний опонент

завідувач Відділу хімії гетероциклічних сполук  
Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії  
ім. Л. М. Литвиненка НАН України,  
доктор хімічних наук, професор

Йосип Опейда

Підпис зав. відділу хімії гетероциклічних сполук ІнФОВ НАН України, д-ра  
хім. наук, проф. Йосипа ОПЕЙДИ засвідчую

Вчений секретар Інституту фізико-органічної хімії і вуглехімії  
ім. Л.М. Литвиненка



Штефанія Лоренсенко

22 травня

20 23 р